MONIKA LEŚKIEWICZ

*Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN
Smętna 12, 31-343 Kraków
E-mail: leskiew@jf-pan.krakow.pl*

NEUROSTEROIDY – MODULATORY OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

NEUROAKTYWNE STEROIDY – GENOMOWY I NIEGENOMOWY MECHANIZM DZIAŁANIA

Przypadkowe odkrycie kilkadziesiąt lat temu właściwości nasennych i przeciwdrgawkowych progesteronu zapoczątkowało badania nad wpływem hormonów steroidowych na aktywność neuronów (SELYE 1942, ATKINSON i współaut. 1965). Steroidy: hormony płciowe, glikokortykosteroidy, mineralokortykosteroidy, łatwo przenikają do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) modulując jego pobudliwość. Regulują one funkcje OUN głównie na drodze złożonego procesu związanego z regulacją transkrypcji genów, przy udziale receptorów cytoplazmatycznych/jądrowych (ang. genomic action). Niektóre hormony steroidowe, np. 17β -estradiol, wiążą się z receptorami błonowymi związanymi z białkami G (ang. G Protein-coupled estrogen receptor, GPER), aktywując wewnętrzkomórkowe szlaki sygnałowe (ang. non-genomic action). Steroidy syntetyzowane w mózgu, czyli neurosteroidy, mogą również aktywować jonotropowe receptory błonowe (Ryc. 1) (SINGH i współaut. 2013, GASSER i LOWRY 2018). W klasycznej „genomowej” ścieżce, cząsteczki steroidów przyłączają się do cytoplazmatycznych receptorów steroidowych należących do podrodziny receptorów jądrowych, czyli zależnych od liganda czynników transkrypcyjnych, które po aktywacji wiążą się do odpowiednich sekwencji DNA i bezpośrednio regulują transkrypcję genów lub oddziałują z innymi czynnikami transkrypcyjnymi, wpływając na ekspresję genów docelowych. Wpływ steroidów na ekspre-

sję genów jest procesem skomplikowanym, wieloetapowym i długotrwałym, co oznacza, że pierwsze zmiany ekspresji genów, będące następstwem działania hormonów steroidowych, zaobserwować można co najmniej po kilku godzinach od ekspozycji. Cząsteczka steroidowa po wnikięciu do cytoplazmy przyłącza się do kompleksu receptorowego. Receptor w formie nieaktywnej jest połączony z białkami opiekuńczymi Hsp70, Hsp90 i p23 oraz immunofilinami z rodziny białek FK506. Po związaniu steroidowego liganda następuje oddysocjowanie białek opiekuńczych, fosforylacja (aktywacja) receptora, który, jako homodimer, przemieszcza się do jądra. Tam ulega kolejnej dimeryzacji i razem z koregulatorami przyłącza się do odpowiedniego fragmentu DNA, tzw. elementu HRE (ang. hormone-response element). Koregulatory albo promują transkrypcję (koaktywatory, np. SRC-1; ang. steroid receptor co-activator) albo ją hamują (korepresory, np. NCoR; ang. nuclear receptor corepressor). Poprzez mechanizm genomowy hormony steroidowe wpływają m.in. na działanie klasycznych neuroprzekaźników regulujących ich syntezę, metabolizm i gęstość ich receptorów. Przykładowo, kortykosteron (glikokortykosteroid występujący u gryzoni) nasila aktywność enzymów syntetyzujących neuroprzekaźniki (noradrenalinę czy serotoninę) w ośrodkowym układzie nerwowym, z kolei przedstawiciel estrogenów 17β -estradiol wpływa na liczbę receptorów dla hormonu oksytocyny, receptorów GABA_A czy receptorów serotoninowych (BIEGON i MCEWEN 1982, SCHUMACHER i współaut. 1989). Inny sposób

Słowa kluczowe: depresja, drgawki, neurosteroidy, receptor GABA_A, receptor NMDA

Ryc. 1 Schemat działania steroidów – różne mechanizmy receptorowe.

ER – siateczka śródplazmatyczna; BO – białka opiekuńcze; P – grupy fosforylowe; HRE – sekwencja DNA przylgająca kompleks receptorowy; GPER – receptor błonowy dla estradiolu; cAMP – cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan; PI3K – kinaza fosfatidyloinozytolu; MAPK – kinazy aktywowane mitogenami; IP3 – receptor trójfosforanu inozytolu.

działania estradiolu (ang. rapid signaling) to aktywacja błonowego receptora GPER. Receptor ten występuje w błonie komórkowej i w wewnątrzkomórkowych błonach siateczki śródplazmatycznej (ang. endoplasmic reticulum, ER) i aparatu Golgiego. Jego pobudzenie może modulować wewnątrzkomórkowe stężenie Ca^{2+} , produkcję cAMP oraz wpływać na aktywność enzymów: kinazy PI3K (ang. phosphatidylinositol 3-kinase) czy kinaz aktywowanych mitogenem MAPKs (ang. mitogen-activated protein kinases) (ROQUE i współaut. 2019). W ten sposób hormon ten reguluje uwalnianie neurotrofin i wiele procesów komórkowych takich jak: wzrost komórek, ich przeżycie, migrację czy tworzenie nowych naczyń krwionośnych.

Innym szybkim rodzajem oddziaływania steroid-receptor charakteryzują się neurosteroidy syntetyzowane w OUN i wywierające natychmiastowy efekt na aktywność neuronów, a różniące się od klasycznych hormonów steroidowych mechanizmem działania. Neurosteroidy są i prekursorami i metabolitami hormonów steroidowych, jednak określone cechy w budowie ich cząsteczki umożliwiają im interakcję z receptorami in-

nymi niż steroidowe. Nazwa „neurosteroidy” pojawiła się po raz pierwszy w pracy BAULIEU i ROBET (1990) i oznaczała steroidy syntetyzowane w mózgu, natomiast PAUL i PURDY (1992) posługiwali się nazwą „neuroaktywne steroidy”, która oznaczała steroidy syntetyzowane w gruczołach obwodowych, ale działające na ośrodkowy układ nerwowy. Obecnie obie nazwy są używane głównie dla steroidów syntetyzowanych w mózgu i działających za pośrednictwem jonotropowych receptorów błonowych, głównie hamujących receptorów $GABA_A$ i pobudzających NMDA (REDDY 2003, AKK i współaut. 2009). Ze względu na modulacyjny charakter oddziaływania neurosteroidów z receptorami jonotropowymi i bezpośredni wpływ na pobudliwość neuronów, stanowią one ciekawą grupę związków, które mogłyby znaleźć zastosowanie w terapii niektórych zaburzeń OUN.

NEUROSTEROIDY – SYNTEZA I PODZIAŁ

„Fabryka” neurosteroidów znajduje się w komórkach glejowych: astrocytach i oligodendrocytach i neuronach (JUNG-TESTAS

Ryc. 2 Główne szlaki syntezy neurosteroidów.

OH – hydroksylaza; HSD – dehydrogenaza hydroksysteroidowa; HSOR – oksydoreduktaza hydroksysteroidowa; R – reduktaza.

i współaut. 1989). Dzięki obecności enzymów w komórkach mózgu, neurosteroidy mogą w nich powstawać niezależnie od dostaw z obwodu. Substratem do ich syntezy jest cholesterol lub prekursorzy hormonów steroidowych pochodzące ze źródeł obwodowych. Prekursory steroidowe łatwo i szybko przenikają do mózgu, stanowiąc niewyczerpalne źródło substratów do biosyntezy neurosteroidów. Cały proces produkcyjny rozpoczyna się od przemieszczenia cząsteczki cholesterolu z zewnętrznej do wewnętrznej części błony mitochondrialnej, przy czym uczestniczą w tym wyspecjalizowane białka,

które działają jak „prom” pomiędzy błonami, a są to: białko StAR (ang. steroidogenic acute regulatory protein), białko TSPO (ang. translocator protein), kanał anionowy zależny od napięcia VDAC (ang. voltage-dependent anion channel) i białko ATAD3A należące do rodziny ATP-az (ang. ATPase family AAA-domain containing protein 3A). Dzięki tym wyspecjalizowanym cząsteczkom, cholesterol dociera do właściwego miejsca w obrębie mitochondrium, gdzie rozpoczyna się proces syntezy (DIOTEL i współaut. 2018). Po „zakotwiczeniu” cholesterolu w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, jego

Neurosteroidy hamujące

Neurosteroidy pobudzające

Ryc. 3 Wzory strukturalne neurosteroidów hamujących i pobudzających.

boczny łańcuch ulega odsczczeniu przy udziale cytochromu P-450scc (ang. side chain cleavage) i powstaje pregnenolon – pierwszy neurosteroid i zarazem główny prekursor hormonów i innych neurosteroidów, po czym w kolejnych etapach odpowiednie enzymy doprowadzają do powstania szeregu różnych pochodnych steroidowych (STOFFEL-WAGNER 2003). Pod wpływem dehydrogenazy 3β -hydroksysteroidowej i $\Delta 5,4$ -izomerazy powstaje hormon progesteron, natomiast pod wpływem 17α -hydroksylazy i $17,20$ -liazy powstaje neurosteroid dehydroepiandrosteron. Następnie, przy udziale 5α -reduktazy i oksydoreduktazy 3α -hydroksysteroidowej, z progesteronu powstaje allopregnanolon, z 11-deoksykortykosteronu tetrahydrodeoksykortykosteron, z androstendionu 5α -androstan- 3α -ol-17-on, czyli androsteron, który jest i hormonem i neurosteroidem, natomiast z testosteronu 5α -androstan- $3\alpha,17\beta$ -diol. (Ryc. 2)

Powstałe w tych przemianach cząsteczki steroidowe posiadające w swej budowie chemicznej zredukowany pierścień A i grupę hydroksylową w pozycji 3α – stają się „kluczem do zamka”, czyli hamującego receptora $GABA_A$ (Ryc. 3). Ze względu na strukturę chemiczną, neurosteroidy można podzielić na: pochodne pregnanu – allopregnanolon (ALLOP), allotetrahydrodeoksykortykosteron (THDOC), pochodne androstanu – androstanediol, androsteron oraz pochodne siarczanowe – siarczan pregnenolonu (PS) i siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEAS). Ze względu na rodzaj oddziaływania w mózgu neurosteroidy możemy podzielić na hamujące, czyli takie, które aktywują receptor $GABA_A$ – ALLOP, THDOC, oraz pobudzające, czyli takie, które aktywują receptor NMDA – PS i DHEAS (Ryc. 3). Neurosteroidy pobudzające, czyli dehydroepiandrosteron i pregnenolon, występują w mózgu w wysokim stężeniu, w postaci wolnej lub jako estru kwasu siarkowego, a ich stężenie w małym stopniu zależy od wydzielania obwodowego.

NEUROSTEROIDY I RECEPTOR $GABA_A$

Receptor $GABA_A$ jest pentamerycznym kompleksem białkowym, w skład którego wchodzi 4 podjednostki polipeptydowe (α , β , γ , δ) ułożone w określonych kombinacjach i tworzące ściany kanału chlorkowego. Skład podjednostkowy determinuje stopień i sposób działania związków modulujących przepływ jonów chlorkowych. Postsynaptyczne receptory $GABA_A$ zbudowane są z dwóch podjednostek α , dwóch β i jednej γ , natomiast receptory zlokalizowane na zewnątrz synapsy mają dwie podjednostki α , dwie β i jedną δ . Aktywacja receptora $GABA_A$ prowadzi do

napływu jonów chlorkowych do wnętrza komórki, hiperpolaryzacji błony komórkowej i, w konsekwencji, do obniżenia pobudliwości. Wyróżnia się dwa rodzaje hamującej neurotransmisji $GABA$ -ergicznej: fazową i toniczną. Hamowanie fazowe odpowiada za szybką transmisję sygnału z jednego neuronu do drugiego (przerzywane uwalnianie wysokich stężeń $GABA$ z zakończeń presynaptycznych) i zachodzi za pośrednictwem receptorów zlokalizowanych w obrębie synapsy. Hamowanie toniczne natomiast reguluje pobudliwość sieci neuronalnej poprzez ciągłą aktywację receptorów zlokalizowanych na zewnątrz szczeliny synaptycznej przez niskie stężenia $GABA$. Hamowanie toniczne odgrywa przede wszystkim rolę w kontroli pobudliwości hipokampa. W obrębie kompleksu receptora $GABA_A$, obok głównego miejsca wiązania neuroprekaźnika, występuje wiele miejsc regulatorowych, wiążących m.in. związki uspokajające/nasenne jak: benzodiazepiny i barbiturany, neurosteroidy, oraz miejsca przyłączania antagonistów (pikrotoksyna, bikukulina – toksyny wywołujące drgawki) (Ryc. 4). Efekt farmakologiczny tych związków uzależniony jest od kompozycji podjednostek receptora. Badania biochemiczne i elektrofizjologiczne dowiodły, że neurosteroidy są endogennymi modulatorami receptora $GABA_A$ i to zarówno pozytywnymi, jak i negatywnymi. Uważa się, że istnieją co najmniej trzy różne miejsca wiążące neurosteroidy na receptorze $GABA_A$: miejsce allosterycznej i bezpośredniej aktywacji receptora (allopregnanolon, THDOC) oraz miejsce przyłączania neurosteroidu pobudzającego (siarczan pregnenolonu) (HOSIE i współaut. 2007). Wśród neurosteroidów wykazujących wysokie powinowactwo do receptora i będących agonistami należą m.in.: allopregnanolon, pregnanolon, THDOC, androsteron oraz syntetyczne neurosteroidy, jak alfaksalon czy ganaksolon. Neurosteroidy, oprócz bezpośredniej aktywacji receptora, mogą również działać pośrednio, poprzez nasilanie lub hamowanie wiązania innych ligandów. W stężeniach nanomolarnych wzmagają działanie kwasu $GABA$ oraz nasilają wiązanie do receptora $GABA_A$ muscimolu (alkaloid występujący w muchomorach, agonista receptora $GABA_A$) i benzodiazepin, natomiast allosterycznie hamują wiązanie t-butylobicyklofosforotianu (TBPS, silny antagonist receptoru $GABA_A$). W wysokich stężeniach mikromolarnych neurosteroidy bezpośrednio mogą otwierać kanał chlorkowy (MAJEWSKA i współaut. 1986). Działanie zwiększające przepływ prądów chlorkowych zachodzi poprzez wzrost częstotliwości i czasu otwarcia kanału. Ułożenie grupy hydroksylowej w pozycji 3β zmienia profil działania neurosteroidów z agonistycznego na antagonistyczny, ale takie pochodne działają tyl-

Ryc. 4 Kompleks receptorowy GABA_A.

α , β , γ , δ – podjednostki białkowe otaczające kanał jonowy; GABA–główny agonista, Pikrotoksyna–antagonista, Barbiturany, Benzodiazepiny–agoniści, Neurosteroidy: (+) modulatory pozytywne, (-) modulatory negatywne.

ko w wysokich mikromolarnych stężeniach. Neurosteroidy pobudzające, do których należą pregnenolon i dehydroepiandrosteron (również w formie siarczanów), są negatywnymi allosterycznymi modulatorami receptora GABA_A, jednak ich właściwości nie są identyczne. Uważa się, że siarczan pregnenolonu ma działanie mieszane agonistyczno-antagoni-

styczne. W nanomolarnych stężeniach nasila, a w mikromolarnych hamuje wiązanie innych agonistów do receptora GABA_A. Siarczan dehydroepiandrosteronu, w przeciwieństwie do siarczanu pregnenolonu, nie wpływa na wiązanie innych ligandów do receptora GABA_A (MAJEWSKA i współaut. 1990). Przyłączenie grupy siarczanowej do cząsteczki neuroste-

Ryc. 5 Schemat receptora NMDA – rodzaje ligandów; NR1, NR2B – podjednostki tworzące kanał jonowy.

roidu może odwracać kierunek modulacji receptora z pozytywnego na negatywny, który to proces może być ważnym mechanizmem kontrolującym aktywność endogennych neurosteroidów.

NEUROSTEROIDY I RECEPTOR NMDA

Obok wpływu na hamujący system GABA-ergiczny, niektóre neurosteroidy mogą również modulować układ pobudzających aminokwasów poprzez wpływ na glutaminianergiczne receptory NMDA (skrót pochodzi od agonisty – kwasu N-metylo-D-asparaginowego). Siarczan pregnenolonu i siarczan dehydroepiandrosteronu są jego pozytywnymi modulatorami (WU i współaut. 1990). Receptor ten, podobnie jak receptor GABA_A, zbudowany jest z podjednostek białkowych tworzących kanał jonowy, przepuszczalny dla jonów Na⁺, Ca²⁺, K⁺ (Ryc. 5). Ligandy receptora NMDA, w zależności od ułożenia poszczególnych podjednostek, modulują jego aktywację. Stymulacja miejsca receptorowego przez agonistę powoduje otwarcie kanału wapniowego, napływ zewnątrzkomórkowego wapnia do wnętrza komórki i powstanie prądu jonowego. W obrębie kompleksu receptora NMDA istnieje wiele „stacji dokujących” dla różnych związków chemicznych: miejsce wiążące neuroprzekaznik, czyli kwas glutaminowy, miejsca modulacyjne: glicynowe, poliaminowe i miejsce wiążące jony Zn²⁺. Wewnątrz kanału znajduje się miejsce, do którego wiążą się związki blokujące receptor NMDA, oraz miejsce wiążące jony Mg²⁺ (DANYSZ 1992) (Ryc. 5). Siarczanowe pochodne neurosteroidów, czyli PS i DHEAS, zalicza się do pozytywnych modulatorów pobudzającego receptora NMDA, przy czym do aktywacji receptora i powstania prądu jonowego wymagane są wyższe mikromolarne stężenia neurosteroidów. W licznych badaniach elektrofizjologicznych wykazano, że siarczan pregnenolonu zwiększa częstość i średni czas otwarcia kanału, podnosi indukowane przez NMDA wewnątrzkomórkowe stężenie jonów Ca²⁺ w hodowli neuronów hipokampa oraz nasila neurotoksyczne efekty NMDA (IRWIN i współaut. 1992).

INNE MIEJSCA WIĄŻĄCE DLA NEUROSTEROIDÓW

Neurosteroidy wywierają wpływ na funkcjonowanie OUN również poprzez inne receptory i kanały jonowe. Obok receptorów GABA_A i NMDA, punktem uchwytu dla siarczana pregnenolonu i siarczana dehydroepiandrosteronu są receptory sigma 1, które występują w mózgu w dużej gęstości i modulują różne procesy zależne od jonów Ca²⁺: fizjologiczne (procesy uczenia się i pamięci) i

patologiczne (lęk, uzależnienia czy neurodegeneracje). Receptory sigma zlokalizowane są w błonie siateczki śródplazmatycznej i pełnią funkcję białek opiekuńczych, na poziomie molekularnym mogą tworzyć kompleksy z receptorem IP3 (ang. 1,4,5-trisphosphate inositol receptor) czy innymi białkami szoku cieplnego, uczestnicząc w kontroli sygnału wapniowego. Pod wpływem niektórych ligandów może zachodzić proces rozłączania białek opiekuńczych, ułatwiając interakcję receptora sigma z innymi receptorami, np. kanałami jonowymi (TSAI i współaut. 2009). Siarczan pregnenolonu i siarczan dehydroepiandrosteronu działają jako pozytywne modulatory receptorów sigma. Mogą one aktywować specyficzne enzymy – kinazy zależne od jonów wapnia: CaMKII (ang. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II), PKC (ang. protein kinase C) i ERK (ang. extracellular signal-activated kinase), wywołując efekty neuroprotektoryjne i poprawiając procesy poznawcze i pamięciowe w różnych modelach eksperymentalnych (REBAS i współaut. 2017). Neurosteroidy pobudzające osłabiają efekty antagonistów receptora NMDA i zapobiegają deficytom pamięci, pobudzając tworzenie kompleksów receptorów sigma z podjednostkami NR2 receptor NMDA i przemieszczanie się podjednostek do błony komórkowej (MORALES-LÁZARO i współaut. 2019). Modulacyjny, wielokierunkowy wpływ neurosteroidów na jonotropowe receptory w OUN sprawia, że uczestniczą one w regulacji równowagi pomiędzy systemami hamujących i pobudzających aminokwasów w ośrodkowym układzie nerwowym, a więc w mechanizmach stanowiących podstawę procesów m.in.: uczenia się i pamięci, stresu, zaburzeń lękowych, zaburzeń depresyjnych czy stanów drgawkowych.

Innym ciekawym punktem uchwytu dla neurosteroidów jest białko związane z mikrotubulami (ang. microtubule associated protein type-2, MAP-2). Jest ono specyficznym, wewnątrzkomórkowym neuronalnym receptorem dla pregnenolonu. Pregnenolon, wiążąc się z tym białkiem, staje się modulatorem neuronalnego systemu mikrotubularnego, wpływając na stabilizację cytoszkieletu i wzrost neurytów (BAULIEU 2018). Neurosteroidy działają więc wielotorowo i mogą uczestniczyć w różnych procesach fizjologicznych i patofizjologicznych.

NEUROSTEROIDY – EFEKTY W ZABURZENIACH OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Skutkiem współdziałania neurosteroidów z hamującymi i pobudzającymi receptorami jonotropowymi jest bezpośredni wpływ na neuroprzekaznictwo sygnałów w sieciach

neuralnych. Działanie neurosteroidów, pochodnych 3α -pregnanu, w ośrodkowym układzie nerwowym związane jest głównie z ich agonistycznym wpływem na hamujący receptor $GABA_A$. W związku z tym, allopregnanolon pobudzając ten receptor może uspokoić, uśpić i uciszyć nadmiernie pobudzone neurony (REDDY 2003). Liczne badania na modelach zwierzęcych potwierdziły korzystną rolę neurosteroidów w zaburzeniach lękowych, stresie, depresji i stanach drgawkowych (Ryc. 6). Działanie przeciwlękowe hamujących neurosteroidów jest blokowane przez antagonistów receptora $GABA_A$, co dowodzi udziału transmisji $GABA$ -ergicznej w procesach lękowych. Podczas stosowania leków przeciwlękowych z grupy specyficznych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny (ang. selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI), tj. fluoksetyna czy fluwoksamina, zaobserwowano znaczący wzrost stężenia allopregnanolonu w mózgu. Okazało się, że oprócz działania zwiększającego stężenie serotoniny, leki z grupy SSRI zwiększają syntezę hamujących neurosteroidów poprzez bezpośredni wpływ na aktywność enzymów w procesie steroidogenezy. Ten efekt leków może być jednym z mechanizmów działania przeciwlękowego. W badaniach klinicznych obserwowano obniżone poziomy allopregnanolonu we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z depresją, który wracał do normy w trakcie terapii lekami przeciwdepresyjnymi. Szczególną jednostką chorobową, w której obserwuje się skuteczne działanie allopregnanolonu, jest depresja poporodowa. Nagły spadek stężenia progesteronu po porodzie oraz zaburzenie osi podwzgórze-przysadka mózgowa-nadnercza powoduje zaburzenie równowagi między procesami pobudzenia i hamowania, co może prowadzić do nadpobudliwości, czyli zachowań lęko-

wych i depresyjnych. Podczas gdy u wielu kobiet w okresie okołoporodowym obserwuje się niewielkie i przejściowe zmiany nastroju, to jednak depresja poporodowa jest poważnym, długo trwającym, niekorzystnym stanem chorobowym. Allopregnanolon, który wzmacnia toniczne hamowanie poprzez receptor $GABA_A$, odwraca te zmiany, co wykazano w badaniach przedklinicznych i klinicznych. Pozytywne, potwierdzone korzystne efekty allopregnanolonu stały się podstawą do dopuszczenia go, pod nową nazwą breksanolon (zbuforowany izotoniczny roztwór allopregnanolonu), w 2019 r. do stosowania u kobiet cierpiących na depresję poporodową. Dożylny wlew breksanolonu powoduje szybką i trwałą poprawę nastroju, co potwierdza hipotezę, że bezpośrednie zwiększenie stężenia neurosteroidu jest wysoce skuteczne w terapii tego rodzaju depresji (SCARFF 2019). Innym obiecującym syntetycznym neurosteroidem pochodnym allopregnanolonu, będącym w zaawansowanej fazie badań klinicznych, jest zuranolon (SGE-217), który, co jest dodatkowym atutem, jest aktywny po podaniu doustnym, i w badaniach klinicznych wykazuje wysoką skuteczność w leczeniu zaburzeń depresyjnych u kobiet i mężczyzn (ZORUMSKI i współaut. 2019). Wprowadzanie neurosteroidów z grupy pochodnych pregnanu do terapii zaburzeń depresyjnych u ludzi potwierdza ich skuteczność oraz dobry profil farmakologiczny. Z drugiej strony, przedstawiciel neurosteroidów pobudzających, dehydroepiandrosteron, od kilkadziesiąt lat jest dostępny na rynku jako suplement diety nazywany „hormonem lub eliksirem młodości”, który ma poprawiać pamięć, opóźniać efekty starzenia i odnawiać układ immunologiczny, jednak w badaniach klinicznych nie pojawiła się jednoznaczna odpowiedź czy rzeczywiście jest on tak skuteczny. Jednak w podstawo-

Ryc. 6 Efekty działania neurosteroidów hamujących i pobudzających w ośrodkowym układzie nerwowym.

wych badaniach eksperymentalnych wykazano jego istotną rolę w procesach uczenia się i pamięci, procesach neuroprotekcyjnych, procesie neurogenezy oraz zaburzeniach depresyjnych. W modelach uczenia się i pamięci neurosteroidy pobudzające okazują się być pozytywnymi modulatorami, wyrównującymi deficyty pamięci wywoływane antagonistami receptora NMDA, agonistami receptora muskarynowych czy etanolem, również działanie przeciwłękowe i przeciwdepresyjne wykazano w niektórych modelach behawioralnych, a ich uspokajające efekty tłumaczy się stymulującym wpływem na receptory sigma1 (MAURICE i współaut. 1999, DHIR i KULKARNI 2008). Dysfunkcje poznawcze związane są ze spadkiem stężenia dehydroepiandrosteronu w procesie starzenia i chorobie Alzheimer'a. Przywrócenie prawidłowego poziomu pobudzających neurosteroidów daje korzystne rezultaty w postaci wyrównania deficytów pamięciowych i poprawy funkcji poznawczych (REDDY 2003, KLINGE i współaut. 2018). Niskie poziomy DHEA obserwuje się również u pacjentów z depresją, a wyrównanie jego poziomu istotnie poprawia nastrój. Dobre efekty obserwuje się w skojarzonym podawaniu klasycznych leków przeciwdepresyjnych z DHEA, jednak mechanizm tego oddziaływania nie jest do końca poznany. Przedmiotem badań eksperymentalnych jest również związek MAP4343 (3 β -metoksypregnenolon), który jest syntetyczną pochodną pregnenolonu bez działania hormonalnego. Podobnie jak pregnenolon, MAP4343 wiąże się do białka MAP-2, modyfikując funkcje systemu mikrotubularnego. W modelach zwierzęcych jest to związek bardzo aktywny, działa przeciwłękowo i przeciwdepresyjnie, jednak pozostaje do wyjaśnienia, czy jego wpływ na zmiany izoform białka tubuliny ma związek z procesami lęku i depresji (PARÉSYS i współaut. 2016).

Neurosteroidy (pochodne 3 α -pregnanu), agoniści receptora GABA_A, okazały się niezwykle skutecznymi związkami przeciwdrgawkowymi, co zostało wykazane w wielu modelach eksperymentalnych z użyciem substancji wywołujących drgawki o różnym mechanizmie działania. Przede wszystkim hamujące neurosteroidy są skuteczne w drgawkach wywołanych antagonistami receptora GABA_A, czyli pikrotoksyną, bikulina czy pentylenetetrazolem. Posiadają jednak szersze spektrum działania, wykazując efekty przeciwdrgawkowe w modelach drgawek wywołanych kwasem kainowym, NMDA, pilokarpiną, nikotyną, kokainą i penicyliną (LEŚKIEWICZ i współaut. 1997, BUDZISZEWSKA i współaut. 1998). Zmiany w poziomach hormonów u kobiet z napadami padaczkowymi mają wpływ na pobudliwość

drgawkową, a przy obniżonym poziomie progesteronu zwiększa się prawdopodobieństwo napadu drgawkowego (ROŚCISZEWSKA i współaut. 1986). Istnieje więc odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem progesteronu i jego pochodnych a podatnością na wystąpienie drgawek. Skuteczne przeciwdrgawkowe efekty hamujących neurosteroidów skłoniły badaczy do poszukiwania syntetycznych pochodnych allopregnanolonu, o lepszej biodostępności, trwałości i bez aktywnych metabolitów. W 1989 r. PETERSON wykazał przeciwdrgawkowe efekty preparatu „Saffan”, środka znieczulającego, będącego mieszaniną syntetycznych neurosteroidów: alfaksalonu i alfadolonu. Innym skutecznym związkiem przeciwdrgawkowym okazał się syntetyczny analog allopregnanolonu, ganaksolon (ang. *Ganaxolone* 3 β -methyl-3 α -ol-5 α -pregnan-20-one), różniący się od allopregnanolonu dodatkową grupą metylową w pozycji 3 β . Taki układ struktury chemicznej zapewnia stabilność związku, zapobiega przekształcaniu do hormonalnych prekursorów i zwiększa biodostępność po podaniu doustnym. Ponadto, w przeciwieństwie do benzodiazepin, wielokrotne podania ganaksolonu nie doprowadzają do rozwoju tolerancji oraz istnieje większa różnica pomiędzy dawką przeciwdrgawkową a nasenną (GAŚIOR i współaut. 2000). W związku z wysoką przeciwdrgawkową skutecznością ganaksolonu w badaniach eksperymentalnych, jest on obecnie w fazie badań klinicznych pod kątem skutecznego działania przeciwpadaczkowego w jednostkach chorobowych takich jak: padaczka oporna na leczenie, padaczka o podłożu genetycznym u dzieci i stan padaczkowy (YOUNUS i REDDY 2018, CHUANG i REDDY 2020). Obecnie prowadzone są również badania kliniczne dotyczące zastosowania alfaksalonu (3-hydroksy-5 α -pregnan-11,20-dion) jako środka znieczulającego u ludzi. Preparat zawierający alfaksalon – Alfaxan, jest aktualnie stosowany jako środek znieczulający w weterynarii, natomiast Phaxan (roztwór alfaksalonu z cyklodekstryną do stosowania dożylnego) jest w trakcie badań klinicznych u ludzi. Wyniki licznych badań wskazują, że zarówno endogenne, jak i syntetyczne pochodne neurosteroidów hamujących, cechujące się lepszą biodostępnością i brakiem działania hormonalnego, mogą znaleźć zastosowanie w klinice potwierdzając ich skuteczność w procesach związanych z nasilaniem hamującej transmisji GABA-ergicznej.

PODSUMOWANIE

Ośrodkowe efekty neurosteroidów były i są nadal przedmiotem badań eksperymentalnych w modelach chorób takich jak: depre-

sja, schizofrenia, zaburzenia lękowe, drgawkowe czy zaburzenia pamięci. Neurosteroidy hamujące i pobudzające, modulując funkcje mózgowych receptorów jonotropowych, mogą „uspokajać” nadmiernie pobudliwe neurony działając nasennie, przeciwlękowo, przeciwdepresyjnie i przeciwdrgawkowo, jak również wyrównywać deficyty poznawcze i pamięciowe, poprawiać nastrój, przywracając tym samym równowagę w niektórych zaburzeniach OUN. Z uwagi na fakt, że terapia zaburzeń psychicznych wiąże się z koniecznością długotrwałego stosowania leków, często ze słabym działaniem i niepożądanymi skutkami ubocznymi, wprowadzanie do badań klinicznych endogennych i syntetycznych neurosteroidów o bezpiecznym profilu farmakologicznym wydaje się bardzo obiecujące.

Streszczenie

Neurosteroidy są ciekawą grupą związków steroidowych, które mogą być syntetyzowane w komórkach ośrodkowego układu nerwowego i modulować aktywność jonotropowych receptorów błonowych. W działaniu steroidów można wyróżnić trzy ścieżki receptorowe. Pierwsza klasyczna, to aktywacja wewnątrzkomórkowych receptorów steroidowych i regulacja transkrypcji genów, druga, nazywana niegenomową, wiąże się z pobudzeniem receptorów błonowych i aktywacją szlaków przekazu sygnału, i trzeci typ oddziaływania, to interakcja z receptorami jonotropowymi: receptorem kwasu γ -aminomasłowego ($GABA_A$), receptorem N-metylo-D-asparaginowym (NMDA) i receptorami sigma. Neurosteroidy, modulując działanie tych receptorów, mogą zmieniać pobudliwość neuronów i dzięki temu uczestniczyć w procesach związanych z neuroprzekaznictwem hamującym i pobudzającym, działając m.in. uspokajająco, nasennie, przeciwdrgawkowo czy wpływając na procesy poznawcze. Skuteczność endogennych i syntetycznych neurosteroidów w modelach eksperymentalnych jest potwierdzana w próbach klinicznych zaburzeń depresyjnych, padaczkowych oraz jako środki znieczulające.

LITERATURA

- AKK G., COVEY D. F., EVERS A. S., STEINBACH J. H., ZORUMSKI C. F., MENNERICK S., 2009. *The influence of the membrane on neurosteroid actions at GABA(A) receptors*. Psychoneuroendocrinology 34 (Suppl 1), S59-66.
- ATKINSON R. M., DAVIS B., PRATT M. A., SHARPE H. M., TOMICH E. G., 1965. *Action of some steroids on the central nervous system of the mouse. II. Pharmacology*. J. Med. Chem. 8, 426-432.
- BAULIEU E. E., 2018. *Steroids and brain, a rising bio-medical domain: a perspective*. Front. Endocrinol. 15, 316.
- BAULIEU E. E., ROBEL P., 1990. *Neurosteroids: a new brain function?* J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 37, 395-403.
- BIEGON A., MCEWEN B. S., 1982. *Modulation by estradiol of serotonin receptors in brain*. J. Neurosci. 2, 199-205.
- BUDZISZEWSKA B., SIWANOWICZ J., LEŚKIEWICZ M., JAWORSKA-FEIL L., LASOŃ W., 1998. *Protective effects of neurosteroids against NMDA-induced seizures and lethality in mice*. Eur. Neuropsychopharmacol. 8, 7-12.
- CHUANG S. H., REDDY D. S., 2020. *Isobolographic analysis of antiseizure activity of the GABA type A receptor-modulating synthetic neurosteroids brexanolone and ganaxolone with tiagabine and midazolam*. J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 372, 285-298.
- DANYSZ W., 1992. *Kompleks receptora NMDA. Pobudzające aminokwasy*, IX Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN, Mogilany, Ed. Pilc A., 15-25.
- DHIR A., KULKARNI S., 2008. *Involvement of sigma (sigma1) receptors in modulating the anti-depressant effect of neurosteroids (dehydroepiandrosterone or pregnenolone) in mouse tail-suspension test*. J. Psychopharmacol. 22, 691-696.
- DIOTEL N., CHARLIER T. D., LEFEBVRE D'HELLEN-COURT C., COURET D., TRUDEAU V. L., NICOLAU J. C., MEILHAC O., KAH O., PELLEGRINI E., 2018. *Steroid transport, local synthesis, and signaling within the brain: roles in neurogenesis, neuroprotection, and sexual behaviors*. Front. Neurosci. 20, 84.
- GASIOR M., UNGARD J. T., BEEKMAN M., CARTER R. B., WITKIN J. M., 2000. *Acute and chronic effects of the synthetic neuroactive steroid, ganaxolone, against the convulsive and lethal effects of pentylenetetrazol in seizure-kindled mice: comparison with diazepam and valproate*. Neuropharmacology 39, 1184-1196.
- GASSER P. J., LOWRY C. A., 2018. *Organic cation transporter 3: A cellular mechanism underlying rapid, non-genomic glucocorticoid regulation of monoaminergic neurotransmission, physiology, and behavior*. Horm. Behav. 104, 173-182.
- HOSIE A. M., WILKINS M. E., SMART T. G., 2007. *Neurosteroid binding sites on GABA(A) receptors*. Pharmacol. Therapeut. 116, 7-19.
- IRWIN R. P., MARAGAKIS N. J., ROGAWSKI M. A., PURDY R. H., FARF D. H., PAUL S. M., 1992. *Pregnenolone sulfate augments NMDA receptor mediated increases in intracellular Ca^{2+} in cultured rat hippocampal neurons*. Neurosci. Lett. 141, 30-34.
- JUNG-TESTAS I., HU Z. Y., BAULIEU E. E., ROBEL P., 1989. *Neurosteroids: biosynthesis of pregnenolone and progesterone in primary cultures of rat glial cells*. Endocrinology 125, 2083-2091.
- KLINGE C. M., CLARK B. J., PROUGH R. A. 2018. *Dehydroepiandrosterone research: past, current, and future*. Vitam. Horm. 108, 1-28.
- LEŚKIEWICZ M., BUDZISZEWSKA B., JAWORSKA-FEIL L., LASOŃ W., 1997. *Effects of neurosteroids on kainate-induced seizures, neurotoxicity and lethality in mice*. Pol. J. Pharmacol. 49, 411-417.
- MAJEWSKA M. D., HARRISON N. L., SCHWARTZ R. D., BARKER J. L., PAUL S. M., 1986. *Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor*. Science 232, 1004-1007.
- MAJEWSKA M. D., DEMIRGÖREN S., LONDON E. D., 1990. *Binding of pregnenolone sulfate to rat brain membranes suggests multiple sites of steroid action at the GABAA receptor*. Eur. J. Pharmacol. 189, 307-315.
- MAURICE T., PHAN V. L., URANI A., KAMEI H., NODA Y., NABESHIMA T., 1999. *Neuroactive neurosteroids as endogenous effectors for the sigma1 (sigma1) receptor: pharmacological evidence and therapeutic opportunities*. Jap. J. Pharmacol. 81, 125-155.
- MORALES-LÁZARO S. L., GONZÁLEZ-RAMÍREZ R., ROSENBAUM T., 2019. *Molecular interplay be-*

- tween the sigma-1 receptor, steroids, and ion channels. *Front. Pharmacol.* 10, 1-12.
- PAUL S. M., PURDY R. H., 1992. *Neuroactive steroids*. *FASEB J.* 6, 2311-2322.
- PETERSON S. L., 1989. *Anticonvulsant profile of anaesthetic steroids*. *Neuropharmacology* 28, 877-879.
- PARÉSYS L., HOFFMANN K., FROGER N., BIANCHI M., VILLEY I., BAULIEU E. E., FUCHS E., 2016. *Effects of the synthetic neurosteroid: 3 β -methoxy-pregnenolone (MAP4343) on behavioral and physiological alterations provoked by chronic psychosocial stress in tree shrews*. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 20, doi: 10.1093/ijnp/pyv119.
- REBAS E., RADZIK T., BOCZEK T., ZYLINSKA L., 2017. *Calcium-engaged mechanisms of nongenomic action of neurosteroids*. *Curr. Neuropharmacol.* 15, 1174-1191.
- REDDY D. S., 2003. *Pharmacology of endogenous neuroactive steroids*. *Crit. Rev. Neurobiol.* 15, 197-234.
- ROQUE C., MENDES-OLIVEIRA J., DUARTE-CHENDO C., BALTAZAR G., 2019. *The role of G protein-coupled estrogen receptor 1 on neurological disorders*. *Front. Neuroendocrinol.* 55, 100786.
- ROŚCISZEWSKA D., BUNTNER B., GUZ I., ZAWISZA L., 1986. *Ovarian hormones, anticonvulsant drugs, and seizures during the menstrual cycle in women with epilepsy*. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 49, 47-51.
- SCARFF J. R., 2019. *Use of brexanolone for postpartum depression*. *Innovat. Clin. Neurosci.* 16, 32-35.
- SCHUMACHER M., COIRINI H., FRANKFURT M., MCEWEN B. S., 1989. *Localized actions of progesterone in hypothalamus involve oxytocin*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 6798-6801.
- SELYE H., 1942. *The antagonism between anaesthetic steroid hormones and pentamethylenetetrazol (metrazol)*. *J. Lab. Clin. Med.* 27, 1051-1053.
- SINGH M., SU C., NG S., 2013. *Non-genomic mechanisms of progesterone action in the brain*. *Front. Neurosci.* 7, 159, 1-7.
- STOFFEL-WAGNER B., 2003. *Neurosteroid biosynthesis in the human brain and its clinical implications*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1007, 64-78.
- TSAI S.-Y., HAYASHI T., MORI T., SU T.-P., 2009. *Sigma-1 receptor chaperones and diseases*. *Central Nervous Syst. Agents Med. Chem.* 9, 184-189.
- WU F. S., GIBBS T. T., FARB D. H., 1991. *Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor*. *Mol. Pharmacol.* 40, 333-336.
- YOUNUS I., REDDY D. S., 2018. *A resurging boom in new drugs for epilepsy and brain disorders*. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 11, 27-45.
- ZORUMSKI C. F., PAUL S. M., COVEY D. F., MENERICK S., 2019. *Neurosteroids as novel antidepressants and anxiolytics: GABA-A receptors and beyond*. *Neurobiol. Stress* 27, 100196.

KOSMOS Vol. 69, 3, 431-440, 2020

MONIKA LEŚKIEWICZ

Department of Experimental Neuroendocrinology, Maj Institute of Pharmacology PAS, 12 Smečna St., 31-343 Krakow, E-mail: leskiew@ijf-pan.krakow.pl

NEUROSTEROIDS – MODULATORS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Summary

Neurosteroids are an interesting group of steroid compounds that can be synthesized in the cells of the central nervous system and modulate the activity of ionotropic membrane receptors. There are three receptor pathways in the action of steroids. The first classic is the activation of intracellular steroid receptors and the regulation of gene transcription, the second, called non-genomic, is associated with the stimulation of membrane receptors and activation of signal transmission pathways, and the third type of interaction is related to the effects on ionotropic receptors: the γ -aminobutyric acid receptor (GABA_A), N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor and sigma receptors. By modulating the action of these receptors, neurosteroids can change the excitability of neurons and thus participate in the processes related to inhibitory and excitatory neurotransmission, acting e.g. sedative, hypnotic, anticonvulsant or influencing cognitive processes. The effectiveness of endogenous and synthetic neurosteroids in experimental models is confirmed in clinical trials of depressive disorders, epilepsy and as anesthetic agents.

Keywords: depression, GABA_A, neurosteroids, NMDA receptors, seizures