Neuroaktywne steroidy i neurosteroidy w mechanizmach depresji i zaburzeń lękowych oraz ich możliwy potencjał terapeutyczny

Arkadiusz Kazula

Adres do korespondencji: Arkadiusz Kazula, ul. Portowa 18/4, 27-600 Sandomierz, e-mail: Kazula.gen@interia.pl

Neuroactive steroids and neurosteroids in the mechanisms of depression and anxiety disorders: Potential therapeutic opportunities in depression and anxiety disorders · Hormonal steroids synthesized in the adrenals and gonads, neurosteroids synthesized in the brain and synthetic or exogenous steroids belong to the group of neuroactive steroids. They have the ability to modulate the central and peripheral nervous system and play a crucial role in many physiological and pathophysiological states. Neurosteroids are potent and effective neuromodulators that are synthesized from cholesterol in the CNS. These agents and their synthetic derivatives influence the function of multiple signaling pathways including receptors for γ -aminobutyric acid (GABA) and glutamate, the major inhibitory and excitatory neurotransmitters in the central nervous system (CNS). However, they also modulate sigma-1 receptors and they are modulated themselves by SSRIs. Both pre-clinical and clinical studies have shown that neurosteroid homeostasis is altered in depression and anxiety disorders and antidepressants may act in part through restoring neurosteroid disbalance. Thus, neurosteroids may constitute a novel therapeutic approach in the treatment of anxiolytic and depression disorders. Moreover, novel drugs interfering with neurosteroidogenesis such as ligands of the translocator protein (18 kDa) may represent an attractive pharmacological option for novel anxiolytics and antidepressants which lack the unwarranted side effects of benzodiazepines. In this paper, we review the mechanisms of neurosteroid action in brain with an emphasis on those neurosteroids that potentially modulate the function of GABA_A receptors. We then discuss evidence indicating a role for neurosteroids in anxiety and depression disorders, and focus on potential strategies that can be used to manipulate CNS neurosteroid synthesis and function for therapeutic purposes.

Keywords: stress, anxiety, depression, neurosteroids, neuroactive steroids, GABA_A receptor, sigma-1 receptor, serotonin transporter, TSPO.

Wstęp

Zaburzenia depresyjne i lękowe należą do najczęściej występujących chorób psychicznych OUN, które powodują poważne zakłócenia w funkcjonowaniu pacjentów i często zamieniają się w przewlekłe stany kliniczne [1]. Najnowsze dane medyczne sugerują, że zaburzenia depresyjne i lękowe charakteryzują się wysokim stopniem współwystępowania z innymi schorzeniami i zaburzeniami o podłożu neurologicznym [2]. Depresja i lęk¹ są czynnikami ryzyka dla pacjentów z chorobami układu krążenia, cukrzycy i zespołu metabolicznego, a współistnienie depresji pogarsza wyniki terapii wymienionych chorób [3]. Neurologia molekularna i genetyka dostarczają ważnych informacji na temat mechanizmów leżących u podstaw zaburzeń depresyjnych w OUN. Szereg badań podkreśla znaczenie nieprawidłowości w działaniu poszczególnych sieci neuronalnych w mózgu, które leżą u podstaw neuropatofizjologicznych oraz klinicznych objawów wielu chorób OUN w tym zaburzeń depresyjnych i lękowych [4, 5]. Obecny postęp w identyfikacji nowych sposobów farmakologicznej terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych nie nadąża za potrzebami pacjentów. Leki przeciwdepresyjne i przeciwłękowe są często umiarkowanie skuteczne, a duża część pacjentów tylko częściowo odpowiada poprawnie na farmakoterapię powyższymi lekami [6–10]. Wiele czynników przyczynia się do tego stanu rzeczy, a wśród nich to braki w zrozumieniu molekularnych podstaw zaburzeń depresyjnych i lękowych oraz skłonność firm farmaceutycznych do prowadzenia badań wdrożeniowych na podstawie już istniejących struktur chemicznych i sprawdzonych

¹ Obecnie zidentyfikowano kilka typów pierwotnych zaburzeń lękowych takich jak: zaburzenia napadowe (charakteryzujące się nawracającymi atakami paniki), uogólnione zaburzenie lękowe (związane z częstym niepokojem), zespół stresu pourazowego (nabyty w wyniku urazowego doświadczenia), zaburzenia obsesyjno-kompulsyjne (charakteryzujące się powtarzającymi się obsesjami i chęcią wykonywania określonych czynności lub rytuałów) oraz fobii, (w których konkretne bodźce wywołują strach i / lęk).

mechanizmów działania o określonej skuteczności. Istnieje zatem pilna potrzeba, aby określić realne cele dla nowych leków o bardziej skutecznych mechanizmach działania. W terapii farmakologicznej zaburzeń depresyjnych i lękowych, lekami pierwszego rzutu są selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), których efekty działania przeciwdepresyjnego i przeciwłękowego ujawniają się po 1–2 tygodniach od ich zastosowania. Inna klasa związków, która była szeroko wykorzystywana w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych to benzodiazepiny (BDZ). Leki z tej grupy należą do szybko działających i skutecznych leków przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych, które obecnie rzadko są stosowane w terapii tego typu zaburzeń z powodu powstawania uzależnień. W badaniach molekularnych wykazano, że niski poziom kwasu γ -aminomasłowego (GABA) jest często związany z występowaniem zaburzeń depresyjnych i lękowych [11]. Natomiast leki z grupy BDZ są potencjalnymi dodatnimi, allosterycznymi modulatorami receptorów GABA_A [12]. Niewątpliwie, jeżeli chcemy dokonać większego postępu w terapii zaburzeń depresyjnych, należy wzmocnić wysiłki w projektowaniu leków, które będą modulowały jednocześnie kilka ścieżek neuronalnych wpływających na patomechanizmy powstawania zaburzeń neuropsychiatrycznych. Wydaje się, że związki, które będą modulowały jednocześnie aktywność najważniejszych neuroprzekaźników oraz systemów sygnalizacji wewnątrz OUN mogą posiadać większą skuteczność i większe spektrum działania [10]. Do takich części należą neuroaktywne steroidy i neurosteroidy, które są ważnymi endogennymi neuromodulatorami w patofizjologii depresji i lęku, a które mogą zostać wykorzystane w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych [11]. Związki te posiadają również udokumentowane działanie neuroprotektoryjne, chociaż mechanizmy, poprzez które wywierają swoje działania, nie są dotychczas całkowicie poznane. Wydaje się, że działanie neuroprotektoryjne neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów jest wielokierunkowe, a u jego podłoża leżą zarówno mechanizmy genomowe, jak i niegenomowe [13–16]. Spośród tych mechanizmów najczęściej wymienianym jest proces neutralizowania przez te związki toksycznych efektów glutamianu w neuronach hipokampa. Przedkliniczne badania sugerują, że neuroaktywne steroidy i neurosteroidy posiadają zdolność modulowania zachowań lękowych i innych zachowań związanych z depresją. Ponadto sugeruje się, że neurosteroidy mogą być zaangażowane w terapeutyczne efekty działania leków przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych, a liczne badania kliniczne sugerują, że zmiany w poziomach wielu neuroaktywnych steroidów mogą być zaangażowane w patofizjologię i przebieg wielu innych zaburzeń

psychiatrycznych. Neuroaktywne steroidy i neurosteroidy, podobnie jak leki z grupy BDZ, są silnymi modulatorami allosterycznymi receptorów GABA_A i receptorów glutaminergicznych. Chociaż większość badań koncentruje się na potencjale modulacyjnym powyższych związków wobec receptorów GABA_A, to związki te posiadają również zdolność do modulowania aktywności innych receptorów, takich jak receptory NMDA (pobudzane przez kwas N-metylo-D-asparaginowy) [16] oraz wykazują zdolność do modulowania receptorów sigma, którą to aktywność posiadają również leki z grupy SSRI. Wpływ stymulujący neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów związany z powyższymi receptorami objawia się ich różnym wpływem na wiele funkcji behawioralnych związanych ze snem, niepokojem, lękiem, agresywnym zachowaniem, odpowiedzią na stres oraz wpływem na regenerację i ochronę neuronów, a także wpływem na procesy uczenia i pamięci. Z tego względu, uważa się, że neurosteroidy są potencjalnie korzystnymi terapeutycznie związkami biorącymi udział w modulowaniu zaburzeń neuropatofizjologicznych, w tym zaburzeń lękowych i depresyjnych [17]. W badaniach przedklinicznych i klinicznych wykazano, że neurosteroidowa homeostaza ulega zachwianiu w zaburzeniach depresyjnych i lękowych, a leki przeciwdepresyjne i przeciwłękowe mogą działać poprzez przywrócenie prawidłowej homeostazy neurosteroidów [17]. Ze względu na zdolność modulowania receptorów, GABA, 3-zredukowane neuroaktywne steroidy są związkami, z którymi wiąże się duże nadzieje w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych. Spośród neurosteroidów o właściwościach przeciwłękowych, które są intensywnie badane należy wymienić pochodną progesteronu, 3 α -hydroksysteroido-5 α -pregnan-20-on (3 α , 5 α -THP, allopregnanolon). Ponadto, związki wpływające na proces neurosteroidogenezy (biosyntezy neurosteroidów), takie jak ligandy białka TSPO, odpowiedzialnego w mitochondriach za transport cholesterolu, związku niezbędnego do biosyntezy neurosteroidów, mogą stanowić nowe obiecujące narzędzia terapeutyczne w leczeniu zaburzeń lękowych i depresyjnych [16].

Neurosteroidy i neuroaktywne steroidy należą do silnych modulatorów aktywności neuronalnej i funkcji OUN. Liczne badania dowiodły, że związki te odgrywają ważną rolę w neuropatologii wielu chorób OUN oraz uważa się, że będzie je można wykorzystać w terapii zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych, takich jak padaczka, schizofrenia, depresja, lęk, stwardnienie rozsiane i wobec innych chorób neurodegeneracyjnych. Związki te wykazują swoje specyficzne działanie już przy niskich stężeniach i mogą działać na różne szlaki neuroprzekaźnikowe. Mechanizm neuronalnego działania tych związków wynika z modulowania przez nie neurotransmisji synaptycznych, wliczając w to przekazywanie glutaminianergiczne, GABA-ergiczne, cholinergiczne, noradrenergiczne, dopaminergiczne i serotonergiczne. Ich zdolność do modulowania różnych szlaków neuronalnych powoduje, że są one interesującymi kandydatami do farmakoterapii zaburzeń lękowych i depresyjnych.

Istnieją przekonujące dowody przedkliniczne i kliniczne na to, że neuroaktywne steroidy są ważnymi endogennymi modulatorami zachowań w depresji i zaburzeniach lękowych oraz mogą posiadać potencjał terapeutyczny w terapii zaburzeń lękowych i depresji. Nowe strategie terapeutyczne zaburzeń depresyjnych i lękowych mogą być oparte na syntetycznych pochodnych endogennych neuroaktywnych steroidów lub na modulacji syntezy neurosteroidów klasycznymi lekami przeciwdepresyjnymi i innymi związkami wpływającymi na aktywność enzymów sterujących steroidogenezą. Mitochondrialny receptor benzodiazepinowy może służyć jako kolejny cel wpływający na biosyntezę i przywrócenie prawidłowej homeostazy endogennych neurosteroidów w organizmie. Ponadto, neurosteroidy mogą służyć jako biomarkery w diagnostyce zaburzeń afektywnych, ze względu na fakt, że poziomy neuroaktywnych steroidów w osoczu zasadniczo odzwierciedlają ich koncentrację w mózgu.

W tym artykule, opierając się na danych przedklinicznych i klinicznych, przedstawiony jest przegląd mechanizmów działania neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów w zaburzeniach lękowych i depresyjnych oraz opisana jest rola, jaką te związki mogą ewentualnie odgrywać w opracowaniu nowych celów terapeutycznych związanych z zaburzeniami depresyjnymi i lękowymi. Szczególny nacisk położony jest na pochodne steroidowe, które wpływają na neurotransmisję GABA-ergiczną, ale również innych systemów neurotransmisyjnych, które mogą być potencjalnymi celami w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych.

Neurosteroidy i sterydy neuroaktywne

Wszystkie związki steroidowe (naturalne lub syntetyczne), które wykazują zdolność modulowania aktywności neuronalnej i neurofizjologicznych funkcji OUN nazwano neuroaktywnymi steroidami [18, 19]. Ze względu na lokalizację ich biosyntezy, endogenne neuroaktywne steroidy są podzielone na hormony steroidowe (wydalane przez gruczoły dokrewne – gruczoły płciowe lub nadnercza) oraz neuroaktywne steroidy, które mogą być zsyntetyzowane *de novo* z cholesterolu w komórkach OUN, na drodze niezależnej od wydzielania obwodowego i tego typu neuroaktywne steroidy są określane neurosteroidami (**rycina 1**) [20]. Termin neurosteroidy został wprowadzony przez Baulieu (1981) i dotyczy tylko tych steroidów, które są syntetyzowane w OUN, głównie w mitochondriach neuronów i komórkach glejowych [21]. Baulieu i wsp. [22] zaobserwowali występowanie siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEAS) w mózgu, po przeprowadzonej wcześniej gonadektomii oraz adrenalektomii. Stwierdzili także, że pregnenolon (PREG), dehydroepiandrosteron (DHEA) oraz ich siarczany i estry lipidowe występują w większych stężeniach w mózgu i w nerwach obwodowych niż w surowicy. Te obserwacje doprowadziły do wniosku, że steroidy neuroaktywne muszą być syntetyzowane *de novo* w obrębie układu nerwowego. Tylko substancje spełniające obydwie

powyższe kryteria, tj. mózg, jako miejsce syntezy i różnica stężeń w tkance nerwowej i surowicy, są zaliczane do neurosteroidów [11]. Neuroaktywne steroidy wytwarzane przez gruczoły dokrewne są substancjami lipofilnymi o małej masie cząsteczkowej (270–370 D) [23]. Dzięki temu swobodnie przechodzą przez barierę krew–mózg na drodze dyfuzji. Jednak ich stężenie w mózgu jest znacznie mniejsze niż w tkankach obwodowych. Z kolei substancje, które są syntetyzowane *de novo* w mózgu, czyli tzw. neurosteroidy, osiągają wyższe stężenia w tkance mózgowej niż we krwi. Liczne dane wskazują, że endogenna biosynteza neurosteroidów w mózgu podlega zmianom w różnych stanach behawioralnych, takich jak lęk, stres, depresja oraz w wielu zaburzeniach neuropsychiatrycznych [14, 15]. Zatem, neuroaktywne steroidy mogą pośredniczyć w mechanizmach, które leżą u podstaw powstawania określonych objawów behawioralnych. Potencjalnym celem klinicznego działania neurosteroidów mogą być zaburzenia depresyjne i lękowe, schizofrenia, alkoholizm, zaburzenia snu, przewlekły ból, padaczka, urazowe uszkodzenia mózgu oraz choroby neurodegeneracyjne [16]. Działania neurosteroidów w większości tych zaburzeń są efektem ich bezpośredniego działania na sieci neuronalne w OUN, natomiast zdolność neurosteroidów do modulowania przewlekłego bólu i wywoływania znieczulenia dożylnego związana jest prawdopodobnie z ich działaniem nie tylko wobec neuronów OUN, ale również w obrębie neuronów rdzenia kręgowego [24]. Działanie neurosteroidów i neuroaktywnych steroidów jest zależne od ich stężenia i występowania specyficznych receptorów w odpowiednich tkankach. Neuroaktywne steroidy, które modulują szereg mechanizmów biologicznych, są ważne w regulacji prawidłowej homeostazy wewnątrz naszego organizmu. W OUN miejscowo wytwarzane neurosteroidy i steroidy hormonalne (neuroaktywne steroidy), które przekraczają przez barierę krew–mózg, kontrolują odpowiedzi komórek glejowych i neuronów za pomocą mechanizmów genomowych lub poprzez modulację receptorów błonowych. Do tej pory nie wykazano ścisłej zależności pomiędzy poziomem neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów w surowicy a ich stężeniem w obrębie tkanki mózgowej. Stężenia naturalnych neurosteroidów bądź neurosteroidów podanych z zewnątrz wpływają na mechanizm oraz kierunek ich działania. Zakres stężeń terapeutycznych tych związków jako pozytywnych modulatorów mieści się w granicach od 10^{-8} do 10^{-5} mol/L, zakres działań jako negatywnych modulatorów mieści się w granicach od 10^{-5} do 10^{-3} mol/L [16]. W przypadku chorób OUN większe znaczenie i możliwości terapeutyczne posiadają steroidy syntetyzowane w komórkach

mózgowia, tzw. neurosteroidy, niż produkowane obwodowo neuroaktywne steroidy, gdyż stężenie neurosteroidów w mózgu w porównaniu do neuroaktywnych steroidów obwodowych jest zdecydowanie wyższe, ponieważ nie muszą pokonywać bariery krew-mózg [24].

Mechanizmy działania neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów

Szybkość i efektywność działania neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów w obrębie OUN zależy między innymi od mechanizmu ich działania. Przyjmuje się, że neuroaktywne steroidy mogą wpływać na aktywność neuronalną na drodze dwóch mechanizmów (rycyna 2). Pierwszy z nich polega na tym, że neuroaktywne steroidy wykazują interakcję z wewnątrzkomórkowymi receptorami hormonalnymi, związki te działają jako czynniki transkrypcyjne i regulują ekspresję genów w wyniku ich wiązania do specyficznych receptorów. Drugi mechanizm polega na tym, że neuroaktywne steroidy mogą zmieniać pobudliwość neuronów w wyniku oddziaływań z receptorami dla neuoprzekazników zlokalizowanych na błonie

Rycina 1. Podział hormonów steroidowych

neuronów, co prowadzi do wytworzenia sygnału transmembranowego [18]. W pierwszym mechanizmie (genomowym) neuroaktywne steroidy ulegają dyfuzji przez błonę komórkową do cytozolu, gdzie wiążą się ze swoistymi receptorami wewnątrzkomórkowymi, które następnie zmieniają konformację i dysocjują od związanych z nimi cząsteczek opiekuńczych. Po związaniu z receptorami, steroidy przemieszczają się do jądra i wiążą się jako homo- lub heterodimery z ich odpowiednimi

Rycina 2. Niegenowy (A) i genowy (B) mechanizm działania neuroaktywnych steroidów i hormonów steroidowych

Tabela 1. Przykłady modulacji receptorowej wywieranej przez poszczególne neurosteroidy

Rodzaj receptora	Rodzaj neurosteroidu	Wynik pobudzenia
Receptor GABA _A	Progesteron	dodatni
	Testosteron	dodatni
	Allopregnanolon	dodatni
	Tetrahydrodesoksykortykosteron	dodatni
	Siarczan pregnenolonu	ujemny
	Siarczan dehydroepiandrosteronu	ujemny
Receptor NMDA	Dehydroepiandrosteron	dodatni
	Siarczan dehydroepiandrosteronu	dodatni
	17-β-estradiol	ujemny
Receptor AMPA i kainowy	Siarczan pregnenolonu	ujemny
	17-β-estradiol	dodatni
	siarczan pregnenolonu	ujemny
	Progesteron	ujemny
Receptor glicynowy	Progesteron	ujemny
	Siarczan pregnenolonu	ujemny
Receptor serotoniny 5-HT ₃	Estradiol	ujemny
	Progesteron	ujemny
	Testosteron	ujemny
Receptor sigma-1	Siarczan dehydroepiandrosteronu	dodatni
	Siarczan pregnenolonu	dodatni
	Progesteron	ujemny
Receptor nikotynowy	Progesteron	ujemny

elementami odpowiedzi, sekwencje DNA w regionie promotora genu. Wiązanie receptora uaktywnia albo hamuje ekspresję genu kontrolowanego przez ten promotor. Po związaniu z odpowiednim receptorem, neuroaktywne steroidy działają jak czynniki regulujące transkrypcję [6, 7]. Zmiany w ekspresji genów przekładają się na długoterminowe działanie neuroaktywnych steroidów na neuronalne szlaki sygnalizacyjne na skutek stymulacji biosyntezy, metabolizmu neurotransmiterów czy ekspresji ich receptorów [25].

W przypadku modulowania i aktywowania neurotransmisji synaptycznej przez neurosteroidy

na skutek pobudzenia lub hamowania receptorów dla neurotransmiterów związanych z kanałami jonowymi bramkowanymi ligandami, odpowiedź na ich działanie jest bardzo szybka, gdyż jest związana z ich bezpośrednim wpływem na neurotransmisję i przekazywaniem sygnałów w sieciach neuronalnych. Działania neurosteroidów w większości tych zaburzeń OUN są efektem ich bezpośredniego działania na sieci neuronalne w OUN. Neuroaktywne steroidy i neurosteroidy są silnymi i skutecznymi modulatorami dwóch głównych neuroprzekaźników regulujących aktywność neuronów w OUN, takich jak glutaminian, który jest neuroprzekaźnikiem pobudzającym i GABA, który jest z kolei najważniejszym neuroprzekaźnikiem hamującym w OUN [26]. Steroidy neuroaktywne i neurosteroidy wywierają wpływ na funkcjonowanie organizmu poprzez szereg innych receptorów oraz kanałów jonowych. Alternatywnym celem dla tych związków mogą być receptory AMPA pobudzane przez kwas α-amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy, receptory NMDA pobudzane przez kwas N-metylo-D-asparaginowy, receptory kainowe, receptory 5-HT₃ specyficzne dla serotoniny oraz acetylocholinowe receptory nikotyny, receptory glicynowe, receptory sigma, jak również aktywowane napięciem wapniowe i potasowe kanały jonowe [26]. Działanie neuroaktywnych steroidów jest wielokierunkowe. Są one odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy w organizmie oraz są zaangażowane w mechanizmy neuropatofizjologiczne [27]. Ze względu na fakt, że związki te wykazują bezpośrednie działania na sieci neuronalne w mózgu oraz modulują systemy neuronalne związane z emocjami i funkcjami poznawczymi, mają one potencjał terapeutyczny (neurosteroidy lub neuroaktywne sterydy), aby stać się nowymi lekami wykorzystywanymi w terapii wielu schorzeń neuropsychiatrycznych, między innymi zaburzeń depresyjnych i lękowych (tabela 1).

Struktura steroidów neuroaktywnych

Steroidy neuroaktywne i neurosteroidy pod względem struktury są pochodnymi pregnanu lub androstanu (rycina 3). Do grupy pochodnych pregnanu, zaliczamy kolejno: 4-pregnen-3,20-dion (progesteron, P), 3β-OH-5β-pregnen-20-on (pregnenolon, PREG), siarczan pregnenolonu (PREGS), 3α-OH-5β-pregnan-20-on (pregnanolon), 3α-hydroksy-5α-pregnan-20-on (allopregnanolon, alloP), 3α, 21-dihydroksy-5α-pregnan-20-on (allotetrahydro-deoksykortykosteron, THDOC), dihydroksydeoksykortykosteron (DHDOC). Do drugiej grupy zaliczamy OH-an-

Rycina 3. Wzór chemiczny androstanu i pregnanu

drost-5-en-20-on (dehydroepiandrosteron, DHEA) oraz siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEAS) (tabela 2).

Neurosteroidy i ich biosynteza w mózgu

Intrygującą cechą neurosteroidów jest fakt, że są one syntetyzowane miejscowo w mózgu. We wcześniejszych etapach badań nad neurosteroidami stwierdzono, że pregnenolon (PREG), dehydroepiandrosteron (DHEA) oraz ich siarczany i estry lipidowe występują w większym stężeniu w mózgu i w nerwach obwodowych niż w surowicy, np. stężenie pregnenolonu i siarczanu pregnenolonu w mózgu może być około 10 razy wyższe niż na obwodzie. Obserwacje te doprowadziły do wniosku, że niektóre neuroaktywne steroidy mogą być syntetyzowane w obrębie OUN [12]. Większość enzymów odpowiedzialnych za syntezę neurosteroidów zlokalizowana jest w błonach mitochondrialnych astrocytów, oligodendrocytów i niektórych neuronach GABA-ergicznych oraz glutaminergicznych, wliczając w to neurony piramidalne, neurony siateczkowo-wzgórzowe, neurony prążkowie, w których wykazano ekspresję steroidogennych enzymów, takich jak: dehydrogenaza hydroksysteroidowa / $\Delta 5 - \Delta 4$ -izomeraza (3β -HSD), P_{450} 17 α -liaza, 17- β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa (17 β -HSD) i P_{450} aromataza [13]. Stosując technikę RT-PCR stwierdzono w komórkach kory mózgowej ekspresję genów dla kluczowych enzymów w biosyntezie następujących steroidów: w astrocytach dla pregnenolonu, DHEA, progesteronu, androstendionu, testosteronu, estronu i estradiolu; w oligodendrocytach dla pregnenolonu i progesteronu; w neuronach dla pregnenolonu, progesteronu, androstendionu, estronu i estradiolu. Dominującą rolę w syntezie neurosteroidów w OUN odgrywają astrocyty, z których do oligodendrocytów może przejść progesteron, a do neuronów testosteron, który następnie przekształcany jest do estradiolu [24]. Obecność wszystkich enzymów zdolnych do biosyntezy neurosteroidów wykazano w różnych regionach OUN, takich jak: kora (czołowa, ciemieniowa, skroniowa, potyliczna), ciało modzelowate, mózdzek i hipokamp [29]. Natomiast w obwodowym układzie nerwowym proces biosyntezy przebiega w komórkach neurogleju – neurolemocytach (komórki Schwanna) oraz w neuronach czuciowych rdzenia kręgowego. Biosynteza neurosteroidów przebiega *de novo* z podstawowych prekursorów steroidowych, takich jak cholesterol lub pregnenolon. Oprócz tego biosynteza neurosteroidów w OUN może przebiegać z prekursorowych hormonów steroidowych, takich jak progesteron, testosteron, które przenikają przez barierę krew-mózg do lokalnych struktur mózgowych.

Tabela 2. Struktura najważniejszych neuroaktywnych steroidów

Neuroaktywne steroidy
Pochodne pregnanu:
Progesteron – 4-pregnen-3,20-dion (PROG)
Pregnenolon – 3β -OH-5 β -pregnan-20-on (PREG)
Siarczan pregnanolonu (PREGS)
Pregnanolon – 3α -OH-5 β -pregnan-20-on (P)
Allopregnanolon – 3α -hydroksy-5 α -pregnan-20-on (ALLO)
Tetrahydrodeoksykortykosteron – 3α , 21-dihydroksy-5 α -pregnan-20-on (THDOC)
Dihydroksydeoksykortykosteron (DHDOC)
Pochodne androstanu:
Dehydroepiandrosteron – OH-androst-5-en-20-on (DHEA)
Siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEAS)
Androsteron – 3β -hydroksy-5 β -androstan-17-on (A)

Proces biosyntezy neurosteroidów z cholesterolu obejmuje kaskadę wieloetapowych reakcji biochemicznych. Konwersja cholesterolu do pregnenolonu zachodzi na wewnętrznej błonie mitochondrialnej [30] i jest kluczowym etapem, wspólnym dla biosyntezy wszystkich hormonów steroidowych. Proces ten polega na odłączeniu bocznego łańcucha cholesterolu i powstaniu pregnenolonu. Reakcja ta przebiega pod wpływem katalitycznego kompleksu enzymatycznego złożonego z cytochromu P_{450} , adrenodoksyny i reduktazy adrenodoksyny (CYP 11A). Endogenne steroid – pregnenolon, opuszcza mitochondria na skutek dyfuzji do cytozolu gdzie jest metabolizowany do różnych neuroaktywnych steroidów, np. służy jako związek prekursorowy do biosyntezy dehydroepiandrosteronu (DHEA). Pregnenolon może być również przekształcony do progesteronu, a reakcja ta przebiega pod wpływem działania mikrosomalnej dehydrogenazy 3 β -hydroksysteroidowej / $\Delta 4$ -5 izomerazy (3β -HSD). Natomiast progesteron może być dalej redukowany do metabolitów 3-pregnanu takich jak: 5 α -dihydroprogesteron (5-DHP) i 5-dihydrodeoksykortykosteron (5-DHDOC), za pomocą 5 α -reduktazy. W dalszych etapach cząsteczki te służą, jako prekursorzy, do biosyntezy 3-zredukowanych neuroaktywnych steroidów, takich jak: 3,5-tetrahydroprogesteron (3,5-THP; allopregnanolon), 3,5-tetrahydroprogesteron (3,5-THP; 5-pregnan-3-ol-20-on) i 3,5-tetrahydrodeoksykortykosteron (3,5-THDOC, 3, 21-dihydroksy-5-pregnan-20-on allotetrahydrodeoksykortykosteron). Natomiast siarczany pregnenolonu (pregnenolon-S), tworzy się przez sulfonowanie pregnenolonu za pomocą cytozolowych enzymów takich jak sulfotransferazy (SULT)-2A1, SULT-2B1a i SULT-2B1b.

Ligandy TSPO mogą wspierać produkcję neurosteroidów, przywracając neurosteroidową homeostazę w neurotransmisji neuronalnej, a tym samym pomagają zrekompenzować zmiany powstałe w stanach lękowych i depresji. W badaniach wykazano, że poziomy TSPO okazały się być zmniejszone u pacjentów dotkniętych zaburzeniami depresyjnymi i lękowymi, a wykorzystanie ligandów do stymulowania TSPO i w konsekwencji do steroidogenezy oferuje nową strategię terapeutyczną w leczeniu stanów depresyjnych i lękowych.

Rycina 4.
Mechanizmy
biosyntezy neurosteroidów

Transport cholesterolu do wewnętrznej błony mitochondrialnej za pomocą białka TSPO jest etapem ograniczającym szybkość biosyntezy neurosteroidów. TSPO jest częścią kompleksu złożonego z wielu białek, które zawierają zależny od napięcia kanał anionowy (VDAC) i transporter nukleotydowej adeniny (ANT) [31]. Białko TSPO było wcześniej znane jako obwodowy (mitochondrialny) receptor BDZ i niektóre stosowane klinicznie leki z grupy benzodiazepin promują neurosteroidogenezę na skutek jego aktywacji [22]. Niektóre analogi steroidów mogą zmieniać aktywność wiązania TSPO do cholesterolu, a tym samym stymulować zmiany w biosyntezie neurosteroidów. Aktywacja TSPO przez niektóre ligandy ułatwia intramitochondrialny strumień cholesterolu, a tym samym zwiększa dostępność cholesterolu dla enzymu, co powoduje zwiększenie syntezy pregnenolonu i ostatecznie zwiększoną produkcję neurosteroidów (**rycina 4**).

Neuroaktywne steroidy i neurosteroidy jako endogenne modulatory stresu, zaburzeń depresyjnych i lękowych

Badania prowadzone na modelach zwierzęcych potwierdzają ważną rolę neurosteroidów w stresie, lęku i depresji. Gwałtowny stres powoduje zwiększoną produkcję neurosteroidów aktywujących receptory $GABA_A$, podczas gdy stres przewlekły powoduje hamowanie ich biosyntezy. Jak gwałtowny i ostry stres promuje produkcję neurosteroidów nie jest dotychczas całkowicie wyjaśnione, pewne jest, że istnieje kilka ścieżek sygnalizacyjnych, które mogą przyczynić się do tego procesu [32]. Są to endogenne ligandy, które działają na kluczowe etapy syntezy neurosteroidów. Przykładem jest białko DBI, znane jako inhibitor wiązania diazepamu (DBI), który jest agonistą białka TSPO, które stymuluje biosyntezę neurosteroidów. Natomiast w tkankach obwodowych, ACTH i kortykosteron stymulują syntezę neuroaktywnych steroidów w wyniku aktywacji cykazy adenylanowej, cyklicznego AMP i kinazy białkowej A [33]. Stymulacja wytwarzania neuroaktywnych steroidów następuje na skutek fosforylacji kluczowych enzymów w szlaku

ich biosyntezy. Oba szlaki obejmujące DBI i ACTH mogą prowadzić do syntezy neurosteroidów pod wpływem stresu, a cząsteczki ACTH i kortykosteronu są bezpośrednio zaangażowane w odpowiedź OUN i obwodowego układu nerwowego na stres. W badaniach nad przewlekłym stresem (u gryzoni) zaobserwowano powstanie fenotypu depresyjnego, w którym szczury wykazywały zwiększoną podatność na sytuacje stresowe, co sugeruje zajście szeregu zmian neurofizjologicznych. Wydaje się, że fenotyp depresyjny może być powiązany z określonymi zmianami neuronalnymi. Zmiany behawioralne są skorelowane z zaburzeniami zdolności aktywacji neuronów oraz zaburzeniami neurogenezy, w zakręcie zębatym CA1, hipokampa, a zmiany te mogą być skorygowane przez działanie leków przeciwdepresyjnych. Korekcja zaburzeń na skutek zwiększonej neurogenezy w zakręcie zębatym powoduje odwrócenie zarówno zmian behawioralnych, jak i neurofizjologicznych. Jest możliwe, że stymulacja zaburzonej aktywności obszaru CA1 za pomocą egzogennych neuroaktywnych steroidów może posiadać terapeutyczne znaczenie w stresie i depresji [34, 35].

Zmiany stężeń neuroaktywnych steroidów obserwowane po zastosowaniu terapii przeciwłkowej, przynajmniej częściowo, odzwierciedlają farmakologiczne właściwości leków przeciwłkowych podczas odpowiedzi klinicznej u pacjentów z zaburzeniami lękowymi. W przypadku eksperymentalnego indukowania napadów paniki i zburzeń lękowych za pomocą tetrapedydu cholecystokininy nastąpił wyraźny spadek poziomu 3-zredukowanych neuroaktywnych steroidów u pacjentów z zaburzeniami lęku napadowego, co może skutkować zmniejszeniem aktywności GABA-ergicznej. Modułacja receptorów GABA_A przez neuroaktywne neurosteroidy może przyczyniać się do naprawy patofizjologicznych mechanizmów w depresji, zaburzeniach lękowych i może oferować nowe cele terapeutyczne w kierunku rozwoju nowych związków przeciwłkowych czy przeciwdepresyjnych [36]. Ponieważ kliniczne zaburzenia depresyjne, lękowe i inne zaburzenia psychiatryczne związane ze stresem są zaburzeniami trwającymi w wielu przypadkach miesiące, a nawet lata, ważne jest, aby dokładnie zbadać zmiany w poziomach neurosteroidów podczas przewlekłego stresu. Jak zauważono, przewlekły stres, depresja i zaburzenia lękowe są związane z ujemnymi zmianami w poziomach neurosteroidów. Badania

na gryzoniach i ludziach wspierają hipotezę o ujemnej regulacji kluczowych etapów syntezy neurosteroidów, w tym zmian w ekspresji TSPO i 5α-reduktazy, jako wynik trwałej ekspozycji na stres [37]. W badaniach nad przewlekłym stresem (u gryzoni) zaobserwowano powstanie fenotypu lękowego, w którym szczury wykazywały zwiększoną podatność na sytuacje stresowe, co sugeruje zajście szeregu zmian neurofizjologicznych. Przedłużająca się izolacja społeczna u myszy powoduje zmiany adaptacyjne, których następstwem jest obniżanie odpowiedzi na GABA-ergiczne leki przeciwdepresyjne. W korze czołowej zwierząt stężenie allopregnanolonu i 5α-DHP były obniżone [38] z powodu zmniejszenia ekspresji białkowego enzymu 5α-reduktazy typu I, kodującego mRNA [53], co sugeruje, że rozregulowanie biosyntezy 3α-zredukowanych neuroaktywnych sterydów może przyczyniać się do zmian behawioralnych i neurochemicznych (na mysim modelu) podczas depresji i lęku [39]. Zmiany behawioralne są skorelowane z zaburzeniami zdolności aktywacji neuronów (oraz neurogenezy) zakrętu zębatego CA1, a zmiany te mogą być skorygowane przez działanie leków przeciwłkowych grupy SRRI, które stymulują proces neurogenezy w zakręcie zębatym. Korekcja zaburzeń na skutek zwiększonej neurogenezy w zakręcie zębatym powoduje odwrócenie zarówno zmian behawioralnych, jak i neurofizjologicznych. Jest możliwe, że stymulacja zaburzonej aktywności obszaru CA1 za pomocą egzogennych neuroaktywnych steroidów może posiadać terapeutyczne znaczenie w stresie i zaburzeniach lękowych [37].

Liczne badania na modelach zwierzęcych potwierdziły ważną rolę neurosteroidów w stresie i depresji. Wykazano, że po upływie 10 min od zadziałania silnego stresora, poziomy allopregnanolonu (alloP) ulegają zwiększeniu w korze mózgowej, podwzgórz i osoczu (zwierząt). Poziomy koro-we alloP szybko rosną i osiągają swoją maksymalną wartość w ciągu 10–15 min, po czym następuje stopniowy spadek do poziomu poniżej wartości wyjściowej (2h po stresie). Dodatkowo, poziomy w podwzgórz i osoczu wzrastają wolniej i osiągają maksymalną wartość po około 1h od zadziałania stresora. Powyższe wyniki wspierają hipotezę, że alloP i inne neurosteroidy biorą udział w odpowiedzi na stres oraz biorą aktywny udział w przywracaniu homeostazy, która jest zaburzona podczas ostrego stresu [40–58]. Ponadto, w porównaniu ze zdrowymi osobami, stwierdzono podwyższenie

² Poziom steroidów neuroaktywnych podlega fluktuacjom w różnych stanach chorobowych, które równocześnie mogą się wiązać z zaburzeniami w transmisji GABA-ergicznej. Przykładowo, u chorych cierpiących na nerwicę lękową zaobserwowano w surowicy podwyższone stężenie PROG oraz DHEA. Za najbardziej rozpowszechnione steroidy w organizmie uważa się PREG oraz DHEA. Poziom steroidów DHEA i DHEAS we krwi, w płynie mózgowo-rdzeniowym i w ślinie u człowieka wzrasta gwałtownie od 6–8 roku życia, aby osiągnąć najwyższe stężenie w wieku dorosłym. Te same obserwacje poczyniono dla allopregnanolonu oznaczanego w surowicy. Do tej pory nie wykazano ścisłej zależności pomiędzy poziomem prekursorów steroidów neuroaktywnych w surowicy a ich stężeniem w obrębie tkanki mózgowej. Wiadomo, że 7–9-krotnie wyższe stężenia obserwuje się w obrębie układu nerwowego w porównaniu z ich poziomem we krwi. Dla niektórych steroidów neuroaktywnych ustalono wartości stężeń fizjologicznych. Zakres stężeń terapeutycznych pozytywnych modulatorów mieści się w granicach 10–8 do 10–5 mol/L, natomiast działań negatywnych wynosi od 10–5 do 10–3 mol/L [16].

stężenia progesteronu w osoczu u pacjentów z lękiem napadowym [59]. Poza tym, wykazano, że poziom progesteronu w osoczu² istotnie koreluje ze stanem niepokoju u pacjentów cierpiących na lęk napadowy [60]. Badania u pacjentów z paniką sugerują, że zaburzenia poziomów 3α-zredukowanych neuroaktywnych steroidów mogą odgrywać istotną rolę w zaburzeniach lękowych. Większość badań przedklinicznych koncentruje się nad możliwością wykorzystania 3α-zredukowanych neuroaktywnych steroidów w terapiach przeciwlękowych i przeciwdepresyjnych [64–67].

Neurosteroidy a oś HPA w mechanizmach stresu i depresji

Kortyzol i neuroaktywne steroidy, a wśród nich dehydroepiandrosteron, są określane mianem „hormonów stresu”. Związki te odgrywają kluczową rolę w reakcji stresowej, w której wraz z aktywacją emocjonalno-poznawczą wzmacnia się przekazywanie monoaminergiczne w mózgu i dochodzi do aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA), ze wzmożonym wydzielaniem kortykoliberyny (CRH) i hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), a pod ich wpływem kortyzolu, dehydroepiandrosteronu (DHEA) i jego siarczanu (SDHEA) [18, 68]. Kortyzol działa jako neuroendokrynnny mediator reakcji stresowej w narządach i tkankach efektorowych [10]. DHEA i jego metabolity działając ośrodkowo poprzez wpływ na receptory GABA_A w mózgu, wywierają efekty antagonistyczne w stosunku do działania kortyzolu [69]. Dlatego przypuszcza się, że DHEA odgrywa istotną rolę w mechanizmach wygaszania reakcji stresowej i przywracania właściwej homeostazy wewnątrz organizmu. Efekty behawioralne i neuronalne DHEA mają istotne znaczenie dla radzenia sobie organizmowi ze stresem poprzez działanie prokognitywne, przeciwdepresyjne i zmniejszające poziom agresji [18]. Wykazano, że w sytuacji ostrego stresu pojawienie się i nasilenie stanu depresyjnego jest związane z podwyższaniem się poziomu kortyzolu przy niskim poziomie DHEA, natomiast u osób niereagujących lękiem, w tej samej sytuacji, poziom DHEA jest wysoki, a kortyzolu – niski [18]. Tak więc, wskaźnik proporcji DHEA do kortyzolu wydaje się być odzwierciedleniem możliwości zachowania homeostazy organizmu podczas stresu. Hipoteza glikokortykoidowa kluczową rolę w mechanizmie depresji przypisuje podatności wynikającej z pierwotnego osłabienia wydolności regulacyjnej osi HPA uwarunkowanej genetycznie lub nabytej pod wpływem stresu. Mechanizmem receptorowym jest tu hipofunkcja receptorów noradrenergicznych w podwzgórzu lub serotonergicznego układu receptorowego 5-HT_{1A} hipokampa, w powiązaniu z dysregulacją receptorów

glikokortykoidowych (GR i MR) w układzie limbicznym [18]. Powiązanie hipotezy monoaminergicznej z hipotezą glikokortykoidową depresji znajduje potwierdzenie w eksperymentach na modelach zwierzęcych i w obserwacjach klinicznych [70]. Długotrwała hiperkortyzolemia związana z przewlekłym utrzymywaniem się stresu prowadzi do obniżenia gęstości i spadku wrażliwości receptorów 5-HT₁ neuronów piramidowych CA3 hipokampa [71]. W badaniach neuroobrazowych wykazano istotne zmniejszenie się objętości hipokampa w depresji [72], a także obniżenie przemiany glukozy w mózgu oraz ubytek masy neuronalnej w układzie limbicznym [73]. Rola DHEA i SDHEA w depresji jest mało znana, a badanie ich funkcji są trudne z uwagi na dużą liczbę aktywnych prekursorów i metabolitów. Właściwości antyglikokortykoidowe i neuroprotektoryjne DHEA budzą zainteresowanie, a jego rola ochronna w stosunku do neurotoksycznego działania przewlekłej hiperkortyzolemii podczas depresji ma istotne znaczenie. Podejrzewa się, że deficyt DHEA, zwłaszcza w depresji z wysokim poziomem kortyzolu, może być odpowiedzialny za jej gorszy przebieg i oporność na leczenie przeciwdepresyjne, a podawanie DHEA w depresji jako środka terapeutycznego wspomagającego farmakoterapię może posiadać istotne znaczenie terapeutyczne [18].

Neurosteroidy, lęk i oś podwzgórze-przysadka-nadnercze

Liczne badania na zwierzętach wykazały, że różne czynniki stresogenne indukują opóźniony wzrost w osoczu i mózgu poziomu neurosteroidów, takich jak alloP i 3α, 5α-THDOC, dwóch pozytywnych, modulatorów receptora, GABA_A [74]. Wywołane stresem, lękiem lub paniką uwalnianie neurosteroidów reprezentuje endogenne mechanizmy homeostatyczne, który przywraca prawidłowe funkcjonowanie układu GABA-ergicznego podczas stresu i lęku oraz przywraca normalne działania osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA). Podskórne podawanie alloP zmniejsza wydzielanie kortykosteronu oraz wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego, w podwzgórzu. [74]. Natomiast podskórne podawanie 3α, 5α-THDOC tłumi długotrwałe zmiany osi HPA. 3α, 5α-THDOC przeciwdziała reakcjom stresowym w korze nadnerczy, zmniejsza zdolność reagowania na działanie hamujące deksametazonu, zwiększa poziom kortykoliberyny w jądrze przykomorowym i zmniejsza ilość transkryptów kodujących receptory glikokortykoidowe w hipokampie. Takie hamujące efekty działania neurosteroidowych agonistów GABA_A nie są zaskakujące, ponieważ inne pozytywne modulatory allosteryczne receptora GABA_A, takie jak benzodiazepiny, hamują aktywność osi HPA u gryzoni oraz

u pacjentów z zaburzeniami lękowymi i paniką [75]. Wydaje się, że istnieje pętla mechanizmu kontroli homeostazy pomiędzy osią HPA i systemem neurosteroidowym podczas stresu, z ujemnym sprzężeniem zwrotnym neurosteroidów uwalnianych podczas stresu zwiększającego aktywność osi HPA. Podobnie jak w przypadku depresji, neuroaktywne steroidy mogą odgrywać ważną rolę w wielowymiarowej koncepcji stresu i lęku. Koncepcja ta opiera się na fakcie, że uwalnianie pewnych hormonalnych mediatorów, takich jak glukokortykoidy i katecholaminy jest niezbędne dla przystosowania i utrzymania prawidłowej homeostazy i przeżycia neuronów w odpowiedzi na silny stres i lęk. Uwalnianie neurosteroidów w odpowiedzi na stres, zwłaszcza uwolnienie pozytywnych allosterycznych modulatorów receptorów GABA_A, przyczynia się do hamowania negatywnych mechanizmów po ustaniu działania ostrego stresora, a uwalnianie neurosteroidów może zapobiegać rozwojowi szkodliwych skutków patofizjologicznych w odpowiedzi na przewlekły lęk i strach [75].

Wpływ neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów na systemy neurotransmisyjne

System GABA-ergiczny a depresja i lęk

Kwas γ -aminomasłowy (GABA) jest hamującym neuroprzekaźnikiem w OUN, a związane z GABA receptory GABA_A należą do najważniejszych celów w terapii objawów depresji i lęku, ponieważ hamowanie aktywności receptorów GABA_A jest skorelowane z neuropatofizjologią zaburzeń depresyjnych i lękowych. Mechanizm działania GABA w obrębie OUN związany jest z aktywacją dwóch grup receptorów, tj. receptorów jonowych bramkowanych ligandem chlorkowym (Cl⁻), tzw. receptorów jonotropowych GABA_A i receptorów metabotropowych GABA_B, sprzężonych z białkiem G. Biochemiczny pomiar poziomu GABA w osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) wykazał istotne zmniejszenie poziomu GABA podczas zaburzeń depresyjnych i lękowych [76]. Jest to zgodne z wynikami oznaczania stężenia GABA, *post mortem*, w korze mózgowej osób z zaburzeniami depresyjnymi [77]. W badaniach tych wykazano, że w korze mózgowej i hipokampie następują zmiany funkcji układu GABA-ergicznego, które przyczyniają się znacznie do powstawania objawów depresji i lęku. Zmiany te są związane ze znacznym

spadkiem liczby GABA-ergicznych interneuronów w korze mózgowej i hipokampie [78]. Receptor GABA_A jest ogniwem łączącym działanie szeregu leków. Poprzez modulację tego receptora wywierają wpływ na organizm człowieka m.in. benzodiazepiny i barbiturany. Receptory GABA_A zbudowane są z pięciu podjednostek glikoproteinowych, które współtworzą centralny kanał jonowy dla anionów chlorkowych. Sklonowanie podjednostek receptora GABA_A w latach 80. ubiegłego wieku dało początek badaniom, które doprowadziły do zidentyfikowania ośmiu klas podjednostek receptora GABA_A. Cztery z nich mają po kilka odmian izomerycznych. Wyróżnia się sześć izoform podjednostki α (1–6), trzy izoformy podjednostki β (1–3), γ (1–3) i ρ (1–3) oraz po jednej podjednostce izoform δ , ϵ , π , θ^3 [78]. Daje to łączną liczbę 19 izoform, które zostały dotychczas poznane. Pomiedzy poszczególnymi klasami podjednostek obserwuje się 30–40% homologii sekwencji aminokwasowej, pomiędzy izoformami w obrębie jednej podklasy podobieństwo strukturalne wynosi około 60–80%. Pomimo dużej liczby teoretycznych, możliwych kombinacji podjednostek, wyróżnia się jedynie od 20 do 30 izoform receptora GABA_A. Każdy typ, w zależności od składu podjednostkowego, wykazuje specyficzną i charakterystyczną dla siebie lokalizację w obrębie mózgu, a ich pobudzenie daje odpowiednie efekty fizjologiczne i farmakologiczne. Receptory zawierające podjednostki $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ w połączeniu z podjednostką β oraz $\gamma 2$ są najbardziej rozpowszechnione w obrębie mózgu. Około 60% izoform stanowi podtyp receptora $\alpha 1$, $\beta 2$, $\gamma 2$ (tylko kilka regionów mózgu nie posiada tego typu receptora), 15–20% obejmuje podtyp $\alpha 2$, $\beta 3$, $\gamma 2$, 10–15% podtyp $\alpha 3$, βx , $\gamma 2$ [75]. Najczęściej występują: dwie podjednostki α , dwie podjednostki β oraz jedna podjednostka γ . Inne podtypy stanowią mniejszy procent całej puli receptora GABA_A, nie oznacza to jednak, że ich znaczenie dla funkcjonowania organizmu jest mniej znaczące. Działanie modulatorów receptorów GABA_A zależy od składu podjednostkowego receptora. Podjednostka $\alpha 1$ pośredniczy np. w wywołaniu działania uspokajającego, przeciwdrgawkowego oraz amnezycznego przez benzodiazepiny, natomiast podjednostka $\alpha 2$ – anksjolitycznego i miorelaksacyjnego, a występowanie podjednostki $\alpha 4$ czy $\alpha 6$ sprawia, że receptor jest niewrażliwy na działanie benzodiazepin [76]. Istnieją również dowody na istnienie polimorfizmu genów kodujących podjednostki receptorów GABA_A

³ Większość natiwnych receptorów zawiera dwie podjednostki alfa, dwie podjednostki beta i pojedyncze podjednostki γ , δ i ϵ . Podjednostki Rho (ρ) mogą być wymienione na inne podjednostki, ale zwykle tworzą homomeryczne kanały chlorkowe. Receptory zawierające podjednostki ρ były wcześniej opisywane jako receptory GABAC, ale obecnie są one klasyfikowane jako podtyp receptorów GABAA. Biorąc pod uwagę liczbę zidentyfikowanych podjednostek receptora GABA i fakt, że każdy natiwny receptor posiada po pięć podjednostek, istnieje mnóstwo potencjalnych podtypów receptorów. Wydaje się jednak, że kilka konkretnych kombinacji podjednostek jest preferowanych i można je odnaleźć na synaptycznych i ekstrasynaptycznych złączach w OUN. Około 60% receptorów GABAA zbudowanych jest z podjednostek $\alpha 1$, $\beta 2$ i $\gamma 2$, 15–20% z $\alpha 2$, $\beta 1$ i $\delta 2$, 5% z $\alpha 4$, $\beta 1$ i δ lub $\alpha 4$, $\beta 1$ i γ i mniej niż 5% z $\alpha 5$, $\beta 2$ i $\gamma 2$ lub $\alpha 6$, $\beta 2$ / $\gamma 2$ [42]. Badania wykazały, że ekspresja podjednostek γ w receptorach GABAA występuje zwykle w synapsach, natomiast receptory z ekspresją podjednostki δ stanowią główną klasę receptorów ekstrasynaptycznych [43]. Receptory GABAA zbudowane z podjednostek alfa i γ są wrażliwe wobec benzodiazepin (BDZ) [44].

Rycina 5. Schemat receptora GABA_A

podczas depresji. Polimorfizm ten związany jest ze zmianą ekspresji podjednostek $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\beta 1$ i $\beta 3$. Jak te genetyczne zmiany przekładają się na funkcje układu GABA-ergicznego pozostaje obecnie w sferze badań. Na modelach zwierzęcych (gryzonie) depresji wykazano delecję podjednostek $\gamma 2$ receptora GABA_A, co powoduje zmniejszoną ekspresję synaptycznych receptorów GABA_A w hipokampie (spadek o 35%) oraz w jądrze migdałowatym (spadek o 6%) [76]. Konsekwencją tych zmian jest powstanie profilu behawioralnego o wzmożonej podatności na depresję [77]. Fenotyp depresyjny może zostać odwrócony za pomocą terapii lekami przeciwdepresyjnymi, takimi jak dezipramina, tricykliczne leki przeciwdepresyjne oraz leki z grupy SSRI, które wpływają hamująco na stres i depresję. Według modelu opisującego rolę układu GABA-ergicznego w zachowaniach depresyjnych [77], stres i depresja powodują hamowanie funkcji układu GABA-ergicznego w korze przedczołowej i hipokampie. Rezultatem tego jest zwiększenie pobudzenia w tych regionach i zmieniona kontrola uwalniania kortykotropiny, hormonu uwalnianego (CRH) przez neurony jądra przykomorowego podwzgórza (PVN). Zwiększone uwalnianie CRH stymuluje uwalnianie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) z przysadki mózgowej i zwiększanie poziomu kortyzolu (kortykosteronu) uwalnianego z nadnerczy. Zmiany fizjologiczne związane z depresją i chronicznym stresem w obszarze CA1 hipokampa są korygowane przez zastosowanie leków przeciwdepresyjnych, które wykazują zdolność stymulowania neurogenezy [78].

Liczne związki mogą nasilać działanie GABA poprzez pozytywną modulację funkcji receptorów GABA_A. Pobudzenie GABA-ergicznego transmisji przez agonistów polega na nasileniu wiązania GABA i benzodiazepin z ich miejscami rozpoznawczymi w kompleksie receptorowym GABA_A oraz na bezpośrednim

wpływie wyższych dawek na częstotliwość otwarcia kanału chlorowego i wydłużeniu postsynaptycznych potencjałów hamujących [79]. Agoniści receptorów GABA_A – leki z grupy BDZ były szeroko stosowane w leczeniu ostrych zaburzeń depresyjnych i objawów lękowych, takich jak panika, uczucie braku kontroli, fobia, bezsenność [76]. Barbiturany, które są również agonistami receptorów GABA_A, były w przeszłości stosowane w terapii przeciwdrgawkowej, przeciwlękowej oraz jako środki uspokajające i nasenne. Jednakże, ze względu na ich poważne skutki uboczne, takie jak indukcja głębokiej depresji oraz ryzyko śmierci w przypadku przedawkowania, zostały wycofane z terapii [79]. Obecne strategie farmakologiczne w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych nie są całkowicie satysfakcjonujące. Leki z grupy BDZ są bezpieczniejsze i lepiej tolerowane niż barbiturany. Istnieje jednak poważny problem z dużym potencjałem uzależniającym leków z grupy BDZ i występowaniem nadmiernej tolerancji, co związane jest ze zwiększaniem dawki skutecznej z upływem czasu podczas przewlekłego stosowania oraz z występowaniem istotnych skutków ubocznych, takich jak amnezja i sedacja. Z tego względu, zgodnie z aktualnymi wytycznymi, nie zaleca się przewlekłego leczenia związkami z grupy BDZ [79]. W przeciwieństwie do BDZ i stosowanych obecnie leków z grupy SSRI, steroidy neuroaktywne i neurosteroidy są zdolne do modulowania funkcji większości podtypów receptora GABA_A obecnych w mózgu, dzięki czemu wykazują szerokie spektrum działania farmakologicznego. Próg aktywacji receptorów GABA_A przez neurosteroidy dotyczy stężeń na poziomie nanomolarnym (1–10 nM). Zakres tych stężeń jest porównywalny do leków z grupy BDZ takich jak lorazepam, ale jest znacznie mniejszy niż wymagany w przypadku pentobarbitalu, którego efekty progowe pojawiają się już w zakresie mikromolowym. W ciągu ostatnich kilku lat zgromadzono wiele informacji o efektach działania neurosteroidów, zwłaszcza na receptory GABA_A (**rycina 5**). Neurosteroidy pozytywnie lub negatywnie modulują aktywność receptora GABA_A [31]. Pobudzenie GABA-ergicznego transmisji przez neurosteroidy polega na nasileniu wiązania GABA z jego miejscami rozpoznawczymi w kompleksie receptorowym GABA_A oraz na bezpośrednim wpływie wyższych dawek na częstotliwość otwarcia kanału chlorowego i wydłużeniu postsynaptycznych potencjałów hamujących [31].

Neurosteroidy a system GABA-ergiczny

Neuroprzekaznikowy układ GABA-ergiczny jest głównym celem działania neurosteroidów. Aktywne neurosteroidy i steroidy neuroaktywne wykazują wysokie powinowactwo wobec receptorów

GABA_A [80]. Związki te są zdolne do modulowania funkcji większości podtypów receptorów GABA, posiadają niską selektywność w stosunku do podjednostek receptora GABA, dzięki czemu wykazują szerokie spektrum działania farmakologicznego na przekąźnictwo GABA-ergiczne. Neuroaktywne steroidy pozytywnie lub negatywnie modulują aktywność receptorów GABA_A zbudowanych z podjednostek $\alpha\beta$, $\alpha\beta\gamma$, czy $\alpha\beta\delta$, a najwyższe powinowactwo wykazują w stosunku do receptorów $\alpha\beta\delta$ oraz mogą również preferencyjnie oddziaływać na ekstrasynaptyczne receptory GABA_A [81]. W przypadku pozytywnej modulacji, neurosteroidy poprzez przyłączenie się do specyficznego miejsca, w receptorze wywołują zmianę jego konformacji, co w konsekwencji powoduje napływ jonów chlorowych do wnętrza neuronu i jego miejscową hiperpolaryzację, która powoduje zahamowania aktywności neuronu. Należy dodać, że neuroaktywne steroidy i neurosteroidy posiadają złożony i wielokierunkowy mechanizm działania wobec receptorów GABA_A, który zależy od ich budowy chemicznej i stosowanej dawki. Po ponad 25 latach badań w przybliżeniu został poznany mechanizm oddziaływania steroidów neuroaktywnych z receptorem GABA_A. Miejsce wiązania steroidów zlokalizowane jest w obrębie podjednostki α , przyłączenie do tej podjednostki neuroaktywnego steroidu wywołuje zmiany konformacyjne oraz nasilenie powinowactwa GABA do receptora. Natomiast poprzez oddziaływanie cząsteczki steroidu w przestrzeni zlokalizowanej pomiędzy podjednostkami α i β dochodzi do bezpośredniej aktywacji receptora [82]. W badaniach potwierdzono znaczenie reszt aminokwasowych w polipeptydowych podjednostkach, budujących receptor, które mogą być zaangażowane we wzmocnienie funkcji receptorów GABA_A, po przyłączeniu neurosteroidów, co sugeruje złożoność działania tych związków na układ GABA-ergiczny. W niektórych badaniach wykazano udział dodatkowych reszt w regionie TM1 (receptora), przyczyniających się do dopasowania powierzchni hydrofobowej do dodatkowej interakcji z neurosteroidami [83]. Sugeruje to obecność dodatkowego miejsca oddziaływania neurosteroidów wobec receptorów GABA_A, co jeszcze bardziej wskazuje na złożoność oddziaływania tych związków wobec receptorów GABA_A [84]. Badania dotyczące aktywacji receptorów GABA, w zależności od struktury neurosteroidów, wykazały obecność stereoselektywności tych związków. Kluczowe elementy strukturalne neuroaktywnych steroidów istotne dla pozytywnej allosterycznej modulacji receptora GABA_A to grupa OH w pozycji α przy C3 i grupa OH w pozycji α/β przy C5 i C21 pierścienia A. Do pozytywnych modulatorów, czyli naturalnych agonistów receptorów GABA_A, zaliczamy

neurosteroidy o strukturze 3 α , 5 α oraz 3 α , 5 β -zredukowane metabolity progesteronu, takie jak: allopregnanolon, pregnanolon, dezoksykortykosteronu (DOC), tetrahydrodeoksokortykosteron (THDOC), dehydroepiandrosteron (DHEA), testosteron czy androsteron. Oprócz neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów wzmacniających działanie GABA, istnieją również neurosteroidy, które tłumią odpowiedź GABA wobec receptorów GABA_A. Związki będące negatywnymi modulatorami receptora GABA_A są odpowiedzialne za przeciwstawne działanie w stosunku do GABA i pozytywnych modulatorów, czyli powodują wystąpienie lęku, działają pobudzająco, drgawkotwórczo i depresyjnie. Prototypem tych związków są neuroaktywne steroidy siarczanowane w pozycji C3, do tych związków należy między innymi siarczan pregnenolonu (PREGS) i siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEAS) [86]. Dodatkowo, neuroaktywne steroidy, w których grupa C3-hydroksylowa występuje w beta konfiguracji (w porównaniu z 3 α -konfiguracją steroidów potencjalizujących działanie GABA) są niekompetentnymi antagonistami receptora GABA_A i posiadają podobne właściwości co siarczanowane w pozycji C3 steroidy [86]. Negatywnie modulują aktywność receptorów GABA_A poprzez blokowanie prądu chlorkowego i pobudzenie neuronów wskutek ich depolaryzacji. Endogenne, zredukowane neurosteroidy zawierające 3 α -hydroksylowy pierścień A, takie jak allo i 3 α , 5 α -THDOC są jednymi z najsilniejszych ligandów receptora GABA_A, z powinowactwem równym lub większym od innych znanych ligandów, jakimi są benzodiazepiny lub barbiturany. Jak wspomniano wcześniej, pozytywne modulowanie receptorów GABA_A jest skorelowane z aktywnością przeciwlękową i przeciwdepresyjną, podczas gdy ujemna modulacja tych receptorów związana jest z działaniem lękotwórczym (anksjogennym) i depresyjnym [87]. Wśród neuroaktywnych steroidów, które wykazują wpływ na funkcję receptora GABA_A należy wyróżnić pochodne progesteronu, takie jak allopregnanolon (alloP; 3 α , 5 α -tetrahydroprogesteron), epiallopregnanolon (3 β , 5 α -tetrahydroprogesteron), pregnanolon (3 α , 5 β -tetrahydroprogesteron) oraz tetrahydrodeoksokortykosteron (3 α , 5 α -THDOC), oraz pregnenolon (PREG), siarczan pregnenolonu (PREGS), dehydroepiandrosteron (DHEA) i siarczanu DHEA (DHEAS). Powyższe związki wykazują zdolność wiązania się do receptorów GABA_A w ściśle określonych miejscach tego receptora oraz jako związki steroidowe mogą być syntetyzowane *de novo* w układzie nerwowym [87].

Prototypowym neurosteroidem modulującym receptory GABA_A jest neurosteroid 3 α -hydroksy-5 α -pregnan-20-on (określany także jako

allopregnanolon (3 α , 5 α -THP). Allopregnanolon⁴ (AlloP) jest skuteczniejszy podczas wzmacniania odpowiedzi GABA w porównaniu z lekami z grupy BDZ (20-krotny wzrost w porównaniu do 3-krotnego wzrostu przy niskich stężeniach GABA). Efekt wzmacniający działanie neurosteroidów na receptory GABA_A jest zwiększony na skutek hamowania mediowanego za pomocą GABA, co prawdopodobnie przyczynia się do nasilenia wpływu uspokajającego tych związków na nastrój, niepokój i napady padaczkowe [88]. Efekty te występują zarówno w synaptycznych, jak i ekstrasynaptycznych receptorach GABA_A, powodując zwiększenie tonicznego hamowania. Istnieje wiele dowodów behawioralnych i elektrofizjologicznych uzasadniających hipotezę, że w mózgu 3 α , 5 α -THP jest fizjologicznym modulatorem GABA w działaniu na receptory GABA_A, powodując wzmacnianie działania GABA wobec chlorkowych kanałów jonowych, zwiększając częstotliwość i/lub czas otwarcia kanału jonowego [88]. Submikromolarne stężenia allopregnanolonu wzmacniają odpowiedzi na poziomie nasycania receptora GABA, podczas gdy wyższe stężenia alloP powodują bezpośrednio otwieranie (bramek) kanałów chlorkowych receptora GABA_A, pod nieobecność GABA. Efektem tego działania jest zwiększenie synaptycznego i tonicznego hamowania w lokalnych obszarach mózgu [89]. Allopregnanolon jest bardzo efektywnym, endogennym i pozytywnym allosterycznym modulatorem receptorów GABA_A, podobnym w działaniu do leków z grupy BDZ. Aktywność farmakologiczna leków z grupy BDZ wobec kanałów jonowych bramkowanych GABA zmienia się wraz z kompozycją podjednostkową receptora i wymaga obecności podjednostek α i γ . Natomiast, neurosteroidy wykazują wysokie powinowactwo do różnych podtypów receptorów GABA_A. Allopregnanolon stymuluje pozytywnie działanie GABA w receptorach GABA_A, w podtypach homooligomerycznych zawierających tylko podjednostki beta lub w receptorach heteromerycznych zawierających podjednostki α , β i γ [89]. Podczas podania systemowego, allopregnanolon posiada istotne właściwości przeciwlękowe i przeciwdrgawkowe, a w wysokich dawkach wykazuje działanie uspokajające i nasenne, o podobnej mocy działania, co inni agoniści receptora GABA_A. Allopregnanolon

(3 α ,5 α -THP) i jego izomer 3 α , 5 β -THP posiadają porównywalną zdolność w dodatniej modulacji receptorów GABA_A poprzez wiązanie do konkretnych miejsc o wysokim powinowactwie w receptorach GABA_A, które różnią się od miejsc wiązania leków z grupy BDZ [90]. W badaniach (na zwierzętach) wykazano, że obwodowe lub ośrodkowe podawanie 3 α , 5 α -THDOC, a w mniejszym stopniu, PREG posiadają w mniejszym stopniu aktywność przeciwlękową i przeciwdepresyjną [91]. Aktywność przeciwlękową posiada również progesteron, który jest prekursorem allopregnanolonu. Podawanie progesteronu jest związane ze zwiększeniem w surowicy i ośrodkach korowych poziomów allopregnenolonu, a przeciwlękowe działanie progesteronu jest związane z jego konwersją do alloP. Skutki działania przeciwlękowego pregnenolonu (PREG), siarczanu pregnenolonu (PREGS) oraz dehydroepiandrosteronu (DHEA) i jego siarczanu (DHEAS) są mniej jasne niż działanie przeciwlękowe czy przeciwdepresyjne allopregnanolonu. Pregnenolon (PREG), główny prekursor w syntezie hormonów steroidowych i neuroaktywnych steroidów, oraz jego sulfonowane pochodne takie jak siarczan pregnenolonu (PREGS) mogą bezpośrednio modulować receptory dla wielu neuropeptydów [91]. Przedkliniczne badania sugerują, że pregnenolon i jego siarczan mogą modulować zachowania związane z lękiem i depresją. W badaniach wykazano, że PREGS wywierają profil przeciwdepresyjny i przeciwlękowy w wyniku oddziaływania z receptorami GABA_A [91]. Ponadto, na modelach zwierzęcych zachowań lękowych i depresyjnych wykazano, że PREGS w wyższych dawkach działa anksjogenicznie, natomiast w dawkach niższych posiada działanie przeciwlękowe [92]. Ten efekt jest związany z mieszanym działaniem agonistycznym/antagonistycznym PREGS na receptory GABA_A. Zgodnie z wynikami badań przedklinicznych, pregnenolon i jego siarczanowe pochodne posiadają istotne znaczenie w zaburzeniach afektywnych. Zmniejszenie poziomu PREG stwierdzono u pacjentów cierpiących na uogólnione zaburzenia lękowe oraz w fobii społecznej. W przeciwieństwie do tego, u kobiet cierpiących na mieszane zaburzenia lękowo-depresyjne oraz zaburzenia behawioralne związane z zespołem napięcia przedmiesiączkowego (PMS) [93] poziomy PREG

⁴ Jednym z kluczowych neurosteroidów pełniących funkcję w lęku i depresji jest allopregnenolon, który ulega biosyntezie w korowych neuronach glutaminergicznych hipokampa, a w komórkach ziarnistych zakrętu zębatego może być wydzielany. Wydzielanie może przebiegać w parakrynnym sposób, który pozwala na to, że allopregnenolon dociera do receptorów GABAA w błonach synaptycznych neuronów korowych i neuronów piramidalnych hipokampa. Inny mechanizm, tzw. autokrynnym, pozwala allopregnenolonowi na lokalne działanie przez wiązanie się do postsynaptycznych lub extra-synaptycznych receptorów GABAA na dendrytach lub ciałach komórek neuronów korowych lub hipokampa, w których następuje jego biosynteza. Alternatywnie, allopregnenolon może nie być uwalniany, ale może zamiast tego rozpraszac się poprzecznie do błonowych synapsosomów lub dendrytów glutaminergicznych neuronów. Allopregnenolon produkowany w pierwotnych wyjściowych neuronach GABA-ergicznych z jąder siatkowo-wzgórzowych może być jednocześnie wydalany z GABA i oddziaływać na postsynaptyczne receptory GABAA. Natomiast biosynteza allopregnenolonu przez neurony GABA-ergiczne prążkowie i komórki Purkiniego w mózdku może aktywować postsynaptyczne receptory GABAA na ciałach komórkowych lub dendrytach neuronów w głębokich jądrach mózdku. Wyjaśnienie miejsca syntezy allopregnenolonu i działania w kilku obszarach mózgu była kluczowa do zrozumienia możliwych mechanizmów, dzięki którym allopregnenolon jest wydzielany i działa na receptory GABAA. Badania te podkreślają funkcjonalną rolę allopregnenolonu w dostrojeniu siły GABA-ergicznego neuroprzebiegu w warunkach fizjologicznych oraz wykazują wpływ deficytu allopregnenolonu na powstawanie zaburzeń behawioralnych związanych z lękiem i depresją.

ulegają podwyższeniu. Zmiany w stężeniach PREG i PREGS obserwowane w osoczu sugerują, że w różnych zaburzeniach psychiatrycznych istnieje określony profil poziomów pregnenolonu i innych neuroaktywnych steroidów. Działanie przeciwłkowe PREGS w niskich dawkach (przez aktywność agonistyczną na poziomie receptorów $GABA_A$), ale anksjogenne w wysokich dawkach (przez działanie antagonistyczne na poziomie tego samego receptora) obserwowane w niższych poziomach PREGS mogą być interpretowane jako próba poradzenia sobie organizmu z patologią lęku przez przeciwdziałanie szkodliwym efektem aktywności antagonistycznej PREGS na poziomie receptora $GABA_A$. Ponadto, dane uzyskane w badaniach na zwierzętach sugerują, że zdolność wywoływania stanów lękowych przez PREGS może polegać na pośredniczeniu jego dodatniego allosterycznego działania modulującego na poziom pobudzenia receptorów NMDA, które jest zgodne z działaniem anksjogennym podczas zwiększonej aktywności glutaminergicznej. Przyjmuje się, że brak patologicznych zaburzeń lękowych jest związane z istnieniem równowagi w homeostazie pomiędzy endogennym działaniem przeciwłkowym i anksjogennym, która jest determinowana stanem równowagi pomiędzy aktywnością układu $GABA$ -ergicznego i glutaminergicznego. W kontekście patologicznego lęku, spadek produkcji PREGS może być interpretowany jako próba homeostazy w celu zmniejszenia działania anksjogennego przez zmniejszanie negatywnej modulacji receptora $GABA_A$ i pozytywnego modulowania receptora NMDA [94].

Z powodu pewnych podobieństw dotyczących mechanizmów molekularnych, można oczekiwać, że podobną aktywność wobec zaburzeń lękowych do pregnenolonu posiada również dehydroepiandrosteron (DHEA) i jego siarczan DHEAS. Podobnie jak pregnenolon, DHEAS wywiera działanie przeciwłkowe, a w tym działaniu pośredniczą receptory $GABA_A$ [94]. Niskie stężenia DHEA /DHEAS posiadają zdolność pozytywnego modulowania receptorów $GABA_A$, co przekłada się na ich aktywność anksjolityczną na modelu zwierzęcym lęku. U ludzi, różne badania wykazały, że odpowiednie stężenia DHEA/DHEAS w osoczu mogą być neuroendokrynologicznym znacznikiem zaburzeń lękowych, a łagodzenie objawów lęku wiązało się obniżeniem poziomów DHEA/DHEAS. U pacjentów z zaburzeniami lękowymi wykazano obniżony poziom DHEAS w osoczu oraz DHEA w ślinie [94], a obniżone poziomy DHEAS w osoczu ulegają znacznemu podwyższeniu po odpowiedniej farmakoterapii przeciwłkowej [50]. Do tej pory nie wykazano działania DHEAS w leczeniu zaburzeń lękowych. Jednakże, u chorych leczonych na schizofrenię dodatkowo podawanie DHEA powoduje poprawę objawów lękowych [95],

co sugeruje, że ten neurosteroid może również posiadać korzystny wpływ w leczeniu objawów związanych z lękiem.

W przypadku progesteronu jego działanie przeciwłkowe jest związane ze zwiększeniem stężenia allopregnanolonu sugerując ze działanie (przeciwłkowe) progesteronu jest mediowane w wyniku konwersji progesteronu do 3 α -zredukowanych metabolitów takich jak allopregnanolon. W przypadku ludzi, sugeruje się patofizjologiczną rolę progesteronu w powstawaniu zaburzeń lękowych. U kobiet cierpiących na zaburzenia lękowe, wzrost poziomu progesteronu odnotowano podczas fazy cyklu menstruacyjnego. Zatem, podczas cyklu menstruacyjnego progesteron i jego metabolity $GABA$ -ergiczne mogą przyczynić się do poprawy stanu klinicznego pacjentów z zaburzeniami lękowymi [95].

Biorąc pod uwagę większą częstotliwość występowania depresji u kobiet i relacje między odpowiednimi stężeniami neurosteroidów i progesteronu, zaczęto interesować się tym czy neurosteroidy mogą przyczynić się do powstania depresji w okresie poporodowym i w cyklu menstruacyjnym [96]. Prekursor alloP, progesteron krąży we krwi na niskim poziomie w późnej fazie lutealnej, ale wykazuje 2–4-krotny wzrost podczas pęcherzykowej fazy cyklu menstruacyjnego. Niski poziom w czasie późnej fazy lutealnej koreluje z okresem zwiększonego ryzyka powstawania stanów depresyjnych. W czasie ciąży następują dramatyczne zmiany w poziomie progesteronu, jego poziom wzrasta 50–100-krotnie, a następnie ulega gwałtownemu spadkowi w okresie bezpośrednim po porodzie. Na modelach zwierzęcych, wysokie poziomy progesteronu i alloP podczas ciąży są związane ze zmianami wyrównawczymi w receptorach $GABA_A$ i spadkiem ekspresji podjednostki δ receptora $GABA_A$. We wczesnym okresie poporodowym następuje ponownie spadek poziomu progesteronu oraz obniżenie ekspresji podjednostki δ receptora $GABA_A$. Zmiany te korelują ze zwiększoną pobudliwością neuronalną i zachowaniami depresyjnymi, które pozostają do momentu przewrócenia prawidłowej ekspresji podjednostki δ [96].

W przypadku przewlekłego stosowania neurosteroidów wykazujących efekty przeciwłkowe i przeciwdepresyjne, nie obserwuje się powstawania tolerancji podczas przewlekłego modulowania receptora $GABA_A$ [91]. Aktywność farmakologiczna leków z grupy BDZ wobec receptorów $GABA_A$ zmienia się wraz z kompozycją podjednostkową receptora i wymaga obecności podjednostek α i γ . Natomiast neurosteroidy wykazują wysokie powinowactwo do różnych podtypów receptorów $GABA_A$. Neurosteroidy w stężeniach w zakresie mikromolowym wywierają agonistyczną aktywność wewnętrzną wobec receptorów $GABA_A$, nawet

podczas nieobecności GABA. Neuroaktywne stero-
idy i neurosteroidy, jak wielokrotnie podkreślano,
posiadają wiele działań, które czynią z nich po-
tencjalnie atrakcyjne związki neuroterapeutyczne.
Należy podkreślić, że ich zdolność do modulowania
receptorów GABA_A należy do głównych celów ich
działania w mózgu, a obecnie istnieje coraz więcej
dowodów, że dysfunkcja układu GABA-ergicznego
należy do ważnych przyczyn w powstawaniu zabu-
rzeń depresyjnych oraz zaburzeń lękowych. Nawet,
jeśli zaburzenia układu GABA-ergicznego i endo-
gennych systemów neurosteroidowych odgrywają
tylko pośrednią rolę w etiologii zaburzeń neuropsy-
chiatrycznych (pomimo wielu dowodów), to związ-
ki te mogą być skutecznie wykorzystane w terapii
zaburzeń depresyjnych i lękowych [93].

Neurosteroidy a system glutaminergiczny

Wydaje się, że efekty ośrodkowe neurosteroidów
wynikają przede wszystkim z allosterycznego po-
budzania czynności kompleksu receptora GABA_A.
Jednak w ostatnim czasie wykazano, że neuroak-
tywne steroidy, zwłaszcza siarczan pregnenolonu
(PS) i dehydroepiandrosteronu (DHEAS), zwięk-
szają stymulujący efekt aminokwasów pobudzają-
cych na aktywność neuronów. Wiadomo, że w na-
nomolarnych stężeniach PS pozytywnie moduluje
funkcję receptorów NMDA, natomiast DHEAS wy-
kazuje właściwości słabego agonisty tego receptora
(rycina 6). Należy podkreślić, że cząsteczki DHEAS
w wysokich nanomolarnych stężeniach także po-
średnio stymulują działanie receptorów NMDA po-
przez wpływ na receptory GABA [97]. PS nasila
neurotoksyczny efekt NMDA, zwiększając prze-
pływ jonów wapniowych przez kanały recepto-
rów NMDA [23]. W komórkach obwodowych na-
pływ jonów wapnia przez kanały wapniowe typu T,
aktywowane niskim napięciem i uwalnianie jonów
wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych po-
woduje wzrost transportu cholesterolu i stymuluje
konwersję cholesterolu do pregnenolonu. Napływ

jonów wapnia za pośrednictwem receptorów glu-
taminergicznych NMDA powoduje nasilenie bio-
syntezy pregnenolonu i syntezy neurosteroidów
w hipokampie [98]. Aktywacja na niskim pozio-
mie receptorów NMDA jest wystarczająca do pro-
mowania biosyntezy neurosteroidów w neuronach
piramidowych hipokampa. W jaki sposób aktywa-
cja receptorów NMDA wpływa na biosyntezę neu-
rosteroidów nie jest jeszcze dokładnie wyjaśnione,
wiadomo, że w trakcie aktywacji tych receptorów
następują zmiany poziomów wapnia, kalcyneury-
ny, tlenu azotu i mitogenu p38 aktywowanego
za pomocą kinazy białkowej [99]. Funkcja recep-
torów NMDA w aktywowaniu biosyntezy neuro-
steroidów w neuronach piramidalnych zapewnia
potencjalny związek między ostrym stresem a bio-
syntezą neurosteroidów. Ostry stres zwiększa ze-
wnątrzkomórkowe poziomy glutaminianu w OUN.
Zmiany poziomów glutaminianu odzwierciedla-
ją skutki działania kortykosteronu podczas ostre-
go stresu, który powoduje wzrost uwalniania glu-
taminianu w synapsach, a także zmiany w poborze
glutaminianu [100]. Istnieją liczne dowody wska-
zujące na fakt, że neurotransmisja glutaminergiczna
może brać udział w mechanizmach leżących u pod-
staw reakcji na stres oraz powstawania zaburzeń
depresyjnych i lękowych. Niektóre neurosteroidy,
szczególnie te zawierające w pozycji C3 grupę siar-
czanową, posiadają zdolność modulowania trans-
misji glutaminergicznej na skutek pobudzenia re-
ceptorów NMDA, co może przyczynić się do ich
efektów terapeutycznych. Siarczan pregnenolonu
(PS) jest przykładem tzw. siarczanowanych neuro-
steroidów, które pozytywnie modulują receptory
NMDA (oraz ujemnie modulują receptory GABA_A),
podczas gdy inne steroidy takie jak siarczan epi-
pregnanolonu hamuje aktywność tych receptorów
[101]. Pozytywne skutki działania modulatoryj-
nego PS na receptory NMDA wydają się być związane
z selektywnym oddziaływaniem PS na podtypy re-
ceptorów NR1/NR2A i NR1/NR2B, natomiast efek-
ty hamujące z modulowaniem receptorów zawiera-
jących podjednostki NR2C lub NR2D w połączeniu
z podjednostką NR1 [102]. Wpływ neurosteroidów
na receptory NMDA może mieć ważne znaczenie
w kontekście rozwoju nowych leków przeciwde-
presyjnych i przeciwlękowych. Przykładem tego
jest ketamina, skuteczny antagonist receptorów
NMDA w terapii przeciwdepresyjnej, lek o działa-
niu znieczulającym i przeciwbólowym [103]. Panu-
je obecnie przekonanie, że antagoniści receptorów
NMDA działają stosunkowo słabo przeciwdepresyj-
nie, dlatego nie podejmuje się intensywnych ba-
dań klinicznych nad tego typu związkami. Nie-
mniej jednak, jeżeli związki takie jak neurosteroidy
będą posiadały jednocześnie aktywność wzmacnia-
jącą wobec receptorów GABA_A i hamującą wobec

Rycina 6. Schemat receptora NMDA

receptorów NMDA, to ich siła działania i przeciwdepresyjny potencjał terapeutyczny może być bardzo korzystny. Dowodem tej koncepcji jest syntetyczny neurosteroid: kwas 3 α , 5 β -20-oksy-pregnano-3-karboksylowy (3 α 5 β -PC) posiadający grupę karboksylową w pozycji C3, który działa aktywująco na receptory GABA_A oraz hamująco na aktywność receptorów NMDA wykazując działanie przeciwdepresyjne [104]. Wydaje się, że neurosteroidy działające jako pozytywne modulatory allosteryczne receptorów GABA i negatywne modulatory receptorów NMDA, które posiadają działanie o charakterze przeciwdepresyjnym czy przeciwłukowym będzie można wykorzystać w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych [105].

Neurosteroidy a układ serotonergiczny w zaburzeniach lękowych

Niedobór serotonergicznego neurotransmitu w różnych regionach mózgu jest jedną z przyczyn powstawania zaburzeń lękowych i depresyjnych [106]. W 1950 r. wykazano, że imipramina, związek zaliczany do tricyklicznych leków przeciwdepresyjnych (TLPD), oraz iproniazyd, lek przeciwegzuciczny, były skuteczne w terapii depresji. Z obserwacji wynikało, że oba leki powodują podwyższenie pozakomórkowego poziomu monoamin na skutek blokowania aktywności oksydazy monoaminowej (MAO) lub hamowania neuronalnego transportera serotoniny i/lub transportera noradrenaliny. Badania doprowadziły do postawienia hipotezy o niedobrze monoamin jako mechanizmie powstawania zaburzeń afektywnych, w tym zaburzeń depresyjnych i lękowych [107]. Serotonina jest zaangażowana w modulowanie wielu fizjologicznych i behawioralnych funkcji, takich jak: nastrój, nauka, agresja, reakcja na stres czy lęk [108–109]. Transporter serotoniny (SERT) jest odpowiedzialny za neuronalny wychwyt zwrotny serotoniny (5-HT) ze szczeliny synaptycznej. Rozwój leków z grupy SSRI stanowi istotny postęp w farmakoterapii zaburzeń depresyjnych i lękowych. Leki z grupy SSRI hamują wychwyt zwrotny serotoniny w presynaptycznych zakończeniach nerwowych, tym samym zwiększają stężenie serotoniny w szczelinie synaptycznej i przedłużając jej aktywność w miejscach związanych z receptorami postsynaptycznymi. Po kilku tygodniach stosowania leków z grupy SSRI, może wystąpić zjawisko odczulania receptorów presynaptycznych 5HT_{1A}, tzw. desensylizacja receptorów, która jest związana ze zmniejszeniem wrażliwości i liczby odpowiednich receptorów [110]. Wraz z rozwojem modeli transgenicznych chorób depresyjnych i zaburzeń lękowych wykazano, że u myszy pozbawionych genu dla transportera serotoniny następują zmiany w homeostazie serotoniny i obniżenie gęstości receptorów serotoninowych

takich jak receptory 5HT_{1A/2A}, natomiast w przypadku receptorów 5-HT_{1C} następuje ich regulacja w górę [111]. Do tej pory scharakteryzowano w OUN około 18 podtypów receptorów dla serotoniny. Według Raymonda i wsp. [34] receptory podtypu 1A, 2A i 2C należą do głównych receptorów serotoninowych zaangażowanych w modulowanie depresji i stanów lękowych.

Długotrwałe leczenie fluoksetyną moduluje działanie receptora kannabinoidowego typu 1 poprzez mechanizmy zależne od receptora 5HT_{1A} [112]. Fluoksetyna jest selektywnym inhibitorem transportera SERT i należy do leków z grupy SSRI. Wyniki badań wykazały, że lek ten jest istotnym stymulatorem neurosteroidogenezy w mózgu [36]. Już wcześniejsze badania prowadzone przez Steinera i wsp. [113] wykazały, że fluoksetyna powodowała zmniejszenie wielu objawów przedmiesiączkowych zaburzeń psychicznych (w tym depresji), które korelują z wytwarzaniem hormonów płciowych, w tym progesteronu. Zgodnie z tymi obserwacjami, fluoksetyna, oprócz hamowania wychwytu zwrotnego serotoniny, podwyższa również poziom neurosteroidu 3 α , 5 α -THP w mózgu i w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów poddanych terapii fluoksetyną [114]. Fluoksetyna jest w stanie zwiększać biosyntezę 3 α , 5 α -THP na skutek stymulacji aktywności oksydoreduktazy 3 α -hydroksysteroidowej, co powoduje zwiększenie produkcji powyższego związku z jego prekursora 5 α -dihydroprogesteronu (5 α -DHP). Natomiast 5 α -DHP może pośredniczyć w aktywacji genomowego DNA na skutek oddziaływań z wewnątrzkomórkowymi receptorami progesteronu, natomiast 3 α , 5 α -THP jest silnym dodatnim modulatorem allosterycznym funkcji receptorów GABA_A [115]. Wydaje się, że blokada wychwytu serotoniny przez fluoksetynę nie jest wystarczającym mechanizmem, aby wyjaśnić jej zdolności do przeciwdziałania zaburzeniom depresyjnym i lękowym. Przypuszcza się, że przeciwdepresyjne i przeciwłukowe działanie fluoksetyny można wytłumaczyć jej zdolnością do zwiększenia zawartości neurosteroidów w mózgu, co z kolei może modulować GABA-ergiczną neurotransmisję.

Neurosteroidy a receptory sigma-1

Receptory sigma zostały po raz pierwszy opisane jako podklasa receptorów opioidowych. W chwili obecnej znane są dwa różne receptory sigma, tzw. receptor sigma-1 i receptor sigma-2, które charakteryzują się różną masą cząsteczkową i selektywnością wobec leków [116]. Receptory sigma-1 są istotne w procesach uczenia się, pamięci, depresji, lęku, schizofrenii i nadużywania leków. Receptory tego typu mogą wiązać różne endogenne i egzogenne ligandy o zupełnie różnych klasach strukturalnych i różnych profilach farmakologicznych

[117]. Przeciwlękowa i przeciwdepresyjna aktywność ligandów receptorów sigma-1 została po raz pierwszy opisana na modelach zwierzęcych, w których agonista receptora sigma-1, (+) - SKF-10-1047 wykazywał działanie przeciwlękowe i antydepresyjne [117], które było wzmacniane w wyniku przyłączenia neurosteroidów. Wielu badaczy uważa, że neurosteroidy są endogennymi ligandami receptorów sigma-1 [118]. Działanie przeciwlękowe i przeciwdepresyjne neurosteroidów na skutek aktywacji receptorów sigma-1 może być hamowane przez odpowiednich antagonistów tych receptorów (**rycina 7**). Neurosteroidy takie jak pregnenolon, dehydroepiandrosteron (DHEA) oraz ich estry siarkowe działają jako agoniści receptora sigma-1, podczas gdy progesteron działa jako ich silny antagonist [119]. Pregnenolon i DHEA są zdolne do tłumienia lęku uwarunkowanego stresem w sposób zależny od dawki (u myszy), w podobny sposób co agoniści receptorów sigma-1 jak (+) - N-allylnormetazocyna, (+) - SKF-10-1047 [119], a działania te były hamowane przez antagonistę receptora sigma-1, NE-100. Wykazano, że endogenne neurosteroidy, w szczególności progesteron, mogą bezpośrednio modulować zachowania związane z receptorem sigma-1, a skuteczność agonistów receptorów sigma-1 jest odwrotnie skorelowana ze stężeniem endogenne progesteronu [120].

Ważnym aspektem zaburzeń lękowych i depresyjnych jest modulowanie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) przez neurosteroidy i ligandy receptorów sigma. Oś HPA jest istotnym systemem biologicznym, który związany jest z odpowiedzią na stres. Aktywność osi HPA jest kontrolowana

przez ciało migdałowate i hipokamp [121]. Stresory (czynniki stresujące) działające na ciało migdałowate stymulują neurony podwzgórza i potencjalnie oś HPA, co z kolei skutkuje produkcją kortyzolu przez nadnercza. Kortyzol wiąże się do receptorów glikokortykosteroidowych i mineralokortykosteroidowych w hipokampie, a poprzez negatywną pętlę sprzężenia zwrotnego hamuje aktywność podwzgórza i przywraca prawidłową homeostazę. To negatywne sprzężenie zwrotne powoduje u pacjentów z depresją i stanami lękowymi zwiększenia aktywności osi HPA. Stres, z kolei, może uczestniczyć w powstawaniu i utrzymywaniu zaburzeń psychiatrycznych [122]. Dodatkowo, stres lub panika powoduje uwalnianie neurosteroidów, co sugeruje, że jest to endogenne, homeostatyczny mechanizm przywracania prawidłowej aktywności osi HPA. Pozytywna modulacja osi HPA za pomocą DHEA i siarczana DHEA może być wyjaśniona interakcjami tych związków z receptorami sigma-1. Siarczan DHEA i DHEA szybko uaktywniają oś HPA za pośrednictwem receptorów sigma-1, jak i receptorów GABA_A i NMDA, które także biorą udział w kontroli działania osi HPA [122].

Białko TSPO a neurosteroidy

Białko TSPO (18 kDa), wchodzące w skład wcześniej znanego mitochondrialnego receptora benzodiazepinowego, jest białkiem transportującym cząsteczki cholesterolu od zewnętrznej do wewnętrznej błony mitochondrialnej, jest to etap ograniczający szybkość steroidogenezy [123]. Obniżenie ekspresji białka TSPO wykazano w kilku zaburzeniach lękowych, takich jak uogólnione zaburzenia lękowe, fobia społeczna, napadach paniki oraz zespole stresu pourazowego. Zwiększenie neurosteroidogenezy poprzez zastosowanie ligandów (agonistów) TSPO może reprezentować nową strategię w terapii stanów lękowych i zaburzeń depresyjnych [124]. Białko TSPO jest kodowane przez jądrowy DNA i jest zlokalizowane głównie w zewnętrznej błonie mitochondrialnej. TSPO było wcześniej znane jako obwodowy receptor benzodiazepinowy lub jako mitochondrialny receptor benzodiazepinowy, ponieważ pierwotnie sądzono, że jest ono odpowiedzialne za obwodowe miejsce wiązania diazepamu, ale później zostało funkcjonalnie i strukturalnie odróżnione od centralnego receptora benzodiazepinowego [126]. Nazwa TSPO została przyjęta w 2006 r. z uwagi na jego strukturę i funkcje molekularne. Podczas analizy molekularnej wykazano, że sekwencja TSPO jest złożona z 169 aminokwasów, a struktura tego białka (18 kDa) jest złożona z pięciokrotnej peptydowej domeny transbłonowej (helis transbłonowych), zlokalizowanej głównie w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, która

Rycina 7. Schemat receptora sigma, transportera serotoniny i agonistów receptora sigma-1

ulega ekspresji w tkankach syntetyzujących steroidy, w tym neurosteroidy syntetyzowane w mózgu. Obecność specyficznych białek mitochondrialnych, które oddziałują z TSPO sugeruje, że TSPO tworzy kompleks złożony z białek rozmieszczonych w zewnętrznej i wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Ten multimetryczny kompleks, oprócz białka TSPO, tworzy zależny od napięcia kanał anionowy (VDAC) i transporter nukleotydów adeninowych (ANT) [126], które są zlokalizowane odpowiednio w zewnętrznej i wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Powyższy mitochondrialny kompleks polibiałkowy, o nazwie MPTP, jest odpowiedzialny za ułatwione przechodzenie cząsteczek lipofilowych przez wodną przestrzeń międzłonową. Interakcja między białkami VDAC i TSPO wydaje się odgrywać istotną rolę w apoptycznej śmierci komórkowej. Zgodnie z hipotezą, TSPO jest głównie zlokalizowany w miejscach kontaktu obu błon [126]. Zdolność TSPO do tworzenia homopolimerów (głównie dimerów i trimerów) wydaje się zwiększać aktywność mitochondrialną podczas proliferacji komórek i aktywowania biosyntezy neuroaktywnych steroidów. Na specyficzne dla komórki funkcje TSPO mogą wpływać specyficzne tkankowo i komórkowo kompozycje białkowo-lipidowe błon mitochondrialnych. Dodatkowo, białka cytozolowe oddziałują z TSPO, co sugeruje, że TSPO służy jako kotwica mitochondrialna, która przekazuje sygnały wewnątrzkomórkowe do mitochondriów [127].

Liczne badania wskazują, że konserwatywne ewolucyjnie białko TSPO pełni istotną rolę w rozwoju i funkcji tkanek. Pomimo faktu, że TSPO ulega ekspresji w wielu narządach, najwyższe poziomy tego białka znajdują się w tkankach obwodowych zawierających komórki syntetyzujące neuroaktywne steroidy, takie jak komórki nadnercza, gonady oraz komórki OUN. W centralnym układzie nerwowym (OUN) TSPO zwykle ulega ekspresji w mikrogleju, w aktywnych astrocytach oraz neuronach. Jako główny składnik zewnętrznej błony mitochondrialnej, TSPO pośredniczy w różnych funkcjach mitochondrialnych, w tym w transporcie cholesterolu i biosyntezie hormonów steroidowych, oddychaniu mitochondrialnym, mitochondrialnych procesach przepuszczalności (MPT), otwarciu porów błonowych, apoptozie i proliferacji komórek [127]. Warto zauważyć, że obecne znane funkcje TSPO odkryto za pomocą ligandów TSPO. Dodatkowo hamowanie ekspresji genu TSPO za pomocą antysensownych wektorów TSPO, antysensownych oligonukleotydów lub wyciszających cząsteczek RNA w wyniku interferencji RNA wykazało kluczową rolę TSPO w steroidogenezie, apoptozie i proliferacji komórek. Jest prawdopodobne, że niektóre z tych funkcji mogą być również związane z ogólnym mechanizmem komórkowym, w którym biorą udział

generowane przez TSPO reaktywne formy tlenu, które mogą kontrolować zarówno mitochondrialną steroidogenezę, jak i szlaki apoptozy [128].

W celu określenia specyficznej roli TSPO w steroidogenezie, opracowano trójwymiarowe modele ludzkiego i mysiego TSPO, które wykazały, że TSPO może funkcjonować jako kanał, przyjmując cząsteczkę cholesterolu w przestrzeni wyznaczonej przez pięć transbłonowych helis TSPO. Podczas badań strukturalnych wykazano istnienie na końcu karboksylowego białka TSPO domeny wiążącej cząsteczki cholesterolu – CRAC (*cholesterol recognition amino acid consensus*). Badania potwierdzone spektroskopią magnetycznego rezonansu jądrowego wykazały, że TSPO wiąże cholesterol w domenie CRAC z powinowactwem w zakresie stężeń nanomolarnych [128]. Dane te potwierdzają, że C-koniec TSPO, który jest eksponowany w cytozolu, odgrywa ważną rolę w pobieraniu cząsteczek cholesterolu z cytozolu i następnie importowaniu tych cząsteczek do wewnętrznej błony mitochondrialnej. Regulacja biosyntezy hormonów steroidowych przez obwodowe narządy endokrynne w odpowiedzi na hormony przysadki prowadzi do wytwarzania dużych ilości steroidów, które są dostarczane do całego ciała, tylko niewielkie ilości neurosteroidów, które regulują i modulują lokalnie funkcje neuronalne powstają w mózgu. Obecnie TSPO jest jedynym znanym efektem do biosyntezy neurosteroidów. Ponieważ TSPO może wiązać i importować cholesterol do mitochondriów, TSPO może również odgrywać istotną rolę w biogenezie błon mitochondrialnych, proliferacji mitochondrialnej i/lub naprawy komórek. Sugeruje się, że znaczny i przedłużony wzrost ekspresji TSPO w komórkach nerwowych, po uszkodzeniu lub w czasie zaburzeń OUN, jest związany z zaangażowaniem TSPO w mechanizmy odpowiedzi tych komórek na procesy degeneracyjne i inne bodźce uszkodzające. Ponadto, białko TSPO bierze udział w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych i zaburzeniach psychicznych. Zmiany w poziomie ekspresji TSPO mogą powodować rozwój stwardnienia rozsianego, stwardnienia zanikowo bocznego, choroby Parkinsona, choroby Huntingtona, AD i udaru mózgu. Obniżenie ekspresji TSPO było obserwowane u pacjentów z chorobami współistniejącymi, np. lękiem i depresją oraz zaburzeniami dwubiegunowymi [126].

Ligandy białka TSPO posiadają silną aktywność przeciwlękową i przeciwdepresyjną na modelach zwierzęcych lęku i depresji. Selektywne ligandy TSPO, takie jak 2-fenilo-imidazo [1,2-a] pirydyna i jej pochodne są zdolne do zwiększania stężenia w mózgu pregnenolonu, progesteronu, 3 α , 5 α -THP i allotetrahydrodeoksokortykosteronu (3 α , 5 α -THDOC), a wzrost ten był związany ze znacznym efektem przeciwlękowym i przeciwdepresyjnym

[126]. Ligandy TSPO powodują zwiększenie produkcji neurosteroidów, co potwierdza nie tylko istotną rolę TSPO w neurosteroidogenezie, ale również sugeruje, że ligandy takie mogą być użyteczne

w terapii, jako alternatywne związki wobec egzogennych neurosteroidów w sytuacjach, w których pożądane jest zwiększenie stężenia neurosteroidów w mózgu [126]. Dodatkowo ligandy TSPO

Rycina 8. Neurosteroidogeneza i sygnalizacja neurosteroidowa indukowana przez ligandy TSPO (wg Nothdurftera C. i wsp. [126]). Wiązanie ligandu translokatora (18 kDa) (TSPO) sprzyja transportowi cholesterolu do wewnętrznej błony mitochondrialnej. Enzym cytochromu P450 (P450scc, kodowany przez CYP11A1), rozszczepiający łańcuch boczny w cholesterolu, zlokalizowany jest w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i przekształca cholesterol w aktywny neurosteroid – pregnenolon. Po dyfuzji do cytoplazmy pregnenolon przekształca się w progesteron za pomocą mikrosomalnej dehydrogenazy 3β-hydroksysteroidowej (3β-HSD) / Δ⁵-Δ⁴ izomerazy. Progesteron jest następnie metabolizowany do deoksykortykosteronu przez 21-hydroksylazę. Progesteron i deoksykortykosteron są redukowane w cytoplazmie, przez 5α-reduktazę do 5α-pregnanowych steroidów, takich jak 5α-dihydroprogesteron i 5α-dihydrokortykosteron (5α-DHDOC). W cytoplazmie związki te są dalej redukowane przez dehydrogenazę 3α-hydroksysteroidową (3α-HSD) do neurosteroidów allopregnanolonu i allotetrahydrodeoksykortykosteronu (3α, 5α-tetrahydrodeoksykortykosteron; 3α, 5α-THDOC). Przypuszczalne przez błonę komórkową na zasadzie dyfuzji, zredukowane 3α-neurosteroidy działają w sposób autokryny i parakryny i są silnymi dodatnimi modulatorami allosterycznymi synaptycznych i pozasynaptycznych receptorów GABA_A. Neurosteroidy modulują funkcję receptora GABA_A przez wiązanie w miejsca inne niż miejsca wiązania benzodiazepin (BDZs), a wpływ neurosteroidów na receptory GABA_A zależy od składu podjednostkowego receptora.

aktywujące neurosteroidogenezę nie wykazują skutków ubocznych podobnych do leków z grupy BDZ i z tego względu są one obiecującym narzędziem terapeutycznym w leczeniu zaburzeń lękowych (**rycina 8**) [128].

Modulacja poziomu neurosteroidów jako mechanizm działania farmakologicznego leków przeciwdepresyjnych

Neuroaktywne steroidy oraz neurosteroidy mogą nie tylko bezpośrednio wpływać modulując na zaburzenia depresyjne i lękowe, ale mogą być również zaangażowane w terapeutyczne efekty działania leków przeciwpsychotycznych, przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych. Wiele danych wskazuje, że skutkiem terapii przeciwdepresyjnej i przeciwlękowej jest wzrost poziomów endogennych 3-zredukowanych neuroaktywnych steroidów (na modelach depresji i lęku) [128]. Dokładne mechanizmy molekularne leżące u podstaw działania powyższych leków na poziomy neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów są nadal badane. Niektóre leki przeciwpsychotyczne, w tym kłozapina, olanzapina, zwiększają poziom alloP, podobnie jak wiele klinicznie stosowanych leków z grupy BDZ [129]. Wśród leków z grupy BDZ, np. klonazepam wyróżnia się wyjątkowo niewielkim wpływem na poziom neurosteroidów, co jest związane prawdopodobnie z niskim powinowactwem tego leku wobec białka TSPO. Związki, które tłumią endogenną produkcję neurosteroidów, takie jak inhibitor 5 α -reduktazy, finasteryd, mogą powodować objawy depresji i zaburzeń funkcji poznawczych, gdy stosuje się ten lek podczas leczenia łysienia lub w terapii nowotworów [129]. Badania przedkliniczne dotyczące skutków działania mirtazapiny na poziomy różnych neurosteroidów ujawniły sprzeczne wyniki. Mirtazapina jest lekiem przeciwdepresyjnym, który działa jako antagonist receptoru serotoninowego typu 5-HT₂ i 5-HT₃ oraz histaminowego H₁. Receptorowy mechanizm działania mirtazapiny różni się od działania leków z grupy SSRI i tricyklicznych leków przeciwdepresyjnych. Pojedyncze iniekcje mirtazapiny powodują wzrost poziomu 3, 5-THP w mózgu i osoczu [130]. W badaniach wpływu mirtazapiny podczas monoterapii na stężenia neuroaktywnych steroidów u pacjentów cierpiących na zaburzenia depresyjne wykazano, że podczas podawania tego leku następuje wzrost stężenia 3 α , 5 α -THP, 3 α , 5 β -THP, 5 α -DHP i 5 β -DHP, natomiast poziom 3 β , 5 α -THP ulega zmniejszeniu po 5 tygodniach od zastosowania mirtazapiny [130]. Mirtazapina, zależnie od dawki, działa hamująco na aktywność mikrosomalnego enzymu 3-HSD biorącego udział w biosyntezie neurosteroidów [131]. Warto

zaznaczyć, że w OUN aktywność 3-HSD może przebiegać dwukierunkowo, a aktywność ta zależy od wewnątrzkomórkowej dostępności odpowiednich kofaktorów. Umiejscowiony cytozoluowo enzym 3-HSD katalizuje wyłącznie konwersję 5-DHP do 3, 5-THP (droga redukcyjna), natomiast mikrosomalna frakcja 3-HSD katalizują konwersję 3, 5-THP do 5-DHP (szlak oksydacyjny) [131]. Mirtazapina nie wpływa na kierunek redukcyjny, czyli nie wpływa na cytozoluową formę 3-HSD, a jedynie hamuje aktywność mikrosomalnej frakcji enzymu 3-HSD, a tym samym hamuje utlenianie 3, 5-THP do 3-DHP. Efekt ten jest kompatybilny ze wzrostem biosyntezy 3-zredukowanych neuroaktywnych steroidów podobny do efektu leków z grupy SSRI [132].

W ostatniej dekadzie badań przedklinicznych i klinicznych pojawiły się dowody, że leki z grupy SSRI podczas terapii mogą zmieniać poziom neurosteroidów w mózgu. Wpływ na poziom neurosteroidów wykazuje większość stosowanych selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotonininy (SSRI), takich jak: fluoksetyna, paroksetyna, fluwoksamina i sertralina. Leki z grupy SSRI hamują wychwyt zwrotny serotonininy (5-HT) i zwiększają stężenie serotonininy w szczelinie synaptycznej. Po około trzech tygodniach przewlekłego podawania leków z grupy SSRI, następuje odczulanie autoreceptorów 5HT1A, co prowadzi do poprawy neurotransmisji serotonininy, a synaptyczne stężenie serotonininy osiąga poziom terapeutyczny, zwłaszcza w strukturach limbicznych i korze mózgowej [133]. Badania wskazują, że przedłużona terapia za pomocą leków SSRI zwiększa proces hamowania w strukturach limbicznych mózgu, zaangażowanych w regulację procesów emocjonalnych z powodu hiperpolaryzacji membran neurononalnych [133]. Sugeruje się, że efekty psychotropowe leków SSRI są również związane z innymi mechanizmami, które nie są bezpośrednio związane z ich hamującym wpływem na transport serotonininy [134]. Na przykład skuteczność leków SSRI w leczeniu zaburzeń depresyjnych i obsesyjno-kompulsyjnych może zależeć od ich bezpośrednich interakcji z postsynaptycznymi receptorami 5HT1A i 5HT2C [134]. Niektóre dane sugerują, że leki z grupy SSRI mogą modulować aktywność systemów monoaminergicznych i cholinergicznych. Podczas przeciwlękowej terapii za pomocą selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotonininy (SSRI), dochodzi do normalizacji poziomów alloP i pregnanolonu w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz istnieje korelacja między poprawą objawów lękowych i depresyjnych a wzrostem poziomu alloP i pregnanolonu w płynie mózgowo-rdzeniowym [135]. Wykazano, że inhibitor selektywnego wychwyty serotonininy (SSRI) taki jak fluoksetyna jest istotnym modulatorem neurosteroidogenezy w mózgu [135].

Zgodnie z obserwacjami podawanie fluoksetyny, oprócz hamowania wychwytu zwrotnego serotoniny, podwyższa również poziomy neurosteroidu 3 α , 5 α -THP w różnych regionach mózgu, osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów podanych terapii przeciwdepresyjnej czy przeciwłękowej. Szczegółowe badania prowadzone przez Griffina i wsp. [136] wykazały, że fluoksetyna jest w stanie zwiększać poziom 3 α , 5 α -THP na skutek stymulacji aktywności oksydoreduktazy 3 α -hydroksysteroidowej, co powoduje zwiększenie produkcji powyższego związku z jego prekursora 5 α -dihydroprogesteronu (5 α -DHP). 5 α -DHP pośredniczy w aktywacji genomowego DNA na skutek oddziaływań z wewnątrzkomórkowymi receptorami progesteronu, natomiast 3 α , 5 α -THP jest silnym dodatnim modulatorem allosterycznym funkcji receptorów GABA_A [136]. Reasumując należy podkreślić, że mechanizm działania przeciwdepresyjnego leków z grupy SSRI, oprócz modulacji transmisji serotonergicznego, pośrednio wpływa na neurosteroidowy metabolizm. Efekty działania leków SSRI nie zależą tylko od modulowania funkcji układów, neuroprzekazników, ale są również związane ze zmianami aktywności enzymów zaangażowanych w syntezę i metabolizm neurosteroidów takich jak allopregnanolon [137]. Mechanizm, za pomocą którego leki SSRI zwiększają poziom allopregnanolonu w płynie mózgowo-rdzeniowym, obejmuje bezpośrednią stymulację oksydoreduktazy 3 α -hydroksysteroidowej, enzymu, który katalizuje redukcję 5 α -dihydroksyprogesteronu do allopregnanolonu [137]. Podawanie indometacyny, selektywnego niekonkurencyjnego inhibitora enzymu, 3 α -oksydoreduktazy hydroksysteroidowej, znacząco blokuje działanie przeciwłękowe i przeciwdepresyjne neurosteroidów (takich jak allopregnanolon) oraz modyfikuje działanie antydepresyjne leków z grupy SSRI (takich jak fluoksetyna) [138]. Jednym ze skutków działania farmakoterapii przeciwdepresyjnej jest zwiększenie neurogenezy w zakręcie zębatym, co wpływa na poprawę niektórych, ale nie wszystkich, objawów depresyjnych (na modelach gryzoni) [95]. W badaniach wykazano, że niektóre neurosteroidy, takie jak alloP, powodują również zwiększenie neurogenezy [139]. W badaniach na zwierzętach wykazano neuroprotektoryjne działanie DHEA i SDHEA wobec komórek hipokampa uszkodzonych oddziaływaniem glicyny i stresu oksydacyjnego [6]. Podawanie DHEA wzmacniało neurogenezę w obrębie hipokampa uszkodzonego podażą nadmiaru kortykosteronu [140]. Te ochronne działanie DHEA jest prawdopodobnie związane z jego stymulującym wpływem na aktywność enzymatycznych systemów antyoksydacyjnych [140]. Ostatnie badania sugerują, że zwiększenie neurogenezy w zakręcie zębatym wpływa na

efekty przeciwdepresyjne i przeciwłękowe, ponieważ neurony w tych strukturach odgrywają znaczącą rolę przy tłumieniu i uwalnianiu kortykosteronu w pośredniczeniu zachowania wywołanego stresem za pomocą regulacji osi HPA [139].

Terapeutyczny potencjał neuroaktywnych steroidów i neurosteroidów w terapii depresji i zaburzeń lękowych – strategie terapeutyczne

Jedną z przyczyn depresji i zaburzeń lękowych związana jest ze wzrostem stężenia antagonistycznych neurosteroidów w mózgu lub spadkiem poziomu związków o działaniu agonistycznym. Istnieje kilka potencjalnych strategii, które mogą być skutecznie wykorzystane do przywrócenia prawidłowych poziomów neuroaktywnych steroidów w terapii zaburzeń neuropsychiatrycznych, w tym zaburzeń depresyjnych i lękowych. Najprostszym rozwiązaniem jest zastosowanie syntetycznych neuroaktywnych steroidów lub użycia prekursorów w celu uzupełnienia poziomu endogennych związków neurosteroidowych. Wykazano, że doustne podanie pregnenolonu prekursora alloP może zwiększyć endogenną biosyntezę kilku neurosteroidów, w tym alloP [141]. Wyniki badań przedklinicznych wskazują na działania przeciwłękowe i przeciwdepresyjne egzogennie podawanego pregnenolonu i PS. Również badania kliniczne dowodzą istnienia terapeutycznych efektów pregnenolonu podawanego pacjentom cierpiącym na depresję, a 4-tygodniowe podawanie pregnenolonu i progesteronu powoduje poprawę samopoczucia i obniża efekty zaburzeń depresyjnych. Wykazano, że pregnenolon znacznie potęguje uspokajające działanie pojedynczych dawek diazepamu [142]. W tym kontekście, pregnenolon, ze względu na antagonistyczny profil wobec receptora GABA_A, może antagonizować ostre efekty leków benzodiazepinowych, co może być przypuszczalnie korzystne w leczeniu pewnych zaburzeń psychicznych [142]. Obserwacje pacjentów chorych na depresję wykazały zmiany w poziomach DHEA/DHEAS. Podawanie egzogennej DHEA jest obiecującym narzędziem terapeutycznym w leczeniu ciężkiej depresji. Już pierwsze badania wykazały znaczącą poprawę u pacjentów po 6 miesiącach terapii za pomocą DHEA w hamowaniu objawów depresyjnych i lękowych [143]. Podawanie DHEA w monoterapii było skuteczne w depresji jednobiegunowej i dwubiegunowej. Neuroaktywne steroidy, syntetyzowane obwodowo, pomimo że posiadają potencjalne działanie terapeutyczne, mają słabą biodostępność i mogą być przekształcane w organizmie w metabolity o niepożądanym aktywności. Dodatkowo, podwyższenie poziomu endogennych

neurosteroidów może komplikować ich aktywność endokrynną (hormonalną) związaną z działaniem na wewnątrzkomórkowe receptory steroidowe. Problem ten można rozwiązać poprzez zastosowanie odpowiednich syntetycznych strategii służących do otrzymania specyficznych enancjomerów steroidowych, które wykazują działanie tylko wobec określonych receptorów, np. receptorów GABA_A, ale nie wykazują aktywności wobec wewnątrzkomórkowych receptorów jądrowych dla hormonów. Enancjomery etiocholanolonu i androsteronu są przykładem, w którym syntetyczne enancjomery są skutecznymi modulatorami receptorów GABA_A, a ich naturalne odpowiedniki są słabymi agonistami wewnątrzkomórkowych receptorów jądrowych [143]. Co ciekawe, te steroidy mogą wchodzić w interakcję z miejscami na receptorach GABA_A, które różnią się od naturalnych miejsc steroidowych. Atrakcyjną cechą stosowania egzogennych, neuroaktywnych steroidów w terapii jest to, że czynniki te mogą być dostarczane z zewnątrz z pominięciem etapów endogennej syntezy, która może być zaburzona podczas trwania przewlekłego stresu, depresji i lęku. Alternatywnym podejściem jest zastosowanie związków, które zwiększają biosyntezę neurosteroidów. Przykładem mogą być leki działające na aktywność kluczowych enzymów zaangażowanych w biosyntezę neurosteroidów, takich jak 5 α -reduktaza, 3 α -hydroksysteroidowa oksydoreduktaza. Związki aktywujące te enzymy mogą być ciekawym rozwiązaniem w terapii zaburzeń depresyjnych. Część z tych leków już jest używana w terapii zaburzeń depresyjnych, mianowicie leki pierwszego rzutu w terapii z grupy SSRI, np. stosowanie fluoksetyny powoduje zwiększenie aktywności steroidogennego enzymu 3 α -HSD, a efektem tego jest zwiększenie poziomów mózgowego alloP [143]. Jak wcześniej wykazano, niektóre działania farmakologiczne leków z grupy SSRI mogą częściowo zależeć od ich zdolności do zwiększania poziomu aktywnych neurosteroidów w mózgu. Oczywiście w mózgu istnieje tylko pewne rejony posiadające specyficzne neurony, w których zachodzi ekspresja enzymów odpowiedzialnych za neurosteroidogenezę, co powoduje że leki SSRI działają na biosyntezę neurosteroidów tylko w specyficznych regionach mózgu i w związku z tym leki SSRI są pozbawione pewnych niepożądanych skutków ubocznych powodowanych w wyniku bezpośredniego podawania ogólnoustrojowego neurosteroidów [143].

Innym sposobem na zwiększenie poziomów neurosteroidów jest wykorzystanie aktywności pochodnych indoloacetamidu, które są ligandami mitochondrialnego białka TSPO. Mitochondrialne białko transportowe TSPO stanowi cel dla zwiększenia endogennej biosyntezy neurosteroidów. Istnieją liczne dowody na to, że zmniejszenie ekspresji

lub funkcji białka TSPO powoduje wiele zaburzeń psychiatrycznych, w tym zaburzeń depresyjnych i lękowych [144]. Agoniści białka TSPO powodują wzrost transportu cholesterolu z cytoplazmy do wewnętrznej błony mitochondrialnej, co powoduje zainicjowanie biosyntezy neurosteroidów. Ligandy TSPO mogą zwiększać stężenie pregnenolonu, progesteronu i 3 α ,5 α -tetrahydroprogesteronu (3 α , 5 α -THP) w mózgu. Wczesne prace wykazały, że agoniści TSPO posiadają działanie przeciwdepresyjne u gryzoni, które są mediowane, co najmniej w części, poprzez efekty w hipokampie [144], a środki te zostały użyte w celu modulowania funkcji receptorów GABA_A. Na mysim modelu stresu pourazowego (PTSD) ligand TSPO, taki jak YL-IPA08, powoduje zwiększenie poziomu allopregnanolonu w korze przedczołowej, co było częściowo związane z efektem terapeutycznym wobec zaburzeń związanych ze stresem pourazowym (PTSD). Natomiast inkubowanie hodowli astrocytów z mózgu szczurów z YL-IPA08 wykazało wzrost stężenia pregnenolonu i progesteronu w pożywce hodowlanej, a podawanie *in vivo* YL-IPA08 powodowało efekty przeciwdepresyjne i anksjolityczne na zwierzęcych modelach zachowań (gryzoni) [145]. W badaniach na zwierzętach i ludziach ligand TSPO, XBD173 wzmacnia neurotransmisję GABA-ergiczną przez promowanie neurosteroidogenezy bez bezpośredniego oddziaływania na receptor GABA (A). Związek ten we wstępnych badaniach na ludziach wykazuje działanie przeciwdepresyjne i przeciwłękowe porównywalne do leków z grupy BDZ, takich jak alprazolam, ale ze zmniejszoną intensywnością skutków ubocznych [145]. XBD173 wydaje się być obiecującym związkiem o szybkiej skuteczności przeciwłękowej z korzystnym profilem efektów ubocznych. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że inny ligand białka TSPO, ZBD-2 skutecznie łagodzi objawy lęku i depresji na modelach zwierzęcych. ZBD-2 zmniejsza objawy lękowe i depresyjne, a działanie to jest prawdopodobnie związane ze stymulacją biosyntezy neuroaktywnych steroidów i z regulacją aktywności osi HPA poprzez zwiększanie wydzielania 5-HT. Przeciwlękowe i przeciwdepresyjne działanie ZBD-2 na modelu zwierzęcym było blokowane przez PK11195, który jest silnym antagonistą białka TSPO, sugerując, że wpływ ZBD-2 związany jest z aktywacją TSPO [145]. Ponadto, ligandy TSPO wykazują działanie przeciwdepresyjne, neuroprotektoryjne i przeciwzapalne na eksperymentalnych modelach neuropatii obwodowych i urazowego uszkodzenia mózgu. Związki te mogą być również cenne w leczeniu chorób neurologicznych z patofizjologią związaną z zapaleniem. Wydaje się, że ligandy białka translokatora TSPO mogą stanowić obiecujący cel dla opracowania szybko działających leków przeciwdepresyjnych

i przeciwlękowych o korzystniejszym profilu terapeutycznym, bez działania ubocznego tak jak w przypadku benzodiazepin.

Największym potencjalnym problemem podczas zastosowania agonistów TSPO lub innych czynników, które zwiększają syntezę neurosteroidów jest fakt, że związki powyższe stymulują nieselektywnie produkcję wszystkich steroidów zarówno w obwodowym, jak i w OUN, co może prowadzić do złożonych, niezgodnych z celem terapeutycznym, efektów ogólnoustrojowych. Innym istotnym problemem związanym ze zwiększeniem poziomu endogennych neurosteroidów jest fakt, że te neurosteroidy są bardzo silnymi i skutecznymi modulatorami hamowania GABA-ergicznego. Z tego względu mogą powodować silne uspokojenie, brak koordynacji ruchów oraz zaburzenia poznawcze i inne działania niepożądane, które mogą poważnie ograniczyć ich zastosowanie terapeutyczne [146].

Podsumowanie

Istnieją przekonujące dowody przedkliniczne i kliniczne, że neuroaktywne steroidy i neurosteroidy są ważnymi endogennymi modulatorami wielu procesów neurofizjologicznych, w tym zachowań związanych z zaburzeniami depresyjnymi i lękowymi. Związki te wykazują swoje specyficzne działanie już w niskich stężeniach, a ich zdolność do modulowania różnych szlaków neurotransmisyjnych czyni te związki interesującymi kandydatami posiadającymi potencjał terapeutyczny w farmakoterapii zaburzeń depresyjnych i lękowych, również w przypadku współistniejących innych chorób psychicznych, takich jak schizofrenia czy choroba Alzheimera. Biosynteza i homeostaza neurosteroidów w OUN ulega dysregulacji, co powoduje powstanie zaburzeń depresyjnych i lękowych oraz może powodować zaburzenia nastroju, niepokoju czy inne zaburzenia psychotyczne, a każdy typ zaburzenia lękowego czy depresji może posiadać swój specyficzny wzór rozregulowania. Egzogenne, neuroaktywne steroidy i strategie, które zwiększają syntezę endogennych neurosteroidów wewnątrz organizmu, zarówno za pomocą prekursorów lub przez wpływ na nasilenie ich biosyntezy, mają potencjalne znaczenie w rozwoju efektywnej terapii zaburzeń lękowych i depresyjnych. Biorąc pod uwagę ich rolę jako lokalnych endogennych modulatorów w mózgu, neurosteroidy mogą być wyjątkowymi związkami, które mogą posłużyć jako neuromodulatory sieci neuronalnych zaangażowanych w wiele zaburzeń neuropsychiatrycznych. Związki te posiadają potencjał do korygowania zmian biochemicznych, co może przyczynić się do łagodzenia wielu objawów psychiatrycznych. Pomimo faktu, że neurosteroidy stymulujące pozytywnie układ

GABA-ergiczny są silnymi i wysoce skutecznymi modulatorami tego układu (GABA), to ich działania, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro*, mogą być relatywnie subtelne pod względem zmian w zachowaniu. Ważne do odnotowania są obserwacje, że wysoko lipofilowy charakter neuroaktywnych steroidów, takich jak alloP i jego pochodne, przekłada się na ich stosunkowo duże lokalne stężenie w miejscach ich specyficznego działania, tj. błonowych receptorach i kanałach jonowych, które jest znacznie wyższe niż stężenie w cytozolu komórek czy płynach osocza. Wysoka lipofilowość powoduje, że związki te mogą gromadzić się w dużych stężeniach w błonach komórkowych, a ich efekt działania może wynikać z różnych stężeń tych substancji w określonych strukturach. Niewiele jeszcze wiemy na temat dokładnego rozmieszczania neurosteroidów w niejednorodnej i podzielonej błonie oraz w wewnątrzkomórkowych ziarnistościach i organelach, co może wpływać na potencjał działania tych związków.

Jednym z celów obecnych badań jest identyfikacja syntetycznych neurosteroidów, które będą wykazywały wyraźne działanie przeciwdepresyjne i przeciwlękowe. Wydaje się, że stosunkowo duża skuteczność leków typu SSRI w terapii zaburzeń depresyjnych i lękowych jest związana z normalizacją zaburzonych poziomów neurosteroidów. Należy podkreślić, że oprócz istotnego znaczenia neurosteroidów w modulowaniu receptorów układu GABA-ergicznego i glutaminergicznego, związki te działają na inne synaptyczne i ekstrasynaptyczne cele, jakimi są receptory dla innych neuroprzekazników czy kanały jonowe, co może przyczynić się do ich działań w obrębie OUN.

Obecne w mitochondriach białko TSPO i jego ligandy TSPO mogą dodatkowo wspierać syntezę steroidów, przywracając neurosteroidowe pośrednictwo w neurotransmisji wewnątrz mózgu, a tym samym pomagają zrekompensować zmiany powstałe w stanach depresyjnych i lękowych. W badaniach wykazano, że poziomy TSPO okazały się być zmniejszone u pacjentów dotkniętych zaburzeniami depresyjnymi i lękowymi, a wykorzystanie ligandów TSPO do stymulowania neurosteroidogenezy oferuje nową strategię terapeutyczną. Neuroprotektoryjne efekty neurosteroidów, związane ze zwiększeniem neurogenezy, są ważnym mechanizmem działania, które należy brać pod uwagę, gdyż jak wykazano, zaburzenia psychiczne związane ze stresem, depresją i lekiem przyczyniają się do zmian zwyrodnieniowych i apoptozy neuronów w hipokampie, korze mózgowej i innych regionach mózgu. Stężenia w osoczu neurosteroidów prawdopodobnie odzwierciedlają poziomy w mózgu i z tego względu neurosteroidy mogą służyć jako biomarkery w diagnostyce zaburzeń afektywnych. Jednak potrzebne

są dalszego badania w celu rozwinięcia odpowiednich metod diagnostycznych. Wydaje się, że dalsze prace nad rolą neurosteroidów i neuroaktywnych steroidów w modulowaniu systemów neurotransmisyjnych związanych z serotoniną, GABA czy glutaminianem w zaburzeniach depresyjnych i lękowych mogą doprowadzić do lepszego zrozumienia mechanizmów związanych z powstawaniem depresji i lęku, co będzie skutkowało wprowadzeniem skuteczniejszej terapii przeciwdepresyjnej i przeciwlękowej z wykorzystaniem neurosteroidów.

Otrzymano: 2018.06.19 · Zaakceptowano: 2018.07.14

Piśmiennictwo

- Nutt D. J., Ballenger J. C., Sheehan D.: Generalized anxiety disorder: biology and treatment. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2002, 5: 315–325.
- Kessler R. C., Brandenburg N., Lane M.: Rethinking the duration requirement for generalized anxiety disorder: evidence from the National Comorbidity Survey Replication. *Psychol. Med.* 2005, 35: 1073–1082.
- Jańca W., Krupińska J.: *Farmakodynamika*. PZWL, Warszawa, 1999.
- Wittchen H.U., Fehm L.: Epidemiology, patterns of comorbidity, and associated disabilities of social phobia. *Psychiatric Clin. North. Am.* 2001, 24: 617–664.
- Gardner C.R.: Recent developments in 5-HT related pharmacology of animal models of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000, 24: 1479–1485.
- Rickels K., Downing R.W. Drug and placebo treated neurotic outpatients. *Arch. Gen. Psychiat.* 2000, 16: 369–372.
- Adamson L., Brezinova V.L.: Nitrazepam: lastingly effective but trouble on withdrawal. *Br. Med. J.* 2000, 1: 1558–1560.
- Rickels K., Downing R., Schweizer E.: Antidepressants for the treatment of generalized anxiety disorder: a placebo controlled comparison of imipramine, trazodone and diazepam. *Arch. Gen. Psychiat.* 2000, 50: 884–895.
- Maśliński St., Ryżewski J.: *Patofizjologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. 1998, Warszawa.
- Rasmussen S.A. Obsessive compulsive spectrum disorders. *J. Clin. Psychiat.* 2000, 55: 89–91.
- Rudolph U., and Möhler H.: GABA-based therapeutic approaches: GABAA receptor subtype functions. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2006, 6: 18–23.
- Rupprecht R., Rammes G.: Translocator protein (18kD) as target for anxiolytics without benzodiazepine-like side effects. *Science*. 2009, 325: 490–493.
- Frye C.A., Paris J.J.: Effects and mechanisms of 3 α ,5 α -THP on emotion, motivation and reward functions involving pregnane xenobiotic receptor. *Frontiers in Neuroscience*. 2012, 5: 1–18.
- Schule C., Eser D., Baghai T.C.: Neuroactive steroids in affective disorders: target for novel antidepressant or anxiolytic drugs? *Neuroscience*. 2011, 191: 55–77.
- Gunn B.G., Brown A.R.: Neurosteroids and GABAA receptor interactions: a focus on stress. *Frontiers in Neuroscience*. 2011, 5: 1–20.
- Sasso O., Russo R.: Implication of allo-pregnenolone in the antinociceptive effect of N-palmitoylethanolamine in acute or persistent pain. *Pain*. 2012, 153: 33–41.
- Rupprecht R., Holsboer F.: Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. *Trends Neurosci.* 2003, 22: 410–416.
- Zaluska M., Janota B.: Dehydroepiandrosterone (DHEA) in the mechanisms of stress and depression. *Psychiatria Polska*. 2009, tom XLIII (3): 263–274.
- Morrow A.L.: Recent developments in the significance and therapeutic relevance of neuroactive steroids. *Pharmacol. Ther.* 2007, 116 (1): 1–6.
- Bednarek-Papierska L., Kasperlik-Zaluska A.: Zastosowanie dehydroepiandrosteronu (DHEA) w praktyce klinicznej. *Ordyn. Lek.* 2003, 3: 12–17.
- Marx Ch.E., Stevens R.D., Shampine L.J., Uzunova V.: Neuroactive steroids are altered in schizophrenia and bipolar disorder: relevance to pathophysiology and therapeutics. *Neuropsychopharmacol.* 2006, 31: 1249–1263.
- Baldwin D. S., Nair R. V.: Escitalopram in the treatment of generalized anxiety disorder. *Expert Rev. Neurother.* 2005, 5: 443–449.
- Członkowska A., Sienkiewicz-Jarosz H., Płażnik A.: Neurosteroidy: biosynteza, metabolizm, mechanizmy działania i perspektywy zastosowania klinicznego. *Farmakoterapia w psychiatrii i neurologii*. 1999, 3: 68–76.
- Stopińska-Głuszak U., Wasilewska-Dziubińska E., Słowińska-Szednicka J.: Progesterone – neurosteroid synthesized in nervous system. *Postępy Nauk Medycznych*. 2008, 3: 154–158.
- Bastianetto S., Ramassamy C., Poirier J.: Dehydroepiandrosterone (DHEA) protects hippocampal cells from oxidative stress-induced damage. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2006, 66 (1–2): 35–41.
- Majeed Y., Amer M.S.: Stereo-selective inhibition of transient receptor potential TRPC5 cation channels by neuroactive steroids. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 162: 1509–1520.
- Świerk A., Pachecka J.: Neuroactive steroids as modulators GABA receptors – perspectives for therapy. *Farm. Przegl.* 2010, 5: 40–44.
- Patchev V.K., Montkowski A., Rouskeva D., Koranyi L.: Neonatal treatment of rats with the neuroactive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events. *J Clin Invest.* 2007, 99: 962–966.
- Midzak A., Rone M., Aghazadeh Y.: Mitochondrial protein import and the genesis of steroidogenic mitochondria. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011, 336: 70–79.
- Chen M.K., Guilarte T.R.: Translocator protein 18 kDa (TSPO): molecular sensor of brain injury and repair. *Pharmacology & Therapeutics*. 2008, 118: 1–17.
- Tokuda K., Izumi Y., Zorunski C.F.: Ethanol enhances neurosteroidogenesis in hippocampal pyramidal neurons by paradoxical NMDA receptor activation. *The Journal of Neuroscience*. 2011, 31: 9905–9909.
- Neeraj Gilhotra N., Dhirg D.: Neurochemical modulation of anxiety disorders. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010, 1: 1–6.
- Sajdyk T.J., Schober D.A.: Role of corticotropin-releasing factor and urocortin within the basolateral amygdala of rats in anxiety and panic responses. *Behav. Brain. Res.* 2006, 100: 207–215.
- Schoeffer P.R., Darlison M.G., Fujita N.: Sequence and functional expression of the GABAA receptor shows a ligand-gated receptor superfamily. *Nature*. 2008, 328: 221–227.
- Koszycki D., Zacharko R.M., Le Mellédo J.M.: Behavioral, cardiovascular, and neuroendocrine profiles following CCK-4 challenge in healthy volunteers: a comparison of panic disorder and nonpanic disorder. *Depress Anxiety*. 2008, 8: 1–7.
- Purdy R.H., Morrow A.L., Moore P.H.: Stress-induced elevations of γ -aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 8: 4553–4557.
- Nayeem N., Green T.P., Martin I.L.: Quaternary structure of the native GABAA receptor determined by electron microscopic image analysis. *J. Neurochem.* 2004, 62: 815–818.
- Dong E., Matsumoto K., Uzunova V.: Brain 5 α -dihydroprogesterone and allopregnanolone synthesis in a mouse model of protracted social isolation. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2007, 98: 2849–2854.
- Matsumoto K., Uzunova V., Pinna G.: Permissive role of brain allopregnanolone content in the regulation of pentobarbital-induced righting reflex loss. *Neuropharmacology*. 2005, 38: 955–963.
- Melchior C.L., Ritzmann R.F.: Pregnenolone and pregnenolone sulfate, alone and with ethanol, in mice on plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2004, 48: 893–897.
- Majewska M.D., Bluet-Pajot M.T., Robel P.: Pregnenolone sulfate antagonizes barbiturate-induced hypnosis. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000, 33: 701–703.
- Mienville J.M., Vicini S.: Pregnenolone sulfate antagonizes GABA A receptor-mediated currents via a reduction of channel opening frequency. *Brain. Res.* 2004, 489: 190–194.
- George M.S., Guidotti A., Rubinow D.: CSF neuroactive steroids in affective disorders: pregnenolone, progesterone and DBI. *Biol. Psychiatry*. 2005, 35: 775–780.
- Semeniuk T., Jhangri G.S., Le Mellédo J.M.: Neuroactive steroid levels in patients with generalized anxiety disorder. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 2001, 13: 396–398.
- Heydari B., Le Mellédo J.M.: Low pregnenolone sulfate plasma levels in patients with social anxiety disorder. *Psychol. Med.* 2001, 32: 929–933.
- Bicikova M., Tallová J., Hill M.: Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety-depressive disorder. *Neurochem. Res.* 2005, 25: 1623–1627.
- Heuser I., Deuschle M., Luppa P.: Increased diurnal plasma concentrations of dehydroepiandrosterone in depressed patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 83: 3130–3133.

48. Takebayashi M., Kagaya A., Uchitomi Y.: Plasma dehydroepiandrosterone sulfate in unipolar major depression. *J. Neural. Transm.* 2008, 115: 537–542.
49. Maayan R., Yagorowski Y., Grupper D.: Basal plasma dehydroepiandrosterone sulfate level: a possible predictor for response to electroconvulsive therapy in depressed psychotic inpatients. *Biol. Psychiatry.* 2008, 48: 693–701.
50. Bitran D., Purdy R.H., Kellogg C.K.: Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABA A receptor function. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2003, 45: 423–428.
51. Reddy D., O'Malley B.W., Rogawski M.A.: Anxiolytic activity of progesterone in progesterone receptor knockout mice. *Neuropharmacology* 2005, 48: 14–24.
52. Brambilla F., Biggio G., Pisu M.G.: Neurosteroid secretion in panic disorder. *Psychiatry Res.* 2003, 118: 107–116.
53. Klodzinska A., Chojnacka-Wojcik E., Palucha A.: Potential anti-anxiety, anti-addictive effects of LY 354740, a selective group II glutamate metabotropic receptors agonist in animal models. *Neuropharmacology* 2002, 38: 1831–1839.
54. Shekhar A., Keim S.R.: LY354740, a potent group II metabotropic glutamate receptor agonist prevents lactate-induced panic-like response in panic-prone rats. *Neuropharmacology* 2000, 39: 1139–1146.
55. Vandergriff J., Rasmussen K.: The selective mGlu2/3 receptor agonist LY354740 attenuates morphine-withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons and behavioral signs of morphine withdrawal. *Neuropharmacology* 2003, 38: 217–222.
56. Rapkin A.J., Morgan M., Goldman L.: Progesterone metabolite allopregnanolone in women with premenstrual syndrome. *Neuropharmacology* 2007, 90: 709–714.
57. Sundstrom I., Nyberg S., Backstrom T.: Patients with premenstrual syndrome have reduced sensitivity to midazolam compared to control subjects. *Neuropsychopharmacol* 2007, 17: 370–381.
58. Pearlstein T.: Selective serotonin reuptake inhibitors for premenstrual dysphoric disorder: the emerging gold standard? *Drugs* 2002, 62: 1869–1885.
59. Brambilla F., Mellado C., Alciati A.: Plasma concentrations of anxiolytic neuroactive steroids in men with panic disorder. *Psychiatry Res.* 2005, 135: 185–190.
60. Brambilla F., Biggio G., Pisu M.G.: Plasma concentrations of anxiolytic neurosteroids in men with normal anxiety scores: a correlation analysis. *Neuropsychobiology* 2004, 50: 6–9.
61. Akwa Y., Purdy R.H., Koob G.F.: The amygdala mediates the anxiolytic-like effect of the neurosteroid allopregnanolone in rat. *Behav. Brain Res.* 2009, 106: 119–125.
62. Bitran D., Hilvers R.J., Kellogg C.K.: Anxiolytic effects of 3-hydroxy-5[α]-pregnan-20-one: endogenous metabolites of progesterone that are active at the GABA A receptor. *Brain Res.* 2001, 561: 157–161.
63. Reddy D.S., Kulkarni S.K.: Differential anxiolytic effects of neurosteroids in the mirrored chamber behavior test in mice. *Brain Res.* 2007, 752: 61–71.
64. Rodgers R.J., Johnson N.J.: Behaviorally selective effects of neuroactive steroids on plus-maze anxiety in mice. *Pharmacol Biochem. Behav.* 2000, 59: 221–232.
65. Wieland S., Lan N.C., Mirasdeghi S., Gee K.W.: Anxiolytic activity of the progesterone metabolite 5-pregnan-3 α -ol-20-one. *Brain Res.* 2001, 565: 263–268.
66. Wieland S., Belluzzi J.D., Stein L., Lan N.C.: Comparative behavioral characterization of the neuroactive steroids 3-OH,5 α -pregnan-20-one and 3-OH,5 α -pregnan-20-one in rodents. *Psychopharmacol.* 2005, 118: 65–71.
67. Crawley J.N., Glowa J.R., Majewska M.D.: Anxiolytic activity of an endogenous adrenal steroid. *Brain Res.* 2006, 398: 382–385.
68. Morgan Ch.A., Southwick S., Hazlett G., Rasmussen A.: Relationships among plasma dehydroepiandrosterone sulfate and cortisol levels, symptoms of dissociation, and objective performance in humans exposed to acute stress. *Arch. Gen. Psychiatry* 2004, 61(8): 819–825.
69. Morrow A.L.: Recent developments in the significance and therapeutic relevance of neuroactive steroids. *Pharmacol. Ther.* 2007, 116(1): 1–6.
70. Bremner J.D.: Structural changes in the brain in depression and relationship to symptom recurrence. *CNS Spectr.* 2002, 7(2): 129–130.
71. Janssen J., Hulshoff H.E., Lampe I.K.: Hippocampal changes and white matter lesions in early-onset depression. *Biol. Psychiatry.* 2004, 56(11): 825–831.
72. Newton S.S., Duman R.S.: Regulation of neurogenesis and angiogenesis in depression. *Curr. Neurovasc. Res.* 2004, 3: 261–267.
73. Arantes Goncalves F., Coelho R.: Depression and treatment. Apoptosis, neuroplasticity and antidepressants. *Acta Med. Port.* 2006, 19: 19–20.
74. Le Melledo J.M., Baker G.: Neuroactive steroids and anxiety disorders. *J Psychiatry Neurosci.* 2002, 27(3): 161–165.
75. Patchev V.K., Hassan A.S., Holsboer F.: The neurosteroid tetrahydroprogesterone attenuates the endocrine response to stress and exerts glucocorticoid-like effects on vasopressin gene transcription in the rat hypothalamus. *Neuropsychopharmacology* 2000, 15: 533–40.
76. Broocks A., Pigott T.A., Hill J.L.: Acute intravenous administration of ondansetron and m-CPP, alone and in combination, in patients with obsessive-compulsive disorder (OCD): behavioral and biological results. *Psychiatry Res.* 2000, 79(1): 11–20.
77. Pian K.L., Westenberg H.G.: Sumatriptan (5-HT_{1D} receptor agonist) does not exacerbate symptoms in obsessive-compulsive disorder. *Psychopharmacology (Berl)* 2001, 140(3): 365–370.
78. Bell C.J., Nutt D.J.: Serotonin and panic. *Br. J. Psychiatry.* 2004, 172: 465–471.
79. El-Etr M., Akwa Y., Robel P.: Opposing effects of different steroid sulfates on GABA_A receptor-mediated chloride uptake. *Brain Res.* 2000, 790: 334–338.
80. Kreiss S.D., Lucki I.: Effects of acute and repeated administration of antidepressant drugs on extracellular levels of 5-HT measured in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002, 274: 866–875.
81. Mathews T.A., Fedele D.E., Coppelli F.: Gene dose dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression. *J. Neurosci. Methods.* 2004, 140: 169–181.
82. Ströhle A., Romeo E.: GABA-A receptor-modulating neuroactive steroid composition in patients with panic disorder before and during paroxetine treatment. *Am. J. Psychiatry.* 2002, 159: 145–147.
83. Kramer M.S., Cutler N.: Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science* 2003, 281: 1640–1645.
84. Ribeiro S.J., Teixeira R.M., Calixto J.B.: Tachykinin NK3 receptor involvement in anxiety. *Neuropeptides.* 2003, 33: 181–188.
85. Roth B.L., Sheffler D.J., Kroeze W.K.: Magic shotguns versus magic bullets: selectively non-selective drugs for mood disorders and schizophrenia. *Nature Reviews. Drug Discovery.* 2004, 3: 353–359.
86. Hauger R.L., Aguilera G.: Regulation of pituitary corticotrophin releasing hormone (CRH) receptors by CRH: interaction with vasopressin. *Endocrinology* 2004, 133: 1708–1714.
87. Wilkins J.N.: DHEAS and POMS measures identify cocaine dependence treatment outcome. *Psychoneuroendocrinology* 2005, 20: 275–281.
88. Kokate T.G., Svensson B.E., Rogawski M.A.: Anticonvulsant activity of neurosteroids: correlation with g-aminobutyric acid evoked chloride current potentiation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995, 270: 1223–1229.
89. Puia G., Mienville J.M., Matsumoto K.: On the putative physiological role of allopregnanolone on GABA_A receptor function. *Neuropharmacology* 2003, 44: 49–55.
90. Baulieu E.E., Robel P., Schumacher M.: Neurosteroids: beginning of the story. *Int. Rev. Neurobiol.* 2001, 46: 1–32.
91. Baulieu E.E.: Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology* 2001, 23(8): 963–987.
92. MacKenzie E.M.: The Relevance of Neuroactive Steroids in Schizophrenia, Depression, and Anxiety Disorders. *Cell Mol Neurobiol.* 2007, 27(5): 541–574.
93. Dubrovsky B.O.: Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2005, 29: 169–192.
94. Mitchell E.A.: Neurosteroid modulation of GABA_A receptors: Molecular determinants and significance in health and disease. *Neurochem.* 2008, 52: 588–595.
95. Porcu P.: Simultaneous quantification of GABAergic 3 α ,5 α /3 α ,5 β neuroactive steroids in human and rat serum. *Steroids.* 2009, 74: 463–473.
96. Herd M.B., Belleli D., Lambert J.J.: Neurosteroid modulation of synaptic and extrasynaptic GABA_A receptors. *Pharmacol. Ther.* 2007, 116: 20–34.
97. Strüder H.K., Weicker H.: Physiology and pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part II. *Int. J. Sports Med.* 2004, 22: 482–497.
98. Verdoorn T.A., Draguhn A., Ymer S.: Functional properties of recombinant rat GABA_A receptors depend upon subunit composition. *Neuron.* 2002, 4: 919–928.
99. Galzi J.L., Changeux J.P.: Neurotransmitter-gated ion channels as unconventional allosteric proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2000, 4: 554–565.
100. Galzi J.L., DeVillars-Thiery A., Hussy N.: Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature.* 2000, 359: 500–504.
101. Luddens H., Pritchett D.B., Kohler M.: Cerebellar GABA_A receptor selective for a behavioral alcohol antagonist. *Nature.* 2001, 346: 648–651.
102. Culiat C.T., Stubbs L., Woychik J.: Deficiency of the subunit of the type GABA receptor causes cleft palate in mice. *Nature Genet.* 2005, 11: 344–346.

103. Homanics G., DeLorey T.M., Firestone L.: Mice devoid of GABAA receptor subunit have epilepsy, cleft palate and hypersensitive behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003, 94: 4143–4148.
104. Mohler H., Luscher B., Fritschy J.M.: GABAA-receptor assembly in vivo: lessons from subunit mutant mice. *Life Sci*. 2004, 62: 1611–1615.
105. Puia G., Mienville J.M., Costa E.: Brain allopregnanolone regulates the potency of the GABAA receptor agonist muscimol. *Neuropharmacology* 2000, 39: 440–448.
106. Griebel G.: 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders. *Pharm. Ther.* 2009, 65: 319–395.
107. Gleeson S., Ahlers S.T.: Behavioral studies with anxiolytic drugs, VI effects on punished responding of drugs interacting with serotonin receptor subtypes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001, 250: 809–817.
108. Kennett G.A., Bailey F., Piper D.C.: Effect of SB 200646A, a 5-HT₂–HT_{2b} receptor antagonist, in two conflict models of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)* 2004, 188: 178–182.
109. Costall B., Naylor R.J.: Anxiolytic effects of 5-HT₁ antagonists in animals. In: Rodgers RJ, Cooper SJ, eds. 5-HT_{1A} agonists, 5-HT₃ antagonists and benzodiazepines: their comparative behavioral pharmacology. Chichester, UK: Wiley, 2008, 133–157.
110. Smith L.M., Peroutka S.J.: Differential effects of 5-hydroxytryptamine 1A selective drugs on the 5-HT behavioural syndrome. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002, 24: 1513–1519.
111. Wieland S., Fischette CT, Lucki I. Effect of chronic treatments with tandospirone and imipramine on serotonin-mediated behavioural responses and monoamine receptors. *Neuropharmacology* 2005, 32: 561–573.
112. Vocca F.D.: Neurochemistry and neurophysiology of buspirone and gepirone: interactions at presynaptic and postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Psychopharmacology* 2003, 10 (suppl. 3): 68–125.
113. Mahmood I., Sahajwalla C.: Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of buspirone, an anxiolytic drug. *Clin. Pharmacokinet.* 2003, 36(4): 277–287.
114. Laakmann G., Schule C., Lorkowski G. et al.: Buspirone and lorazepam in the treatment of generalized anxiety disorder in outpatients. *Psychopharmacology (Berl)* 2004, 136(4): 357–366.
115. Rocca P., Fonzo V.: Paroxetine efficacy in the treatment of generalized anxiety disorder. *Acta. Psychiatr. Scand.* 2004, 95: 444–450.
116. Reddy D.S.: Neurosteroids: endogenous role in the human brain and therapeutic potentials. *Prog. Brain Res.* 2010, 186: 113–137.
117. Pinna G., Costa E., Guidotti A.: Fluoxetine and norfluoxetine stereospecifically facilitate pentobarbital sedation by increasing neurosteroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004, 101: 6222–6225.
118. Kussius C.L., Kaur N., Popescu G.: Pregnanolone sulfate promotes desensitization of activated NMDA receptors. *J. Neurosci.* 2009, 29: 6819–6827.
119. Smith S.S.: Withdrawal properties of a neuroactive steroid: implications for GABA(A) receptor gene regulation in the brain and anxiety behavior. *Steroids* 2002, 67: 519–528.
120. Cobos E.J., Entrena J.M., Nieto F.: Pharmacology and therapeutic potential of sigma(1) receptor ligands. *Curr. Neuropharmacol.* 2008, 6: 344–366.
121. Noda Y., Kamei H.: Neurosteroids ameliorate conditioned fear stress: an association with sigma receptors. *Neuropsychopharmacology* 2004, 23: 276–284.
122. Monnet F.P., Maurice T.: The sigma1 protein as a target for the non-genomic effects of neuro(steroid)s: molecular, physiological, and behavioral aspects. *J. Pharmacol. Sci.* 2006, 100: 93–118.
123. Naert G., Maurice T., Tapia-Arancibia L.: Neuroactive steroids modulate HPA axis activity and cerebral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in adult male rats. *Psychoneuroendocrinology* 2007, 32: 1062–1078.
124. Van Broekhoven F., Verkes R.J.: Neurosteroids in depression: a review. *Psychopharmacology* 2003, 165: 97–110.
125. Whitnall M.H.: Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Prog. Neurobiol.* 2003, 40: 573–629.
126. Nothdurfter C., Baghai T.C., Rupprecht.: Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for anxiety and neurologic disorders. *Clinical Neuroscience* 2012, 262(S2): 657–671.
127. Rupprecht R., Papadopoulos V., Rammes G.: Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2010, 9: 971–988.
128. Nothdurfter C., Rammes G., Baghai T.C.: TSPO (18 kDa) as a target for novel anxiolytics with a favourable side-effect profile. *J. Neuroendocrinol.* 2011, 10: 1365–2826.
129. Uzunova V., Wrynn A.S., Kinnunen A.: Chronic antidepressants reverse cerebrocortical allopregnanolone decline in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 2004, 486: 31–34.
130. Helton D.R., Tizzano J.P., Monn J.A.: Anxiolytic and side effect profile of LY354740: a potent, highly selective, orally active agonist for group II metabotropic glutamate receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006, 284: 651–660.
131. Trauger J.W., Jiang A., Stearns B.A., LoGrasso P.V.: Kinetics of allopregnanolone formation catalyzed by human 3-hydroxysteroid dehydrogenase type III (AKR1C2). *Biochemistry* 2002, 41: 13451–13459.
132. Serra M., Pisul M.G., Dazzi L.: Prevention of the stress-induced increase in the concentration of neuroactive steroids in rat brain by long-term administration of mirtazapine but not of fluoxetine. *J. Psychopharmacol.* 2002, 16: 133–138.
133. Schule C., Romeo E., Uzunov D.P.: Influence of mirtazapine on plasma concentrations of neuroactive steroids in major depression and on 3-hydroxysteroid dehydrogenase activity. *Mol Psychiatry*. 2006, 11: 261–272.
134. Kent J.M., Mathew S.J., Gardman J.M.: Molecular targets in the treatment of anxiety. *Biol. Psychiatry*. 2002, 52: 1008–1030.
135. Kantor S., Graf M., Anheuer Z.E.: Rapid desensitization of 5-HT_{1A} receptors in Fawn-Hooded rats after chronic fluoxetine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 2001, 11: 15–24.
136. Beck S.G., Birnstiel S., Choi K.C.: Fluoxetine selectively alters 5-hydroxytryptamine 1A and gamma-aminobutyric acid B receptor-mediated hyperpolarization in area CA1, but not area CA3 hippocampal cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 281: 115–122.
137. Smith S.S.: Properties of a neuroactive steroids: implication for GABA_A receptor gene regulation in the brain and anxiety behavior. *Steroids*. 2002, 67: 51–528.
138. Pinna G., Costa E., Guidotti A.: Fluoxetine and norfluoxetine stereospecifically and selectively increase brain neurosteroid content at doses that are inactive on 5-HT reuptake. *Psychopharmacology*. 2006, 186: 362–372.
139. Griffin L.D., Mellon S.H.: Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996, 96: 13512–13517.
140. Lambert J.J., Belelli D., Peden, D.: Neurosteroid modulation of GABA_A receptors. *Prog. Neurobiol.* 2003, 71: 67–80.
141. Griffin L.D., Mellon S.H.: Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000, 96: 13512–13517.
142. Guidotti A., Dong E., Matsumoto K.: The socially-isolated mouse: a model to study the putative role of allopregnanolone and 5 α -dihydroprogesterone in psychiatric disorders. *Brain Res. Rev.* 2001, 37: 110–115.
143. McKernan R., Rosahl T.W., Reynolds D.S.: Sedative but not anxiolytic properties of benzodiazepines are mediated by the GABAA receptor subtype GABAA₁ receptors. *Nature Neurosci.* 2000, 3: 587–592.
144. Karishma K.K., Herbert J.: Dehydroepiandrosterone (DHEA) stimulates neurogenesis in the hippocampus of the rat, promotes survival of newly formed neurons and prevents corticosterone-induced suppression. *Eur. J. Neurosci.* 2002, 16 (3): 445–453.
145. Wu S., Ruan Y., Yin M.: Research on the age-related changes in the nitric oxide pathway in the arteries of rats and the intervention effect of dehydroepiandrosterone. *Gerontol.* 2007, 53(4): 234–237.
146. Lambert J.J., Belelli D., Hill-Venning C.: Neurosteroids and GABA receptor function. *Trends Pharmacol. Sci.* 2001, 16: 295–303.