

**Wpływ galaktooligosacharydów na behavior oraz wybrane
obwodowe i ośrodkowe komponenty reakcji stresowej u szczurów
w warunkach długotrwałej elektrycznej stymulacji
jądra środkowego ciała migdałowatego
mgr Jan Ruciński**

STRESZCZENIE

Ciało migdałowe (Amg), a zwłaszcza jego jądro środkowe (CeA), jest jedną z kluczowych struktur ośrodkowego układu nerwowego (OUN) regulujących reakcje związane ze strachem, lękiem i odpowiedzią na stres, a także jest zaangażowane w przetwarzanie sygnałów pochodzących z mikrobioty jelitowej. Na zaburzenia lękowe, depresję czy zespół stresu pourazowego (PTSD) cierpi łącznie około 40% populacji, co stanowi poważny problem zdrowotny, społeczny i ekonomiczny. Wykazano, że nadaktywność Amg odgrywa istotną rolę w patofizjologii tych chorób, jednak mechanizmy leżące u podłoża tych oddziaływań nie są do końca poznane. **Celem mojej pracy było poszerzenie wiedzy na temat wpływu nadaktywności Amg wywołanej długotrwałą stymulacją elektryczną CeA na behawioralne, hematologiczne, immunologiczne i neurochemiczne komponenty odpowiedzi stresowej oraz ilościowy i jakościowy skład mikrobioty jelitowej szczurów.** Kolejnym ważnym czynnikiem w rozwoju i przebiegu chorób neuropsychiatrycznych są zaburzenia mikrobioty jelitowej. Drobnoustroje zasiedlające przewód pokarmowy oraz produkowane przez nie neuroaktywne metabolity, dzięki osi jelitowo-mózgowej, mogą modulować pracę układu immunologicznego, odpowiedź na stres oraz funkcjonowanie OUN, w tym zachowanie. Galaktooligosacharydy (GOS) należą do niestrawialnych cukrów złożonych, które promują namnażanie i aktywność licznych korzystnych gatunków bakterii występujących natywnie w jelitach. Doniesienia dotyczące działania tych prebiotyków na funkcjonowanie OUN w aspekcie zaburzeń neuropsychiatrycznych są nadal nieliczne i ograniczone. **Kolejnym celem mojej pracy było sprawdzenie potencjału terapeutycznego GOS w kontekście łagodzenia zmian wywołanych długotrwałą stymulacją elektryczną CeA, a także porównanie skuteczności suplementacji GOS z efektami terapii citalopramem (CIT), lekiem o działaniu przeciwłękowym i antydepresyjnym.**

Badania przeprowadziłem na samcach szczurów stada niekrewniaczego Wistar Han (n = 48), podzielonych na 6 grup doświadczalnych (n = 8 w każdej grupie), w obrębie których zwierzęta z 3 grup były poddane 14 dniowej stymulacji elektrycznej CeA i otrzymywały przez 21 dni wodę (Stim), GOS (StimGOS) lub CIT (StimCIT), zaś 3 pozostałe grupy stanowiły szczury poddane stymulacji pozorowanej (ta sama procedura przy wyłączonym przepływie prądu) i otrzymywały wodę (Sham), GOS (ShamGOS) lub CIT (ShamCIT). Suplementacja GOS i terapia CIT rozpoczęły się 7 dni przed pierwszą stymulacją CeA. Badane parametry behawioralne obejmowały aktywność lokomotoryczną (aktometr), zachowania lękowe (test uniesionego labiryntu krzyżowego) i socjalne (test trójkomorowy). Analizie poddano również poziom wskaźników hematologicznych we krwi obwodowej (analyzer hematologiczny), a także poziom hormonów związanych z reakcją stresową (adrenaliny, noradrenaliny i kortykosteronu) i markerów związanych ze stanem zapalnym (TNF- α i IL-10) w osoczu

(metoda ELISA). W homogenatach struktur OUN – kory mózgowej, hipokampa, pnia mózgu i podwzgórza oceniłem stężenie noradrenaliny i kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) metodą ELISA. Analiza składu ilościowego i jakościowego mikrobioty jelitowej szczurów w próbkach treści z jelita grubego została przeprowadzona przy pomocy metod mikrobiologicznych (hodowla na podłożach stałych) oraz metody MALDI-TOF.

Wykazałem, że długotrwała stymulacja elektryczna CeA doprowadziła do wzrostu aktywności lokomotorycznej przypominającej reakcję ucieczki, zwiększenia zachowań lękowych oraz obniżenia poziomu towarzyskości i pamięci socjalnej u szczurów. Zwierzęta z grupy Stim w odniesieniu do grupy kontrolnej Sham charakteryzowały się spadkiem wartości licznych parametrów hematologicznych, nadmierną endokrynną odpowiedzią stresową, nasileniem procesów prozapalnych oraz osłabioną aktywnością przeciwwzapalną. Zmianom tym towarzyszyło obniżenie poziomu GABA i zwiększenie stężenia noradrenaliny we wszystkich badanych strukturach OUN oraz zaburzenia ilościowe i jakościowe mikrobiomu jelitowego przejawiające się spadkiem liczebności gatunków probiotycznych przy jednoczesnym wzroście udziału niekorzystnych bakterii. Suplementacja GOS przyczyniła się do istotnego złagodzenia zmian wywołanych przez stymulację elektryczną CeA. Zwierzęta z grupy StimGOS względem szczurów stymulowanych i niesuplementowanych cechowało obniżenie nasilonej aktywności ruchowej i zachowań lękowych, zwiększenie zachowań prosocjalnych i poprawa pamięci socjalnej, normalizacja wskaźników hematologicznych, wzrost stężenia przeciwwzapalnej IL-10, obniżenie poziomu prozapalnego TNF- α oraz hormonów związanych z reakcją stresową. Przyjmowanie GOS przyczyniło się także do zwiększenia poziomu GABA i zmniejszenia poziomu noradrenaliny w badanych strukturach mózgowia oraz złagodzenia zaburzeń składu mikrobioty jelitowej z jednoczesnym wzrostem liczebności gatunków probiotycznych. Dodatkowo wykazałem, że suplementacja GOS była porównywalnie skuteczna w odniesieniu do terapii CIT, a w przypadku zachowań socjalnych, parametrów hematologicznych, regulacji obwodowego i ośrodkowego poziomu noradrenaliny oraz korzystnego wpływu na zaburzenia mikrobioty jelitowej, GOS charakteryzował większy potencjał terapeutyczny.

Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na wysoki potencjał terapeutyczny GOS w ograniczeniu niekorzystnych zmian wywołanych stymulacją elektryczną CeA, co może prowadzić do podjęcia dalszych badań z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, a także prób klinicznych weryfikujących możliwość wykorzystania tych prebiotyków jako suplementacji uzupełniającej terapię pacjentów cierpiących na zaburzenia lękowe, depresję czy PTSD. Dodatkowo, ze względu na wysoki poziom bezpieczeństwa oraz wieloaspektowe korzyści prozdrowotne, upowszechnienie wyników badań dotyczących suplementacji prebiotycznej może również przyczynić się do stosowania GOS w kontekście działań profilaktycznych, zapobiegających rozwojowi zaburzeń związanych z lękiem i stresem.