

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Speciální chemicko-biologické obory
Molekulární biologie a biochemie organismů



Pavλίna Kvapilová

Vliv stresu na expresi kortikosteroidních receptorů a enzymů glukokortikoidního metabolismu ve specifických strukturách mozku laboratorního potkana

Effect of stress on expression of glucocorticoid receptors and enzymes of glucocorticoid metabolism in specific structures of rat brain

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: prof. RNDr. Jiří Pácha DrSc.

Praha, 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 9. 5. 2011

.....

Obsah

ABSTRAKT	4
SEZNAM ZKRATEK	5
1 ÚVOD	6
2 CO JE STRES A ČÍM JE VYVOLÁVÁN?	7
3 STRUKTURY MOZKU ZAPOJENÉ DO STRESOVÉ SIGNALIZACE	7
3.1 VSTUPY DO NUCLEUS PARAVENTRICULARIS (PVN)	8
3.1.1 Přímé vstupy do PVN	8
3.1.2 Nepřímé vstupy do PVN	11
3.2 NUCLEUS PARAVENTRICULARIS (PVN)	13
4 GLUKOKORTIKOIDY	14
4.1 METABOLISMUS GC	14
4.1.1 Biosyntéza GC a její regulace	14
4.1.2 Enzymy glukokortikoidního metabolismu	16
4.2 MECHANISMUS PŮSOBENÍ GLUKOKORTIKOIDŮ	18
4.2.1 Mineralokortikoidní receptor	18
4.2.2 Glukokortikoidní receptor	18
5 JAKÝM ZPŮSOBEM INTERAGUJÍ GLUKOKORTIKOIDY S MOZKEM?	19
5.1 ZPŮSOBY VSTUPU GLUKOKORTIKOIDŮ DO MOZKU	19
5.2 OBLASTI EXPRESE GR A MR V MOZKU	19
5.3 OBLASTI EXPRESE 11 β -HSD V MOZKU	20
5.3.1 Oblasti exprese 11 β -HSD1	20
5.3.2 Oblasti exprese 11 β -HSD2	20
5.4 LOKÁLNÍ METABOLISMUS GC V MOZKU	20
5.5 VLIV STRESU NA MOZEK	21
5.6 DLOUHODOBÉ PŮSOBENÍ GLUKOKORTIKOIDŮ V MOZKU	23
6 ZÁVĚR	24
7 ZDROJE LITERATURY	25

Abstrakt

Stresovou reakci vyvolává řada faktorů, které v závislosti na typu odpovědi, jež vyvolají, zapojují různé mozkové struktury. Ty pak předávají informace do jádra hypothalamu, nucleus paraventricularis (PVN), které je hlavním integračním centrem informací o nerovnováze homeostázy vyvolané stresory. Pokud se v něm sejde dostatečné množství excitačních signálů, pak PVN aktivuje osu hypothalamus-hypofýza-nadledviny, jež v konečném důsledku vyvolá sekreci stresových hormonů glukokortikoidů, které pak působí zpětně na mozek. Toto působení je však ovlivněno několika faktory, především přítomností lokálního metabolismu glukokortikoidů. Lokální metabolismus je zajišťován enzymy 11 β -hydroxysteroidními dehydrogenázami, které mohou lokálně aktivovat či deaktivovat molekuly hormonu a tím zesilovat či zeslabovat jejich účinek.

Abstract

Stress response is triggered by a number of factors, which, depending on the type of response they generate, involve different brain structures. These structures then relay the information to the paraventricular nucleus of hypothalamus (PVN), which is the main integration center for information about the imbalance of homeostasis induced by stressors. If it meets a sufficient number of excitatory signals, the PVN activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, which ultimately triggers the secretion of stress hormones glucocorticoids, which then act back on the brain. This action is influenced by several factors, mainly the presence of local metabolism of glucocorticoids. Local metabolism is provided by the enzymes 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases, which can locally activate or deactivate the hormone molecules and thus amplify or attenuate their effects.

Seznam zkratek

11β-HSD	11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza	11 β -hydroxysteroid dehydrogenase
ACTH	adrenokortikotropní hormon (kortikotropin)	adrenocorticotropic hormone
amBST	anteromediální BST	anteromedial BST
ANS	autonomní nervový systém	autonomic nervous system
Arc	nucleus arcuatus (infundibularis)	arcuate nucleus
avBST	anteroventrální jádro BST	anteroventral nucleus of the BST
BLA	nucleus amygdalae basalis lateralis	basolateral amygdala
BST	bed nucleus striae terminalis	bed nucleus of stria terminalis
CBG	transkortin, globulin vázající kortikosteroidy	corticosteroid-binding globulin
CeA	nucleus amygdalae centralis	central amygdala
CI	locus coeruleus	locus coeruleus
CRH	hormon uvolňující kortikotropin	corticotropin-releasing hormone
dmDMH	dorsomediální část nucleus hypothalamicus dorsomedialis	dorsomedial components of the dorsomedial hypothalamus
DMH	nucleus hypothalamicus dorsomedialis	dorsomedial hypothalamus
DRN	nucleus raphe dorsalis	dorsal raphe nucleus
G6PDH	glukóza-6-fosfát dehydrogenáza	glucose-6-phosphate dehydrogenase
GABA	kyselina γ -aminomáselná	γ -aminobutyric acid
GLK-1		glucagon-like peptide
GR	glukokortikoidní receptor	glucocorticoid receptor
H6PDH	hexóza-6-fosfát dehydrogenáza	hexose-6-phosphate dehydrogenase
HPA	osa hypothalamus-hypofýza-nadledviny	hypothalamic-pituitary-adrenal axis
hsp	protein tepelného šoku	heat shock protein
IL	infralimbický kortex	infralimbic cortex
LS	laterální část septa	lateral septum
MeA	nucleus amygdalae medialis	medial amygdala
mnPOA	nucleus preopticus medianus	median preoptic nucleus
mPOA	area preoptica medialis	medial preoptic area
mpdPVN	dorsální část mediálního parvocelulárního nucleus paraventricularis	dorsal part of the medial parvocellular paraventricular nucleus of the hypothalamus
MR	mineralokortikoidní receptor	mineralocorticoid receptor
NAD	nikotinamid adenin dinukleotid	
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfát	
NTS	nucleus tractus solitarius	nucleus of solitary tract
OVLT	organum vasculosum laminae terminalis	
pBST	posteriórní oblasti bed nucleus striae terminalis	posterior subregions of the bed nucleus of the stria terminalis
PL	prelimbický kortex	
pmBST	posteromediální BST	
pPVN	peri-PVN	peri-PVN
PVN	nucleus paraventricularis	paraventricular nucleus of the hypothalamus
PVT	thalamické nucleus paraventricularis	
SCN	nucleus suprachiasmaticus	suprachiasmatic nucleus
SDR		short-chain dehydrogenases/reductases family
SFO	organum subfornicale	subfornical organ
vDMH	ventrolaterální nucleus hypothalamicus dorsomedialis	ventrolateral component of the dorsomedial hypothalamus
vSUB	ventrální subiculum	ventral subiculum

1 Úvod

Stresová reakce je velice komplexní proces, který zaměstnává řadu struktur v mozku, které jsou navzájem silně propojeny a mohou si tak navzájem předávat informace o momentálním stavu organismu. Všechny tyto struktury nicméně mají jeden společný cíl a to nucleus paraventricularis, jádro v předním hypothalamu. V něm dochází k integraci excitačních i inhibičních vstupů z limbického systému, mozkového kmene či hypothalamu. Pokud převáží excitační vstupy, pak PVN spustí přes různé mediátory sekreci stresových hormonů glukokortikoidů z kůry nadledvin. Glukokortikoidy se pak dostanou oběhem zpět do mozku, kde vazbou na kortikosteroidní receptory, které po vazbě ligandu působí jako transkripční faktory, ovlivňují transkripci příslušných genů. Kortikosteroidní receptory se dělí na mineralokortikoidní receptory a glukokortikoidní receptory, které váží glukokortikoidy s výrazným rozdílem v afinitě. Mineralokortikoidní receptory mají navíc afinitu pro mineralokortikoid aldosteron.

V poslední době se ale ukazuje, že pro účinek glukokortikoidů nejsou potřeba jen kortikosteroidní receptory v cílových buňkách, ale i enzymy, které glukokortikoidy metabolizují, 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy. Jejich exprese byla zjištěna v mozku stejně jako exprese kortikosteroidních receptorů. Tyto enzymy jsou dvojího typu. 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza 1. typu (11 β -HSD1) z neaktivní formy hormonu 11-dehydrokortikosteronu vytváří aktivní formu hormonu kortikosteron, zatímco 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza 2. typu (11 β -HSD2) katalyzuje opačnou reakci.

V dospělém mozku je dominantně přítomna 11 β -HSD1, jejíž exprese byla zjištěna ve strukturách, které dominantně regulují aktivitu osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (HPA). 11 β -HSD1 tak může v místech své exprese případnou aktivací hormonu ovlivňovat zpětnovazebné působení glukokortikoidů právě na tyto struktury a tak regulovat aktivitu osy HPA.

2 Co je stres a čím je vyvoláván?

Stres. Pojem, který je v dnešní době velmi používán a který jistě každý z nás někdy slyšel. Ale ví každý z nás, co opravdu znamená?

Každý organismus je adaptován na určité prostředí, ve kterém žije, a jeho podmínky, ať už se jedná o hojné zdroje potravy, optimální rozmezí teplot, ale i jiné faktory, např. nějaké útočiště, ve kterém se daný organismus cítí v bezpečí před různými, jeho život méně či více ohrožujícími vlivy. Pokud se ale podmínky v prostředí změní, dojde k vyvolání stresové reakce. Tyto změny, které vyvolávají stresové reakce, se nazývají stresory a představují jak reálné, tak předvídané narušení homeostázy organismu (Herman et al. 2003).

Z hlediska příjmu informace o nepříznivé, stresující události můžeme stresory rozdělit na stresory, které reálně vyvolávají narušení homeostázy a o jejich působení do mozku putuje sensorická informace a dále na ty, kterým reálné narušení homeostázy nepředchází, ale o kterých mozek předpokládá, že by mohly narušení homeostázy vyvolat. Odpovědi na takové reálné stresory lze označit jako „reaktivní“ a odpovědi na očekávané stresory „anticipační“ (Herman et al. 2003).

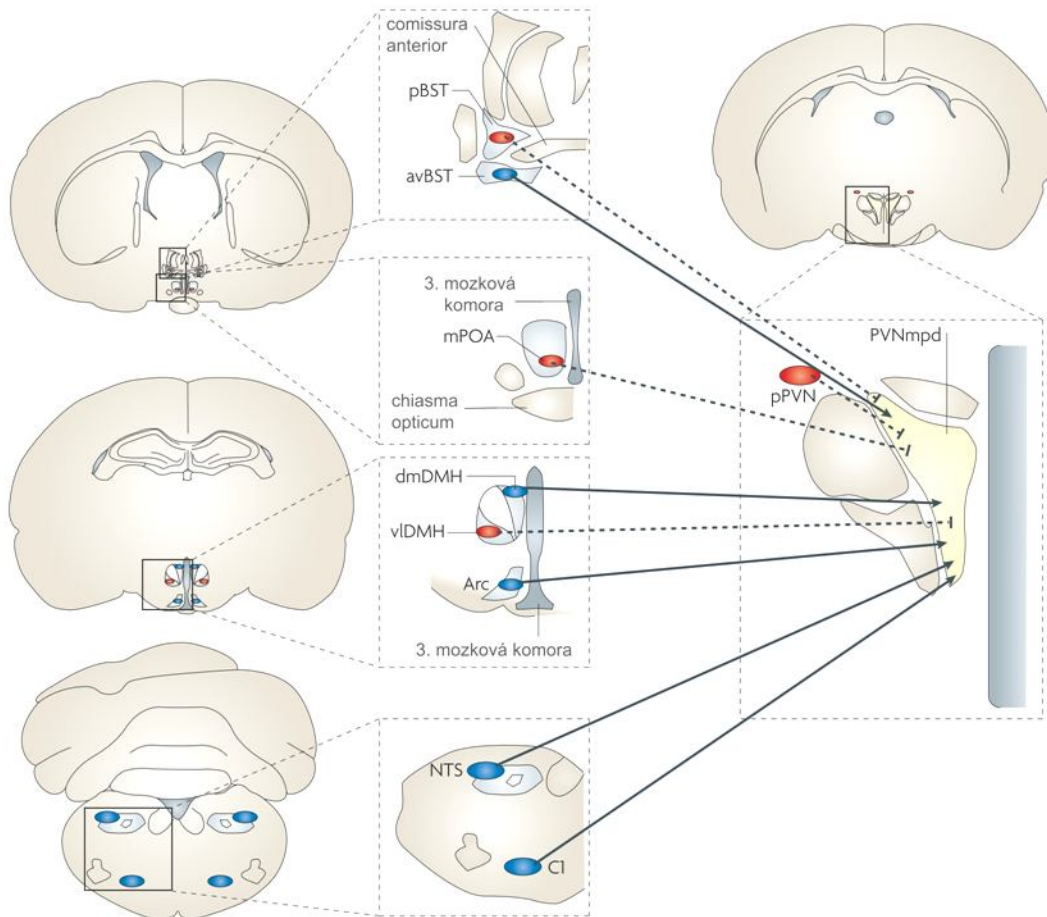
Stresové odpovědi jsou zprostředkovávány aktivací dvou hormonálních systémů. Sympato-adrenomedulárního systému, který je zodpovědný za zvýšení hladiny adrenalinu a osy hypothalamus-hypofýza-nadledviny, která v odpovědi na stres uvolňuje stresové hormony, glukokortikoidy.

3 Struktury mozku zapojené do stresové signalizace

Do stresové signalizace se zapojují různé mozkové struktury v závislosti na typu stresoru. Struktury zapojené do reaktivních odpovědí na reálné stresory jsou neurony napojené přímo na nucleus paraventricularis (PVN), zatímco struktury zapojené do anticipačních odpovědí jsou na PVN napojeny nepřímo přes neurony struktur s přímými vstupy do PVN. PVN je tedy hlavní integrační centrum stresových signálů. Do PVN jsou informace předávány jak excitačními, tak inhibičními signály. Pokud v PVN převládnu excitační signály, PVN na ně reaguje aktivací HPA osy sekrecí kortikoliberinu CRH (hormon uvolňující kortikotropin), který vyvolá syntézu a sekreci kortikotropinu ACTH (adrenokortikotropního hormonu) z hypofýzy do krve. Když se ACTH dostane do kůry nadledvin, spustí zde sekreci glukokortikoidů, které pak zpětně působí na mozek (Herman et al. 2003).

3.1 Vstupy do nucleus paraventricularis (PVN)

3.1.1 Přímé vstupy do PVN



Obrázek 1: Přímé napojení mozkových struktur na nucleus paraventricularis

Excitační vstupy jsou znázorněny modře, nepřerušovanou čarou, inhibiční vstupy (GABAergní) jsou znázorněny červeně, přerušovanou čarou; pBST (posteriorní oblasti bed nucleus striae terminalis), avBST (anteroventrální jádro bed nucleus striae terminalis), mPOA (area preoptica medialis), dmDMH (dorsomediální část nucleus hypothalamicus dorsomedialis), vlDMH (ventrolaterální část DMH), Arc (nucleus arcuatus (infundibularis)), NTS (nucleus tractus solitarius), Cl (locus coeruleus), pPVN (peri-PVN), PVNmpd (dorsomediální část mediálního parvocelulárního PVN). (Ulrich-Lai, Herman, 2009).

3.1.1.1 Oblasti mozkového kmene

3.1.1.1.1 Nucleus tractus solitarius (NTS)

NTS je hlavní centrum autonomních funkcí v mozkovém kmeni. Přijímá viscerální a somatické senzorké informace včetně informací z kardiovaskulárních aferentních neuronů nebo informací o somatických bolestech. Také přijímá vstupy z oblastí v mozkovém kmeni zapojených do dýchání nebo do kontroly autonomního systému a z oblasti area postrema zapojené v aktivaci HPA osy cytokiny. V neposlední řadě je NTS inervováno oblastmi limbického systému jako je mediální prefrontální kortex a nucleus amygdalae centralis. Katecholaminergní neurony vedoucí z NTS předávají do PVN hlavní excitační vstupy. Kromě katecholaminergních neuronů vycházejí z NTS ještě non-katecholaminergní neurony produkující neuropeptidy (GLK-1 glucagon-like peptide, somatostatin, enkefalin, substance P), které mohou také regulovat aktivaci HPA osy (Herman et al. 2003).

3.1.1.1.2 Nuclei raphes

Systém jader, která obsahují serotonergní neurony. Několik málo těchto neuronů vybíhá z nucleus raphe medianus a nucleus raphe dorsalis do PVN a blízkého okolí, kde uvolňují serotonin neboli 5-hydroxytryptamin. Ten stimuluje sekreci ACTH prostřednictvím aktivace 5-HT_{2A} receptoru. Serotonin také inervuje struktury v předním mozku včetně hipokampu, amygdaly, prefrontálního kortexu a hypothalamu (včetně nucleus suprachiasmaticus, které reguluje cirkadiánní rytmy), jejichž prostřednictvím je HPA osa regulována nepřímo (Herman et al. 2003).

3.1.1.2 Cirkumventrikulární orgány

Organum subfornicale (SFO), nucleus preopticus medianus (mnPOA) a organum vasculosum laminae terminalis (OVLT) tvoří cirkumventrikulární orgány. Ty mají neúplnou hematoencefalickou bariéru na rozdíl od jiných částí mozku. Jsou to struktury zodpovědné za kontrolu osmoregulace, krevního tlaku a chování při pití. Z organum subfornicale do PVN vybíhají přímé vstupy angiotensinergních neuronů. Angiotensin II, který uvolňují, pak stimuluje aktivitu HPA osy aktivací receptorů AT₁ (receptor pro angiotensin II 1. typu). Součástí cirkumventrikulárních orgánů je i area postrema, která je zodpovědná za aktivaci HPA osy cytokiny a která inervuje NTS (Herman et al. 2003, Ulrich-Lai, Herman 2009).

3.1.1.3 Hypothalamus

Do PVN jsou přímo napojeny i jiné oblasti hypothalamu, které do PVN vysílají převážně GABAergní vstupy. Jedná se například o peri-PVN oblast, na kterou je napojena řada oblastí limbického systému a které tak mohou prostřednictvím peri-PVN vykonávat anticipační stresové odpovědi. Kromě vstupů z peri-PVN jsou parvocelulární neurony PVN inervovány GABAergními i glutamatergními neurony z nucleus hypothalamicus dorsomedialis (DMH), které reguluje odpovědi na psychické stresory. Jeho ventolaterální část do PVN vysílá spíše inhibiční signály, naproti tomu jeho dorsální část excitační (Ulrich-Lai, Herman 2009).

Další oblastí, která do PVN ústí převážně GABAergními vstupy je area preoptica medialis (mPOA). V části neuronů mPOA je exprimováno vysoké množství receptorů pro pohlavní neurony. Kromě toho jsou zde napojené neurony z hipokampu a nucleus amygdalae medialis (MeA). Je zde důležité místo pro integraci pohlavních signálů, signálů o tělesné teplotě a spánku, které se zde mohou různě křížit se signály z limbického systému (Ulrich-Lai, Herman 2009).

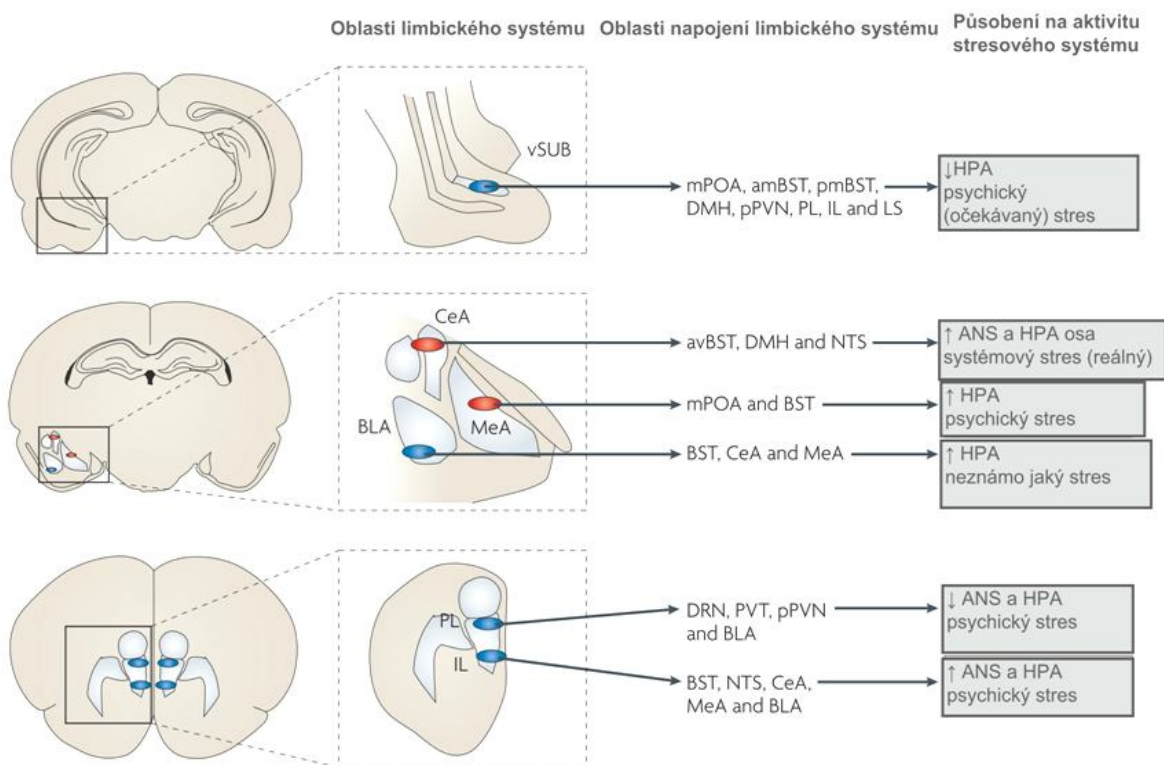
Poslední oblastí hypothalamu, která je napojená přímo na PVN je pak nucleus arcuatus (infundibularis), které do PVN předává informace o stavu energetické rovnováhy. HPA osu aktivuje dostatek i nedostatek energie a oba signály jsou tudíž vyhodnocovány jako stresory (Herman et al. 2003).

3.1.1.4 Bed nucleus striae terminalis (BST)

Má několik částí, které do PVN vysílají odlišné signály, většina z nich je ale inhibiční. Posteromediální část je převážně GABAergní a spíše inhibuje aktivitu HPA osy, naproti tomu anteroventrální část aktivuje HPA osu. Obsahuje CRH neurony, které vybíhají do PVN a které mají pravděpodobně excitační účinek na aktivitu HPA osy. Přes GABAergní neurony BST se do PVN napojuje většina limbických oblastí. Vstupy z CeA a MeA jsou GABAergní, zatímco vstupy z ostatních limbických oblastí (ventrální část subiculum, BLA, prelimbická kůra, infralimbická kůra) jsou glutamatergní a působí tedy na BST excitačně. Zda však vyvolají i excitaci PVN přes BST záleží na tom, do jaké části BST se neurony daných oblastí napojí (Ulrich-Lai, Herman 2009).

3.1.2 Nepřímé vstupy do PVN

Struktury, které ovlivňují PVN nepřímo, jsou struktury limbického systému, které moduluji aktivitu HPA osy. Zajišťují tzv. anticipační odpovědi spojené s emocemi a pamětí. Sekreci hormonů z hypofýzy a následně z nadledvin spouští s ohledem na předchozí zkušenosti a vrozené, druhově specifické dispozice (např. rozpoznání predátora) (Herman et al. 2003).



Obrázek 2: Napojení limbických struktur do oblastí přímo napojených na PVN

Excitační vstupy jsou znázorněny modře, inhibiční (GABAergní) vstupy jsou znázorněny červeně. mPOA (area preoptica medialis), amBST (anteromediální BST), avBST (anteroventrální jádro BST), BST (bed nucleus striae terminalis), DMH (nucleus hypothalamicus dorsomedialis), DRN (nucleus raphe dorsalis), LS (septum), pmBST (posteromediální BST), pPVN (peri-PVN), PVT (thalamické) nucleus paraventricularis, vSUB (ventrální subiculum), CeA (nucleus amygdalae centralis), MeA (nucleus amygdalae medialis), NTS (nucleus tractus solitarius), IL (infralimbický kortex), PL (prelimbický kortex), BLA (nucleus amygdalae basalis lateralis). (Ulrich-Lai, Herman 2009).

3.1.2.1 Amygdala

Amygdala je jednou ze struktur limbického systému. Obsahuje několik oblastí, které jsou aktivovány různými stresory. Nucleus amygdalae centralis (CeA) je oblast zapojená do regulace autonomního systému a zároveň je to oblast spojená s chováním při strachu a úzkosti. Přesto se ukázalo, že je CeA aktivováno ne anticipačními (psychickými), ale reálnými stresory (přímo ohrožujícími homeostázu). (Ulrich-Lai, Herman 2009). CeA předává informace do PVN přes struktury mozkového kmene, které inervují PVN (NTS a parabrachiální jádro) a částečně přes BST. Signalizace mezi CeA a BST, stejně jako mezi BST a PVN je zajišťována GABAergními neurony, proto k případné aktivaci PVN touto cestou dochází disinhibicí. Tzn. v klidovém stavu je z BST neuronů do PVN přenášen inhibiční signál, pokud však dojde nějakým způsobem k aktivaci CeA, pak GABAergní vstupy z CeA do BST zastaví GABAergní signalizaci mezi BST a PVN, což je vyhodnoceno jako aktivační signál (Herman et al. 2003).

Dalšími oblastmi amygdaly jsou nucleus amygdalae medialis (MeA) a nucleus amygdalae basalis lateralis (BLA). Obě jádra jsou na rozdíl od CeA aktivována psychickými stresory a podílejí se na anticipační stresové odpovědi. MeA se napojuje na několik oblastí jako BST, area preoptica medialis, nucleus preopticus medianus, přední oblast hypothalamu a peri-PVN oblast GABAergními neurony. Stejně jako v případě CeA tak dochází k aktivaci PVN disinhibicí (Herman et al. 2003).

BLA amygdaly je důležité pro zapojení účinku glukokortikoidů na tvorbu paměťové stopy (konsolidaci paměti) a zajišťuje tak zapamatování si stresující události. Anteriorní část BLA převážně inervuje CeA a MeA, posteriorní část má několik málo vstupů do hypothalamu (kromě PVN) (Herman et al. 2003).

3.1.2.2 Hipokampus

Hipokampus tvoří část limbického systému, která prostřednictvím aktivace mineralokortikoidních receptorů udržuje bazální aktivitu HPA osy. Také ukončuje odpověď HPA osy vyvolanou stresem pravděpodobně aktivací glukokortikoidních receptorů, které jsou zde exprimovány ve velkém množství. Pomáhá tak zprostředkovat negativní zpětnovazebné působení glukokortikoidů. Podílí se na tom neurony z ventrální části subiculum (nejspodnější část hipokampální formace) zodpovědné za inhibiční odpovědi na předvídané stresory. Tyto neurony z ventrálního subicula vSUB a neurony z ventrální oblasti CA1 inervují glutamatergními (excitacími) neurony oblasti BST, peri-PVN a hypothalamické neurony

přenášející informace do PVN jako area preoptica medialis a nucleus hypothalamicus dorsomedialis. Všechny tyto oblasti jsou bohaté na GABAergní neurony a působí tak inhibičně na PVN. Nedochozí zde tedy k disinhibici jako u amygdaly. (Herman et al. 2003).

3.1.2.3 Prefrontální kortex (PFC)

PFC také ovlivňuje odpověď organismu na stres. Prelimbický mediální PFC se podobně jako hipokampus účastní negativní zpětnovazebné regulace HPA osy prostřednictvím hojně přítomných glukokortikoidních receptorů a ukončuje odpovědi HPA osy na anticipační stresory. Kromě toho inhibuje i autonomní stresové odpovědi. Infralimbická část PFC však spouští autonomní odpovědi i odpovědi HPA osy na stres (Ulrich-Lai, Herman 2009).

Infralimbický kortex inervuje oblasti jako BST nebo nucleus hypothalamicus dorsomedialis, které inervují PVN GABAergně. Infralimbický i prelimbický kortex se také napojuje na amygdalu a nuclei raphes. Mediální PFC je napojen ještě na paraventriculární thalamická jádra, která regulují odpovědi HPA osy na chronický stres (Herman et al. 2003).

3.2 Nucleus paraventricularis (PVN)

Hlavní integrační centrum všech stresových signálů. Kromě regulace odpovědi HPA osy na stresory reguluje i autonomní odpovědi zpětnými projekcemi do mozkového kmene. Obsahuje dva typy neuronů. Magnocelulární neurony, které syntetizují hormony oxytocin a vasopresin (antidiuretický hormon ADH), které jsou axonálním transportem dopravovány do neurohypofýzy, a parvocelulární neurony, které sekretují CRH (hormon uvolňující kortikotropin) a stejně jako magnocelulární buňky vasopresin (Herman et al. 2003).

PVN má napojení na autonomní oblasti v mozkovém kmeni a páteřní míše (např. nucleus tractus solitarius, dorsální motorické jádro nervu vagu atd.) a na hypofýzu přes eminentia mediana (Ulrich-Lai 2009). Pokud obdrží dostatečné množství excitačních signálů z různých oblastí, tak spouští sekreci glukokortikoidů přes parvocelulární neurony, které sekrecí CRH a vasopresinu do portálního systému kapilár v adenohipofýze spouští sekreci adrenokortikotropního hormonu ACTH do krve. ACTH pak spouští v kůře nadledvin sekreci glukokortikoidů, které pak působí negativní zpětnou vazbou prostřednictvím kortikosteroidních receptorů na mozek (Herman et al. 2003).

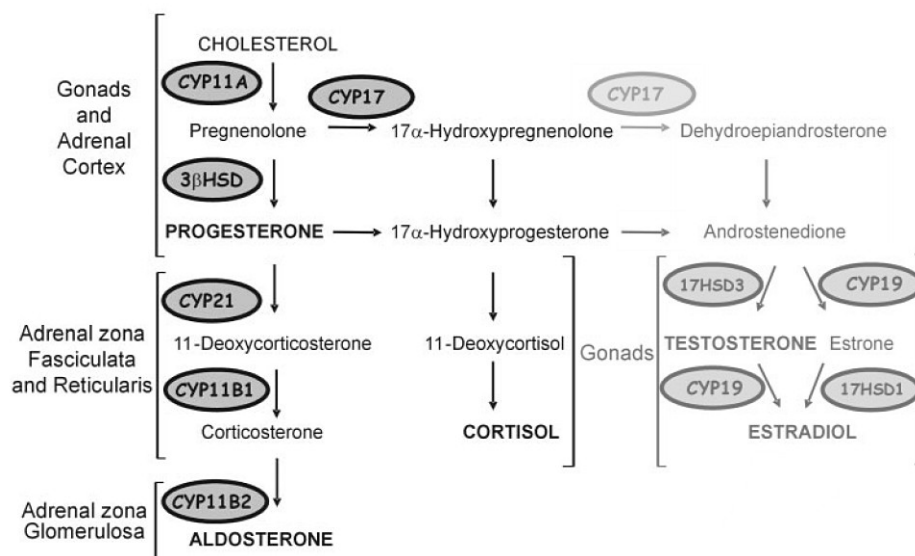
4 Glukokortikoidy

Glukokortikoidy jsou 21uhlíkaté steroidní hormony sekretované hlavně v kůře nadledvin, ve střední kortikální vrstvě zvané zona fasciculata. Jejich sekrece není vyvolána jen stresem. Probíhá i za normálních fyziologických podmínek. Sekrece glukokortikoidů určuje tzv. cirkadiánní rytmus. Ten je charakterizován sekrečními pulsy, kdy po zvýšené sekreci dojde k rapidnímu poklesu hladiny glukokortikoidů v plasmě. To pak způsobuje aktivaci rozdílných kortikosteroidních receptorů kvůli jejich rozdílné afinitě (viz. dále). Nejvyšší sekrece glukokortikoidů je u potkanů na začátku temné fáze dne, zatímco u lidí je nejvyšší sekrece v ranních hodinách. Tedy v době nejvyšší aktivity (Herbert et al. 2006).

Cirkadiánní sekrece glukokortikoidů je řízena adrenokortikotropním hormonem (ACTH) z hypofýzy, která je kontrolována nucleus suprachiasmaticus (SCN), které synchronizuje cirkadiánní rytmus se slunečním časem. Z SCN jsou informace do PVN předávány neurony přímo vybíhajícími do PVN nebo nepřímo přes nucleus hypothalamicus dorsomedialis (Herbert et al. 2006).

4.1 Metabolismus GC

4.1.1 Biosyntéza GC a její regulace



Obrázek 3: Biosyntéza glukokortikoidů v nadledvinách (Payne, Hales 2004)

Prekurzorem pro všechny steroidní hormony je cholesterol. Enzymy, které katalyzují jeho přeměnu na steroidní hormony, můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin. První skupinu tvoří proteiny obsahující hemovou skupinu, cytochromy P450. Jsou to membránově vázané enzymy, některé asociované s endoplasmatickým retikulem (CYP17, CYP21), jiné s mitochondriemi (CYP11A, CYP11B1). Všechny cytochromy pro své reakce vyžadují přítomnost NADPH. Druhou skupinu tvoří hydroxysteroidní dehydrogenázy (Payne, Hales 2004).

Pro syntézu glukokortikoidů jsou podstatné tyto enzymy (Payne, Hales 2004):

P450scc (P450 cholesterol side-chain cleavage enzym, CYP11A)

Katalyzuje přeměnu cholesterolu (27 uhlíků) na pregnenolon (21 uhlíků), první krok syntézy společný všem steroidům. Štěpení mezi 20. a 22. uhlíkem, při kterém dojde k odštěpení isokaproaldehydu z cholesterolu a vzniku pregnenolonu, předchází hydroxylace jak 20., tak 22. uhlíku.

3 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza (3 β -HSD)

Enzym také potřebný pro syntézu všech steroidních hormonů. V syntéze glukokortikoidů je podstatná katalýza přeměny pregnenolonu na progesteron a 17 α -hydroxypregnenolonu na 17 α -hydroxyprogesteron. Vše probíhá v dvoukrokové reakci. Dehydrogenací Δ^5 -3 β -hydroxysteroidu, pregnenolonu, vzniká Δ^5 -3-keto meziprodukt, ze kterého izomerizací vzniká Δ^4 -3-ketosteroid, progesteron.

17 α -hydroxyláza (P450 17 α -hydroxyláza, CYP17)

Hydroxylací na 17. uhlíku u 21uhlíkatých steroidů zajišťuje přeměnu pregnenolonu a progesteronu na 17 α -hydroxypregnenolon a 17 α -hydroxyprogesteron, prekurzory kortikosteronu a kortizolu.

21-hydroxyláza (CYP21)

Hydroxylací na 21. uhlíku na progesteronu hydroxyláza vytváří 11-deoxykortikosteron, hydroxylací 17 α -hydroxyprogesteronu 11-deoxycortisol.

11 β -hydroxyláza (CYP11B1)

Stejně jako ostatní enzymy rodiny cytochromů P450 katalyzuje hydroxylaci a to na 11. uhlíku. Z 11-deoxykortikosteronu tak vzniká kortikosteron a z 11-deoxycortizolu kortizol.

4.1.2 Enzymy glukokortikoidního metabolismu

11 β -hydroxysteoidní dehydrogenáza 1 a 11 β -hydroxysteoidní dehydrogenáza 2 jsou nejdůležitější enzymy, které metabolizují glukokortikoidy a ovlivňují tak množství hormonu v buňce pro vazbu na kortikosteroidní receptory.

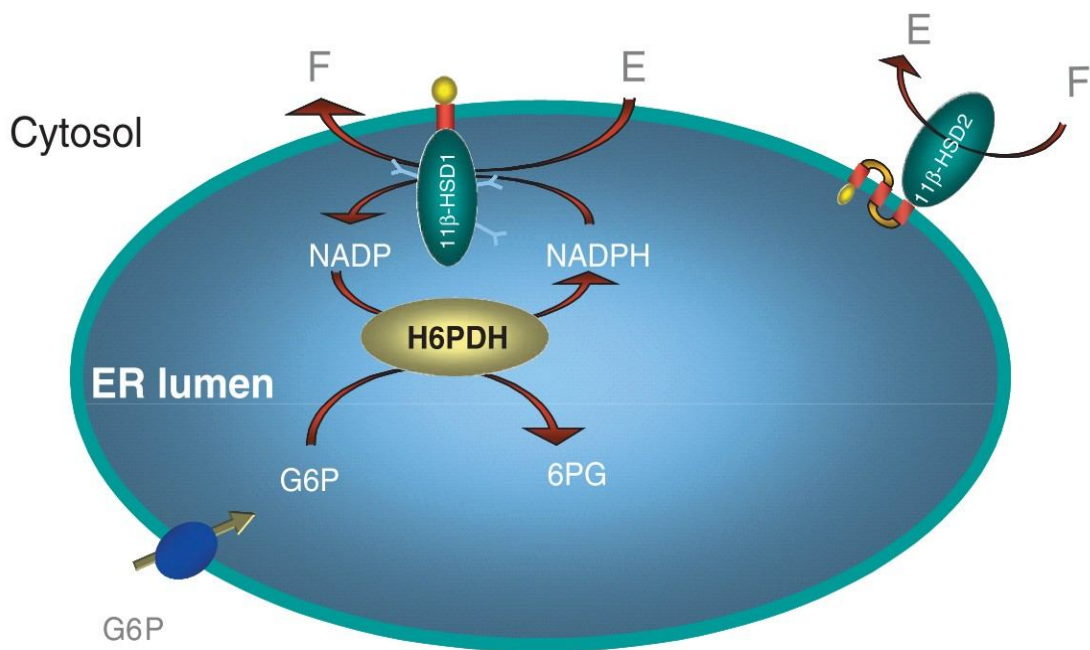
Oba tyto enzymy patří do rodiny SDR (short-chain dehydrogenase superfamily), do rodiny oxo-reduktáz. Od jiných členů rodiny SDR se odlišují jednou nebo více transmembránovými doménami na N-konci proteinu. Co mají oba enzymy navíc společné je vysoká úroveň sekvenční homologie vazebného místa pro kofaktor se sekvencí aminokyselin (GASKGIG) a katalytického místa se sekvencí (YSASK) (Tomlinson et al. 2004).

4.1.2.1 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza 1 (11 β -HSD1)

11 β -HSD1 je 287 AMK dlouhý, 34 kDa těžký protein (Draper, Stewart 2005). N-konec sekvence enzymu je tvořen hydrofóbní transmembránovou doménou, která kotví protein *in vitro* v membráně mikrosomu (Ozols 1995), *in vivo* v membráně endoplasmatického retikula tak, že do cytosolu přečnává sekvence o 6 AMK, naproti tomu do lumen je obrácena hlavní část enzymu včetně katalytické domény (Odermatt et al. 1999).

Kromě již zmíněného vazebného místa pro kofaktor a katalytického místa má klonovaný enzym 11 β -HSD1 u potkana dvě místa pro N-glykosylaci. Názory na důležitost glykosylace pro správnou funkčnost enzymu se různí, ale studie potkaní 11 β -HSD1 naznačuje, že aktivita enzymu u potkana může být regulována posttranslačními modifikacemi (Agarwal et al. 1995). Další posttranslační modifikací pak je disulfidický můstek mezi dvěma cysteiny (Ozols 1995).

11 β -HSD1 je nízkoafinní enzym (K_m pro kortikosteron = $1,83 \pm 0,06 \mu\text{M}$) a je závislý na kofaktoru NADP. *In vitro* má dvě aktivity, oxo-reduktázovou, kdy katalyzuje přeměnu 11-dehydrokortikosteronu na aktivní kortikosteron a dehydrogenázovou, kdy katalyzuje reakci v opačném směru. V bezbuněčném systému převažuje dehydrogenázová aktivita, naproti tomu v buňkách převažuje oxo-reduktázová aktivita, která je závislá na přítomnosti redukovaného koenzymu NADPH, který je hlavně tvořen enzymem hexóza-6-fosfátdehydrogenáza H6PDH, což je enzym v ER a je příbuzný s cytosolickým enzymem glukóza-6-fosfátdehydrogenáza G6PDH, který katalyzuje první dvě reakce pentózofosfátového cyklu. Právě tento enzym byl dříve považován za hlavní zdroj NADPH pro 11 β -HSD1, ale je to cytosolický enzym, na rozdíl od H6PDH, která je stejně jako 11 β -HSD1 lokalizována v lumen ER (Tomlinson et al. 2004).



Obrázek 4: Lokalizace 11 β -hydroxysteroidních dehydrogenáz v endoplasmatickém retikulu
(Draper, Stewart, 2005)

4.1.2.2 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenáza 2 (11 β -HSD2)

Tento enzym katalyzuje na rozdíl od 11 β -HSD1 pouze jednu reakci a to dehydrogenázovou, při které dochází k deaktivaci kortikosteronu na inaktivní 11-dehydrokortikosteron. 11 β -HSD2 je NAD⁺-dependentní, k reakci je požadována molekula oxidovaného koenzymu. 11 β -HSD2 má také vyšší afinitu pro kortikosteron než 11 β -HSD1 ($K_m = 5$ nM) (Draper, Stewart 2005).

11 β -HSD2 má opačnou orientaci v endoplasmatickém retikulu než enzym 11 β HSD1. Její N-konec třemi aminokyselinami přesahuje do lumen ER, po nich následuje sekvence tři transmembránových domén (helixů) a zbytek enzymu, včetně katalytické domény pak směřuje do cytosolu (Odermatt et al.1999).

4.2 Mechanismus působení glukokortikoidů

Glukokortikoidy uplatňují svůj genomický účinek vazbou na kortikosteroidní receptory. To jsou receptory, které patří do rodiny jaderných receptorů, konkrétně do podskupiny 3C. Těmito receptory v mozku jsou mineralokortikoidní receptor MR a glukokortikoidní receptor GR. Kortikosteroidní receptory se nevyskytují v jádře trvale. V inaktivním stavu jsou spolu s dalšími proteiny (hsp90, hsp 70, hsp56, imunophilin) součástí cytoplasmatického multimerního (proteinového) komplexu. Ten po navázání ligandu disociuje a uvolní aktivovaný receptor, který se následně translokuje do jádra. (De Kloet et al., 1998). Kortikosteroidní receptory regulují transkripci genů dvěma způsoby. Hlavním mechanismem je přímá regulace transkripce vazbou dimerizovaných kortikosteroidních receptorů na GRE (glucocorticoid response element) na DNA a regulace transkripce příslušných genů. Dalším mechanismem je pak nepřímá regulace transkripce prostřednictvím protein-proteinových interakcí. Takto interagují monomery GR s transkripčními faktory - jaderným faktorem κ B (NF- κ B), aktivačním proteinem 1 (AP-1) nebo monomery obou receptorů, GR i MR s různými regulátory genové exprese, ko-aktivátory, které způsobují buď aktivaci nebo s ko-represory, které způsobují represi genové exprese (De Kloet et al., 2005).

4.2.1 Mineralokortikoidní receptor

MR váže kortikosteron se zhruba 6 – 10-násobnou afinitou než GR (disociační konstanta pro MR – $K_d \sim 0,5$ nM, pro GR – $K_d \sim 2,5 - 5$ nM) (Reul, de Kloet, 1985). Díky takto vysoké afinitě je MR téměř neustále okupován ligandem při nízkých hladinách hormonu v krvi a zajišťuje tzv. proaktivní mód působení kortikosteroidů. Tzn., udržuje bazální aktivitu HPA systému a citlivost systému pro spuštění stresové odpovědi. Spíše udržuje aktivitu stresového systému (de Kloet, 1998).

4.2.2 Glukokortikoidní receptor

GR díky nižší afinitě váže kortikosteron při zvýšených hladinách hormonu v krvi, buď způsobených zvýšenou sekrecí kortikosteronu v rámci cirkadiálního rytmu nebo při stresu. Pracuje tak ve spolupráci s MR v tzv. reaktivním módu, který má za úkol ukončit aktivitu HPA systému aktivovaného stresem a navodit zotavení organismu po stresové reakci. Díky vlivu na učení a paměť pak zvyšuje prahovou hodnotu pro spuštění stresové reakce a vypořádání se s ní na základě předchozí zkušenosti (de Kloet et al., 1998).

5 Jakým způsobem interagují glukokortikoidy s mozkem?

5.1 Způsoby vstupu glukokortikoidů do mozku

Kortikosteron jako lipofilní částice může do mozku procházet volně přes hematoencefalickou bariéru a difundovat přes lipofilní plasmatické membrány buněk. V krvi se však na rozdíl od své inaktivní formy 11-dehydrokortikosteronu vyskytuje volně jen asi z 5 % celkového množství (4 µg). Zbytek je navázán specificky na protein CBG, neboli transkortin (globulin vázající kortikosteroidy – corticosteroid-binding globulin) a nespecificky na serum albumin. Aby však mohl být kortikosteron použit jako ligand pro kortikosteroidní receptory a mohl tak vykonávat své účinky, musí být volný (De Kloet et al. 2000).

5.2 Oblasti exprese GR a MR v mozku

Glukokortikoidní receptory jsou na rozdíl od mineralokortikoidních receptorů rozšířené téměř po celém mozku. Oba receptory jsou společně exprimovány v hipokampálních pyramidálních buňkách (kromě CA3 oblasti, kde není GR exprimován v dospělém mozku), v gyrus dentatus, v adenohipofýze, v amygdale (MR jen v MeA a CeA), v laterálním septu a v některých korových oblastech (De Kloet et al. 2005). Kromě těchto oblastí se mineralokortikoidní receptory vyskytují v senzoryckých a motorických neuronech mozkového kmene, i v anteriorní oblasti hypothalamu a cirkumventrikulárních orgánech. MR v cirkumventrikulárních orgánech váží aldosteron a účastní se regulace „slané“ homeostázy (De Kloet et al. 2000).

Glukokortikoidní receptor se kromě již zmíněných oblastí hojně vyskytuje v parvocelulárních buňkách PVN a v parvocelulární části dalšího hypothalamického jádra nucleus arcuatus (infundibularis). Slabší signál byl pozorován i ve II., III. a VI. vrstvě mozkové kůry a v mnohých thalamických jádrech. V mozečku bylo pozorováno silné značení v celé granulární vrstvě. V nižší části mozkového kmene byla pozorována mRNA v celém jádře locus coeruleus a v nucleu raphes s neurony bohatými na noradrenalin a serotonin (5-hydroxytryptamin) (Aronsson et al. 1988).

5.3 Oblasti exprese 11 β -HSD v mozku

5.3.1 Oblasti exprese 11 β -HSD1

Značná exprese 11 β -HSD1 byla nalezena ve strukturách, kde glukokortikoidy uplatňují svůj zpětnovazebný účinek na HPA osu. Oblasti exprese mRNA zjištěné in situ hybridizací se víceméně shodovaly s enzymatickou aktivitou. Jedná se především o hipokampus, nucleus paraventricularis v hypothalamu a adenohypofýzu, ale také o hypothalamickou area preoptica medialis a nucleus arcuatus (infundibularis) (Moisan et al. 1990).

5.3.2 Oblasti exprese 11 β -HSD2

Expresce enzymu 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy 2. typu je v dospělém mozku potkana spíše omezena na oblasti, které potřebují zachovat selektivitu MR pro aldosteron. Jedná se o struktury, kde působí aldosteron na krevní tlak (organum subcommissurale SCO, nucleus tractus solitarius NTS) a slanou chuť (nucleus hypothalamicus ventromedialis, amygdala). Kromě toho byla exprese 11 β -HSD2 zjištěna vedle NTS i v dalších jádrech mozkového kmene nucleii raphes a locus coeruleus (Robson et al. 1998).

5.4 Lokální metabolismus GC v mozku

Působení glukokortikoidů na cílové orgány není regulováno jen množstvím kortikosteroidních receptorů v buňkách nebo koncentrací hormonu v krvi, ale hlavně intracelulární koncentrací hormonu.

Ve studii 11 β -HSD1 deficientních myši se ukázalo, že právě enzym 11 β -HSD1 reguluje intracelulární množství hormonů dostupných pro receptory regenerací inaktivního 11-dehydrokortikosteronu na kortikosteron. Důkazem toho je, že 11 β -HSD1 deficientní myši vykazovaly zvýšené bazální i stresové hladiny kortikosteronu i ACTH způsobené poškozením negativní zpětné vazby glukokortikoidů. I když byly plasmatické koncentrace kortikosteronu vysoké, mozek stále produkoval ACTH a vyvolával tak další sekreci glukokortikoidů z nadledvin. Dalším důkazem regulace intracelulárního množství kortikosteronu 11 β -HSD1 je, že ani vysoce zvýšené plasmatické koncentrace kortikosteronu nezměnily expresi cílových genů glukokortikoidů jako GR a MR mRNA v hipokampu nebo CRH mRNA v PVN (Harris et al. 2001).

Neměli bychom však zapomínat na to, že reduktázová aktivita enzymu 11 β -HSD1 (přeměna neaktivního 11-dehydrokortikosteronu na kortikosteron) je závislá na kofaktoru NADPH. Ten je v endoplasmatickém retikulu generován převážně enzymem H6PDH. Ten však nebyl zatím zjištěn v mozku v příznačném množství, pouze v několika málo buňkách (Gomez-Sanchez et al. 2008). V případě, že chybí NADPH, 11 β -HSD1 pak katalyzuje opačnou reakci, dehydrogenázovou, kterou vykonává enzym 11 β -HSD2. Proto se autoři této studie domnívají, že by selektivitu MR pro aldosteron mohla vytvářet i 11 β -HSD1 (Gomez-Sanchez et al. 2008). Vše zatím potřebuje důkladnější výzkum.

Enzym 11 β -HSD2, který inaktivuje glukokortikoidy, je v mozku podstatný hlavně při postnatálním vývoji mozku, kdy nadbytek glukokortikoidů způsobuje zpomalení neurogeneze, předčasné zastavení buněčného dělení, zastavení růstu dendritů a axonů neuronů atd. V dospělém mozku je převážně ko-lokalizován s MR v oblastech zajišťujících kontrolu krevního tlaku působením aldosteronu, pro který mají MR nižší afinitu než pro kortikosteron (Robson et al. 1998).

5.5 Vliv stresu na mozek

Nejlépe prostudovanou oblastí mozku, na kterou působí zvýšené hladiny glukokortikoidů vyvolané stresem, je hipokampus. Je to místo v mozku s nejvyšší expresí obou typů kortikosteroidních receptorů i enzymu metabolizující glukokortikoidy, 11 β -HSD1. Má velký význam pro regulaci HPA osy, podílí se na zpětné vazbě.

Při studiu vlivu chronického psychosociálního stresu na tanách bylo zjištěno, že chronický psychosociální stres u submisivních jedinců tlumí aktivitu hippokampální 11 β -HSD1. Jedna skupina tan byla vystavována psychosociálnímu stresu po 28 dní, druhé skupině byl 28 dní podáván kortizol v pitné vodě. V mozku došlo k snížení aktivity enzymu pouze působením psychosociálního stresu, ale ne podáváním kortizolu (Jamieson et al. 1997). Naproti tomu ve studii na potkanech, kterým byl podáván 10 dní dexamethason (syntetický glukokortikoid, který se přednostně váže na GR), byla pozorována zvýšená aktivita hippokampální 11 β -HSD1 (Low et al. 1994).

Vzestup aktivity 11 β -HSD1 v odpovědi na akutní stres by tak mohl zesilovat negativní zpětnovazebný signál glukokortikoidů a tak deaktivovat HPA osu, zatímco pokles 11 β -HSD1 v odpovědi na chronický stres by mohl ochraňovat buňky před neurotoxickým účinkem nadměrně zvýšené hladiny glukokortikoidů (Holmes, Seckl 2006). To souvisí s již zmíněným působením obou receptorů. MR zajišťují proaktivní mód, udržuje bazální aktivitu HPA osy,

zatímco GR v kombinaci s MR (díky vysoké afinitě MR váže kortikosteron při nízkých koncentracích) zajišťují reaktivní mód, ukončují aktivaci HPA osy vyvolanou stresem (De Kloet et al. 1998). Proto nejspíš aktivace GR po navázání dexamethasonu zvýšila expresi 11 β -HSD1, aby zesílením zpětné vazby došlo k ukončení aktivity HPA osy.

Kromě změny exprese enzymu metabolizujícího glukokortikoidy také dochází pod vlivem stresu ke změnám v expresi kortikosteroidních receptorů, což ovlivňuje působení glukokortikoidů.

Studie Kitraki et al. (1999) zkoumala vliv chronického psychického stresu (nucené plavání) na změny v expresi GR a dobu trvání těchto změn. U skupiny potkanů stresovaných 8, 10 a 14 dní byl zjištěn výrazný pokles exprese GR mRNA v hipokampálních oblastech CA1, CA2 a v gyrus dentatus. Exprese v oblasti CA3 zůstala nezměněna. Podobné výsledky (asi 55% pokles v expresi GR mRNA) byly zjištěny u zvířat stresovaných 14 dní, která byla na 48 hodin nebo na 8 dní po posledním vystavení stresu nechána v klidu, i u zvířat, která byla po 14denním chronickém stresu vystavena novému stresu, ať už akutnímu nebo déle trvajícím (Kitraki et al. 1999).

Tato studie však měřila změnu exprese pouze na úrovni mRNA. Na úrovni jak mRNA, tak proteinu zkoumala změnu exprese GR studie Hermana a Spencera (1998). U potkanů po adrenalectomii (odstranění nadledvin sekretujících kortikosteron) byl naměřen vzestup exprese GR jak na úrovni mRNA, tak na úrovni proteinu. Avšak 30denní chronický stres (náhodné vystavení psychickým i fyzickým stresorům) ani 3denní podávání vysokých dávek kortikosteronu u zdravých potkanů nevyvolalo změny na úrovni mRNA ani na úrovni proteinu. Při 3denním podávání selektivního antagonisty MR spironolaktonu však byl zaznamenán vzestup v expresi GR na úrovni transkriptu i proteinu v oblasti CA1 a DG v hipokampu (Herman, Spencer 1998).

Studie Gesing et al. (2001) ukázala nárůst v expresi MR v reakci na akutní psychický stres (nucené plavání). Nárůst byl pozorován ve všech oblastech hipokampu, ale i v jiných oblastech limbického systému (amygdala, frontální kortex).

Autoři také studovali vliv CRH na expresi MR, který se u adrenalectomizovaných potkanů projevil pouze v přítomnosti kortikosteronu, ale ne dexamethasonu. Při podání antagonisty CRH (spolu s kortikosteronem) před vystavením stresu se efekt stresu na expresi MR u adrenalectomizovaných potkanů neprojevil (Gesing et al. 2001).

Naposled zmíněná studie ukázala, že stresová reakce je velice komplexní reakce organismu a nedochází k její regulaci jen prostřednictvím nadměrné sekrece stresových hormonů glukokortikoidů v nadledvinách. Je známo, že 11 β -HSD ovlivňují reakci

kortikosteronu v buňce jeho metabolizováním, nicméně není známo moc o vlivu těchto enzymů na průběh stresové reakce.

Ve studii Kittraki et al. (1999) bylo zjištěno, že u potkanů stresovaných 14 dní, stejně jako u potkanů stresovaných 14 dní a následně nerušených 48 hod nebo 8 dní, došlo k návratu plazmatické koncentrace kortikosteronu na bazální hodnoty, zatímco zvířata stresovaná 8 a 10 dní měla zvýšené hladiny kortikosteronu. Snížená exprese GR však byla pozorována jak u potkanů se zvýšenou hladinou kortikosteronu, tak i u zvířat s bazálními hladinami kortikosteronu (Kittraki et al. 1999). V souladu se studií Low et al. (1994), kdy byla sledována zvýšená aktivita 11 β -HSD1 v hipokampu po 10denním podávání dexamethasonu a tedy aktivaci GR, by se tento jev mohl připisovat lokálnímu působení 11 β -HSD1, která v buňkách regeneruje kortikosteron z neaktivního 11-dehydrokortikosteronu. Zvýšená hladina kortikosteronu sekretovaná nadledvinami v reakci na stres by mohla zatím neznámým způsobem pravděpodobně prostřednictvím GR aktivovat expresi 11 β -HSD1. Ta by pak mohla zajišťovat optimální vystavení neuronů kortikosteronu.

Studie Hermana a Spencera (1998), která po 30denním chronickém stresu nepozorovala žádné změny exprese GR, ani zvýšené plazmatické hladiny kortikosteronu, poukazuje na to, že mohlo dojít k navyknutí na stresové podmínky a návratu exprese i sekrece kortikosteronu do původních hodnot. Na snížené aktivaci GR by se také mohla podílet 11 β -HSD1, která po chronickém psychickém stresu vykazuje snížení aktivity, což může vést ke snížené intracelulární koncentraci aktivního hormonu (Jamieson et al. 1997).

Z těchto výsledků se dá usuzovat, že při akutním stresu je exprese genů kortikosteroidních receptorů i 11 β -HSD1 zesílena, aby došlo k zesílení negativní zpětné vazby glukokortikoidů a stresová reakce byla rychleji ukončena, zatímco při chronickém stresu dochází spíše ke snížení exprese jak receptorů, tak 11 β -HSD1, aby se předešlo degenerativním poškozením způsobeným dlouhodobým nadbytkem glukokortikoidů.

5.6 Dlouhodobé působení glukokortikoidů v mozku

V rámci zajištění reaktivního módu prostřednictvím GR glukokortikoidy nezajišťují jen ukončení aktivity HPA osy vyvolané stresem, ale díky podpoře učení a paměťových procesů usnadňují vyrovnání se se stresem, přizpůsobení se novým podmínkám a následné zotavení organismu po stresu (De Kloet et al. 1998).

Neschopnost vyrovnat se se stresujícími událostmi, která vede k hypersekreci kortizolu (hyperkortizolemie) pak mohou vést ke zvýšenému riziku rozvoje deprese nebo

abdominální obezity, osteoporózy a kardiovaskulárních problémů (De Kloet et al. 2005). U pacientů s Cushingovou chorobou je hyperkortizolemie způsobená nádorem v kůře nadledvin nebo adenohypofýze. U těchto pacientů stejně jako u pacientů s depresí byla pozorována redukce v objemu hipokampu, která souvisí s poruchami kognitivních funkcí a psychotickými i manickými stavy (De Kloet et al. 2005).

6 Závěr

Působení stresových hormonů glukokortikoidů v mozku ovlivňuje množství faktorů. Ať už se jedná o CBG, které vazbou glukokortikoidů snižuje množství volného hormonu přístupného tkáním nebo množství kortikosteroidních receptorů přítomných v buňce pro vazbu hormonu či přítomnost lokálního metabolismu glukokortikoidů zajišťovaného 11 β -hydroxysteroidními dehydrogenázami.

Ačkoliv bylo vypracováno několik studií o změnách exprese kortikosteroidních receptorů i 11 β -hydroxysteroidních dehydrogenáz (Gesing et al. 2011, Herman, Spencer 1998, Jamieson et al. 1997, Kittraki et al. 1999), stále je zde v této problematice mnoho nejasností. Např. oxoreduktázová aktivita 11 β -HSD1, při níž dochází k lokální aktivaci kortikosteronu, je závislá na přítomnosti redukovaného kofaktoru NADPH tvořeného H6PDH, ale zatím nebylo zjištěno, nakolik je tento enzym exprimován v mozku, v jakých strukturách a už vůbec se neví, jak působí stres na expresi tohoto enzymu. Důležité je také to, že ne všechny uvedené studie, které zkoumaly vliv stresu na expresi GR, MR a 11 β -HSD1, byly zkoumány na potkanech. Dalším problémem je také to, že ve většině studií byla změna exprese daných proteinů vyvolaná působením stresu měřená pouze na úrovni mRNA, na úrovni transkriptu. Změna exprese na úrovni proteinu i mRNA byla měřená pouze v jedné studii, ačkoliv v ní změny exprese měřené na úrovni mRNA odpovídaly změnám naměřeným na úrovni proteinu (Herman, Spencer 1998).

Další studium této problematiky by tak mohlo poskytnout odpovědi na zatím neznámé otázky.

7 Zdroje literatury

Agarwal AK, Mune T, Monder C, White PC. Mutations in putative glycosylation sites of rat 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase affect enzymatic activity. *Biochem Biophys Acta* 1248: 70–74, 1995.

Aronsson M, Fuxe K, Dong Y, Agnati LF, Okret S, Gustafsson JA. Localization of glucocorticoid receptor mRNA in the male rat brain by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 9331–9335, 1988.

De Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 6: 463–475, 2005.

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 19: 269–301, 1998.

De Kloet ER, Van Acker SA, Sibug RM, Oitzl MS, Meijer OC, Rahmouni K, de Jong W. Brain mineralocorticoid receptors and centrally regulated functions. *Kidney Int* 57: 1329–1336, 2000.

Draper N, Stewart PM. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *J Endocrinol* 186: 251–271, 2005.

Gesing A, Bilang-Bleuel A, Droste SK, Linthorst AC, Holsboer F, Reul JM. Psychological stress increases hippocampal mineralocorticoid receptor levels: involvement of corticotropin-releasing hormone. *J Neurosci* 21: 4822–4829, 2001

Gomez-Sanchez EP, Romero DG, de Rodriguez AF, Warden MP, Krozowski Z, Gomez-Sanchez CE. Hexose-6-phosphate dehydrogenase and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 tissue distribution in the rat. *Endocrinology* 149: 525–533, 2008.

Harris HJ, Kotelevtsev Y, Mullins JJ, Seckl JR, Holmes MC. Intracellular regeneration of glucocorticoids by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD)-1 plays a key role in regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: analysis of 11 β -HSD-1-deficient mice. *Endocrinology* 142: 114–120, 2001.

Herbert J, Goodyer IM, Grossman AB, Hastings MH, de Kloet ER, Lightman SL, Lupien SJ, Roozendaal B, Seckl JR. Do corticosteroids damage the brain?. *J Neuroendocrinol* 18: 393–411, 2006.

Herman JP, Spencer R. Regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene transcription and protein expression in vivo. *J Neurosci* 18: 7462–7473, 1998.

Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 24: 151–180, 2003.

Holmes MC, Seckl JR. The role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Moll Cell Endocrinol* 248: 9–14, 2006.

Jamieson PM, Fuchs E, Flugge G, Seckl JR. Attenuation of hippocampal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 by chronic psychosocial stress in the tree shrew. *Stress* 2: 123–132, 1997.

Low SC, Moisan MP, Noble JM, Edwards CR, Seckl JR. Glucocorticoids regulate hippocampal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity and gene expression in vivo in the rat. *J Neuroendocrinol* 6: 285–290, 1994.

Kitraki E, Karandrea D, Kittas C. Long-lasting effects of stress on glucocorticoid receptor gene expression in the rat brain. *Neuroendocrinology* 69: 331–338, 1999.

- Moisan MP, Seckl JR, Edwards CR. 11β -hydroxysteroid dehydrogenase bioactivity and messenger RNA expression in rat forebrain: localization in hypothalamus, hippocampus, and cortex. *Endocrinology* 127: 1450–1455, 1990.
- Odermatt A, Arnold P, Stauffer A, Frey BM, Frey FJ. The N-terminal anchor sequences of 11β -hydroxysteroid dehydrogenases determine their orientation in the endoplasmic reticulum membrane. *J Biol Chem* 274: 28762–28770, 1999.
- Ozols J. Luminal orientation and post-translational modifications of the liver microsomal 11β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Biol Chem* 270: 2305–2312, 1995.
- Payne AH, Hales DB. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* 25: 947–970, 2004.
- Reul, JM, de Kloet ER. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117: 2505–2511, 1985.
- Robson AC, Leckie CM, Seckl JR, Holmes MC. 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the postnatal and adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 61: 1–10, 1998.
- Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev* 25: 831–866, 2004.
- Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Rev Neurosci* 10: 397–409, 2009.

Poděkování

Na závěr bych velice ráda poděkovala panu prof. RNDr. Jiří Páchovi DrSc. za cenné rady poskytnuté při psaní této práce a také za velkou míru trpělivosti.