

ARTYKUŁ POGLĄDOWY

Wpłynęło: 28.07.2008 • Poprawiono: 01.08.2008 • Zaakceptowano: 01.08.2008

Budowa i funkcja synaps elektrycznych (*gap junctions*) w ośrodkowym układzie nerwowym ***Structure and function of gap junctions in the central nervous system***

Włodzimierz Płotek

Zakład Dydaktyki Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu



Streszczenie

Synapsy elektryczne (ang: *Gap junctions*-GJ) stanowią niezwykle istotny element struktury i funkcji ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Zbudowane są z dwóch jednostek – koneksonów, uformowanych przez sześć podjednostek zwanych koneksynami i są ułożone naprzeciw siebie scalając funkcjonalnie komórki OUN. Tworząc syncytia komórkowe są zdolne do niezwykle szybkiej transmisji ładunków elektrycznych, jak również i małych cząsteczek. GJ odgrywają kluczową rolę w procesach rozwoju i różnicowania się OUN, ale także nie należy pomijać ich prawdopodobnego znaczenia w procesach tworzenia się świadomości, zjawiskach odpornościowych, udziału w zjawiskach niedokrwienia – reperfuzji oraz kancerogenezy. Artykuł przybliży problematykę budowy i roli GJ w funkcjonowaniu OUN. *Anestezjologia i Ratownictwo 2008; 2: 274-282.*

Słowa kluczowe: synapsy elektryczne, oscylacje gamma, ośrodkowy układ nerwowy

Summary

Electrical synapses (Gap junctions – GJ) are extremely important parts of the structure and function of the central nervous system (CNS). They consist of two units – connexons, created by six subunits named connexins and when placed oppositely on the cell membranes they form functional binding of the cells of the CNS. By creating cellular syncytium, GJ are able to very fast electrical transmission, as well as transportation of the small mediators. GJ play a crucial role in the processes of development and differentiation of the CNS, but we mustn't forget about their role in creating consciousness, immunological processes, ischemia-reperfusion and cancer development. The article throws a light on the problem of the structure and the role of the GJ in the CNS. *Anestezjologia i Ratownictwo 2008; 2: 274-282.*

Keywords: gap junctions, gamma-oscillations, central nervous system

Wprowadzenie

Funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) pomimo coraz doskonalszych metod badawczych pozostaje nadal obszarem nie do końca wyjaśnionym. Najnowsze zdobycze biologii molekularnej

i fizyki kwantowej umożliwiają lepsze zrozumienie funkcjonowania tego układu, ale bez znajomości określonych struktur i zjawisk zachodzących w mózgowiu nie możemy chociaż w części zrozumieć pewnych fenomenów klinicznych. Anestezjologia jest nauką i sztuką niezwykłą, która wprawnie posługuje się technikami

kontrolowania wybranych funkcji OUN. Potrafimy sterować w przewidywalny sposób świadomością naszych chorych, ale czy zastanawialiśmy się kiedykolwiek tak naprawdę, czym jest świadomość i jakie reakcje wywołujemy podając podstawowe leki sedacyjne lub anestetyczne? Próbujemy znaleźć połączenie pomiędzy naukami psychologicznymi, które tworzą podstawy czynnościowe z morfologicznymi wykładnikami uzyskiwanymi w badaniach biologicznych szukając neurologicznego odpowiednika świadomości (*Neural Correlate of Consciousness* – NCC). U podstaw funkcjonowania układu nerwowego leży przekąźnictwo nerwowe. Obok transmisji chemicznej, która jest głównym typem przekąźnictwa pomiędzy komórkami układu nerwowego istnieje również synaptyczny transport elektryczny, odbywający się za pomocą połączeń szczelinowych (*gap junctions* – GJ).

Budowa synaps elektrycznych

Synapsy elektryczne występują szeroko w strukturach OUN i zbudowane są z dwóch jednostek - koneksonów, z których każda jest stworzona przez sześć koneksyn (Cx). Koneksyny są półkanałami, które obejmują całą grubość błony komórkowej. Gdy na styku błon dwóch komórek dojdzie do połączenia dwóch przeciwnych koneksonów powstaje szczelinowe połączenie międzykomórkowe [1]. GJ występują licznie w obrębie jądra miejsca sinawego, części zbitiej substancji czarnej oraz przednio-brzusznym jądrze wzgórze [2]. Znalezione również obecność koneksyn w rdzeniu kręgowym [3]. Koneksyny są polimorficzną grupą białek. Prawdopodobnie istnieje około 20 genów kodujących koneksyny u zwierząt i 21 u ludzi [4,5]. Nazwa każdej z koneksyn odnosi się do masy cząsteczkowej poszczególnych przedstawicieli tej rodziny podawanej w kilodaltonach (kDa), np. Cx36 odpowiada przedstawicielowi o masie cząsteczkowej 36 kDa.

Koneksyny wydają się posiadać trzy odmienne rodzaje aktywności:

1. mogą tworzyć pełne połączenia typu GJ i transfer substancji pomiędzy komórkami,
2. są w stanie tworzyć półkanały, które mają również funkcję transportową,
3. czasami sprawują funkcje niezależne od a i b.

Ad 1. Przez połączenia GJ mogą przechodzić substancje o masie cząsteczkowej do 1 kDa, tj. niektóre cząsteczki aktywne (np. ATP, NAD, PGE2) lub jony. GJ występują w trzech różnych typach komórek

w OUN: neuronach, astrocytach i oligodentocytach [6]. Implikuje to możliwość tworzenia się połączeń pomiędzy różnymi typami komórek. Na podstawie licznych badań fizjologicznych Fukuda zaproponował generalną zasadę, że łączenie się komórek jest częstym zjawiskiem pomiędzy komórkami tej samej klasy, ale zachodzi stosunkowo rzadko pomiędzy innymi klasami komórek. Na przykład szczególnie dużo połączeń typu GJ występuje pomiędzy neuronami GABAergicznymi kory mózgu [7]. Odmienne typy koneksyn tworzą połączenia między neuronami, inne pomiędzy astrocytami lub komórkami oligodendrogleju i prawdopodobnie wzór typów koneksyn tworzących GJ zmienia się w przebiegu rozwoju OUN [5].

Ad 2. Półkanały są strukturami zbudowanymi z 6 koneksyn obejmującymi błonę komórkową. Wykazano, że poza homomerycznymi połączeniami, zbudowanymi z jednego typu koneksyny, istnieją również koneksyny heteromeryczne, zbudowane z różnych typów koneksyn, co ma miejsce np. w soczewce lub wątrobie [6]. Półkanały odgrywają rolę również w transporcie międzykomórkowym w trakcie rozwoju OUN.

Ad 3. Oczywiście interakcje z aktyną, kadheryną i kateniną – białkami związanymi z funkcjonowaniem cytoskieletu komórkowego są szczególnie istotne w transporcie komórkowym, chociaż wiemy, że koneksyny wykazują wiele funkcji, które nie są bezpośrednio z nim związane.

- Koneksyny o lokalizacji cytoplazmatycznej i jądrowej mają znaczenie w procesach hamowania wzrostu komórek nowotworowych poprzez bezpośrednią interakcję c-końcowego fragmentu Cx z innymi białkami lub poprzez ingerencję w funkcję czynników transkrypcyjnych.
- Nadmierna ekspresja koneksyn doprowadza do zahamowania powstawania czynników wzrostowych i chemotaktycznych (*Fibroblast Growth Factor Receptor 3, Epidermal Growth Factor 8, Monocyte Chemotactic Protein 1*).
- Stwierdzono interakcje z białkami tworzącymi połączenia ścisłe (*Tight-junctions*), ZO-1, okludyną, kładyną [6].
- Znane są również wzajemne oddziaływania pomiędzy koneksynami a protoonkogenami (tj. Skp-2, *AS-phase kinase-associated protein 2*, kontrolującą przyłączanie ubiwiktyny do p27, które jest niezbędne dla Cx43 do blokowania różnicowania się komórek) [6].

Wiedza na temat roli cytoszkieletu komórkowego w transporcie komórkowym jest powszechna. Nadmienmy tylko, że bierze on też udział w dostarczaniu cząsteczek Cx do błon komórkowych. Zahamowanie działania aktywności za pomocą specyficznych przeciwciał powoduje zmniejszenie transportu Cx z aparatu Golgiego do błony komórkowej i w rezultacie zmniejszenie transportu międzykomórkowego przez GJ [8]. Dostycie powszechny w naszym środowisku pierwiastek – glin – powoduje w badaniach na zwierzętach destrukcję cytoszkieletu z agregacją GFAP-pozytywnych fragmentów wokół jądra komórkowego. Destrukcja dotyczy przeważającej części fragmentów aktywności w przybłonowej części komórki uniemożliwiając transport koneksyn z aparatu Golgiego. 2-6 tygodniowa ekspozycja kultur komórkowych mózgu zarodka szczura na glin powoduje nawet 24-dniową blokadę transportu aksonalnego z upośledzonym łączeniem się komórek, co pokazały doświadczenia u takich zwierząt z neurobiotyną - substancją swobodnie przechodzącą przez GJ [9].

GJ i Cx43 występują nie tylko w OUN, ale także w erytrocytach, komórkach mięśni szkieletowych, mięśni sercowym i mięśniach gładkich oraz w komórkach nabłonka (np. Cx32 i 26 występują pomiędzy komórkami nabłonkowymi przewodu pokarmowego). GJ znajdowano też w śliniankach i trzustce, gdzie GJ zbudowane z Cx36 i 43 regulują produkcję insuliny wysp trzustkowych [1,10].

GJ a czynność elektryczna mózgu

Aktywność elektryczna neuronów OUN tworząca oscylacje w zakresie częstotliwości gamma w EEG staje się prawdopodobnie punktem wyjścia dla tworzenia procesów świadomości [11]. W badaniach oceniających mechanizm synchronizacji oscylacji komórek nerwowych postulowano kluczową rolę GJ. Swobodne dwukierunkowe rozprzestrzenianie się impulsów elektrycznych pomiędzy dendrytami komórek nerwowych, dendrytami a aksonami oraz interneuronami hamującymi daje duże możliwości tworzenia sieci, w której sygnały przekazywane są bez problemu i dlatego istnieje możliwość synchronizacji pomiędzy nawet odległymi rejonami mózgu z zerowym opóźnieniem sygnału dając podstawę do powstania świadomego wrażenia. Te krótkie chwile odbierane przez nas jako świadome – tzw. „okienka” świadomości - powstają w różnych, często odległych miejscach mózgu w zależ-

ności od tego, w który rejon mózgu zostaje przesunięta synchronizacja oscylacji. Świadome wrażenie wzrokowe jest bowiem tworzone przy współdziałaniu płót potylicznych, słuchowe wymagają ścisłej współpracy z płotami skroniowymi, itp. Przesunięcie tych synchronizacji jest zależne od działania uwagi, czynników emocjonalnych itp. W tym samym czasie dociera do nas wiele bodźców, ale przecież nie każdy ulega uświadomieniu. Te „okienka” świadomości trwają około 25 msek (odpowiadają częstotliwości 40 Hz) i obejmują w danym czasie jednoczesną aktywność około 100 mld komórek. Aktualnie aktywna grupa neuronów tworzących ten aktywny konglomerat komórkowy określany jest mianem *Neural Correlate of Consciousness* – NCC. Oczywiście nie obejmuje on wszystkich możliwych rejonów mózgu, ponieważ zjawiska świadome nie powstają np. w rejonach mózgu odpowiedzialnych za reakcje autonomiczne.

Przyjrzyjmy się w takim razie na nowo anestetykom. Patrząc przez perspektywę synchronizacji aktywności neuronalnej działanie anestetyków można rozważać w kontekście hamowania oscylacji częstotliwości gamma uniemożliwiającej tym samym powstawanie wrażenia świadomego [12]. A oto przykłady z badań doświadczalnych. Okazuje się, że niektóre anestetyki mogą w stężeniach anestetycznych hamować aktywność elektryczną neuronów hipokampa. Co ciekawe efekt ten został odnotowany w stosunku do propofolu i tiopentalu, natomiast nie w stosunku do halotanu, który nawet w stężeniach odpowiadających dwukrotnej wartości MAC nie miał żadnego wpływu na funkcjonowanie elektryczne neuronów [13]. Co ciekawe, podobne wyniki uzyskano w odniesieniu do komórek linii P19, które są komórkami progenitorowymi, różnicującymi się do neuronów, oligodendrocytów i astrocytów [14]. W innym badaniu z zastosowaniem propofolu odkryto, że zablokowanie GJ propofolem doprowadza w rezultacie do jednoczesnego zahamowania funkcji transportera kwasu glutaminowego GLT-1 zmniejszając tym samym wychwyty zwrotny tego szkodliwego neurotransmitera, który jest wypłukiwany ze środowiska i dalej metabolizowany, przyczyniając się do neuroprotekcji OUN [15].

Badania nad wpływem anestetyków były prowadzone również w odniesieniu do sewofluranu. Stosując bloker połączeń GJ – karbenoksolon po dokomorowym i dokanałowym podaniu uzyskano zmniejszenie MAC dla sewofluranu po podaniu dokomorowym, bez widocznego efektu względem MAC po dokana-

łowym podaniu karbenoksolonu. Sugeruje to rolę GJ w obrębie mózgowia jako docelowego narządu dla sewofluranu oraz prawdopodobny brak roli GJ w hamowaniu czynności ruchowych, które jest powodowane swoistym działaniem anestetyku na rdzeń kręgowy. Z drugiej strony sama podaż tego blokeru GJ powoduje zmniejszenie spontanicznych oscylacji neuronów *locus coreuleus* mózgu szczura, co jest wynikiem potwierdzającym rolę GJ w kreowaniu aktywności OUN [16]. Innym źródłem spontanicznych oscylacji jest rejon CA3c hipokampa. Zastosowanie blokerów GJ w hodowlach komórkowych pochodzących z tego rejonu również powodowało zahamowanie rozprzestrzenianie się czynności elektrycznej [17].

Oprócz efektów fizjologicznych GJ odgrywają niezwykle ważną rolę w rozprzestrzenianiu się impulsacji elektrycznej w przebiegu padaczki. W niezwykle interesującym badaniu, które przeprowadzili Gigout i wsp. na neuronach ludzkich pobranych w trakcie zabiegu neurochirurgicznego, który miał na celu leczenie opornych postaci padaczki, badacze podawali blokery GJ (m.in. karbenoksolon i oktanol), które hamowały propagację pobudzeń w skrawkach neuronalnych [18]. Daje to doświadczalną podstawę do tworzenia i wprowadzania kolejnych generacji leków przeciwpadaczkowych. Jak widać z przytoczonych przykładów synapsy elektryczne połączenia stanowią niezwykle strukturę w OUN o wyjątkowej roli w powstawaniu procesów fizjologicznych i patologicznych.

Udział GJ w rozwoju OUN

W przebiegu rozwoju OUN zarówno półkanały zbudowane z koneksyn, jak i pełne koneksyny tworzące GJ odgrywają niezwykle rolę. Półkanały są odpowiedzialne za powstawanie strumieni fal wapniowych koordynujących cykle komórkowe we wczesnej neurogenezie prenatalnej, natomiast oba typy połączeń zbudowanych z koneksyn odgrywają fundamentalną rolę w różnicowaniu i migracji grup komórek prekursorowych w późnej fazie rozwoju OUN [19]. Udowodniono w badaniach eksperymentalnych, że u mutantów myszy, które nie wykazują ekspresji Cx40, obserwuje się zmniejszoną aktywność elektryczną ze zwiększeniem eliminacji synaps. Świadczy to o niezwyklej roli koneksyn w procesach rozwojowych OUN [20]. Oprócz roli podczas wzrostu i różnicowania się, półkanały odgrywają rolę w procesach karcynogenezy, uszkodzenia i apoptozy, chociaż wciąż jeszcze dokładny

patomechanizm nie jest jeszcze znany [6].

W przebiegu rozwoju kory nowej ssaków GJ pojawiają się w niezwykle wczesnych stadiach rozwojowych, począwszy od stadium komórek progenitorowych. Dzięki GJ tworzą się grupy komórek połączonych bezpośrednio ze sobą, kreując powstanie przedziałów informacyjnych, w których informacja jest przekazywana za pomocą jonów lub małych cząsteczek przekaźnikowych. Początkowo tworzą się cztery takie przedziały:

1. neuroblasty rejonu brzuszego, komórek wędrujących gleju,
2. komórek glejowych (astrocytów i oligodentocytów),
3. komórek piramidowych,
4. interneuronów.

Przedziały czynnościowe 1. i 3. zanikają w trakcie rozwoju, podczas gdy przedziały 2. i 4. pozostają w dojrzałej korze nowej. Połączenia komórek glejowych za pomocą GJ są ważne dla stabilizacji homeostazy jonów, wychwyty neurotransmiterów, migracji neuronów i mielinizacji aksonów. Połączenia elektryczne pomiędzy interneuronami pomagają w synchronizacji czynności elektrycznej komórek piramidowych. Rola połączeń pomiędzy neuroblastami i między komórkami piramidowymi w pierwszych dwóch tygodniach życia nie jest do końca wyjaśniona. Prawdopodobnie biorą udział w tworzeniu się czynnościowych kolumn w obrębie kory [21]. W procesach starzenia się organizmu zmniejsza się zawartość białek tworzących połączenia, nie mniej jednak komunikacja międzykomórkowa zostaje podtrzymana na względnie niezmiennym poziomie [22]. Natomiast ilość GJ pomiędzy neuronami i komórkami glejowymi zwiększa się z wiekiem [23].

O roli, jaką odgrywają koneksyny w funkcjonowaniu organizmów świadczą badania nad efektami mutacji genów dla tych białek. Mutacje w obrębie białek koneksyn 26, 32 i 43 powodują powstawanie różnych zespołów chorobowych. Kontrolowana w warunkach laboratoryjnych delecja genu dla koneksyny 43 (Cx43) u myszy powoduje powstanie śmiertelnej w skutkach anomalii serca. U ludzi mutacja genu dla Cx43 jest związana z wadami umiejscowienia narządów w symetrii lewo-prawo (heterotaxia). Mutacje w obrębie białek tworzących połączenia GJ powoduje powstanie zespołu objawów zwanego zespołem Charcot-Marie-Tooth (CMTX). W zespole CMTX dochodzi do postępującej degeneracji i demielinizacji neuronów obwodowych

skutkujących osłabieniem dystalnych grup mięśniowych kończyn oraz utratą czucia. Obrazu klinicznego dopełnia osłabienie odruchów ścięgnistych pojawiające się w drugiej dekadzie życia u mężczyzn. Nosicielki genu, jeżeli w ogóle ujawniają objawy kliniczne, prezentują zaledwie niewielkie odchylenia od normy w badaniu neurologicznym [24,25]. Badania genetyczne pozwoliły na zlokalizowanie obszaru translokacji w obrębie długiego ramienia chromosomu X (dokładnie Xq13.1), odpowiadającemu obecności dla genu koneksyny 32 [24]. Jak dotąd przytoczono piśmiennictwie przynajmniej 130 różnych typów mutacji genu dla Cx32, które powodowały neuropatię obwodową. Mutacje w rejonie 13q11-12 chromosomu 13 (*locus* koneksyny 26) są odpowiedzialne za powstawanie głuchoty [24]. W badaniach z genetycznie zmodyfikowanymi zwierzętami udowodniono również ściśle zaburzenia dotyczące eksploracji przestrzeni, jak również uwagi, uczenia się i pamięci. Przytoczone zaburzenia były skorelowane ze zwiększeniem aktywności acetylocholinesterazy (ACHE) oraz *cAMP Response Element Binding Protein* (CREB) w prądkowiu i korze gruszkowatej. CREB jest konstytutywnym czynnikiem transkrypcyjnym szeroko reprezentowanym w mózgowiu i jest uważany za czynnościowy znacznik tonicznej aktywności neuronalnej [26].

Komunikacja układu nerwowego z układem odpornościowym

Połączenia typu GJ odgrywają również rolę w funkcjonowaniu układu odpornościowego. Procesy zapalne modulują połączenia międzykomórkowe w sposób jakościowy, jak i ilościowy, pośrednicząc w szeregu istotnych procesów immunologicznych.

Koneksyny występują w wielu komórkach układu immunologicznego. Wśród nich należy wymienić:

- komórki gleju,
- leukocyty,
- neutrofile,
- komórki tuczne,
- komórki śródbłonna.

Procesy zapalne w obrębie OUN przebiegają z aktywacją astrocytów i mikrogleju. Aktywność astrocytów zostaje hamowana w przebiegu procesu zapalnego przez aktywność mikrogleju, który hamuje kanały zbudowane z Cx43. W jaki sposób? Otóż podczas aktywowania układu odpornościowego lipopolisacharydem dochodzi do aktywacji IL-1 β oraz

TNF- α , które są specyficznymi inhibitorami aktywności Cx43 [27]. W przebiegu uszkodzeń OUN dochodzi po znacznego podwyższenia poziomów endoteliny. Jest to wazoaktywny peptyd o silnym wpływie na mikrokrążenie mózgowe i funkcjonowanie neuronów. W badaniach nad astrocytami hipokampa endotelina poprzez receptory endoteliny ET-B hamuje funkcję Cx43 – głównego białka GJ w astrocytach. Wpływ endoteliny utrzymuje się nawet przez 3 dni. Podobny wpływ endoteliny uzyskano badając astrocyty rdzenia kręgowego. Jest wysoce prawdopodobne, że zależne od endoteliny hamowanie ekspresji Cx43 i, co jest z tym związane, transport międzykomórkowy przez GJ może być główną drogą, w jaki endotelina reguluje ekspresję genów w uszkodzonym OUN. Autorzy badania podkreślają potencjalnie neuroprotektoryjne właściwości tego białka [28,29].

Procesy zapalne wpływają nie tylko na czynność, ale również na ilościowe zmiany GJ. W badaniach doświadczalnych uzyskano dowody na tworzenie się nowych połączeń GJ zbudowanych z Cx43 podczas stymulacji komórek mikrogleju za pomocą peptydoglikanu gronkowca złocistego. Pozwala to na tworzenie sprawnego syncytium komórkowego lepiej funkcjonującego w warunkach stanu zapalnego OUN [30].

W badaniach dotyczących komunikacji pomiędzy komórkami układu odpornościowego odkryto mRNA kodujące białka Cx43 w komórkach CD4+ leukocytów Th0, Th1 i Th2, które komunikują się w ten sposób z makrofagami u myszy w badaniach *in vitro* [31].

Obok komórek gleju i leukocytów ważną rolę w patogenezie stanu zapalnego w OUN spełniają makrofagi. Można postużyć się pewnym uogólnieniem, że makrofagi i komórki glejowe mają dość podobną charakterystykę czynnościową. Oba typy komórek produkują cytokiny prozapalne, tj.: *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α , nadtlenek wodoru oraz kwas glutaminowy, który jest silnym czynnikiem neurodestrukcyjnym. Yawata i wsp. stymulowali makrofagi lipopolisacharydem oraz TNF- α uzyskując medium komórkowe o wysokiej neurotoksyczności. O tym, że zawierało kwas glutaminowy świadczyło zahamowanie procesu neurotoksycznego po zastosowaniu antagonistów receptorów NMDA. Sam proces produkcji glutaminianu mógł być zahamowany przez inhibitor glutaminazy, ale co ciekawe, można było zapobiegać uwalnianiu tej substancji poprzez dodanie blokera GJ – karbenoksolonu. Autorzy sugerują w podsumowaniu możliwość zastosowania substancji leczniczych hamu-

jących funkcję transportową GJ w różnych chorobach o podłożu zapalnym, demielinizacyjnym lub niedokrwiennym [32]. Z drugiej strony te same makrofagi zmniejszają zawartość Cx43 w astrocytach, co może negatywnie oddziaływać na relacje: neuron-glej (zmniejszenie rozproszenia szkodliwych mediatorów zapalnych w tkance). Okazuje się, że same makrofagi w przeciwieństwie do mikrogleju nie posiadają Cx43 i nie tylko nie tworzą homogennych syncytiów komórkowych, ale i hybrydowych połączeń z innymi typami komórek [33].

Należy wspomnieć w tym miejscu o roli procesów zapalnych w patogenezie choroby Alzheimer'a i starzeniu się OUN. Okazuje się, że powstające w procesach neurodegeneracyjnych i starzeniu się β -amyloid potencjalizuje działanie cytokin prozapalnych. Nawet jeżeli cytokiny są dodawane do hodowli komórkowych w stężeniach, które same w sobie nie powodują jakichkolwiek interakcji z Cx43, białko amyloidowe wzmacnia działanie cytokin dając efekt hamowania aktywności transportowej Cx43 [27]. Hamowanie aktywności GJ polega prawdopodobnie na zmniejszaniu całkowitej ilości tych połączeń. Tą drogą dochodzi do zmniejszenia międzykomórkowych prądów glukozy modyfikując status metaboliczny komórki [34]. Z drugiej strony depozyty białka A β wpływają na GJ nasilając międzykomórkowe prądy wapniowe w astrocytach [35]. Zaburzenia homeostazy wapnia powodują: aktywację proteaz, zaburzenia funkcjonowania kalcyneuryny, mutacje genu dla preseniliny 1, sieciowanie białka tau przez transglutaminazę oraz tworzenie rodników tlenowych [36]. Są to procesy ściśle związane z patologią. Jednocześnie, w trakcie aktywacji procesów zapalnych dochodzi do wzrostu aktywności półkanałów, które zwiększają przepuszczalność błon komórkowych astrocytów [34]. Czynniki fizyczne, jak pH również wpływają na przewodnictwo przez GJ [37].

Cx43 jest odnajdywana również w neutrofilach i komórkach tucznych [38].

Za pośrednictwem połączeń GJ leukocyty komunikują się również z komórkami śródbłonna. Ostatnio postuluje się nawet udział GJ w reakcjach immunologicznych odpowiedzialnych za tworzenie się miażdżycy oraz powstawania restenozы stentów implantowanych do naczyń wieńcowych. Prawdopodobnie ogniwem patogenetycznym jest aktywacja gładkich komórek mięśniowych, która dokonuje się na skutek parakrynną stymulacji przez cytokiny i czynniki wzrostu uwalniane przez komórki układu immunologicznego.

Do aktywacji dochodzi drogą wzajemnych interakcji ze śródbłonkiem. Jednym z dowodów na udział GJ w patomechanizmie miażdżycy jest spowolnienie przebiegu choroby u genetycznie zmodyfikowanych myszy, u których zmieniono ekspresję genów koneksyny [39].

Niedokrwienie i niedotlenienie – ważne implikacje

Warunki niedokrwienia (niedotlenienie i hipoglikemia) powodują natężenie tworzenia się nowych połączeń GJ, które ułatwiają rozprzestrzenianie się sygnałów uszkodzenia komórkowego [40]. Niezwykle ciekawe doświadczenie przeprowadzili Frantseva i wsp., którzy badali uszkodzenia komórek skrawków hipokampa w hodowli komórkowej z zastosowaniem medium pozbawionego tlenu i glukozy. Po 48 godzinach badali przeżycie neuronów, wśród których część była eksponowana na działanie karbenoksolonu. Okazało się, że zdecydowanie większy odsetek komórek nerwowych przeżyło po zastosowaniu blokera GJ, co potwierdza znaczenie tych połączeń w rozprzestrzenianiu się mediatorów uszkodzeń komórkowych w obrębie neuronów. W bardziej szczegółowych badaniach, za propagację sygnału odpowiedzialne były zarówno koneksyny rozmieszczone w neuronach (Cx32 i 26), jak i koneksyny znajdujące się przeważnie w komórkach glejowych (Cx43) [41]. Blanc i wsp. przeprowadzili doświadczenie, w którym w mieszanej hodowli komórkowej neuronów i astrocytów indukowali warunki stresu tlenowego. Podając substancję rozprzegającą połączenia komórkowe (niszczenie struktury koneksolonu) badali neurotoksyczność rodników tlenowych. Okazało się, że niszcząc GJ w astrocytach doprowadzono do zwiększonej martwicy neuronów. Potwierdza to protekcyjne działanie astrocytów względem neuronów, ponieważ obecność astrocytalnego syncytium komórkowego rozprasza mediatory szoku tlenowego w tkance ograniczając ich wpływ na neurony [42].

Śmierć komórek w przebiegu niedotlenienia i niedokrwienia może następować w dwóch mechanizmach: nekrozy i apoptozy. W procesach rozwoju OUN zmienia się rodzaj eliminacji komórek. Początkowo większość komórek umiera w mechanizmie apoptozy, której wyznacznikiem jest aktywność kaspazy-3. Dopiero w późniejszych stadiach dominuje nekroza. Sygnały do indukcji procesów śmierci komórek rozprzestrzeniają się na sąsiadujące komórki drogą GJ,

a są hamowane przez blokery tych połączeń [40,43,44]. Prawdopodobnie ogromną rolę w tych procesach spełniają pólkanały, które uwalniają do środowiska zewnętrznego mediatory indukujące procesy apoptozy i nekrozy, jak również pewne substancje o charakterze protekcyjnym, które na drodze auto i parakrynej regulują przeżycie i funkcjonowanie komórek [45].

Komunikacja międzykomórkowa w karcynogenezie

Zupełnie niezwykła rola przypada GJ w procesach karcynogenezy. Obecność połączeń między komórkami modyfikuje przebieg procesu nowotworowego. Już od lat 60-tych na podstawie wyników pionierskich badań Loewenstein'a wiadomo, że komórki nowotworowe nie komunikują się między sobą oraz z otaczającymi komórkami nienowotworowymi. Do tej pory przeprowadzono bardzo wiele badań oceniających wzrost wrażliwości na proces nowotworowy u zwierząt typu „knockout” pozbawionych ekspresji Cx43 i Cx32. Odmienne zachowuje się Cx26, której ekspresja w tkankach rośnie w okresie poprzedzającym pojawienie się tkanki nowotworowej [46]. W badaniach genetycznych, w których drogą wektorów wprowadzono do komórek glejaka wielopostaciowego geny kodujące ekspresję Cx43, obecność koneksyny diametralnie zmienia wzór inwazyjności nowotworu. Niezmienione komórki glejaka wielopostaciowego rozprzestrzeniają się głównie wzdłuż naczyń krwionośnych, podczas gdy komórki glejaka wykazujące ekspresję Cx43 rozprzestrzeniały się 30-krotnie silniej przez parenchymę mózgu, co tłumaczone jest wzrostem tworzenia połączeń z astrocytami. Zwiększona dostępność glukozy i ATP, które swobodnie są transportowane pomiędzy komórkami wydaje się odgrywać kluczową rolę w patomechanizmie inwazyjności. Badania z klonami zawierającymi Cx32, która nie występuje w astrocytach wykazują standardowy model rozprzestrzeniania się glejaka. Nawet jeżeli koneksyny nie tworzą pełnych kanałów, pełnią rolę cząsteczek adhezyjnych zwiększających agregację komórek nowotworowych poprzez wiązania hydrofobowe pomiędzy koneksynami [47].

Podsumowanie

Nauki podstawowe dostarczają nam coraz więcej informacji dotyczących budowy i funkcjonowania OUN. O ile zainteresowanie anestezjologów skupia się głównie na chemicznej transmisji synaptycznej, o tyle przewodnictwo elektryczne zyskuje coraz większe zainteresowanie w kontekście nowszych teorii działania anestetyków opierających się na osiągnięciach badań molekularnych. Ilość badań doświadczalnych próbujących naświetlić skomplikowaną funkcję GJ w OUN wskazuje na rozległość problematyki.

Należy również wspomnieć, że odkrycie paneksyn modyfikuje nasze dotychczasowe wyobrażenia na temat GJ, ponieważ niezależnie od koneksyn mogą tworzyć połączenia międzykomórkowe [19]. Badania nad paneksynami trwają i jak dotąd postuluje się ich rolę w tworzeniu pojedynczych kanałów przezblonowych [48].

Udział GJ w tworzeniu się zjawiska świadomości, działaniu anestetyków lub ich rola w procesach rozwojowych, mechanizmach uszkodzenia neuronalnego, albo karcynogenezy implikuje dalsze obszary zainteresowań dla anestezjologów i osób zajmujących się neuronauką. Badania laboratoryjne wskazują na nowe możliwości wykorzystania zdobytej dotychczasowo wiedzy do prób tworzenia nowych generacji terapeutyków, które można będzie wykorzystać wkrótce w leczeniu patologii OUN, z którą tak często mamy do czynienia.

Adres do korespondencji:

Włodzimierz Płotek

Zakład Dydaktyki Anestezjologii

i Intensywnej Terapii

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu

ul. Św. Marii Magdaleny 14, Poznań

E-mail: plotekw@poczta.onet.pl

Piśmiennictwo

1. Langstoft A: Neurobiologia. Warszawa: PWN; 2002.
2. Bennet MVL, Barrio LC, Bargiello TA i wsp.: Gap junction: new tool, new answers, new questions. *Neuron* 1991; 6: 305-20.
3. Rash JE, Dillman RK, Bilhartz BL i wsp.: Mixed synapses discovered and mapped throughout mammalian spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4235-9.
4. Willecke K, Eiberger J, Degen J i wsp.: *Biol Chem* 2002; 383: 725-37.
5. Söhl G, Maxeiner S, Willecke K: Expression and function of neuronal gap junctions. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 191-200.
6. Jiang JX, Gu S: Gapjunction and hemichannel -independent actions of connexins. *Biocim Biophys Acta* 2005; 1711: 208-14.
7. Fukuda T: Structural organization of the gap junction network in the cerebral cortex. *Neuroscientist* 2007; 13: 199-207.
8. Theiss C, Meller K: Microinjected anti-actin antibodies decrease gap junctional intercellular communication in cultured astrocytes. *Experimental Cell Res* 2002; 281: 197-204.
9. Theiss C, Meller K: Aluminium impairs gap junctional intercellular communication between astroglial cells in vitro. *Cell Tissue Res* 2002; 310: 143-54.
10. Talhouk RS, Zeinieh MP, Mikati MA: Gap junctional intercellular communication in hypoxia-ischemia-induced neuronal injury. *ProgressNeurobiol* 2008; 84: 57-76.
11. Kruszyński Z: Znieczulenie ogólne. Zatorowość płucna. Warszawa: PZWL; 2007.
12. Hameroff SR: The entwined mysteries of anesthesia and consciousness. Is there a common underlying mechanism? *Anesthesiology* 2006; 105: 400-12.
13. Wentladt K, SamoiloVA M, Carlen PL i wsp.: General anesthetics inhibit gap junction communication in cultured organotypic hippocampal slices. *Anesth Analg* 2006; 102: 1692-8.
14. Wentlandt K, Carlen PL, Kushnir M i wps.: General anesthetics attenuate gap junction coupling in P19 cell line. *J Neuroscience Res* 2005; 81(5): 746-52.
15. Figiel M, Allritz C, Lehmann C i wsp.: Gap junctional control of glial glutamate transporter expression. *Mol Cell Neurosci* 2007; 35: 130-7.
16. Masaki E, Kawamura M, Kato F: Attenuation of gap-junction-mediated signaling facilitated anaesthetic effect of sevoflurane In the central nervous system of rats. *Anesth Analg* 2004; 98: 647-52.
17. Konopacki J, Kowalczyk T, Gołbiewski H: Electrical coupling underlies theta oscillations recorded in hippocampal formation slices. *Brain Res* 2004; 1019: 270-4.
18. Gigout S, Louvel J, Kawasaki H i wsp.: Effects of gap junction blockers on human neocortical synchronization. *Neurobiology of Disease* 2006; 22: 496-508.
19. Bruzzzone R, Dermietzel R: Structure and function of gap junctions in the developing brain. *Cell Tissue Res* 2006; 326: 239-48.
20. Personius KE, Chang Q, Mentis GZ i wsp.: Reduced gap junctional coupling leads to uncorrelated motor neuron firing and precocious neuromuscular synapse elimination. *PNAS* 2007; 104 (28): 11808-13.
21. Sutor B, Hagerty T: Involvement of gap junctions in the development of the neocortex. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1719: 59-68.
22. Cotrina ML, Gao Q, Lin JHC, Nedergaard M: Expression and function of astrocytic gap junctions in aging brain. *Brain Res* 2001; 901: 55-61.
23. Martinell C, Sartori Pledda M, Pannese E: Increase in number of the gap junctions between satellite neuroglial cells during lifetime:an ultrastructural study in rabbit spinal ganglia from youth to extremely advanced age. *Brain Res Bull* 2005; 67: 19-23.
24. Gilbert SF: *Developmental Biology*. Wyd VIII. Sinauer Associates; 2006.
25. Marques W Jr, Sweeney MG, Wood NW i wsp.: Central nervous system involvement in a novel connexin 32 mutation affecting identical twins. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 803-804.
26. Dere E, Zheng-Fischhöfer Q, Viggiano D i wsp.: Connexin 31.1 deficiency in the mouse impairs object memory and modulates open-field exploration, acetylcholine esterase levels in the striatum, and cAMP response element binding protein levels in the striatum and piriform cortex. *Neuroscience* 2008; 153: 396-405.
27. Meme W, Calvo CF, Froger N: Proinflammatory cytokines released from microglia inhibit gap junctions in astrocytes: potentiation by β -amyloid. *FASEB* 2006; doi:10.1096/05-4297fje.
28. Bloomstrand F, Venance L, Siren AL i wsp.: Endothelins regulate gap junctions in rat hippocampal slices. *Eur J Neurosci* 2004; 19(4): 1005-15.
29. Rozyczka J, Figiel M, Engele J: Chronic endothelin exposure inhibits connexin43 expression In cultured cortical astroglia. *J Neuroscience Res* 2004; 79(3): 303-9.
30. Garg S, Syed M, Kielian T: Staphylococcus aureus-derived peptidoglycan induces Cx43 expression and functional gap junction intercellular communication in microglia. *J Neurochem* 2005; 95: 475-83.
31. Bermudez-Fajardo A, Ylihäsälä M, Evans WH i wsp.: CD4+ T lymphocyte subsets express connexin 43 and establish gap junction channel communication with macrophages in vitro. *J Leukocyte Biology* 2007; 82: 608-12.

32. Yawat I, Takeuchi H, Doi Y i wsp.: Macrophage-induced neurotoxicity is mediated by glutamate and attenuated by glutaminase inhibitors and gap junction inhibitors. *Life Sciences* 2008; 82: 1111-16.
33. Rouach N, Calvo CF, Glowinski J i wsp.: Brain macrophages inhibit gap junctional communication and downregulate connexin 43 expression in cultured astrocytes. *Eur J Neuroscience* 2002; 15: 403-7.
34. Retamal MA, Froger N, Palacios-Prado N i wsp.: C43 hemichannels and gap junctions in astrocytes are regulated oppositely by proinflammatory cytokines released from activated microglia. *J Neuroscience* 2007; 12: 13781-92.
35. Haughey NJ, Mattson MP: Alzheimer's amyloid β -peptide enhances at-/gap junction-mediated calcium-wave propagation in astrocytes. *Neuromolecular Med* 2003; 3(3): 173-80.
36. Dobryszczyka W, Gąsiorowski K, Leszek J: Demencje wieku podeszłego. Wrocław: Continuo; 2004.
37. Spray DC, White RL, Campos de Carvalho A i wsp.: Gating of gap junction channels. *Biophys J* 1984; 45: 219-30.
38. Oviedo-orta E, Evans WH: Gap junctions and connexin-mediated communication in the immune system. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1662(1-2): 102-12.
39. Chadjichristos C, Derouette J, Kwak B: Connexins in atherosclerosis. *Adv Cardiol* 2006; 42: 255-67.
40. de Pina-Benabou MH, Szostak V, Kyrozis A i wsp.: Blockade of gap junctions in vivo provides neuroprotection after perinatal global ischemia. *Stroke* 2005; 36: 2232-7.
41. Frantseva MV, Kokarotseva L, Velazquez JLP: Ischemia-induced brain damage depends on specific gap-junctional coupling. *J Cerebral Flow Metab* 2002; 22(4):453-62.
42. Blanc EM, Bruce-Keller AJ, Mattson MP: Astrocytic gap junctional decreases neuronal vulnerability to oxidative stress-induced disruption of Ca homeostasis and cell death. *J Neurochem* 1998; 70: 958-70.
43. Nodin C, Nilsson M, Blomstrand F: Gap junction blockage limits intercellular spreading of astrocytic apoptosis induced by metabolic depression. *J Neurochem* 2005; 94: 1111-23.
44. Liu CL, Siesj BK, Hu BR: Pathogenesis of hippocampal neuronal death after hypoxia-ischemia changes during brain development. *Neuroscience* 2004; 127: 113-23.
45. Contreras JE, Sanchez HA, Veliz LP i wsp.: Role of connexin-based gap junction channels and hemichannels in ischemia-induced cell death in nervous tissue. *Brain Res Rev* 2004; 47: 290-303.
46. Dagli MLZ, Hernandez-Blazquez FJ: Roles of gap junctions and connexins in non-neoplastic pathological process in which cell proliferation is involved. *J Membrane Biol* 2007; 218: 79-91.
47. Lin J H-C, Takano T, Cotrina ML i wsp.: Connexin 43 enhances the adhesivity and mediates the invasion of malignant glioma cells. *J Neuroscience* 2002; 22(11): 4302-11.
48. Penuela S, Bhalla R, Xiang-Qun G, Cowan KN i wsp.: Pannexin1 and pannexin2 are glycoproteins that exhibit many distinct characteristics from the connexin family of gap junction proteins. *J Cell Sci* 2007; 120: 3772-83.