**Streszczenie pracy.**

**Immunohistochemiczna ocena hipokampalnych interneuronów GABAergicznych w eksperymentalnych modelach depresji.**

Niniejsza praca miała za cel wyjaśnienie roli układu GABA-ergicznego w patofizjologii wzbudzonych stanów depresji w eksperymentalnych zwierzęcych modelach: chronicznym nieprzewidywalnym stresie CUS (wykonany w Katedrze Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej UM w Lublinie), chronicznym umiarkowanym stresie CMS, oraz bulbektomii opuszek węchowych OB (wykonane w Zakładzie Neurobiologii IF PAN w Krakowie). Ponadto zakładano weryfikację tezy o odmiennym wzorcu wrażliwości i funkcjonowania układu GABA-ergicznego w dorsalnej i wentralnej części formacji hipokampa, oraz badanie wpływu leku antydepresyjnego, amitryptyliny, na zmiany zaistniałe w obrębie układu GABA-ergicznego w następstwie procedur eksperymentalnych. Pracę realizowano przy użyciu metod histologicznych, histochemicznych – wykorzystując techniki Nissla, PAS, i trójchromatyczne Massona-Goldnera, oraz immunohistochemicznych wykorzystując serię przeciwciał, m.in.: anty-kalbindyna, -kalretynina, -parwalbumina, -GFAP, -Bax; -Bcl2, oraz anty-Ki67 (w technice LAB-SA (Labeled Streptavidin-Biotin). Seryjne skrawki tkankowe, dla OB osobno z trzech części hipokampa: dorsalnego (z bieguna septalnego), pośredniego, i wentralnego (z bieguna temporalnego), wybarwione zostały wymienionymi technikami. W analizie gęstości numerycznej interneuronów tkanki zostały poddane pomiarom morfometrycznym, a w analizie nasilenia immunoreaktywności – pomiarom densytometrycznym gęstości optycznej produktu reakcji (oprogramowanie CellSens Dimension firmy Olympus). Pracę wzbogacono o analizę morfologiczną i histologiczną wykorzystując możliwości stwarzane przez reakcje immunohistochemiczne, zastosowano także dodatkowe metody histologiczne. To ogółem oznacza, że dla każdego zwierzęcia analizowano co najmniej 50 skrawków tkankowych. W modelach CUS i CMS zebrane wyniki wykazały redukcję gęstości numerycznej głównych neuronów ziarnistych w zakręcie zębatym hipokampów zwierząt poddanych modelowanej depresji za pomocą chronicznego nieprzewidywalnego i chronicznego łagodnego stresu. W obszarach CA3-1 stabilna populacja komórek kalbindynowych, która przetrwała warunki modelowego stresu, wykazała wzrastającą gęstość optyczną produktu reakcji w perikarionach, co może korelować z cytoprotekcyjnym działaniem kalbindyny. Wykonanie tej części pracy pozwoliło zweryfikować pierwotne założenia metodologii badań, tak aby w dalszej ich części uniknąć

niepowodzeń proceduralnych i merytorycznych. Idea bulbektomii jako modelu depresji opiera się na utracie zmysłu węchu i na tym tle rozwoju behawioru zwierząt charakterystycznego dla depresji. Analiza morfologiczna i morfometryczna tkanek hipokampów zwierząt po usunięciu opuszek węchowych potwierdziła, że – co współcześnie coraz częściej jest podkreślane w literaturze przedmiotu – następcze powszechne, lokalne zmiany degeneracyjne tkanki, które charakterystyczne są dla chorób neurodegeneracyjnych w ogólności, nie zaś tylko do depresji. Degeneracja neuronów w tkance hipokampa miała, jak powiedziano, charakter lokalny. Najsilniejsze zmiany obserwowano w najbardziej dorsalnych i najbardziej wentralnych częściach szczurzego hipokampa. Lokalność i specyficzność zmian degeneracyjnych ujawniała się też w osi transwersalnej hipokampa, np. w dystalnym CA1 dominowały zjawiska apoptozy/atrofii neuronów, a w CA3 dominowały neurofibrylarne zmiany degeneracyjne oraz zmiany obejmujące zachwianie równowagi osmoregulacyjnej i pęcznienie neuronów. Miejsce degeneracji, biorąc pod uwagę rozmaitość funkcji kognitywnych hipokampa, ma następnie wpływ na rodzaj zaburzeń behawioru. Stwierdzono też bardzo szeroki zakres indywidualnych reakcji zwierząt na procedury eksperymentu. Również w przypadku układu GABAergicznego *per se* dla rzetelnej analizy porównawczej najistotniejsze okazało się porównywanie tkanek według koordynantów względem Bregmy aby uniknąć ryzyka niepełnych lub fałszywych wniosków. Interneurony z ekspresją białek wiążących wapń zdają się rzeczywiście podlegać ich cytoprotekcyjnemu działaniu i zostają częściowo zachowane nawet w miejscach degeneracji neuronów głównych, ale – uwzględniając ich lokalne działanie w obwodach nerwowych – łatwo wnioskować o utracie ich funkcjonalnych właściwości w zdegenerowanej tkance. W pracy analizowano interneurony z ekspresją trzech rodzajów białek wiążących wapń, kalbindyny, kalretyniny, i parwalbuminy. Choć te populacje komórek częściowo się na siebie nakładają, i wykazują częściową kolokalizację ekspresji białek wiążących, stwierdzono wyraźnie inny model reakcji neuronów na procedury eksperymentów, w żadnym przypadku jednak warunki modelowania depresji nie doprowadziły do znacznej utraty badanych populacji interneuronów, jeśli nie towarzyszyły temu lokalne zjawiska degeneracji neuronów w ogólności. Stwierdzony odmienny model reakcji interneuronów na procedury doświadczalne dotyczył raczej zmiany ich gęstości numerycznej na skutek zastosowanego leku. Amitryptylina wywołuje najprawdopodobniej modulację ekspresji białek wiążących wapń w neuronach. Zwiększona immunoreaktywność perineuronalna w warstwie komórek głównych zdaje się potwierdzać unikalne neurotroficzne właściwości amitryptyliny.