

**Ewa Niedzielska-Andres**

**BADANIA MARKERÓW AKTYWNOŚCI UKŁADU GLUTAMINIANERGICZNEGO  
W PRZEDKLINICZNEJ ANALIZIE PODATNOŚCI NA UZALEŻNIENIA OD  
SUBSTANCJI PSYCHOSTYMULUJĄCYCH.**

**STRESZCZENIE**

Uzależnienie od substancji psychoaktywnych, w tym od kokainy, jest przewlekłą chorobą ośrodkowego układu nerwowego. Ilość osób sięgających po kokainę czy inne środki psychoaktywne w Europie wzrasta (European Drug Report 2017) i stanowi istotny problem społeczno-zdrowotny także w Polsce. Do rozwoju uzależnienia od kokainy dochodzi szybko, jednakże badania wykazują, że jedynie co piąta osoba rozpoczynająca nadużywanie kokainy uzależnia się. Taka osoba reprezentuje tzw. fenotyp podatny na rozwój uzależnienia. Podłoże neurobiologiczne owej podatności na rozwój uzależnienia od kokainy nie zostało dotąd poznane. O ile, początkowe efekty działania kokainy (uczucie przyjemności, euforii) zależą w dużej mierze od aktywacji układu dopaminowego, to liczne badania dowodzą, że za rozwój uzależnienia z zachowaniem poszukiwawczym i nawrotowością odpowiadają adaptacje w obrębie układu glutaminianergicznego w mózgu. Wydaje się zatem, że zmiany w obrębie układu glutaminianergicznego pod wpływem kokainy mogą przyczyniać się do rozwoju uzależnienia u osób podatnych, podczas gdy u osób opornych takie zmiany w obrębie układu glutaminianergicznego nie występują mimo podawania kokainy. Ponadto, badania przedkliniczne sugerują, że leki przywracające homeostazę układu glutaminianergicznego mogą hamować nawrót zachowań poszukiwawczych zwierząt wcześniej uzależnionych od kokainy.

Przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej było wyjaśnienie roli wybranych elementów układu glutaminianergicznego w podatności na rozwój uzależnienia od kokainy. Za pomocą modelu warunkowanej preferencji miejsca indukowanej kokainą (CPP) dokonano podziału zwierząt na te wykazujące fenotyp podatny i te wykazujące fenotyp oporny na nagradzające działanie kokainy. W mózgach tak wygenerowanych zwierząt analizie zostały poddane wybrane, kluczowe biomarkery aktywności układu glutaminianergicznego tj. transportery GLT-1, xCT oraz receptory mGluR1, mGluR5, mGluR2/3. Zmiany ich ekspresji były badane na poziomie białka w strukturach kluczowych dla rozwoju uzależnienia: jądrze półęzającym

przegrody (NAc), korze przedczołowej (PFC), hipokampie (HIP) oraz prążkowi grzbietowym (DSTR). Ponadto, celem wyjaśnienia, czy do zmian ekspresji wybranych biomarkerów dochodzi w mechanizmie transkrypcyjnym dokonano pomiarów poziomu odpowiednich mRNA. Oceniono także zmiany ekspresji czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B i Nrf2 zaangażowanych w regulację ekspresji odpowiednio GLT-1 oraz xCT na poziomie białka we frakcji jądrowej oraz na poziomie mRNA. Wszystkie analizy przeprowadzono bezpośrednio po zakończeniu testu CPP oraz po nawrocie zachowań poszukiwawczych indukowanym kontekstem po 7. dniach odstawienia w klatce bytowej celem oceny trwałości zaobserwowanych zmian. W dalszej części analizowano zdolność ceftriaksonu do hamowania nawrotu wywołanego kontekstem u zwierząt wykazujących preferencję miejsca indukowaną kokainą z uwzględnieniem zmian jakie podawanie tego leku wywołuje w obrębie wybranych elementów układu glutaminianergicznego. Do badań wybrano ten antybiotyk  $\beta$ -laktamowy, z uwagi na jego zdolność do przenikania do ośrodkowego układu nerwowego oraz do podnoszenia poziomu/aktywności transportera dla glutaminianu GLT-1.

W niniejszej pracy wykazano istnienie różnic na poziomie behawioralnym w odpowiedzi na podawanie kokainy wśród zwierząt laboratoryjnych ujawniające się w postaci fenotypu podatnego i fenotypu opornego na rozwój uzależnienia od kokainy. Każdemu rodzajowi fenotypu towarzyszyły charakterystyczne zmiany molekularne w obrębie badanych białek w odpowiedniej fazie testu behawioralnego. W grupie zwierząt podatnych odnotowano m.in. spadek ekspresji xCT w HIP bezpośrednio po zakończeniu CPP, spadek poziomu mGluR2/3 w PFC bezpośrednio po zakończeniu CPP oraz po nawrocie indukowanym środowiskiem po 7. dniach odstawienia wielokrotnie podawanej kokainy w modelu CPP, a także spadek ekspresji mGluR5 w NAc po nawrocie indukowanym środowiskiem po 7. dniach odstawienia wielokrotnie podawanej kokainy w modelu CPP. W grupie zwierząt o fenotypie opornym zaobserwowano spadek mGluR1 i 5 w DSTR oraz wzrost GLT-1 w NAc bezpośrednio po zakończeniu CPP. Wyniki analizy mRNA dla powyższych biomarkerów oraz czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B i Nrf2 w zależności od przypadku sugerują bądź też wykluczają zaangażowanie mechanizmów transkrypcyjnych w obserwowane zmiany na poziomie białka.

Ceftriakson zmniejszył indukowany środowiskiem nawrót do warunkowanej preferencji miejsca wywołanej kokainą, a efekt ten był związany z zapobieganiem spadkowi ekspresji GLT-1 w NAc przez ceftriakson. W ten sposób lek ten przyczynił się prawdopodobnie do

normalizacji sygnalizacji glutaminianergiczej w tej strukturze zaburzonej przez kokainę i jej odstawienie.

Ponadto, po raz pierwszy wykazano, że wielokrotne podania ceftriaksonu prowadziły do wielokierunkowych zmian w obrębie ekspresji wybranych markerów układu glutaminianergicznego, w tym w szczególności do wzrostu ekspresji: mGluR5 w HIP i NAc, xCT w DSTR czy mGluR1 i GLT-1 w HIP oraz do zmniejszenia ekspresji mGluR5, mGluR2/3, mGluR1 w PFC.

Wyniki powyższych badań przyczyniły się do zgłębienia mechanizmów zaangażowanych w powstawanie podatności na rozwój uzależnienia od kokainy. Mamy nadzieję, że wskażą one nowe kierunki badań nad patogenezą uzależnienia od kokainy z uwzględnieniem zróżnicowanej wrażliwości na jego rozwój oraz że przyczynią się do rozwoju potencjalnych farmakoterapii uzależnień. Wydaje się to niezwykle istotne z uwagi na fakt, iż obecnie dostępne metody terapii uzależnienia od substancji psychoaktywnych nie spełniają zarówno oczekiwań pacjentów jak i klinicystów.