

Autoreferat

1. Imię i nazwisko.

Małgorzata Frankowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 2008, Maj Uzyskanie tytułu doktora nauk medycznych
specjalność: biologia medyczna
Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk, Kraków
Opiekun naukowy: Prof. Małgorzata Filip
Tytuł pracy: *Rola receptorów GABA_B w uzależnieniu kokainowym u szczurów – aspekty behawioralne i neurochemiczne*
- 2003-2007 Studia doktoranckie
Pracownia Farmakologii Uzależnień, Zakład Farmakologii
Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk, Kraków
- 2002, Czerwiec Uzyskanie tytułu magistra biologii
Zakład Immunobiologii Ewolucyjnej, Instytut Zoologii
Uniwersytet Jagielloński, Kraków
Opiekun naukowy: Prof. Barbara Płytycz
Tytuł pracy: *Zmiany behawioralne podczas eksperymentalnego odczynu zapalnego – wpływ na aktywność i temperaturę ciała u myszy*
- 1997–2002 Studia wyższe
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
Specjalizacja: Biologia (studia akredytowane w systemie europejskim - ECTS)

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- 2016 – obecnie Adiunkt
Zakład Farmakologii Uzależnień
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk, Kraków
- 2012 – 2016 Adiunkt
Pracownia Farmakologii Uzależnień, Zakład Farmakologii
Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk, Kraków
- 2011 – 2012 Asystent
Pracownia Farmakologii Uzależnień, Zakład Farmakologii

	Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Kraków
2009 – 2011	Staż naukowy po uzyskaniu stopnia doktora (post doc) Division of Cellular and Molecular Neuroscience, Department of Neuroscience Instytut Karolinska, Sztokholm, Szwecja
2008 – 2009	Asystent Pracownia Farmakologii Uzależnień, Zakład Farmakologii Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Kraków
2003 – 2008	Doktorant Pracownia Farmakologii Uzależnień, Zakład Farmakologii Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Kraków
2003	Pracownik inżynieryjno-techniczny Zakład Farmakologii, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Kraków

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

A. Tytuł osiągnięcia naukowego.

Wpływ wymuszonej abstynencji na nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy lub MDMA – przedkliniczne analizy neurochemiczne.

B. Spis publikacji wchodzących w skład osiągnięcia (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy).

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem 6 prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach, znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). Przy publikacjach podane zostały współczynniki wpływu czasopisma w roku publikacji oraz punkty KBN/MNiSW.

Cykl prac oryginalnych:

1. **Frankowska M***, Marcellino D, Adamczyk P, Filip M, Fuxe K. Effects of cocaine self-administration and extinction on D2 -like and A2A receptor recognition and D2 -like/Gi protein coupling in rat striatum. *Addict Biol.* 2013;18(3):455-66.
współczynnik wpływu: 5,929; KBN/MNiSW: 45
2. **Frankowska M***, Miszkiel J, Pomierny-Chamioło L, Pomierny B, Giannotti G, Suder A, Filip M. Alternation in dopamine D2-like and metabotropic glutamate type 5 receptor density caused by differing housing conditions during abstinence from cocaine self-administration in rats. *J Psychopharmacol.* 2019;33(3):372-382.

współczynnik wpływu: 3,121; KBN/MNiSW: 140

3. **Frankowska M***, Miszkiel J, Pomierny-Chamiolo L, Pomierny B, Borelli AC, Suder A, Filip M. Extinction training following cocaine or MDMA self-administration produces discrete changes in D2-like and mGlu5 receptor density in the rat brain. *Pharmacol Rep.* 2019;71(5):870-878.
współczynnik wpływu: 2,754; KBN/MNiSW=70
4. Gawlińska K, Jastrzębska J, Gamberini S, Gawliński D, Pieniążek R, Suder A, Wydra K, **Frankowska M***. The impact of GABAB receptors and their pharmacological stimulation on cocaine reinforcement and drug-seeking behaviors in a rat model of depression. *Eur J Pharmacol.* 2020;883:173324.
współczynnik wpływu: 3,263; KBN/MNiSW=100
5. Gawlińska K, **Frankowska M***, Gawliński D, Piechota M, Korostyński M, Filip M. Cocaine Administration and Its Abstinence Conditions Modulate Neuroglia. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):7970.
współczynnik wpływu: 4,556; KBN/MNiSW=100
6. **Frankowska M***, Miszkiel J, Pomierny-Chamiolo J, Pomierny B, Borelli AC, Suder A, Filip M. The impact of 3,4-methylendioxyamphetamine abstinence on seeking behavior and the expression of the D₂-like and mGlu₅ receptors in the rat brain using saturation binding analyses. *J Physiol Pharm* 2020;71(4):537-546.
współczynnik wpływu: 2,644; KBN/MNiSW=70

*autor korespondencyjny

Zgodnie z analizą biometryczną łączny współczynnik wpływu cyklu publikacji wynosi **22,267**, a odpowiadająca mu punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego to **525** punkty.

C. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

C1. Uzależnienie

Uzależnienie definiuje się jako przewlekłą chorobę centralnego układu nerwowego obejmującą zmiany w układzie nagrody, a także układzie motywacji i pamięci. Choroba ta charakteryzuje się przewlekłym, przymusowym i niekontrolowanym poszukiwaniem i przyjmowaniem substancji uzależniającej („głód narkotykowy”, ang. *craving*), po którym następuje nieprzewidywalny nawrót do nałogu nawet po wielu latach abstynencji. Nawrót do nałogu często wywoływany jest przez bodźce warunkowe kojarzone z pobieraniem substancji uzależniającej, ale także czynnikami stresogennymi czy samą substancją (Koob i wsp., 2004; Robinson i Kolb, 2004). Aktualnie, zgodnie z wytycznymi Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego i Światowej Organizacji Zdrowia, wg kolejnej edycji Klasyfikacji Zaburzeń Psychiczych (ang. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-V*) i

Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób, Urazów i Przyczyn Zgonów (ang. *International Classification of Diseases, ICD-11*) zarówno zaburzenia spowodowane nadużyciem substancji jak i uzależnienie klasyfikuje się jako jednostkę chorobową. Długotrwałe stosowanie substancji uzależniających prowadzi do patologicznych zmian w równowadze neurochemicznej mózgu i dysfunkcji układu nagrody, części mózgu odpowiedzialnej za odczuwanie międy innymi przyjemności, zwanej także mezokortykolimbicznym szlakiem dopaminowym (ang. *reward system*). Szlak ten rozpoczyna się w dopaminowych ciałach komórkowych pola brzusznej nakrywki, a kończy się w jądrze półleżącym przegrody (szlak mezolimbiczny) lub w korze przedczołowej (szlak mezokortykalny) (Di Chiara, 2000; Koob i wsp., 2004). Do układu nagrody docierają również unerwienia pochodzące z innych struktur mózgu, takich jak, np: brzuszne prążkowie (*ventral striatum*), hipokamp (*hippocampus*) czy ciało migdałowate (*amygdala*) (Koob i wsp., 2004). Pobudzenie tych struktur także prowadzi do wzrostu wydzielania dopaminy w układzie mezokortykolimbicznym.

C2. Pobudzające substancje uzależniające - kokaina i MDMA

W roku 2017 ponad 217 mln osób, (5,5% populacji globu), w wieku od 15 do 64 lat stosowało substancje uzależniające w ciągu ostatniego roku (UNDOC, 2019). W Europie wśród substancji psychostymulujących, kokaina pozostaje najczęściej stosowaną nielegalną substancją pobudzającą (EMCDDA, 2019). Szacuje się, że 17,9 mln dorosłych Europejczyków (w wieku od 15 do 64 lat) zażyło ten narkotyk przynajmniej raz w swoim życiu; przy czym 4,3 mln w ciągu ostatniego roku. Podkreśla się również obawy dotyczące istnienia na rynku narkotykowym wysokiej jakości proszku i tabletek ekstazy (MDMA). Poziom używania MDMA jak i innych pochodnych amfetamin (amfetamina i metamfetamina) pozostaje w Europie na niższym poziomie niż używanie kokainy i dotyczy odpowiednio, 13,6 i 12,3 mln dorosłych Europejczyków, którzy użyli tych substancji przynajmniej raz w życiu, a 2,7 i 2,0 mln dorosłych użyło ich w ciągu ostatniego roku. Najnowsze długoterminowe badania prowadzone w Europie, ale także na świecie wskazują na zwiększenie użycia kokainy jak i MDMA. W Europie w ostatniej dekadzie zaobserwowano wzrost liczby użytkowników nielegalnych pobudzających substancji uzależniających o prawie 20% (EMCDDA, 2019; UNDOC, 2019).

Mechanizm farmakologicznego działania kokainy i MDMA związany jest z hamowaniem wychwytu zwrotnego dopaminy, serotoniny i noradrenaliny w mózgu (Ritz i wsp., 1990; Gołębiewska, 2012). Kokaina i MDMA różnią się powinowactwem do transporterów

monoamin, ponieważ kokaina wykazuje największe powinowactwo do transportera dopaminowego, natomiast MDMA do transportera serotoninowego. Ponadto MDMA zwiększa uwalnianie dopaminy i serotoniny z zakończeń nerwowych do szczeliny synaptycznej w ośrodkowym układzie nerwowym poprzez zaburzenie funkcjonowania transportera pęcherzykowego odpowiedzialnego za wydzielanie monoamin. Poza wpływem na uwalnianie monoamin kokaina i MDMA także zaburzają neuroprzebieżność glutaminianu, przy czym największe stężenie tego neurotransmitera pobudzającego wykazano w prążkowie i hipokampie. Zwiększone uwalnianie glutaminianu ma swoje konsekwencje w rozwoju uzależnienia oraz neurotoksyczności kokainy i MDMA.

Kokaina i MDMA wykazuje działanie zarówno na ośrodkowy jak i obwodowy układ nerwowy. Działając na obwodzie pobudzają zakończenia nerwów współczulnych powodując m. in. silny skurcz naczyń krwionośnych ze wzrostem ciśnienia tętniczego, rozszerzenie źrenic, rozkurcz mięśni oskrzelowych, zahamowanie perystaltyki przewodu pokarmowego oraz hamowanie aktywności gruczołów ślinowych. Wpływ na ośrodkowy układ nerwowy człowieka zależy od podanej dawki. Podanie niskiej dawki powoduje euforię, pobudzenie psychoruchowe oraz opóźnia objawy zmęczenia. U większości użytkowników MDMA po zastosowaniu narkotyku pojawia się kac, który trwa dzień lub dwa i charakteryzuje się poczuciem zmęczenia, zaburzeniem koncentracji, zawrotami głowy, mdłościami i wymiotami. Większe dawki wywołują tzw. ang. "high" objawiający się euforią, gadatliwością, ekscytacją i samozadowoleniem. Występować mogą także zachowania agresywne, brak krytycyzmu do własnych możliwości i zachowań, niepokój i napięcie, bezsenność, nasilenie doznań czuciowych, utrata apetytu, suchość w ustach, zaburzenia snu. Bardzo wysokie dawki zaburzają pamięć, myślenie i osądy, wywołując depersonalizację, a także lęk, napady paniki, paranoi, omamy wizualne i słuchowe, często depresję i poczucie bezradności prowadzące do samobójstwa. MDMA – w przeciwieństwie do kokainy – charakteryzuje się wysoką toksycznością wywołując nudności, wymioty, szczękocisk, zgrzytanie zębów. Ważny jest również fakt, że u niektórych osób, nawet jednorazowe podanie narkotyku może skutkować napadem drgawek oraz tachykardią, zaburzeniami funkcji układu oddechowego, prowadząc do zapaści sercowo-naczyniowej lub śmierci (Filip i Przegaliński, 2005; Gołombiowska, 2012; Szukalski, 2009). Działanie euforyczne kokainy i MDMA jest powodem dla którego ludzie sięgają po te substancje. Wielokrotne ich stosowanie powoduje uzależnienie, czyli przymus poszukiwania i przyjmowania substancji uzależniającej dla uzyskania efektu euforycznego (ang. *seeking behavior*) i uniknięcia emocjonalnego dyskomfortu spowodowanego

odstawieniem (ang. *withdrawal*). Głównymi symptomami odstawienia są głód narkotykowy charakteryzujący się szeregiem negatywnych objawów jak lęk, dysforia, anhedonia. Objawy odstawienia trwają od kilku godzin do kilku dni i związane są z niedoborem neuroprzekaźników w synapsie. Prowadzi to do wystąpienia depresji, poczucia zmęczenia. Długotrwały brak dostępu do substancji uzależniających skutkuje objawami wtórnymi jak: zmienność nastroju, anhedonia, lęk, osłabienie pamięci i koncentracji (Filip i Przegalinski, 2005; Gołębiewska, 2012; Szukalski, 2009).

Duży potencjał uzależniający kokainy i MDMA skłania do poszukiwania skutecznych i szybkich metod leczenia uzależnienia, i koncentrując się także na wyjaśnianiu neurobiologicznych podstaw powstawania choroby.

C3. Leczenie i rehabilitacja

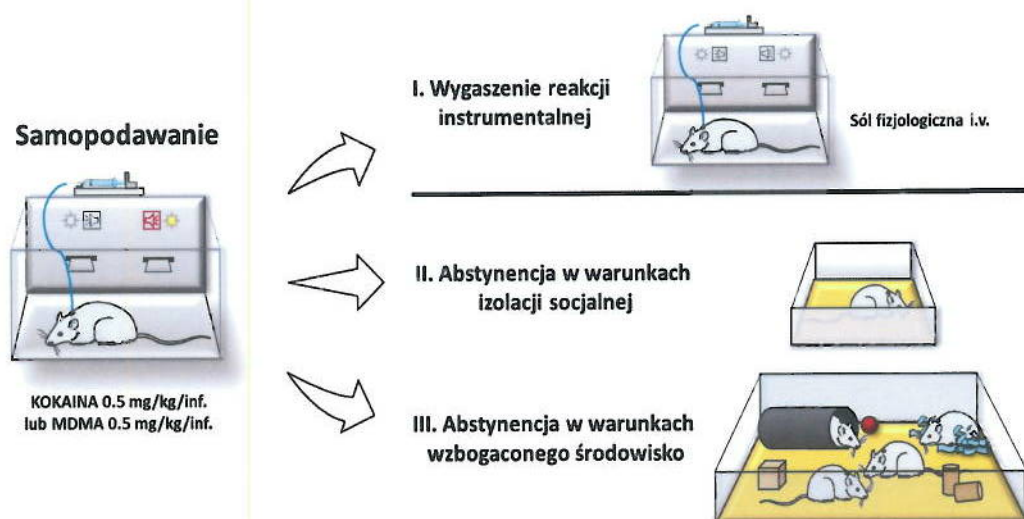
Leczenie i rehabilitacja osób uzależnionych od substancji uzależniających ma na celu redukcję, a nawet likwidację, objawów chorobowych aby wyprowadzić pacjenta ze stanu zależności od narkotyków i ich nadużywania, i zniwelować negatywne dla zdrowia skutki przyjmowania środków psychoaktywnych. Celem terapii jest poprawienie stanu pacjenta tak aby był zdolny do powrotu do aktywności zawodowej, a także powrotu prawidłowego funkcjonowania w społeczeństwie. Osiągnięcie zamierzonych celów jest niezwykle trudne i udaje się tylko u części leczonych osób, niestety ponad 50% osób uzależnionych, którzy podjęli się terapii powraca do nałogu w pierwszym roku leczenia (Sussman i wsp., 2011; Szukalski, 2009). Brak prostych, a przede wszystkim skutecznych metod terapeutycznych skłania do opracowania kompleksowych programów leczenia i rehabilitacji, opartych na równoczesnym stosowaniu różnych metod zarówno farmakologicznych, które pozwalają na zniwelowanie takich objawów jak depresja, lęk, zaburzenia osobowości, ale także metod obejmujących terapię behawioralną mających na celu rehabilitację deficytów poznawczych i społecznych.

C4. Zwierzęcy model wejścia w nałóg i wymuszonej abstynencji

Ważną rolę w badaniach behawioralnych i neuromolekularnych aspektów uzależnienia odgrywają modele zwierzęce, które naśladują uzależnienie od narkotyków u ludzi. Modele zwierzęce pozwalają oceniać równoległe występujące zmiany ważnych parametrów behawioralnych, molekularnych i neurochemicznych. Pozwalają śledzić na poziomie molekularnym neurobiologiczne mechanizmy leżących u podstaw nagradzających i

wzmacniających efektów substancji uzależniających, a także mechanizmów zaangażowanych w powrót do nałogu.

Jednym z najlepiej naśladowanych zjawiska nadużywania związków przez ludzi modeli zwierzęcych jest model dożylnego samopodawania substancji uzależniającej (Rycina 1). Samopodawanie (ang. *self-administration*) umożliwia badanie zasadniczych elementów uzależnienia, tj. spontanicznej inicjacji, podtrzymywania oraz nawrotu do nadużywania substancji uzależniających. W modelu tym, który opiera się na reakcjach instrumentalnych, ulegającym pozytywnemu wzmocnieniu, nagradzana jest reakcja zwierzęcia (np. naciskanie na dźwignię) prowadząca do uzyskania porcji narkotyku (drogą dożylną). Intensywność uzależnienia jest łatwo kwantyfikowana przez pomiar liczby otrzymanych iniekcji substancji uzależniającej i częstotliwości wykonywania reakcji potrzebnej do uzyskania narkotyku. Na ogół substancje, które wywołują uzależnienie u zwierząt są również uzależniające dla ludzi, tak więc procedura ta pozwala ocenić siłę nagradzającego działania narkotyku u ludzi i stanowi ważne narzędzie badawcze w laboratoriach neurobiologicznych (Frankowska i wsp., 2008)



Rycina 1. Samopodawanie kokainy lub MDMA oraz wymuszona abstynencja prowadzonej w klatce eksperymentalnej z wygaszeniem reakcji instrumentalnej, w warunkach izolacji socjalnej lub wzbogaconego środowiska u szczurów – schemat doświadczeń zastosowany w pracach stanowiących cykl monografii habilitacyjnych.

Model samopodawania jest też użyteczną procedurą badawczą do oceny głodu narkotykowego u zwierząt. Po fazie nabywania reakcji samopobierania substancji uzależniającej, zwierzęta poddaje się procedurze odstawienia/abstynencji, która może być prowadzona w różnych warunkach eksperymentalnych. Jednym z paradygmatów jest odstawienie prowadzone w klatkach eksperymentalnych z wygaszaniem reakcji instrumentalnej (Rycina 1). W wyniku

zamiany substancji uzależniającej na sól fizjologiczną następuje redukcja częstotliwości naciskania dźwigni kojarzonej z dożylnymi iniekcjami narkotyku. Odmienną procedurą jest zastosowanie abstynencji prowadzonej w klatkach ze wzbogaconym środowiskiem, podczas której zwierzęta są grupowane (w celu zachowania interakcji socjalnych), a wprowadzenie elementów do klatki takich jak klocki, kołowrotki, i inne zabawki wzmacnia zainteresowanie nowym środowiskiem i stanowi pozytywny czynnik pobudzający. Przeciwnie abstynencji w środowisku bogatym w dodatkowe elementy jest prezentowanie zwierzętom środowiska ubogiego w jakiegokolwiek czynniki wzmacniające (izolacja socjalna) (Rycina 1) (Frankowska i wsp., 2008; Markou i wsp., 1993).

Po okresie abstynencji reakcja (naciskanie na dźwignię) może zostać przywrócona przez bodziec bezwarunkowy, czyli dawkę substancji uzależniającej powodującej nawrót zachowania poszukiwawczego (ang. *drug priming*), przez bodziec warunkowy (np. światło i dźwięk) kojarzony z dożylnymi iniekcjami narkotyku w czasie nabywania samopodawania substancji uzależniającej lub czynnik stresogenny (np. łagodny impuls elektryczny).

C5. Rola wybranych neuroprzekazników i neuromodulatorów oraz ich receptorów w uzależnieniu i kontroli nawrotu do nałogu

Zmiany w neurotransmisji dopaminowej, w tym zmiany receptorowe, wywołane przez substancje uzależniające były przez długi czas głównym obiektem zainteresowania badaczy zajmujących się mechanizmem powstawania uzależnienia, gdyż większość badań eksperymentalnych, przedklinicznych i klinicznych wskazywała na kluczową rolę układu dopaminergicznego w tym procesie. W badaniach klinicznych i przedklinicznych wykazano, że wśród pięciu podtypów receptorów dopaminowych receptory D₂ są szczególnie zaangażowane w procesy uzależnienia. Dużą gęstość receptorów D₂ wykazano w polu brzusznej nakrywki, prążkowie, korze przedczołowej, gdzie receptory te mogą występować zarówno presynaptycznie (autoreceptor), ale przede wszystkim postsynaptycznie na enkefalinowych neuronach GABA-ergicznym i cholinergicznym neuronach wstawkowych występujących w prążkowie (Volkow i wsp., 2016). Ponadto w badaniach z wykorzystaniem immunocytochemicznej analizy ultrastrukturalnej wykazano występowanie receptorów D₂ presynaptycznie na neuronach glutamatergicznych biegnących z prążkowie do jądra półleżącego przegrody. W badaniach klinicznych zespół Dr Volkow stosując techniki obrazowania mózgu wykazał, że osoby charakteryzujące się niższym poziomem receptorów D₂ w obrębie struktur podkorowych charakteryzują się większą impulsywnością, co promuje je do

nadużywania substancji uzależniających (Trifilieff i Martinez, 2014; Volkow i wsp., 2016). Wykazano ponadto, że rezultatem długotrwałego stosowania różnych substancji psychostymulujących jest zmniejszenie dostępności receptorów D₂ dla jego ligandów, a obniżony poziom tych receptorów utrzymuje się nawet po długim okresie abstynencji (Volkow i wsp., 2016). U ludzi farmakologiczna manipulacja w obrębie receptorów D₂ zmniejsza subiektywne doznania jakie towarzyszą stosowaniu kokainy czy nikotyny. Natomiast u myszy pozbawionych genetycznie receptorów D₂ zaobserwowano zmniejszenie spożywania alkoholu, pobierania kokainy czy opioidów, podczas gdy u zwierząt niezmodyfikowanych genetycznie agoniści i antagoniści receptora D₂ odwracają lub zmniejszają ich behawioralne efekty. Interesujący jest także fakt że, w badaniach na gryzoniach wykazano iż agoniści receptora D₂ (np. quinpirol) całkowicie lub częściowo naśladują i/lub wzmacniają efekty kokainy, redukują samopodawanie morfiny i są same samopobierane przez zwierzęta. Co więcej, nawrót do nałogu może być indukowany przez bezpośrednią farmakologiczną stymulację receptorów D₂ (Trifilieff i Martinez, 2014; Wydra i wsp., 2015).

Badania ostatnich lat, nie podważając znaczenia układu dopaminergicznego w powstawaniu i podtrzymywaniu uzależnienia, zwracają uwagę na udział innych neuroprzekaźników i neuromodulatorów ośrodkowego układu nerwowego, które modulują uwalnianie dopaminy, a tym samym działanie substancji uzależniających. Do tych substancji należą m. in. glutaminian, kwas γ -aminomasłowy (GABA) oraz adenozyne (Goodman, 2008; Wydra i wsp., 2013).

Glutaminian jest głównym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w mózgu, działającym przez receptory jonotropowe (AMPA, NMDA, kainowe) i metabotropowe (mGlu₁₋₈). Metabotropowe receptory glutamatergiczne grupy I (mGlu₁ i mGlu₅) związane są z białkiem Gq/G11 i aktywacją wewnątrzkomórkowej fosfolipazy C, zlokalizowane są zarówno pre- i postsynaptycznie. Oba typy receptorów zlokalizowane są w strukturach limbicznych i korowych, głównie w jądrze półleżącym przegrody, prążkowie, korze przedczołowej oraz w mniejszym stopniu w hipokampie i opuszkach węchowych. Receptory mGlu₁ i mGlu₅ odgrywają istotną rolę w procesie uczenia się i pamięci oraz - jak wskazują dane z ostatnich lat - w patomechanizmie uzależnień od substancji psychostymulujących. Pierwszy dowód wskazujący że receptor mGlu₅ jest zaangażowany w rozwój uzależnienia wykazał w 2001 roku Dr Chiamulera wraz z zespołem. Autorzy ci u myszy pozbawionych receptorów mGlu₅ nie zaobserwowali wzrostu aktywności lokomotorycznej oraz nabywania reakcji samopodawania pod wpływem kokainy. Inni autorzy pokazali, że antagoniści receptorów mGlu₅ (MPEP i

MTEP) dawko-zależnie hamowali samopodawanie kokainy i nikotyny u gryzoni, oraz zmniejszali nawrót zachowań poszukiwawczych indukowany bodźcem warunkowym u szczurów samopodających kokainę lub alkohol. MPEP osłabiał także hyperaktywność wywołaną jednorazowym, ale nie wielokrotnym, podaniem amfetaminy lub kokainy. Sprzeczne dane uzyskano z badań dotyczących działania antagonistów mGlu₅ w modelu preferencji miejsca, w których to MPEP osłabiał lub nie miał efektu na ekspresję i nabywanie preferencji morfinowej, d-amfetaminowej, alkoholowej czy nikotynowej (Brown i wsp., 2012; Pomierny-Chamioło i wsp., 2014).

Kolejnym neuroprzekaźnikiem jest neuroprzekaźnik hamujący w mózgu - kwas γ -aminomasłowy (GABA). Zidentyfikowano trzy klasy receptorów: GABA_A, GABA_B i GABA_C. Receptory GABA_A i GABA_C są receptorami jonotropowymi. Receptory GABA_B są to metabotropowe receptory, zbudowane z dwóch podjednostek: podjednostka 1 posiada miejsce wiązania ligandu, a podjednostka 2 jest sprzężona z cyklazą adenylową za pośrednictwem białka Gi/o (Filip i Frankowska, 2008; Kumar i wsp., 2013). Przyłączenie się endogennego ligandu zmniejsza aktywność cyklazy adenylowej, blokując kanały wapniowe, a otwierają transbłonowe kanały potasowe, uzyskując stan hiperpolaryzacji neuronu oraz hamowanie jego pobudzenia (Kumar i wsp., 2013). W kontekście mechanizmów uzależnienia ważną rolę odgrywają receptory GABA_B. W wyniku aktywacji pre- i postsynaptycznych receptorów GABA_B, obserwowano hamowanie pobudliwości neuronów oraz uwalniania wielu neuroprzekaźników. Badania przedkliniczne prowadzone w naszym Zakładzie Farmakologii Uzależnień wykazały, że podczas odstawienia kokainy zmniejszeniu ulega ekspresja receptorów GABA_B w strukturach zaangażowanych w proces uzależnienia (Filip i wsp., 2015; Filip i Frankowska, 2008). Co więcej, agoniści receptorów GABA_B, a także pozytywne allosterycznie modulatory tych receptorów osłabiają efekty nagradzające substancji uzależniających, łagodzą niekorzystne symptomy odstawienia oraz redukują nawrót do nałogu (Filip i wsp., 2015).

Neuromodulatorem ośrodkowego układu nerwowego o dużym znaczeniu w procesie uzależnienia jest adenozyne występująca we wszystkich komórkach mózgu, ale nie posiadająca własnych szlaków nerwowych. Główną funkcją adenozyne w mózgu jest presynaptyczna kontrola uwalniania neuroprzekaźników. Wyróżniono 4 podtypy receptorów adenozynowych: A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃, wszystkie one związane są z białkami G ale różnią się wrażliwością na adenozyne, sygnalizacją wewnątrzkomórkową i dystrybucją. Receptory A₁ i A_{2A} pobudzane są

przez nM stężenia adenozyiny. Natomiast receptory A_{2B} i A₃ są pobudzane przez wysokie stężenia adenozyiny, które pojawiają się w stanach patologicznych, takich jak niedotlenienie tkanki lub aktywność drgawkowa. Receptory A_{2A} są zlokalizowane pre- i postsynaptycznie w ośrodkowym układzie nerwowym głównie na zakończeniach neuronów GABAergicznycjch jąder podstawy, głównie w obszarach o przewodze unerwienia dopaminergicznego (prążkowie, jądro półleżące przegrody, węchomózgowie, gałki bladej) oraz w innych strukturach układu mezolimbicznego (hipokamp, jądro ogoniaste) (Borrito-Escuela i wsp., 2018). Najnowsze odkrycia przedkliniczne wskazują na rolę receptorów A_{2A} w zwierzęcych modelach wykorzystywanych do badań właściwości nagradzających substancji uzależniających, oraz zachowań poszukiwawczych i nawrotu do nałogu. Wykazano że stymulacja receptorów A_{2A} osłabia właściwości nagradzające kokainy. Dodatkowo agoniści receptora A_{2A} hamują zachowania związane z zespołem odstawienia i nawrotem do nałogu substancji psychostymulującej, a także opioidów lub alkoholu (Filip i wsp., 2012; Wydra i wsp., 2020).

Cel 1) Analiza wpływu wymuszonej abstynencji od samopodawania kokainy i MDMA prowadzonej w różnych warunkach eksperymentalnych na nawrót zachowań poszukiwawczych i zmiany receptorowe (omówienie publikacji nr 1, 2, 3, 6).

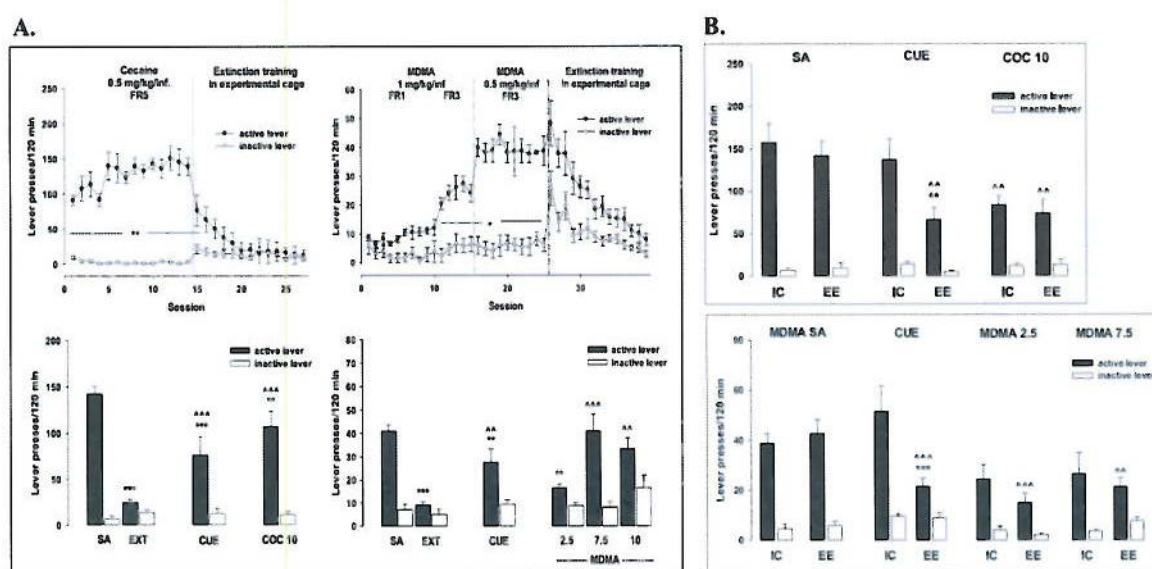
Warunki środowiskowe odgrywają ważną rolę w rozwoju uzależnienia, podtrzymywaniu nałogu oraz abstynencji. Jak już wcześniej wspomniano negatywne warunki środowiskowe takie jak izolacja społeczna wpływają na wzrost ryzyka wejścia w nałóg, jak i nawrotu do nałogu, zaś pozytywne warunki środowiskowe czyli wzbogacenie zmniejsza ryzyko nawrotów (Rodríguez-Ortega i Cubero, 2018; Solinas i wsp., 2009). Obecnie uważa się że wzbogacenie środowiska poprzez zajęcia fizyczne, kontakty społeczne jest skuteczną metodą, która może wywołać szereg zmian plastycznych w układzie nagrody w mózgu, w tym dynamiczne zmiany w obrocie neuroprzekaźników, wzroście neurogenezy i poprawie uczenia się i pamięci. Kilka badań przedklinicznych wykazało, że wzbogacone środowisko zmniejsza efekty nagradzające substancji uzależniających i hamuje zachowania związane z poszukiwaniem substancji uzależniających (Bardo i wsp., 2004; Chauvet i wsp., 2009; Puhl i wsp., 2012; Solinas i wsp., 2009; Thiel i wsp., 2009, 2010, 2011). Co więcej, długotrwała ekspozycja myszy na wzbogacone środowisko podczas okresu abstynencji zmniejsza wrażliwość zwierząt na kokainę oraz hamuje wywołaną kokainą warunkową preferencję miejsca (Solinas i wsp., 2009). Co ciekawe, u szczurów wzbogacone środowisko zmniejsza spożycie amfetaminy w procedurach dożylnego jej samopodawania, spożycie metamfetaminy, a także lęk i depresje

pojawiające się w okresie odstawienia (Rodríguez-Ortega i Cubero, 2018). Wzbogacone środowisko hamuje także indukowaną psychostymulantami aktywność lokomotoryczną u gryzoni, poprawia deficyty pamięci i niweluje zespół abstynencyjny u szczurów wcześniej traktowanych morfiną (Rodríguez-Ortega i Cubero, 2018)

W badaniach behawioralnych prezentowanych w pracach będących podstawą rozprawy habilitacyjnej zaobserwowano że kokaina, jak i MDMA, mają silny potencjał uzależniający. Dane nie odbiegają od obserwacji innych autorów jak i danych (dot. kokainy) pozyskany w trakcie wieloletniej pracy badawczej w Zakładzie Farmakologii Uzależnień. Obie substancje indukowały u zwierząt reakcję behawioralną mającą na celu pozyskanie substancji uzależniającej, która po długotrwałym przyjmowaniu kokainy lub MDMA utrzymywała się na stałym poziomie (Rycina 2A, *panele górne*). Chociaż MDMA charakteryzowało się słabszą reakcją/odpowiedź i tym samym wydłużeniem czasu nabywania stabilnej reakcji w procedurze samopodawania. A także wykazano iż czas niezbędny od wygaszenia reakcji instrumentalnej w przypadku MDMA jest wydłużony. Istotna różnica między kokainą a MDMA wynikała między innymi z alternatywnego mechanizmu działania obu substancji związanego z zwiększeniem poziomu monoamin na zakończeniach aksonów; i tak, MDMA zmienia głównie aktywność układu serotonergicznego niż dopaminergicznego. Ponadto, MDMA wymaga znacznie dłuższego czasu (kilka minut) w porównaniu z kokainą (kilka sekund), aby zainicjować supresję aktywności neuronów serotoninowych i dopaminy, a efekt ten może trwać do 6 godzin, podczas gdy w przypadku kokainy do 2 godzin.

Przywrócenie zachowań poszukiwawczych kokainy lub MDMA po okresie wymuszonej abstynencji w klatkach eksperymentalnych z wygaszeniem reakcji instrumentalnej obserwowano zarówno podczas nawrotu wywoływanego przez ekspozycję na bodźce związane z pobieraniem substancji psychostymulującej jak i przez jej podanie dootrzewnowo (Rycina 2A, *panel dolny*). W naszym badaniu ponowna ekspozycja na bodziec związany z wcześniejszym pobieraniem kokainy lub MDMA skutkowałą wzrostem liczby naciśnień tylko dźwigni aktywnej. Podobnie nawrót indukowany kokainą w dawce 10 mg/kg i MDMA w dawce 7,5 mg/kg był ograniczony do odpowiedzi na dźwignię aktywną, nie wpływając w tych dawkach na dźwignię nieaktywną. Uzyskane dane wskazują że abstynencja z wygaszeniem reakcji instrumentalnej nie chroni przed nawrotem do nałogu, jednak należy zwrócić uwagę, że bodziec warunkowy znacznie słabiej w porównaniu z bodźcem bezwarunkowym indukował nawrót zachowań poszukiwawczych. W przypadku szczurów przebywających w czasie

abstynencji w warunkach wzbogaconego środowiska ponowna ekspozycja na bodziec kojarzony z samopodawaniem substancji uzależniającej powodowała słabsze przywrócenie reakcji instrumentalnej, mierzone liczbą naciśnień na dźwignię aktywną, niż u zwierząt poddanych abstynencji prowadzonej w warunkach izolacji społecznej (Rycina 2B). Taka odpowiedź zwierząt była charakterystyczna dla obu badanych substancji psychostymulujących. Podczas nawrotu zachowań poszukiwawczych wywołanego wyzwalającą dawką kokainy lub MDMA, zarówno u zwierząt eksponowanych na pozytywne i negatywne warunki środowiskowe podczas abstynencji. Liczba naciśnień na dźwignię aktywną nie różniła się i była znacząco niższa w porównaniu z liczbą obserwowaną podczas ostatniej sesji samopodawania obu powyższych substancji uzależniającej (Rycina 2B).

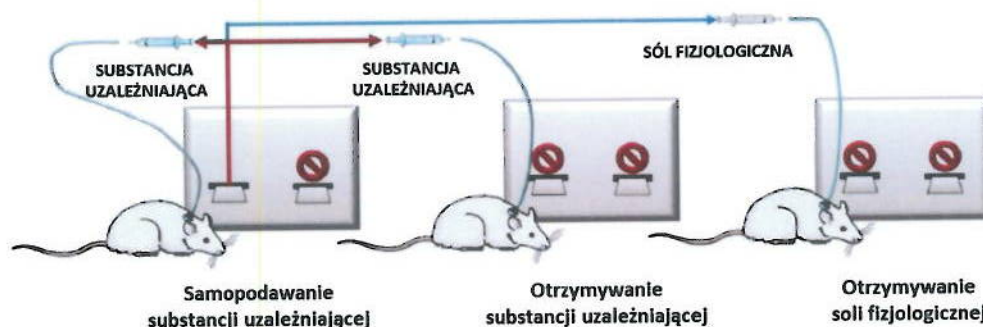


Rycina 2. Wpływ wymuszonej abstynencji prowadzonej w różnych warunkach (klatka eksperymentalna (A), izolacja społeczna, wzbogacone środowisko (B)) na nawrót zachowań poszukiwawczych indukowany bodźcem warunkowym lub bezwarunkowym u szczurów samopodających kokainę (0,5 mg/kg/infuzję; COC) lub MDMA (0,5 mg/kg/infuzję). Extinction training in experimental cage (EXT) – wygaszenie reakcji instrumentalnej w klatkach eksperymentalnych; EE – abstynencja w warunkach wzbogaconego środowiska; IC – abstynencja w warunkach izolacji społecznej; CUE – bodziec warunkowy (światło i dźwięk); active lever – dźwignia aktywna; inactive lever – dźwignia nieaktywna; SA – samopodawanie. A – * $p < 0,5$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. dźwignia aktywna w trakcie SA; ^ $p < 0,01$, ^^ $p < 0,001$ vs dźwignia aktywna w trakcie EXT; B – ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. dźwignia aktywna IC-CUE, ^ $p < 0,01$, ^^ $p < 0,001$ vs odpowiadająca dźwignia aktywna w trakcie SA; (rycina tożsama z rycinami w pracach nr 2, 3 i 6).

Własne wyniki są zgodne z badaniami naukowymi innych autorów wskazujących na istotną rolę wzbogaconego środowiska jako skutecznej strategii interwencji mającej na celu zmniejszenie skutków związanych z poszukiwaniem narkotyków. U gryzoni ekspozycja na wzbogacone środowisko podczas abstynencji po samopodawaniu kokainy hamuje nawrót

indukowany bodźcem warunkowym, czynnikiem stresogennym (Chauvet i wsp., 2009; Thiel i wsp., 2009, 2010, 2011), a także hamuje preferencję miejsca warunkowaną kokainą (Solinas i wsp., 2009). Osłabienie zachowań poszukiwawczych kokainy lub MDMA indukowanych bodźcem bezwarunkowym (substancją uzależniającą) prawie w takim samym stopniu dla obu środowisk abstynencji jest zaskakujące. Warto wspomnieć, że u gryzoni wzbogacone środowisko wzmacnia procesy uczenia się, w tym uczenia przestrzennego, zapobiega nieprawidłowym zachowaniom podczas ekspozycji na nieprzewidywalne sytuacje, hamuje preferencję miejsca, czy też hamuje efekty subiektywne w teście rozróżniania. Warto podkreślić że środowisko z pozytywnym wzmocnieniem redukuje takie zachowania jak impulsywności, redukuje negatywny wpływ czynników stresogennych (Gipson i wsp., 2011; Goeders, 2003; Sinha, 2008) oraz wzmacnia działanie substancji przeciwdepresyjnych (Zhou i Kalivas, 2008). Ekspozycja na wzbogacone środowisko zapobiega i/lub odwraca zmiany neurochemiczne podczas ekspozycji na awersyjne warunki środowiskowe, wpływając na czynniki neurotroficzne (np. BDNF, GDNF), które odgrywają istotną rolę w przyjmowaniu substancji uzależniających i nawrotu do nałogu (Thiel i wsp., 2010). Należy również pamiętać że różne typy bodźców angażują różne struktury mózgu w przywrócenie reakcji instrumentalnej, np. jądro półleżące przegrody i brzuszna część hipokampa są zaangażowane w poszukiwanie narkotyków wywołane substancją uzależniającą, natomiast ciało migdałowate, kora przedczołowa lub grzbietowa część hipokampa są kluczowymi regionami dla wzmocnienia indukowanego bodźcami kojarzonymi z pobieraniem substancji uzależniającej (Volkow i wsp., 2016). Bazując na wyżej wymienionych ustaleniach, można sądzić że różnym typom abstynencji tj. trening wygaszenia reakcji instrumentalnej, ekspozycji na negatywne lub pozytywne środowisko, towarzyszą odmienne mechanizmy związane z poszukiwaniem substancji uzależniającej i nawrotowi do nałogu, i są one wynikiem aktywacji różnych struktur w mózgu w zależności od bodźca.

W badaniach neurochemicznych mających na celu określenie zmian w obrębie wybranych receptorów została zastosowana procedura sprzężenia (ang. *yoked*). Procedura ta ma na celu wygenerowanie odpowiednich grup kontrolnych pozwalających na rozróżnienie aspektów farmakologicznych i motywacyjnych substancji uzależniającej (Rycina 3). Procedura ta polega na tym, że grupa zwierząt pobierających aktywnie kokainę lub MDMA jest sprzężona z (1) grupą zwierząt otrzymujących, bierne – czyli niezależnie od ich reakcji instrumentalnej – kokainę lub MDMA oraz z (2) grupą którą stanowiły zwierzęta otrzymujące sól fizjologiczną (Rycina 3).



Rycina 3. Procedura sprzężenia (yoked) w modelu samopodawania substancji uzależniającej (rycina tożsama z rysunkiem w pracy nr 2).

Na poziomie neurochemicznym zaobserwowano że wymuszona abstynencja prowadzona w klatkach eksperymentalnych z wygaszeniem reakcji instrumentalnej powoduje znaczny wzrost gęstości receptorów A_{2A} w prążkowie obejmującym jądro półleżące przegrody u szczurów samopodających kokainy, ale także otrzymujących ją biernie. Warto jednakże nadmienić, że w okresie samopodawania kokainy zmiana ta dotyczyła jedynie grupy otrzymującej kokainę (ang. *yoked cocaine*). Co ciekawe podczas samopodawania kokainy zaobserwowano wzrost powinowactwa receptorów A_{2A} w grzbietowym prążkowie, która to zmiana nie była obserwowana podczas wygaszenia reakcji instrumentalnej. Wygaszenie reakcji instrumentalnej nie zmieniło znacząco ekspresji receptorów D_2 w obszarach limbicznych i podkorowych mózgu, która to istotnie była podniesiona w grzbietowym prążkowie podczas samopodawania kokainy u szczurów. U zwierząt otrzymujących MDMA, i które przeszły trening wygaszenia reakcji instrumentalnej zaobserwowano zmniejszenie gęstości receptorów D_2 w jądrze półleżącym, wzrost w hipokampie i podniesienie wartości stałej dysocjacji w prążkowie i hipokampie. Cechą wspólną dla szczurów odstawionych od kokainy lub MDMA było zmniejszenie gęstości receptora $mGlu_5$ w korze przedczołowej. Ponadto u szczurów samopodających kokainę zaobserwowano wzrost gęstości receptora $mGlu_5$ w jądrze półleżącym przegrody.

Wzrost gęstości receptorów D_2 w korze przedczołowej zaobserwowano u zwierząt po abstynencji kokainowej w warunkach wzbogaconego środowiska, ale także po izolacji socjalnej. Dodatkowo u zwierząt izolowanych podczas abstynencji od kokainy zmniejszenie gęstości receptorów dopaminowych obserwowany był w grzbietowym prążkowie. Natomiast, szczury które wcześniej samopodawały MDMA, a wymuszoną abstynencję odbyły w wzbogaconym środowisku nie miały zmian w obrębie ekspresji receptorów D_2 w żadnej z badanych struktur, ale zaobserwowano zmniejszenie powinowactwa do tych receptorów w

grzbietowym prążkowi. Za to izolacja socjalna wywołała wzrost tych receptorów nie tylko w grzbietowym prążkowi, ale także korze przedczołowej i jądrze półleżącym przegrody u zwierząt samopodających MDMA. W badaniach obejmujących zmiany w ekspresji i powinowactwie receptorów glutamatergicznych, spadek gęstość receptorów mGlu₅ wykazano tylko w korze przedczołowej ale zarówno u zwierząt uzależnionych od kokainy jak i MDMA i poddanych wymuszonej abstynencji w warunkach wzbogaconego środowiska i izolacji socjalnej. Nasze badanie wykazały dodatkowo wyraźny spadek gęstości receptorów mGlu₅ w jądrze półleżącym przegrody w grupie samopodającej MDMA tylko podczas wymuszonej abstynencji uwzględniającej interakcję socjalną i dodatkowe wzbogacenie w klatce domowej. Przedstawione powyżej wyniki potwierdzają kluczową rolę warunków abstynencji dotyczących zmiany w ekspresji receptorów A_{2A}, D₂ i mGlu₅ w mózgu u szczurów wcześniej eksponowanych na kokainę lub MDMA. Obserwowane zmiany neurochemiczne są związane z wieloma czynnikami, takimi jak obszary mózgu, substancją uzależniającą, procesami kognitywnymi zachodzącymi podczas wymuszonej abstynencji (np. proces nowego uczenia), a także symptomami odstawienia (np. zachowania prołękowe, prodepresyjne). Abstynencja po długim okresie podawania MDMA i kokainy prowadzi do różnych zmian receptorowych w obszarach mózgu związanych z nadużywaniem tych substancji (kora przedczołowa, jądro półleżące przegrody, grzbietowe prążkowie, hipokamp). Obserwowane zmiany mogą częściowo wynikać, jak wspomiano wcześniej, z odmiennych mechanizmów działania tych substancji psychostymulujących na układ dopaminergiczny, serotonergiczny lub glutaminergiczny.

Wniosek

Spośród różnych warunków środowiskowych podczas wymuszonej abstynencji, wzbogacenie środowiska może być najskuteczniejszą interwencją zmniejszającą głód narkotykowy i nawrót do nałogu wywołany przez bodźce środowiskowe związane z pobieraniem kokainy lub MDMA.

Wymuszona abstynencja od kokainy lub MDMA, prowadzona w różnych warunkach eksperymentalnych (klatka eksperymentalna, wzbogacone środowisko, izolacja socjalna) zmienia ekspresję i/lub powinowactwo receptorów A_{2A}, D₂ i mGlu₅. Obserwowane zmiany w ekspresji badanych receptorów są specyficzne dla regionu mózgu i związane z farmakologicznymi i/lub motywacyjnymi cechami badanych substancji uzależniających.

Uczenie oparte na wygaszaniu reakcji instrumentalnej lub wzbogacone środowisko odwraca obserwowane w strukturach podkorowych - deficyty receptorów D₂ i mGlu₅ - u zwierząt uzależnionych od kokainy i/lub MDMA.

C6. Depresja a uzależnienie

Dane Światowej Organizacji Zdrowia wskazują, że depresja jest jedną z najszybciej rozpowszechniających się chorób cywilizacyjnych i obecnie co czwarty człowiek naszego globu miał epizod choroby w swoim życiu, a ponad 300 mln ludzi może cierpieć z jej powodu. Depresja objawia się obniżonym nastrojem, apatią, brakiem energii, poczuciem winy, wzmożoną złością, irytacją oraz niską samooceną. Ponadto drastycznie wpływa na codzienny komfort życia. Niepokojącym zjawiskiem jest fakt, że chorzy na depresję sięgają po substancje uzależniające. Częstość współwystępowania depresji i uzależnienia od substancji uzależniających wynosi od 30 do 60%. Pierwotnie występujące zaburzenia depresyjne, mogą prowadzić do przyjmowania substancji psychostymulującej w celu „samoleczenia” objawów depresji aby zredukować lęk, napięcia, jako „lekarstwo” na nieprzyjemne społeczne, zawodowe, czy interpersonalne skutki choroby. Chwilowa poprawa samopoczucia u chorej osoby, w dłuższej perspektywie czasu pogłębia przygnębienie i obniża nastrój co sprzyja rozwojowi wtórnych objawów depresyjnych u osób uzależnionych. Badania kliniczne i badania środowiskowe potwierdziły, że uzależnienie od substancji psychoaktywnych bardzo często poprzedzone jest występowaniem symptomów dużej depresji. Leczenie współwystępującej depresji i uzależnienia stwarza wiele trudności np. niepożądane interakcje między lekami, oraz lekami i substancjami uzależniającymi. Takie interakcje mogą prowadzić do obniżenia skuteczności działania leków przeciwdepresyjnych i zwiększyć ryzyko działań niepożądanych lub nasilić toksyczność leków i środków uzależniających.

Opracowano wiele modeli zwierzęcych do badania zaburzeń depresyjnych i uzależnienia od substancji psychoaktywnych, ale mają one pewne ograniczenia i nie zawsze odzwierciedlają pełny obraz choroby. Najczęściej stosowanym eksperymentalnym zwierzęcym modelem depresji do badania współwystępowania tego zaburzenia i uzależnienia od substancji psychostymulujących jest model usunięcia opuszek węchowych u szczurów (bulbektomia; OBX) (Filip i wsp., 2013). Zwierzęta OBX jako model doświadczalny spełniają wszystkie kryteria dobrego modelu zwierzęcego depresji (Rycina 4A). Wykazano że szczury OBX charakteryzują się taką samą wrażliwością jak zwierzęta kontrolne (SHAM) na nagradzające właściwości substancji uzależniających. Natomiast podczas abstynencji prowadzonej w

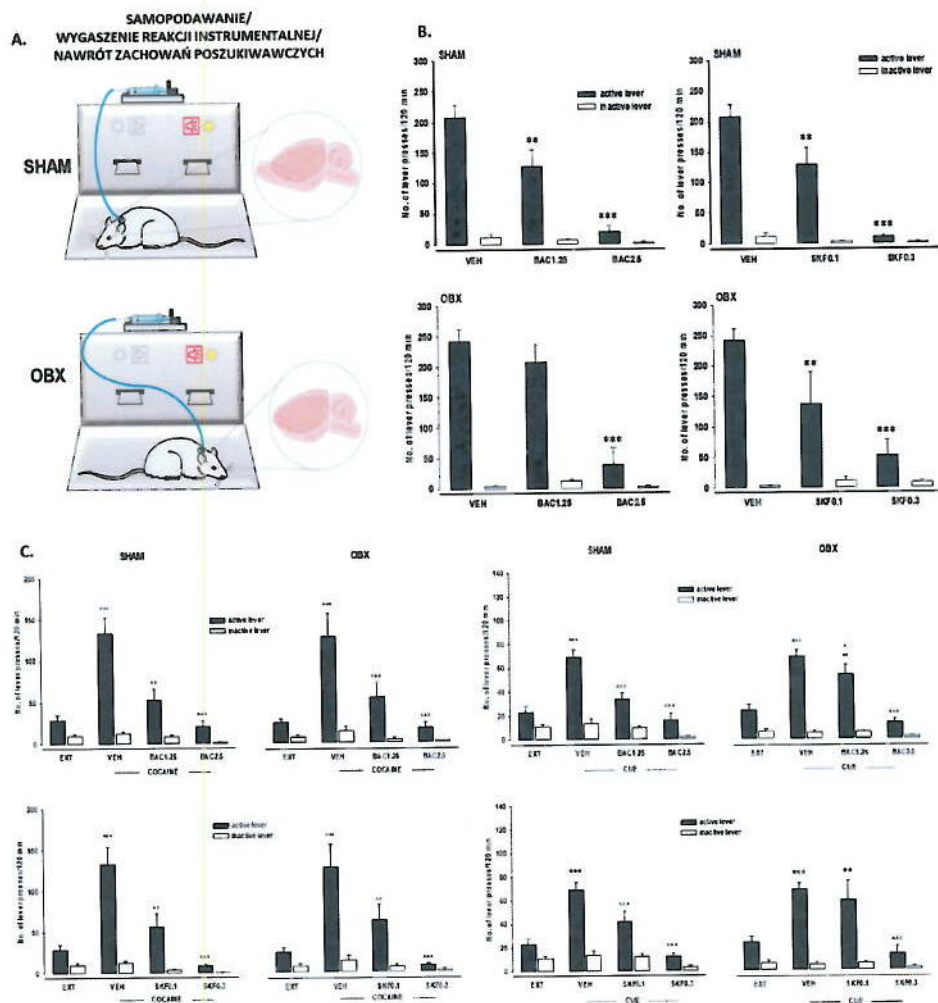
klatkach eksperymentalnych, gdy substancję uzależniającą zastąpiono solą fizjologiczną szczury OBX potrzebowały więcej sesji niż ich kontrolne odpowiedniki SHAM, aby wygasić reakcję instrumentalną. Takie zachowanie oznacza, że zachowania związane z poszukiwaniem kokainy były znacznie silniejsze u zwierząt wykazujących fenotyp podobny do depresji. Co ciekawe, zwierzęta OBX charakteryzowały się także większą wrażliwością na nawrót zachowań poszukiwawczych indukowany zarówno bodźcem warunkowym czy bezwarunkowym (Filip i wsp., 2013; Jastrzębska i wsp., 2015).

Cel 2) Neurochemiczna i behawioralna analiza wpływu wymuszonej abstynencji kokainowej prowadzonej w klatkach eksperymentalnych z wygaszaniem reakcji instrumentalną u zwierząt z depresją nabytą – receptory GABA_B (omówienie publikacji nr 4)

Dane przedkliniczne i kliniczne wskazują na istotną rolę receptorów GABA_B w etiologii i w adaptacyjnych efektach wielu leków przeciwdepresyjnych. Wyniki eksperymentów na zwierzętach wykazały, że leki przeciwdepresyjne są zdolne do zmiany ekspresji i funkcji receptorów GABA_B w mózgu oraz że ligandy receptorów GABA_B mają potencjał przeciwdepresyjny (Filip i Frankowska, 2008; Filip i wsp., 2015; Kumar i wsp., 2013). Toniczna stymulacja receptora GABA_B odgrywa kluczową rolę w kontrolowaniu uwalniania neuroprzekazników, a badania przedkliniczne dostarczają wielu dowodów wskazujących, że receptory te kontrolują układ nagrody w mózgu, a także zmieniają wydzielanie dopaminy w układzie mezolimbicznym.

Moje wyniki wskazują że agoniści receptorów GABA_B obniżają właściwości nagradzające kokainy, wyrażone jako spadek liczby odpowiedzi na aktywną dźwignię i liczbę infuzji kokainy u szczurów SHAM i OBX (Rycina 4B). Powyższe badania, a także badania innych autorów potwierdzają udział receptorów GABA_B w mechanizmie zmian obserwowanych zarówno w uzależnieniu od substancji psychostymulującej (Filip i Frankowska, 2008; Kumara i wsp., 2013) oraz po raz pierwszy także udział tych receptorów w współwystępującej depresji.

Wykazano dodatkowo, że agoniści GABA_B znacząco zmniejszali nawrót poszukiwania kokainy wywołany bodźcem warunkowym lub bezwarunkowym w obu badanych grupach szczurów (Rycina 4C). Te obserwacje nie tylko poszerzają wiedzę dotyczącą roli receptorów GABA_B w mechanizmie poszukiwania substancji uzależniającej, ale wskazują powyższe receptory jako cel farmakologiczny nałogu kokainowego.



Rycina 4. Wpływ agonistów receptorów GABA_B baklofenu (BAC) i SKF 97541 (SKF) na samopodawanie kokainy (0,5 mg/kg/infuzję) (B) i na nawrót zachowań poszukiwawczych indukowany bodźcem warunkowym lub bezwarunkowym (C) u szczurów z depresją nabytą (bulbektomią, OBX, A). COCAINE – bodziec bezwarunkowy, dootrzewnowe podanie kokainy 10 mg/kg; CUE – bodziec warunkowy (światło i dźwięk); EXT – wygaszenie reakcji instrumentalnej w klatkach eksperymentalnych (ang. extinction training); OBX – szczury po operacji usunięcia opuszek węchowych; SHAM – szczury po operacji pozorowanej (kontrola); VEH – rozpuszczalnik; active lever – dźwignia aktywna; inactive lever – dźwignia nieaktywna. B - ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. dźwignia aktywna – VEH; C - ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. dźwignia aktywna w trakcie EXT, ^ $p < 0,05$, ^^^ $p < 0,001$ vs. dźwignia aktywna w trakcie nawrotu indukowanego CUE lub COCAINE (rycina tożsama z rycinami w pracy nr 4).

Chcąc dalej wyjaśnić neurochemiczny aspekt udziału receptorów GABA_B we współwystępowaniu obu zaburzeń zbadano ekspresję podjednostek GABA_{B1} i GABA_{B2} w kilku obszarach mózgu u szczurów z fenotypem depresyjnym i uzależnionych od kokainy. Wyniki wykazują, że rozwój stanu depresyjnego nie spowodował znaczących zmian w poziomie białka receptorów GABA_{B1} w żadnym z ocenianych obszarów mózgu (nie było znaczących rozbieżności między zwierzętami SHAM i OBX otrzymujących sól fizjologiczną).

Z drugiej strony zaobserwowano różne zmiany zachodzące pod wpływem kokainy na receptory $GABA_{B1}$ w grupach SHAM i OBX. I tak, kokaina znacząco zmniejszyła poziom białka badanej podjednostki w brzusznej części prążkowiec u zwierząt z operacją pozorowaną, podczas gdy taki efekt nie został wykryty u szczurów OBX. Dalej, kokaina indukowała wzrost poziomu receptorów $GABA_{B1}$ w korze prelimbiczej i zmniejszenie w brzusznej części hipokampa u OBX. Stan depresyjny indukował spadek ekspresji receptorów $GABA_{B2}$ w jądrze półleżącym przegrody i brzusznej części hipokampa, a obraz ten zmienił się pod wpływem kokainy. Zaobserwowane zmiany w ekspresji podjednostki $GABA_{B2}$ wydają się istotne tylko w fazie samopodawania kokainy, ponieważ nie stwierdzono ich po wygaszeniu reakcji instrumentalnej. W tych ostatnich warunkach doświadczalnych stwierdzono jedynie wzrost poziomu receptora $GABA_{B2}$ w grzbietowej części hipokampu u zwierząt OBX i spadek tych receptorów $GABA_{B2}$ w grzbietowej części prążkowiec u zwierząt SHAM. Tak więc w przypadku współwystępowania depresji i zaburzeń związanych z nadużywaniem kokainy, receptory $GABA_{B2}$ zlokalizowane w jądrze półleżącym przegrody i hipokampie wydają się być najbardziej zmienione. Co ciekawe, rejony te są powiązane anatomicznie i funkcjonalnie oraz wchodzi w skład układu limbicznego. Hipokamp odbiera sygnały z kory czołowej i podwzgórza, i wysyła sygnał do jądra półleżącego przegrody. Można zatem spekulować, że manipulacja w obrębie receptorów $GABA_{B2}$ może stanowić cel terapeutyczny u pacjentów z depresją.

Wniosek

Farmakologiczna stymulacja receptorów $GABA_B$ osłabia efekty nagradzające kokainy, a także nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy zarówno u zwierząt kontrolnych i z depresją nabytą. Wskazuje na to zaangażowanie powyższych receptorów w modulowanie współwystępującej choroby afektywnej i uzależnienia.

Rozwój depresji, w przypadku użytego modelu eksperymentalnego, jest związany z istotnymi zmianami poziomu podjednostek $GABA_B$ w mózgu szczurów, a zmiany te są głównie związane z deficytem receptora $GABA_{B2}$.

Funkcjonalne znaczenie tej neurochemicznej obserwacji powinno być zwalidowane w dalszych farmakologicznych eksperymentach, które mogą ostatecznie rozpocząć nową erę w opracowywaniu leków na zaburzenia z udziałem receptorów $GABA_B$, takie jak współistniejąca depresja i uzależnienie od substancji psychostymulujących.

C7. Czynniki związane z prawidłowym funkcjonowaniem komórek glejowych

Różne techniki eksperymentalne obejmujące farmakologiczną interwencję, badania molekularne i neurochemiczne, wciąż nie wyjaśniają w pełni podłoża związanego z nabywaniem i utrzymaniem się zmian adaptacyjnych uzależnienia od substancji psychostymulujących. W badaniach molekularnych prowadzonych w ostatnich latach wykazano, że długotrwałe podawanie substancji uzależniających promuje zmiany w acetytacji, metylacji oraz fosforylacji histonów i wspólnie ze zmianami w poziomie metylacji DNA kontroluje aktywność transkrypcyjną genomu. Kokainie przypisuje się modulowanie efektów behawioralnych poprzez jej wpływ na procesy epigenetyczne i transkrypcyjne (Sadakierska-Chudy i Filip, 2015; Sadakierska-Chudy i wsp., 2015). Badania nad molekularnymi efektami działania psychoaktywnych substancji uzależniających prowadzone są najczęściej w okresie nabywania i podtrzymania nałogu. Badania ostatnich lat prowadzone w naszym Zakładzie wskazują, że zmiany w obrębie ekspresji genów obserwowane w trakcie abstynencji (wygaszania reakcji instrumentalnej) są równie istotne w procesie uzależnienia (patrz Sadakierska-Chudy i wsp., 2017a,b). Identyfikacja zmian zachodzących w okresie abstynencji może być kluczowe dla odkrycia w przyszłości skuteczniejszej farmakoterapii zapobiegającej nawrotom.

Cel 3) Analiza wpływu wymuszonej abstynencji kokainowej prowadzonej w klatkach eksperymentalnych z wygaszaniem reakcji instrumentalnej lub w klatkach domowych w warunkach izolacji socjalnej u szczurów na zmiany w ekspresji genów i białek związanych z prawidłowym funkcjonowaniem komórek glejowych (omówienie publikacji nr. 5)

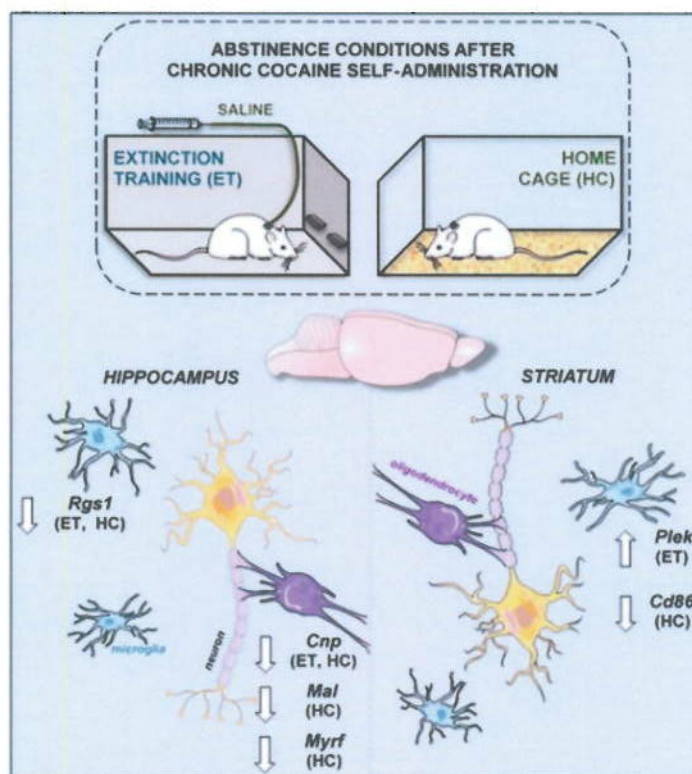
Badania ostatnich lat skupiają się na poznaniu mechanizmów molekularnych zaangażowanych w rozwój i podtrzymywanie uzależnienia. Co więcej, zmiany w ekspresji genów leżące u podstaw rozregulowania zachowań związanych z tą chorobą mózgu mogą okazać się istotne dla opracowania skutecznej terapii. Komponenty molekularne leżące u podstaw uzależnienia od kokainy były badane przez wiele lat, ze szczególnym uwzględnieniem cząsteczek sygnałowych zaangażowanych w modulację komunikacji neuronowej. Pomimo kluczowej roli neuronów zaangażowanych w patofizjologię uzależnień, komórki te nie są jedynym składnikiem układu nerwowego odpowiedzialnym za podtrzymywanie i regulację neurotransmisji. Wykazano, że komórki nieneuronalne, zwłaszcza astrocyty i oligodendrocyty, odgrywają ważną rolę w regulacji neuroprzebieżności, przewodzeniu impulsów nerwowych, metabolizowaniu neuroprzebieżników i dostarczaniu metabolitów energii do funkcji

synaptycznych (Miguel-Hidalgo, 2009). W badaniach klinicznych wykazano że u osoby używających kokainę dochodzi do zmniejszenia ekspresji genów związanych z oligodendroglejem w kilku strukturach mózgu pacjentów (Sokolov, 2007). Co ciekawe, komórki mikrogleju, nie uczestniczące bezpośrednio w modulacji neurotransmisji a związane ze stanem zapalnym, są aktywowane w wyniku uszkodzenia neuronów. Konsekwencją aktywacji komórek mikrogleju jest wzrost ekspresji receptorów dla neuropeptydów i neuroprzekazników zdolnych do uwalniania czynników troficznych, które to czynniki są istotne dla przeżycia neuronów (Burnstock, 2006; Noda i wsp., 2000). Co więcej, w badaniach przedklinicznych i klinicznych wykazano że długotrwałe stosowanie kokainy aktywuje komórki mikrogleju indukując proces prozapalny (Periyasamy i wsp., 2018; Littel i wsp., 2009).

Własne badania wskazują, że samopodawanie kokainy znacząco zmniejszyło ekspresję czynnika regulacyjnego mieliny (MYRF) i fosfodiesterazy cyklicznych nukleotydów (CNP) w hipokampie, a także plekstryny (PLEK) i antygenu aktywującego limfocyty T (CD86) w prążkowie szczura. W zależności od warunków abstynencji od kokainy tj. wczesnej abstynencji (3 dni) w klatkach eksperymentalnych z wygaszaniem reakcji instrumentalnej lub podczas izolacji w klatce domowej, ekspresja mikrogleju PLEK została odpowiednio zwiększona, lub nie uległa zmianie. W hipokampie zaobserwowano zmniejszenie ekspresji genów związanych z oligodendrocytami (CNP, MYRF) i regulatorem mikrogleju białka G 1 (RGS1) niezależnie od rodzaju abstynencji, podczas gdy zmniejszenie poziomu białka mieliny i limfocytów (MAL) stwierdzono tylko u szczurów narażonych na abstynencję w klatce domowej (Rycina 5).

Wniosek

Prezentowane wyniki sugerują, że abstynencja kokainowa wywołuje istotne zmiany w ekspresji genów związane z prawidłowym funkcjonowaniem komórek glejowych. Ta obserwacja może sugerować znaczący udział komórek glejowych w zmianach adaptacyjnych mózgu związanych z ekspozycją na kokainę oraz uzyskać potencjalny cel terapeutyczny tej choroby mózgu.



Rycina 5. Wpływ wymuszonej abstynencji prowadzonej w klatkach eksperymentalnych z wygaszeniem reakcji instrumentalnej (extinction training, ET) i w warunkach izolacji socjalnej (home cage, HC) u szczurów samopodających kokainę na zmiany w obrębie czynników odpowiedzialnych za funkcjonowanie komórek glejowych w hipokampie i prążkowiu. Geny: Cnp - fosfodiesteraza cyklicznych nukleotydów; Cd86 - antygen aktywujący limfocyty T.; Mal - białko mieliny i limfocytów; Myrf - czynnik regulacyjny mieliny; Plek - plekstryna; Rgs1 - regulator sygnalizacji białka G 1; (rycina tożsama z abstraktem graficznym w pracy nr 5, przygotowane przez dr Dawida Gawlińskiego).

Konkluzja

Istotą strategii terapeutycznej jest utrzymywanie uzależnionego pacjenta w abstynencji, nauczenia go rozpoznawania objawów głodu i technik doraźnego radzenia sobie z silnym pragnieniem sięgnięcia po substancję uzależniającą pojawiającego się często w stresowych sytuacjach i z zaburzeniami emocjonalnymi. Dlatego zastosowanie odpowiedniej terapii behawioralnej połączonej z ukierunkowaną farmakoterapią uwzględniającą wpływ na odpowiednią pulę receptorów i tym samym aktywacja/zahamowanie odpowiednich neuroprzekaźników/neuromodulatorów, daje szansę na poradzenie sobie z chorobą, która będzie towarzyszyć pacjentowi do końca życia.

Literatura:

1. Bardo MT, Klebaur JE, Valone JM, Deaton C. Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;155(3):278-84.
2. Borroto-Escuela DO, Wydra K, Filip M, Fuxe K. A2AR-D2R Heteroreceptor Complexes in Cocaine Reward and Addiction. *Trends Pharmacol Sci*. 2018;39(12):1008-20.
3. Brown RM, Mustafa S, Ayoub MA, Dodd PR, Pfleger KDG, Lawrence AJ. mGlu5 Receptor Functional Interactions and Addiction. *Front Pharmacol*. 2012;3:84.
4. Burnstock, G. Historical review: ATP as a neurotransmitter. *Trends Pharmacol. Sci*. 2006;27:166–76.
5. Chauvet C, Lardeux V, Goldberg SR, Jaber M, Solinas M. Environmental enrichment reduces cocaine seeking and reinstatement induced by cues and stress but not by cocaine. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(13):2767-78.
6. Di Chiara G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol*. 2000;393(1-3):295-314.
7. EMCDDA, European Drug Report, Lisbon, September 2020
<https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/13238/TD0420439ENN.pdf>
8. Filip M Frankowska M. GABA(B) receptors in drug addiction. *Pharmacol Rep* 2008;60(6):755-70.
9. Filip M, Frankowska M, Jastrzębska J, Wydra K, Przegaliński E. Preclinical studies on comorbidity between depression and psychostimulant addiction. *Pharmacol Rep*. 2013;65(6):1529-34.
10. Filip M, Frankowska M, Sadakierska-Chudy A, Suder A, Szumiec L, Mierzejewski P, Bienkowski P, Przegaliński E, Cryan JF. GABAB receptors as a therapeutic strategy in substance use disorders: focus on positive allosteric modulators. *Neuropharmacology*. 2015;88:36-47.
11. Filip M, Przegaliński E: Rola układu serotoninowego w uzależnieniu od kokainy. W:Przewłocka B. (red.) Uzależnienia lekowe, opiaty i środki psychostymulujące. XXII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN, Mogilany. 2005, 79-94
12. Filip M, Zaniewska M, Frankowska M, Wydra K, Fuxe K. The importance of the adenosine A(2A) receptor-dopamine D(2) receptor interaction in drug addiction. *Curr Med Chem*. 2012;19(3):317-55
13. Frankowska M, Filip M, Przegaliński E. Poszukiwanie skutecznej terapii uzależnienia od kokainy – zmiany behawioralnych efektów kokainy przez modulację transmisji dopaminergicznej i GABA-ergicznej. *Farmakoterapia w Psychiatrii i Neurologii*. 2008;3:161–66
14. Goeders NE. The impact of stress on addiction. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2003;13(6):435-41.
15. Gołombiowska K. Dopalacze – jak to działa?, *Wszelchświat*, 2012 vol. 113, no 10–12
16. Goodman A. Neurobiology of addiction: An integrative review. *Pharmacol*. 2008;75:266–32.
17. Jastrzębska J, Frankowska M, Szumiec Ł, Sadakierska-Chudy A, Haduch A, Smaga I, Bystrowska B, Daniel WA, Filip M. Cocaine self-administration in Wistar-Kyoto rats: a behavioral and biochemical analysis. *Behav Brain Res*. 2015;293:62-73.
18. Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, O'Dell LE, Parsons LH, Sanna PP. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev*. 2004;27(8):739-49.
19. Kumar K, Sharma S, Kumar P, Deshmukh R. Therapeutic potential of GABAB receptor ligands in drug addiction, anxiety, depression and other CNS disorders. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 2013;110:174–84.
20. Little KY, Ramssen E, Welchko R, Volberg V, Roland CJ, Cassin B. Decreased brain dopamine cell numbers in human cocaine users. *Psychiatry Res*. 2009;168:173–80.
21. Markou A, Weiss F, Gold LH, Caine SB, Schulteis G, Koob GF. Animal models of drug craving. *Psychopharmacology* 1993;112:163-82.
22. Miguel-Hidalgo, J.J. The Role of Glial Cells in Drug Abuse. *Curr. Drug Abus. Rev*. 2009;2:76–82.
23. Noda, M.; Nakanishi, H.; Nabekura, J.; Akaike, N. AMPA-kainate subtypes of glutamate receptor in rat cerebral microglia. *J. Neurosci*. 2000;20:251–58.
24. Periyasamy P, Liao K, Kook YH, Niu F, Callen SE, Guo ML, Buch S. Cocaine-Mediated Downregulation of miR-124 Activates Microglia by Targeting KLF4 and TLR4 Signaling. *Mol. Neurobiol*. 2018;55:3196–210.
25. Pomierny chamiolo *Pharmacol Ther*. 2014
26. Puhl MD, Blum JS, Acosta-Torres S, Grigson PS. Environmental enrichment protects against the acquisition of cocaine self-administration in adult male rats, but does not eliminate avoidance of a drug-associated saccharin cue. *Behav Pharmacol*. 2012;23(1):43-53.

27. Ritz MC, Cone EJ, Kuhar MJ. Cocaine inhibition of ligand binding at dopamine, norepinephrine and serotonin transporters: a structure-activity study. *Life Sci.* 1990;46(9):635-45.
28. Robinson TE, Kolb B. Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. *Neuropharmacology.* 2004;47 Suppl 1:33-46.
29. Rodriguez-Ortega E, Cubero I. Environmental Enrichment Modulates Drug Addiction and Binge-Like Consumption of Highly Rewarding Substances: A Role for Anxiety and Compulsivity Brain Systems? *Front Behav Neurosci.* 2018;12:295.
30. Sadakierska-Chudy A, Filip M. A comprehensive view of the epigenetic landscape. Part II: Histone post-translational modification, nucleosome level, and chromatin regulation by ncRNAs. *Neurotox Res.* 2015;27(2):172-97.
31. Sadakierska-Chudy A, Frankowska M, Jastrzębska J, Wydra K, Miszkiewicz J, Sanak M, Filip M. Cocaine Administration and Its Withdrawal Enhance the Expression of Genes Encoding Histone-Modifying Enzymes and Histone Acetylation in the Rat Prefrontal Cortex. *Neurotox Res.* 2017a;32(1):141-50.
32. Sadakierska-Chudy A, Frankowska M, Wydra K, Jastrzębska J, Miszkiewicz J, Filip M. Increased 5-hydroxymethylation levels in the hippocampus of rat extinguished from cocaine self-administration. *Hippocampus.* 2017b;27(7):811-21
33. Sadakierska-Chudy A, Kostrzewa RM, Filip M. A comprehensive view of the epigenetic landscape part I: DNA methylation, passive and active DNA demethylation pathways and histone variants. *Neurotox Res.* 2015;27(1):84-97.
34. Sinha R. How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology (Berl).* 2001;158(4):343-59.
35. Sokolov, B.P. Oligodendroglial abnormalities in schizophrenia, mood disorders and substance abuse. Comorbidity, shared traits, or molecular phenocopies? *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2007;10:547
36. Solinas M, Thiriet N, El Rawas R, Lardeux V, Jaber M. Environmental enrichment during early stages of life reduces the behavioral, neurochemical, and molecular effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology.* 2009;34(5):1102-11.
37. Sussman S, Lisha N, Griffiths M. Prevalence of the Addictions: A Problem of the Majority or the Minority? *Eval Health Prof.* 2011;34(1): 3–56.
38. Szukalski B, Neurobiologiczne podstawy uzależnienia od narkotyków, *Patofizjologia*, 2009, Tom 65, nr 9
39. Thiel KJ, Engelhardt B, Hood LE, Peartree NA, Neisewander JL. The interactive effects of environmental enrichment and extinction interventions in attenuating cue-elicited cocaine-seeking behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011;97(3):595-602.
40. Thiel KJ, Pentkowski NS, Peartree NA, Painter MR, Neisewander JL. Environmental living conditions introduced during forced abstinence alter cocaine-seeking behavior and Fos protein expression. *Neuroscience.* 2010;171(4):1187-96.
41. Thiel KJ, Sanabria F, Pentkowski NS, Neisewander JL. Anti-craving effects of environmental enrichment. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009;12(9):1151-6.
42. Trifilieff P, Martinez D. Imaging addiction: D2 receptors and dopamine signaling in the striatum as biomarkers for impulsivity. *Neuropharmacology.* 2014;76 Pt B:498-509.
43. UNODC, World Drug Report 2019, booklet 4; <https://wdr.unodc.org/wdr2019/>
44. Volkow ND, Koob G, McLellan T. Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction. *N Engl J Med* 2016;374(4):363-71
45. Wydra K, Gawliński D, Gawlińska K, Frankowska M, Borroto-Escuela DO, Fuxe K, Filip M. Adenosine A_{2A} Receptors in Substance Use Disorders: A Focus on Cocaine. *Cells.* 2020;9(6):1372.
46. Wydra K, Golembiowska K, Zaniewska M, Kaminska K, Ferraro L, Fuxe K, et al. Accumbal and pallidal dopamine, glutamate and GABA overflow during cocaine self-administration and its extinction in rats. *Addict Biol.* 2013;18(2):307-24.
47. Wydra K, Suder A, Borroto-Escuela DO, Filip M, Fuxe K. On the role of A_{2A} and D₂ receptors in control of cocaine and food-seeking behaviors in rats *Psychopharmacology (Berl).* 2015;232(10):1767-78.
48. Zhou W, Kalivas PW. N-acetylcysteine reduces extinction responding and induces enduring reductions in cue- and heroin-induced drug-seeking. *Biol Psychiatry.* 2008;63(3):338-40.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Opisane powyżej osiągnięcie naukowe powstało podczas prowadzonych przeze mnie badań nad neurochemicznymi mechanizmami uzależnienia i poszukiwaniami skutecznych narzędzi farmakologicznych będących podstawą do zastosowania nowych związków w terapii tej choroby. Większość badań przeprowadziłam podczas pracy w Zakładzie Farmakologii Uzależnień Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk oraz podczas mojego dwuletniego pobytu w Instytucie Karolinska w Sztokholmie, Szwecja w Zakładzie Neurobiologii Układu Nerwowego, Laboratorium Neurobiologii Komórki i Molekularnej (kierownik Prof. Kjell Fuxe).

W ramach współpracy Zakładu Farmakologii Uzależnień prowadziłam długotrwałe badania naukowe o zasięgu krajowym i międzynarodowym, co umożliwiło mi rozbudować warsztat pracy, zastosować nowe układy eksperymentalne i pogłębić wiedzę dotyczącą mechanizmów rządzących uzależnieniem.

- Udział w realizacji projektów badawczych finansowanych przez NCN w programie SONATA:

2012 - 2016 „Rola receptorowych kompleksów heterodimerycznych mGlu5-D2 w wygaszaniu zachowań poszukiwawczych związanych z uzależnieniem od substancji psychostymulujących (kokaina i MDMA): analiza behawioralna i biomolekularna u szczurów”. Nr 2011/03/D/NZ7/06295

Grant naukowy dla osób rozpoczynających karierę naukową w którym byłam kierownikiem projektu

Powstałe publikacje stanowią część cyklu publikacji habilitacyjnych (pkt. 4B nr 2, 3, 6)

2015 - 2018 „Efekty i potencjalne mechanizmy działania disulfiramu i nepikastatu w uzależnieniu od morfiny u zwierząt doświadczalnych”. Nr 2014/15/D/NZ7/01821. Konsorcjum z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, kierownik projektu Dr Patrycja Kleczkowska.

Moja rola: kierownik projektu ze strony Partnera (Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk)

Powstałe w ramach współpracy publikacje:

1. Frączek K, Kowalczyk A, Pekala M, Kasarello K, Sygitowicz G, Sulejczak D, Zaremba M, Konop M, Frankowska M, Filip M, Bujalska-Zadrozny M, Kleczkowska P. The positive and negative outcome of chronic co-administration of morphine and disulfiram in rats. *Pharmaceutics* 2020
2. Frankowska M, Surówka P, Suder A, Pieniżek R, Pukło R, Jastrzębska J, Daniel WA, Filip M, Zadrozny-Bujalska M, Kleczkowska P. Treatment with dopamine β -hydroxylase (DBH) inhibitors prevents morphine use and relapse in rats. *Neuropharmacology*, 2020 [under revision].

- Udział w realizacji projektów badawczych realizowanych w ramach współpracy międzynarodowej:

2017 - obecnie „Rola neutralnej sfingomielinazy w uzależnieniu od alkoholu”.
Friedrich-Alexander-University of Erlangen-Nuremberg, Erlangen,
Niemcy; Grant NAWA wymiana bilateralna DAAD nr
PPN/BIL/2018/1/00004.

Powstałe w ramach współpracy publikacje:

1. Kalinichenko LS, Abdel-Hafiz L, Wang AL, Mühle C, Rösel N, Schumacher F, Kleuser B, Smaga I, **Frankowska M**, Filip M, Schaller G, Richter-Schmidinger T, Lenz B, Gulbins E, Kornhuber J, Oliveira AWC, Barros M, Huston JP, Müller CP. Neutral Sphingomyelinase is an Affective Valence-Dependent Regulator of Learning and Memory. *Cereb Cortex*. 2020 Oct 12:bhaa298. doi: 10.1093/cercor/bhaa298.
2. **Frankowska M**, Jesus FM, Mühle C, Pacheco JVN, Maior RS, Sadakierska-Chudy A, Smaga I, Piechota M, Kalinichenko LS, Gulbins E, Kornhuber J, Filip M, Müller CP, Barros M. Cocaine attenuates acid sphingomyelinase activity during establishment of addiction-related behavior-A translational study in rats and monkeys. *Addict Biol*. 2020 Aug 5:e12955. doi: 10.1111/adb.12955.

2005 - obecnie „Znaczenie kompleksów heteromerycznych receptorów dopaminowych, adenylinowych i glutaminianergicznych w mechanizmie działania substancji uzależniających”. Division of Cellular and Molecular Neuroscience, Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Sztokholm, Szwecja;

Powstałe w ramach współpracy publikacje:

1. Filip M, **Frankowska M**, Zaniewska M, Przegalinski E, Muller CE, Agnati L, Franco R, Roberts DSC, Fuxe K. Involvement of adenosine A_{2A} and dopamine receptors in the locomotor and sensitizing effects of cocaine. *Brain Res*. 2006, 1077, 67-80.
2. Ferraro L, Beggiano S, Marcellino D, **Frankowska M**, Filip M, Agnati LF, Antonelli T, Tomasini MC, Tanganelli S, Fuxe K. Nanomolar concentrations of cocaine enhance D₂-like agonist-induced inhibition of the K⁺-evoked [3H]-dopamine efflux from rat striatal synaptosomes: a novel action of cocaine. *J Neural Transm*. 2010, 117, 593-7.
3. Borroto-Escuela DO, Romero-Fernandez W, Tarakanov AO, Gómez-Soler M, Corrales F, Marcellino D, Narvaez M, **Frankowska M**, Flajolet M, Heintz N, Agnati LF, Ciruela F, Fuxe K. Characterization of the A(2a)R-D(2)R interface: focus on the role of the C-terminal tail and the transmembrane helices. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010, 402, 801-7.
4. Ferraro L, **Frankowska M**, Marcellino D, Zaniewska M, Beggiano S, Filip M, Tomasini MC, Antonelli T, Tanganelli S, Fuxe K. A novel mechanism of cocaine to enhance dopamine d₂-like receptor mediated neurochemical and behavioral effects. An in vivo and in vitro study. *Neuropsychopharmacology*. 2012, 37, 1856-66
5. Marcellino D, **Frankowska M**, Agnati L, Perez de la Mora M, Vargas-Barroso V, Fuxe K, Larriva-Sahd J. Intercalated and paracapsular cell islands of the adult rat amygdala: A combined rapid-Golgi, ultrastructural, and immunohistochemical account. *Neuroscience*. 2012, 226, 324-47.
6. **Frankowska M**, Marcellino D, Adamczyk P, Filip M, Fuxe K. Effects of cocaine self-administration and extinction on D₂-like and A_{2A} receptor recognition and D₂-like/G_i protein coupling in rat striatum. *Addict Biol*. 2013, 455-66.
7. Borroto-Escuela DO, Wydra K, Romero-Fernandez W, Zhou Z, **Frankowska M**, Filip M, Fuxe K. A_{2A}R Transmembrane 2 Peptide Administration Disrupts the A_{2A}R-A_{2A}R Homoreceptor but Not the A_{2A}R-D₂R Heteroreceptor Complex: Lack of Actions on Rodent Cocaine Self-Administration. *Int J Mol Sci*. 2019, 20(23), 6100. doi: 10.3390/ijms20236100.

Prace przeglądowe:

8. Fuxe K, Marcellino D, Borroto-Escuela DO, **Frankowska M**, Ferraro L, Guidolin D, Ciruela F, Agnati LF. The changing world of G protein-coupled receptors: from monomers to dimers and

- receptor mosaics with allosteric receptor-receptor interactions. *J Recept Signal Transduct Res.* 2010, 30, 272-83
9. Fuxe K, Borroto-Escuela DO, Marcellino D, Romero-Fernandez W, **Frankowska M**, Guidolin D, Filip M, Ferraro L, Woods AS, Tarakanov A, Ciruela F, Agnati LF, Tanganelli S. GPCR Heteromers and their Allosteric Receptor-Receptor Interactions. *Curr Med Chem.* 2012, 19, 356-63.
10. Wydra K, Gawliński D, Gawlińska K, **Frankowska M**, Borroto-Escuela DO, Fuxe K, Filip M. Adenosine A_{2A} Receptors in Substance Use Disorders: A Focus on Cocaine. *Cells.* 2020, 9(6), 1372. doi: 10.3390/cells9061372.

2015 – 2016 „Wpływ nowej pochodnej N-acetylocysteiny na nagradzające efekty kokainy oraz na nawrót indukowany wyzwalającą dawką kokainy lub bodźcem warunkowym u bulbektomizowanych szczurów”. Zakład Chemii Biologicznej Instytutu Nauk o Życiu, The Hebrew University of Jerusalem, Jerozolima, Izrael (współpraca nieformalna)

Współpraca zakończona zgłoszeniem patentowym

Powstałe w ramach współpracy publikacje:

1. Jastrzębska J, **Frankowska M**, Filip M, Atlas D. N-acetylcysteine amide (AD4) reduces cocaine-induced reinstatement. *Psychopharmacology.* 2016, 233, 3437-48.

2007 - 2009 „Udział neurotransmisji dopaminowej i układów opioidowych w efektach rozróżniających CP 55,940, agonisty receptorów kanabinoidowych CB1”. Division of Cellular and Molecular Neuroscience, Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Sztokholm, Szwecja.

Powstałe w ramach współpracy publikacje:

1. Marcellino D, Carriba P, Filip M, Borgkvist A, **Frankowska M**, Bellido I, Tanganelli S, Müller CE, Fisone G, Lluís C, Agnati LF, Franco R, Fuxe K. Antagonistic cannabinoid CB1/dopamine D2 receptor interactions in striatal CB1/D2 heteromers. A combined neurochemical and behavioral analysis. *Neuropharmacology.* 2008, 54, 815-23.

- Udział w realizacji projektów badawczych realizowanych w ramach współpracy z międzynarodowymi firmami:

- 2020 „Nowa generacja immunoterapii nowotworów oparta o aktywację odpowiedzi immunologicznej pacjentów”, badania przemysłowe i prace rozwojowe realizowane przez przedsiębiorstwa w ramach projektu Unii Europejskiej, Ryvu Therapeutics, Kraków Polska. Moja rola: kierownik badań
- 2013 - 2014 „Effects of acute and repeated agomelatine administration on the rewarding effects of cocaine as well as on cocaine-priming and discrete contextual cue induced relapses in bulbectomized rats”. Institut De Recherches Internationales Servier (I.R.I.S.), Suresnes Cedex, Francja; Kierownik projektu: Prof. dr hab. Małgorzata Filip i dr Małgorzata Frankowska.
- 2009 - 2013 „Kinaza białkowa ERK1/2 jako wewnątrzkomórkowy obiekt badań nad mechanizmem uzależnienia od kokainy i jako cel potencjalnej farmakoterapii tej choroby”. nr 2/1/VIII/2009, Polpharma. Kierownik projektu: Prof. dr hab. Małgorzata Filip. Moja rola: wykonawca
- 2005 - 2006 „Psychotropowe efekty endogennych kanabinoidów i ligandów receptorów kanabinoidowych”. Zakład Farmaceutyczny Solvay, Weesp, Holandia. Kierownik projektu: Prof. dr hab. Małgorzata Filip. Moja rola: wykonawca

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Popularyzacja nauki:

- wykłady wygłoszone na zaproszenie (po uzyskaniu stopnia doktora):

Frankowska M. „Co-existence of depression and cocaine addiction” Friedrich-Alexander-University of Erlangen-Nuremberg, Erlangen, Niemcy 2019 (wykład w języku angielskim);

Frankowska M. „Wyleczyć niewyleczalne – badania nad poszukiwaniem terapii uzależnień od kokainy”, Komitet Nauk Fizjologicznych i Farmakologicznych Polskiej Akademii Nauk, Warszawa, 2019 (wykład w języku polskim);

Frankowska M. „Wpływ środowiska na nawrót zachowań poszukiwawczych w modelu samopodawania substancji uzależniających” Boost Biotech Polska, Meet Biotech Kraków, 2018 (wykład w języku polskim);

Frankowska M. „Wpływ środowiska na nawrót zachowań poszukiwawczych w modelu samopodawania substancji uzależniających” Uzależnienia - wyzwanie dla współczesnych nauk medycznych, Uniwersytet Medycznym w Lublinie, 2018 (wykład w języku polskim);

Frankowska M. „Preclinical evaluation of the GABA_B receptor stimulation in comorbid cocaine use disorder and depression” GABA_B Receptor Conference: GABA_B Receptor and Addiction: Advances on Neural Bases and Pharmacology, University of Cagliari, Włochy, 2018 (wykład w języku angielskim).

- referaty w ramach kongresów/konferencji (po uzyskaniu stopnia doktora)

Frankowska M. „Alterations in brain D₂ and mGlu₅ receptor density during MDMA abstinence in different living conditio in rats” XIX Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego, Świnoujście, 2015 (referat w języku angielskim);

Frankowska M. „The role of GABA_B receptor in substance use disorder” The GABA-B receptor: from molecular to behavioral regulation. 5th Mediterranean Neuroscience Society, Santa Margherita di Pula, Sardynia, Włochy, 2015 (referat w języku angielskim);

Frankowska M. „Diffrent living conditions during cocaine abstinence change a density of mGlu₅ in brain limbic regions in rats” 19th International Medical Esperanto Congress and 1st Central European Biomedical Congress, Budapesz, Węgry, 2014 (referat w języku angielskim);

Frankowska M. „Alterations in density of mGlu₅ in rats during abstinence in different living condition” WPA Thematic Conference, Warszawa, 2014 (referat w języku angielskim);

Frankowska M. „Positive allosteric modulators at GABA_B receptors as ligands of future to treat depression” XVIII Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego, Kazimierz Dolny, 2013 (referat w języku angielskim);

Frankowska M. „Co-existence of depression and cocaine addiction: influence of olfactory bulbectomy on cocaine rewarding effects, extinction and drug seeking behavior in rats exposed to intravenous cocaine self-administration” 18th International Medical Esperanto Congress, Opava, Czechy 2012 (referat w języku angielskim).

Dodatkowo:

- referaty w ramach Dni Neuropsychofarmakologiczne organizowanych przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Ustroń-Jaszowiec ogłoszone w latach 2005, 2006 (przed uzyskaniem tytułu doktora), 2008, 2012 (po uzyskaniu stopnia doktora);
- referat ogłoszony przed uzyskaniem tytułu doktora w roku 2007 podczas XVI International Symposium of Polish Network of Molecular and Cellular Biology UNESCO/PAN “Molecular and physiological aspects of regulatory processes of the organism”, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie (referaty w języku polskim), oraz referat podczas ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe, Nicea, Francja (referat w języku angielskim);
- wykład ogłoszony podczas Szkoły Zimowej organizowanej przez Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk na drugim roku studiów doktoranckich (2005);
- referaty w ramach spotkań naukowych w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w liczbie 12 obejmujące 4 referaty przed uzyskaniem tytułu doktora (2004-2007) i 8 po (2008-2019), oraz ogłoszenie 1 wykładu monograficznego (2020).

Udział w organizacji imprez naukowych

- organizator i współprzewodnicząca sesji:
 1. „Depression” 18th International Medical Esperanto Congress, Opava, Czechy (2012)
 2. „Depression” 19th International Medical Esperanto Congress Budapeszt, Węgry (2014)
 3. „Emerging concepts in dopaminergic system development and regulation” 5th Zjazdu Mediterranean Neuroscience Society, Santa Margherita di Pula, Sardinia, Włochy (2015)
 4. „Neurobiology of Addiction” Neuronus IBRO, Kraków (2020)
 5. „Genes affect your risk for addiction” 4th Central European Biomedical Congress, Kraków (2021)
- członek komitetu organizacyjnego Central European Biomedical Congress w Krakowie (2016, 2018, 2021) – współorganizator sesji naukowych, pozyskanie środków finansowych, organizacja formalna kongresu.

Promotor pomocniczy prac doktorskich

- 2014 – 2019 dr Joanna Jastrzębska. Tytuł pracy: „Wpływ leków przeciwdepresyjnych na uzależniające działanie kokainy u zwierząt z doświadczalną depresją”. Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk. Obrona: 5 kwiecień 2019 r.; nadanie z wyróżnieniem tytułu doktora 24 kwiecień 2019 r.;
- 2015 – 2020 dr Dawid Gawliński. Tytuł pracy: „Dieta matki w czasie ciąży i karmienia jako czynnik zwiększający ryzyko uzależnienia od kokainy u potomstwa - przedkliniczne badania behawioralne i neurochemiczne nad rolą receptorów melanokortynowych typu 4 w mózgu u szczurów”. Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk. Obrona: 9 czerwiec 2020 r.; nadanie z wyróżnieniem tytułu doktora 2 lipca 2020 r.;
- 2019 – obecnie mgr Paweł Grochecki. Tytuł pracy: „Wpływ podawania mefedronu w okresie młodzieńczym na fenotyp osobników dorosłych: Rola metaloproteinazy-9 (MMP-9) w działaniu mefedronu”. Uniwersytet Medyczny, Lublin – otwarty przewód doktorski.

Promotor pacy magisterskiej

- 2018 – 2019 mgr Paulina Surówka. Tytuł pracy: „Wpływ inhibitora β -hydroksylazy dopaminy na nagradzające efekty morfiny w modelu jej dożylnego samopodawania”. Wydziału Biotechnologii Uniwersytet Rolniczy w Krakowie. Obrona: 18 lipca 2019 r.

Opiekun praktyk studenckich, staży

- opieka naukowa w ramach programu ERASMUS: **Giuseppe Giannotti** (2014; Uniwersytet w Mediolanu, Włochy); **Andrea Celeste Borelli** (2014, 2015; Uniwersytet w Ferrarze, Włochy); **Laura Tiozzo Fasiolo** (2015; Uniwersytet w Ferrarze, Włochy);
- opieka naukowa w ramach programu ERASMUS Plus: **Sara Gamberini** (2019; Uniwersytet w Ferrarze, Włochy)(współopiekun mgr Kinga Gawlińska);
- opieka w ramach praktyk studenckich: **Paulina Surówka** (2017; Wydziału Biotechnologii Uniwersytet Rolniczy); **Natalia Malikowska, Anna Grzywa, Dawid Gawliński** (2013; Wydział Farmaceutyczny Uniwersytet Jagielloński Collegium Medikum); **Kamil Pradel** (2013; Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi, Kierunek Neurobiologia, Uniwersytet Jagielloński); **Justyna Natkaniec** (2012, Wydziału Zootechniki Uniwersytet Rolniczy);
- opieka naukowa stażu szkoleniowego w ramach podnoszenia kwalifikacji zawodowej: **dr Barbara Budzyńska i dr Anny Boguszewska-Czubara** (2014; Uniwersytet Medyczny Lublin).

Nagrody i wyróżnienia

- Zespołowa Nagroda Naukowa Wydziału V Nauk Medycznych Polskiej Akademii Nauk za cykl prac opublikowanych w czasopiśmie o wysokim współczynniku wpływu

dotyczące przedklinicznych badań mechanizmów powstawania uzależnień od kokainy i nikotyny, 2010.

- Uzyskanie dyplomu studiów podoktoranckich, Karolinska Institutet, Sztokholm, Szwecja, 2011.
- Nagroda „QUANTITAS and QUALITAS” przyznawana z funduszu KNOW za prace naukowe opublikowane w latach 2013-2016 przez autorów zatrudnionych w Instytucie Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.
- Nagroda przyznawana z funduszu NAWA program PROM na sfinansowanie wyjazdu konferencyjnego, 2018
- Nagroda przyznawana z funduszu KNOW na sfinansowanie krótkoterminowego wyjazdu zagranicznego na Uniwersytet Medyczny w Południowej Karolinie, Zakład Badań Układu Nerwowego, kierownik Prof. Peter Kalivas, 2018.

Nagrody stypendialne

- Stypendium naukowe fundacji Torsten och Rangnar Söderbergs Foundation, finansujący 2 letni staż w Instytucie Karolinska, Sztokholm, Szwecja, 2009
- Krajowe stypendium naukowe dla młodych naukowców Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (program START), Warszawa, 2008
- Stypendium konferencyjne: *NIDA mini-convention: Frontiers in Addiction Research, CPDD/NIDA*, Atlanta, Stany Zjednoczone, 2006; *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe*, Nicea, Francja, 2007.
- Stypendium konferencyjne *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe*, Nicea, Francja, 2006

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

Powołanie na członka

- Powołanie przez Dyrektora Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk na członka Komisji Dobrostanu Zwierząt w Instytucie, 2018-obecnie
- Powołanie przez Radę Naukową Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk na Przedstawiciela Asystentów i Adiunktów zatrudnionych w Instytucie, 2015-2018.

Zgłoszenie patentowe

2016 U.S. Application Number 62 321 323: N-Acetylcysteine-amide (AD4) for the treatment of substance use disorder. Autorzy: **Małgorzata Frankowska**, Joanna Jastrzębska, Małgorzata Filip, Daphne Atlas.


.....
(podpis wnioskodawcy)