

Streszczenie pracy doktorskiej

Tytuł: Ośrodkowe zmiany transkryptomu pod wpływem wybranych substancji uzależniających

Doktorant: Marcin Piechota

Promotor: prof. dr hab. Ryszard Przewłocki

Zakład: Neurofarmakologii Molekularnej

Jednorazowe podanie substancji uzależniających inicjuje molekularne i komórkowe zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym. W tych wywołanych podaniem substancji zmianach uczestniczy regulacja transkrypcji genów, która prowadzi do syntezy nowych białek. Dlatego jednym z najważniejszych celów badań uzależnień lekowych jest określenie zmian ekspresji genów w specyficznych strukturach mózgu, które związane są z działaniem substancji uzależniających.

Celem niniejszej pracy było poznanie obrazu zmian transkryptomu prądkowia myszy po podaniach jednorazowym oraz przewlekłym wybranych substancji uzależniających, wskazanie genów charakterystycznych dla działania substancji uzależniających oraz poznanie dynamiki zmian transkrypcji zachodzących w układzie nerwowym pod wpływem tych podań. Do badań wybrano zarówno te substancje uzależniające, które są w powszechnym użyciu, etanol oraz nikotynę, jak i te, które prowadzą do narkomanii, kokainę, metamfetaminę, heroinę oraz morfinę. W badaniach nad zmianami transkrypcji po podaniu jednorazowym wykorzystano wszystkie ze wskazanych substancji uzależniających. Natomiast do badań nad chronicznymi efektami substancji uzależniających wykorzystano metamfetaminę oraz heroinę.

Wykonane badania pozwoliły na identyfikację 42 transkryptów regulowanych w

prążkowiu myszy przez jednorazowe podanie substancji uzależniających. Transkrypty te rozdzielono na dwa główne moduły transkrypcyjne: geny wczesnej odpowiedzi komórkowej (np. Fos, Npas4, Arc) oraz geny zależne od receptora glikokortykoidowego (np. Fkbp5, S3-12, Xdh).

Wykorzystując antagonistę receptora dopaminowego D1 oraz inhibitor kinaz MEK po raz pierwszy wykazano udział receptora dopaminowego D1 oraz szlaku kinaz MAP w regulacji wszystkich genów wczesnej odpowiedzi komórkowej po podaniu kokainy. Przy pomocy metod bioinformatycznych potwierdzono także udział czynników transkrypcyjnych CREB oraz SRF w tej regulacji.

Przy wykorzystaniu antagonistów receptora kortykoliberyny oraz receptora glikokortykoidowego wskazano na możliwy udział aktywacji osi przysadka-podwzgórze-nadnercze w regulacji ekspresji wybranych genów po jednorazowym podaniu etanolu. Przy pomocy metod bioinformatycznych wskazano także na udział receptora glikokortykoidowego w tym procesie.

Wykonane badania pozwoliły także na identyfikację 33 transkryptów o zmienionej ekspresji w prążkowiu myszy w trakcie przewlekłych podań heroiny lub metamfetaminy oraz odstawienia tych substancji. Pomimo tego, że metamfetamina oraz heroina wykazują relatywnie różny profil zmian transkryptomu po jednorazowym podaniu, to po ich chronicznych podaniach dochodziło do podobnych zmian. Zarówno heroina, jak i metamfetamina wywoływały zmiany w poziomie genów cyklu okołodobowego (np. Gm129, Dbp, Per1, Per2). Chroniczne podania heroiny lub metamfetaminy wywoływały także indukcję genów zależnych od receptora glikokortykoidowego o długim czasie półtrwania (np. Fkbp5, Plin4). Ponadto, obydwie badane substancje indukują też geny, których ekspresja jest charakterystyczna dla jądra półleżącego przegrody (np. Pdyn, Cartpt).

Zmiany ekspresji genów wywołane wielokrotnymi podaniami heroiny lub

metamfetaminy wracały do poziomu kontroli w okresie odstawienia tych substancji. Z drugiej strony, w tym samym okresie odstawienia odpowiedź behawioralna (aktywność ruchowa) na lek uległa nasileniu. Badania te wskazują na brak prostej korelacji pomiędzy poziomem ekspresji genów a zachowaniem. Uzyskane wyniki sugerują także, że przynajmniej w prążkowiu zmian odpowiedzialnych za zachowanie należy być może szukać na poziomach innych niż transkrypcja.

Uzyskane wyniki stanowią podstawę do przeprowadzenia kolejnych eksperymentów, analizujących znaczenie zmian ekspresji zidentyfikowanych genów dla działania ośrodkowego układu nerwowego a geny zidentyfikowane w przeprowadzonych eksperymentach już obecnie stanowią listę potencjalnych kandydatów do badań funkcjonalnych.