

Promotor: Prof. Dr hab. Ryszard Przewłocki

Recenzent 1: Prof. Dr hab. Jerzy Vetulani

Recenzent 2: Prof. Dr hab. Bogdan Sadowski

Tytuł pracy doktorskiej:

„Znaczenie genotypu dla zachowań związanych z uzależnieniem lekowym”

Streszczenie.

Uzależnienie to choroba ośrodkowego układu nerwowego o nie do końca poznanej etiologii. Wśród czynników ryzyka zwiększających zapadalność na tę chorobę wymienia się zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe. Istnieje duża potrzeba poszukiwania neurobiologicznych podstaw jej powstawania jak również poznania mechanizmów związanych z oddziaływaniem czynników środowiskowych. Badania u ludzi nie mogą być szeroko prowadzone z powodów etycznych. Z drugiej strony, jeśli są przeprowadzane to nie przynoszą jednoznacznych danych z powodu genetycznej heterogenności populacji jak i zróżnicowaniu narzędzi badawczych. Próba przezwyciężenia wymienionych trudności są badania z użyciem genetycznych modeli zwierzęcych prowadzone w celu wyodrębnienia dziedziczonych cech fenotypowych współwystępujących z podatnością na uzależnienia.

Celem niniejszej pracy była próba identyfikacji endofenotypów uzależnienia. Do badań wykorzystano szczepy myszy wsobnych, które z jednej strony wykazują zróżnicowaną odpowiedź behawioralną na substancje uzależniające, a z drugiej zapewniają jednorodność genetyczną w obrębie pojedynczego szczepu. U wybranych szczepów myszy wsobnych (C57Bl/6J, DBA/2J, SWR/J, 129P3/J) dokonano pomiaru ponad 50 cech fenotypowych związanych z podstawowymi cechami zachowania oraz odpowiedzią na substancje uzależniające takie jak morfina, heroina i alkohol. Badania te umożliwiły wskazanie cech współwystępujących z wrażliwością na substancje uzależniające i podatnością na uzależnienia w modelach: sensytyzacji, warunkowej preferencji miejsca, tolerancji, zespołu odstawienia, instrumentalnego samopodawania i nawrotu po okresie abstynencji. W kolejnych badaniach zbadano wpływ wzbogaconego środowiska oraz stresu na cechy zachowania związane z podatnością na uzależnienie. Badania te umożliwiły wskazanie szczepu, który pod wpływem stresu wykazuje zwiększoną podatność na uzależnienia. Ponadto, podjęto próbę analizy

współwystępowania poziomu ekspresji podjednostek alfa 1 i alfa 2 receptora GABA_A w ciele migdałowatym i prążkowie z behawioralnym fenotypem podatności na uzależnienie.

W niniejszej pracy wykazano występowanie różnic międzyszczepowych w aktywności lokomotorycznej, wrażliwości na bodźce nagradzające, zachowaniach związanych z lękiem, depresją, uczeniem się, pamięcią i motywacją. Scharakteryzowano również różnice pomiędzy szczepami w nabywaniu sensytyzacji, warunkowej preferencji miejsca, opioidowej tolerancji i zespołu odstawienia, jak również instrumentalnego samopodawania alkoholu i nawrotu.

Wykazano, że myszy szczepu C57BL/6J, w porównaniu do myszy DBA/2J, SWR/J i 129P3/J, są szczególnie podatne na działanie morfiny. Dotyczy to zarówno aktywności lokomotorycznej jak i rozwoju sensytyzacji psychomotorycznej, tolerancji czy zespołu odstawienia. W porównaniu do innych badanych szczepów, myszy C57BL/6J są wysoce wrażliwe na nagradzające działanie morfiny i heroiny, a mało wrażliwe na działanie awersyjne naloksonu. Myszy C57BL/6J, w porównaniu do innych szczepów, pobierają więcej alkoholu oraz dochodzi u nich do wzmożenia picia po okresie abstynencji. Wysokiej podatności na działanie substancji uzależniających towarzyszyły takie cechy zachowania jak duża pobudliwość i „plastyczność” zachowania (aktywność lokomotoryczna w nowym środowisku, rozwój sensytyzacji oraz uczenie się zachęty), duża wrażliwość na bodźce nagradzające, ale umiarkowany poziom zachowań związanych z lękiem, uczeniem się i pamięcią, strachem czy stresem. Myszy te charakteryzuje również wysoki poziom GABRA1 ale niski GABRA2 w ciele migdałowatym i prążkowie. Wyniki te wskazują, że myszy szczepu C57BL/6J charakteryzują się szczególną podatnością na uzależnienie wynikające z uwarunkowanej genetycznie wrażliwości na behawioralne efekty substancji uzależniających i bodźców nagradzających.

Myszy DBA/2J cechuje mała wrażliwość na działanie opioidów oraz alkoholu. Towarzyszy jej mała pobudliwość i „plastyczność” zachowania, oraz mała wrażliwość na bodźce nagradzające. Z drugiej strony myszy DBA/2J charakteryzuje wzmożona odpowiedź na bodźce awersyjne oraz nasilenie negatywnej emocjonalności (zespół cech związanych z nasileniem zachowań związanych z lękiem i stresem i małą aktywność). Myszy te charakteryzuje również niski poziom GABRA1 ale wysoki GABRA2 w ciele migdałowatym i prążkowie. Co interesujące, stres izolacji zwiększał wrażliwość tych myszy na nagradzające działanie morfiny w teście warunkowej preferencji, jak również obniżał poziom GABRA2 w ciele migdałowatym i prążkowie. Rezultaty te mogą wskazywać, że szczep DBA/2J reprezentuje fenotyp podatności na uzależnienie związany z oddziaływaniem stresu i środowiska.

Myszy SWR/J to szczep podatny na rozwój zależności fizycznej, ale mało wrażliwy na rozwój opiodowej sensytyzacji psychomotorycznej oraz warunkowej preferencji miejsca. Szczep ten charakteryzuje się stosunkowo niską pobudliwością behawioralną i wrażliwością na bodźce awersyjne, małą „plastycznością” zachowania, niskim poziomem zachowań związanych z lękiem, depresją, uczeniem się i pamięcią, strachem czy stresem. Myszy te wykazują również niski poziom samopodawania alkoholu w klatce IntelliCage. Szczep ten wykazuje więc umiarkowaną podatność na uzależnienie.

Myszy 129P3/J charakteryzuje nasilenie zachowań związanych z lękiem, depresją, uczeniem się i pamięcią, stresem czy uczeniem się zachęt. U tych myszy obserwowano rozwój sensytyzacji psychomotorycznej po morfinie ale małą wrażliwością na motywacyjne właściwości opiodów, jak i rozwój tolerancji czy zespołu odstawienia. Biorąc pod uwagę powyższe, szczep ten wykazuje umiarkowaną podatność na uzależnienie wynikającą z słabszej reakcji na nagradzające właściwości opiodów niż na inne bodźce nagradzające.

Nasze wyniki wskazują, że nasilenie określonych cech fenotypowych współwystępuje z wysoką wrażliwością na działanie substancji uzależniających. Cechy wykazujące dodatnią korelację z wrażliwością na te substancje to **(1)** aktywność lokomotoryczna, **(2)** preferencja słodkiego smaku, **(3)** poszukiwanie sensacji, ale również **(4)** depresyjność, **(5)** uczenie się zachęt czy **(6)** poziom *Gabra1*. Z kolei cechy ujemnie korelujące z wrażliwością na substancje uzależniające to **(1)** reakcja na stres i bodźce awersyjne, **(2)** zachowania związane z lękiem, czy **(3)** poziom *Gabra2* w prążkowiu. Cechy te mogą składać się na endofenotyp uzależnienia. Nasze badania pokazują również, że stres izolacji wywołuje zwiększenie aktywności eksploracyjnej i wrażliwości na nagradzające właściwości morfiny oraz obniżenie poziomu GABRA2 w ciele migdałowatym i prążkowiu u myszy DBA/2J ale nie C57Bl/6J. Wyniki te mogą świadczyć, że stres izolacji zwiększa podatność na uzależnienia w sposób zależny od genotypu.