

Wojciech Kostowski

TRWAŁY I NAWROTOWY CHARAKTER UZALEŻNIENI: POSZUKIWANIE PODŁOŻA NEURONALNEGO I MOLEKULARNEGO

WSTĘP

Cechą charakterystyczną organizmów żywych jest zdolność przystosowania się do różnych sytuacji. Reakcją na powtarzające się różnego typu sygnały i bodźce są procesy adaptacyjne zachodzące w komórkach i zmieniające funkcję narządów i układów. Szczególne zdolności w tym kierunku wykazuje układ nerwowy, a procesy adaptacyjne w nim zachodzące są odpowiedzialne za wiele zjawisk korzystnych dla życia i przetrwania w zmieniających się warunkach. Niekiedy jednak mogą okazać się niekorzystne, zwłaszcza gdy prowadzą do utrwalenia się procesów dla organizmu niekorzystnych i szkodliwych. Dotyczy to także reakcji adaptacyjnych powstających w reakcji na działanie wielu środków psychoaktywnych, szczególnie tych, które wywołują uzależnienie.

Uzależnienie lekowe jest przewlekłym i nawracającym zespołem obejmującym zaburzenia psychiczne i somatyczne o bardzo złożonej etiologii i zróżnicowanym obrazie klinicznym (patrz 1, 11). Zasadniczą cechą wspólną dla uzależnień wywołanych różnymi środkami farmakologicznymi (alkohol, opiaty, środki psychostymulujące i in.) jest utrata kontroli nad procesami zachowania polegająca na kompulsywnym poszukiwaniu kontaktu ze środkiem uzależniającym i jego pobieraniu (spożyciu). Reakcja ta może nawracać nawet po długich okresach abstynencji (nawrót, relapse). Charakter zmian w zachowaniu dowodzi zaburzenia procesów motywacyjnych i emocjonalnych i dotyczy popędów (drives), które rządzą czynnościami (odruchami) przygotowawczymi (zwanymi też odruchami napędowymi, patrz 22, 39) oraz emocji, czyli subiektywnych doznań związanych z popędami. Popędy mają charakter torujący w odniesieniu do układów neuronalnych i zawiadują, jak wspomniano, czynnościami przygotowawczymi. Czynności prowadzące do kontaktu z bodźcem, a więc

odruchy apetytywne, prowadzą do fazy drugiej, konsumacyjnej (spełniającej). Są to często sztywne ciągi i „pakiety” reakcji behawioralnych przechowywane w systemach neuronalnych, jest więc oczywiste, że ich powstawanie i odtwarzanie związane jest także z udziałem mechanizmów pamięciowych. Trwałość procesu i jego zdolność do nawracania są cechami szczególnymi w patomechanizmie uzależnienia, z tego względu stanowią przedmiot intensywnych badań laboratoryjnych i klinicznych.

Długotrwałość powstałego procesu związana jest z charakterem bodźca, który go indukuje i sytuacją, w której bodziec ten działa. Środki uzależniające mają niewątpliwie właściwość wywoływania reakcji i zaburzeń w zachowaniu o charakterze długotrwałym i nawracającym, chociaż nie jest to oczywiście wyłączną ich cechą. Wiadomo doskonale, że nabyte i wyuczone doświadczenia związane z interakcją organizmu z otaczającym środowiskiem są często bardzo trwałe a wytworzone wzorce zachowania mogą być odtwarzane w odpowiednich sytuacjach nawet po długim czasie. Dotyczy to zarówno działania bodźców (sygnałów) wzmacniających, które mają zabarwienie pozytywne (nagradzające, np. pokarm) jak i awersyjne (negatywne, np. ból, strach). Wzmocnienie może mieć także charakter negatywny, czyli polegać na usunięciu konkretnego sygnału zagrażającego i awersyjnego (np. przez naciśnięcie na dźwignię zwierzę laboratoryjne zapobiega działaniu bodźca elektrycznego wywołującego ból). Wzmocnienie łączy się zatem z wytworzeniem związku sygnał – reakcja i zwrotnie utrwała reakcję poprzedzającą bodziec bezwarunkowy, wzmacniający (np. poszukiwanie pokarmu – w formie naciskania na dźwignię uruchamiającą podajnik z pokarmem).

Natura wzmocnienia odgrywa niewątpliwie podstawową rolę w charakterze reakcji, którą indukuje. Zgodnie z koncepcją Hulla (18) wzmocnienie polega na redukcji popędu (głodu, pragnienia, popędu seksualnego, popędu ciekawości, strachu itd.), inni badacze z kolei (N. E. Miller) zasadniczą rolę przypisują „uruchomieniu” (GO mechanism) ogólnych procesów aktywacyjnych, prowadzącemu do intensyfikacji aktualnej reakcji (39).

Natura neurobiologiczna uzależnień: zaburzenie układu motywacji

Bodziec o zabarwieniu pozytywnym czyli nagradzający (nagroda) indukuje, jak wspomniano, dwufazową reakcję – przygotowawczą (nakierowaną na bodziec) i konsumacyjną (spełniającą). Subiektywnie stwarza odczucie komfortu, czyli ma charakter hedonistyczny. Może także wtórnie wzmacniać sygnały pierwotnie obojętne nadając im charakter substytutu nagrody, o ile zostaną one skojarzone z bodźcem wzmacniającym. Jest to niezwykle ważny mechanizm prowadzący do działania wtórnych wzmocnień (second reinforcers) i nadający różnego typu sygnałom niezwykle istotne znaczenie w rozwoju i utrwalaniu a także nawracaniu wytworzonych reakcji. Natura bodźca wzmacniającego leży więc u podstaw złożonego ciągu procesów prowadzących do stanu zaburzenia motywacji określanego jako uzależnienie (dependence). Jak wspomniano, zasadniczą cechą tego stanu jest utrata kontroli nad procesami zachowania, przymus poszukiwania kontaktu z narkotykiem i nawracający charakter zaburzenia, stąd też określenie „chronic relapsing state” (27).

Uzależnienie rozumiane jako zaburzenie funkcji układów motywacyjnych, niekoniernie jest równoznaczne z dysfunkcją układu nagrody. Dążenie do kontaktu z narkotykiem nie musi być skorelowane z siłą jego działania nagradzającego, wiadomo np., że długotrwale przyjmowanie kokainy lub picie alkoholu prowadzi do rozwoju tolerancji na takie działanie (3, 28), jednocześnie osoby uzależnione coraz bardziej koncentrują całą swoją uwagę i działanie na ponownym zdobyciu narkotyku. Wskazuje to na patologię systemu motywacyjnego, świadczyć może również o wzmożeniu oddziaływań bodźców warunkowych kojarzonych z substancją uzależniającą. Wzrost wartości motywacyjnych a nie siły działania rozumianej bardziej wąsko w kategoriach „nagrody”, może mieć zatem znaczenie dla rozwoju uzależnienia (8, 24). Takie rozumienie uzależnienia jest zgodne z coraz częściej akceptowaną koncepcją sensytyzacji procesów motywacyjnych przedstawioną w roku 1993 przez Robinsona i Berridge'a (38). Działanie „nagradzające” jako pojęcie mało precyzyjne wielu badaczy zastępuje chętnie pojęciem „wzmocnienie pozytywne” (positive reinforcement) określonego bodźca (1, 43). Rozumie się przez nie wzrost prawdopodobieństwa reakcji behawioralnej nakierowanej na kontakt z bodźcem i poprzedzającej jego „skonsumowanie” (25). Ilustracją takiego działania jest np. reakcja preferencji miejsca (place preference), polegająca na wyborze przez zwierzę miejsca (pomieszczenia), w którym otrzymuje wzmocnienie (patrz np. 3 i 4) oraz reakcja samo-podawania leku (self-administration). W procedurze tej, opartej na warunkowaniu instrumentalnym, zwierze aktywnie aplikuje sobie (np. dożylnie) lek przez naciśnięcie na specjalnie skonstruowaną dźwignię. Liczba naciśnień a więc wykonana praca, którą zwierzę jest gotowe zrealizować, aby otrzymać porcję leku, jest miarą działania pozytywnie wzmocniającego, czyli „nagradzającego” (26, 43).

Działanie pozytywnie wzmocniające jest, tak jak w wypadku wielu bodźców naturalnych, istotnym (jeśli nie kluczowym) procesem powiązanim z uzależnieniem, nie jest jednak mechanizmem jedynym. Uzależnienie jest, jak wspomniano, zaburzeniem układów motywacji i wywoływaniem określonych stanów motywacyjnych (sensytyzacja „zachęt” wg koncepcji Robinsona i Berridge), uczestniczą w nim także procesy ogólnej aktywacji i oczywiście, mechanizmy uczenia. Trwałość powstałych zmian i ich zdolność do ponownego ujawniania się (nawroty) stanowią jednak główny problem zjawiska – tak z medycznego jak społecznego punktu widzenia. Musimy jednak zauważyć, że nawet ta cecha nie jest wyłączną, specyficzną naturą uzależnienia, raz zapamiętane odruchy i ciągi reakcji związane z sygnałami naturalnymi również mogą mieć charakter trwały i być odtwarzane w określonych sytuacjach. Wynika stąd konieczność przyjęcia strategii badawczej mającą na celu porównanie i charakteryzowanie działań „nagród” naturalnych indukowanych farmakologicznie przez środki uzależniające.

Sensytyzacja a działanie środków uzależniających

Ważną cechą wielu silnych środków psychotropowych, w tym zwłaszcza uzależniających, jest zdolność wywoływania sensytyzacji, czyli stopniowego zwiększania pewnego typu reakcji na lek (42). Proces ten może mieć zdaniem wielu badaczy

istotne znaczenie w mechanizmie rozwoju uzależnienia, chociaż przyznać trzeba, że jest lepiej poznany i określony w warunkach laboratoryjnych niż klinicznych, gdzie przeciwnie, często obserwuje się rozwój tolerancji na wiele działań, nawet na działania nagradzające. Zjawisko sensytyzacji może jednak być, do pewnego przynajmniej stopnia, może w sposób pośredni, powiązane z długotrwałością zaburzeń behawioralnych i nawrotowością reakcji związanych z działaniami wielu środków uzależniających, dlatego zasługuje na uwagę i bliższe poznanie.

Sensytyzacja występuje, jeśli podanie leku jest sygnalizowane i jeśli ma charakter przerywany (porcjowany). Jest związana z bodźcami o zabarwieniu pozytywnym i aktywującym, nie występuje przy podawaniu środków sedatywno-nasennych np. barbituranów i zostaje zahamowana, jeśli przed bodźcem „pozytywnym” pojawi się sygnał o zabarwieniu negatywnym. Przykładem sensytyzacji może być stopniowe nasilanie aktywacji lokomotorycznej u szczurów po podaniu kolejnych dawek amfetaminy i innych środków psychostymulujących a także nasilanie ich nagradzającego działania jak też działania opiatów (patrz 20, 38). Wykazano także krzyżową sensytyzację między opiatami i psychostymulantami, również podawanie alkoholu prowadzi do behawioralnej sensytyzacji na opioidy (lecz nie na amfetaminę) (31).

Środki psychostymulujące wpływają w charakterystyczny sposób na procesy neuroprzekaznictwa nasilając przede wszystkim neurotransmisję w różnych grupach neuronów wytwarzających dopaminę (DA), czyli w neuronach dopaminergicznych (13, 37). Sensytyzacja pojawia się w wielu strukturach mózgu, szczególnie w układzie dopaminergicznych neuronach układu mezolimbicznego i w prążkowi. Układ dopaminergiczny mezolimbiczny jest przez wielu autorów wiązany z działaniem nagradzającym (8, 10, 23, 24, 49). Komórki neuronów DA znajdują się w brzusznej obszarze nakrywki śródmózgowia (ventral tegmental area, VTA) a ich włókna osiowe docierają do obszarów korowych i limbicznych. Sensytyzacja w tym układzie polega na nasileniu aktywności bioelektrycznej neuronów VTA i zwiększeniu uwalniania DA w strukturach docelowych, zwłaszcza w jądrze półleżącym (nucleus accumbens). Rolę neuronów DA w obszarze VTA ilustrować może doświadczenie, w którym szczurom podawano amfetaminę do tej struktury. Zabieg ten, jakkolwiek sam nie zmieniał wyraźnie zachowania zwierząt, prowadził do silnej sensytyzacji na działania podanych następnie ogólnie amfetaminy a także morfiny i kokainy (47).

Należy się zastrzec, że działania na układ dopaminergiczny i związanej z tym sensytyzacji nie można jednoznacznie utożsamiać z efektem nagradzającym. O ile związek taki może być bardziej ścisły w wypadku psychostymulantów, to w wypadku opioidów i alkoholu jest mniej pewny, chociaż wiadomo, że uwalnianie DA, nie tylko bezpośrednio, lecz z udziałem innych układów, w tym glutaminowego i GABAergicznego jest faktem często opisywanym (1, 8, 16, 21).

Zagadką zjawiska sensytyzacji pozostaje wciąż to, że jako specyficzna zmiana zachowania badanych zwierząt laboratoryjnych utrzymuje się długotrwale (przez miesiące) wszelkie dotychczas poznane zmiany adaptacyjne na poziomie komórkowym są natomiast krótkotrwałe. Prowadzone są więc intensywne badania w kierunku znalezienia takich zmian, które korelują w czasie z zaburzeniami behawioralnymi

mi. Komórkowe i molekularne podłoże sensytyzacji jest wciąż jednak bardzo słabo poznane. Pewne znaczenie mogą mieć, jak się przypuszcza, zmiany adaptacyjne w receptorach dopaminergicznych. Na przykład stwierdzono, że powtarzane podawanie psychostymulantów zwiększa wrażliwość postsynaptycznych receptorów dopaminergicznych D1 w prążkowie (pobudzenie tych receptorów prowadzi do hyperpolaryzacji i zahamowania aktywności pewnej grupy komórek). Zwraca się też uwagę na spadek wrażliwości autoreceptorów D2 w obrębie VTA (autoreceptory te hamują aktywność bioelektryczną neuronów i tym samym osłabiają przekazywanie dopaminergiczne) (patrz 16). Sensytyzacja na morfinę może wiązać się ze stwierdzonym wzrostem ekspresji receptorów typu AMPA dla kwasu glutaminowego, wykazano też, że wprowadzenie do obszaru VTA genu kodującego te receptory prowadzi do zwiększenia nagradzającego działania morfiny (patrz 16).

Związek sensytyzacji z uzależnieniem: rozbieżności w badaniach laboratoryjnych i klinicznych

Jak wspomniano, sensytyzację obserwuje się w wielu modelach i badaniach laboratoryjnych, jej znaczenie w procesie uzależnienia u ludzi, ze względu na złożoność tego procesu, jest znacznie trudniejsza do jednoznacznej oceny. Uderza przy tym szczupłość badań klinicznych odnoszących się do udziału sensytyzacji w rozwoju uzależnienia, nawet w wypadku uzależnienia od środków psychostymulujących, a więc tych, które w badaniach eksperymentalnych na zwierzętach wywołują wiele objawów sensytyzacji. Ostatnio opublikowano wyniki badania, w którym pacjenci dokonywali samooceny zmian nastroju przy jednoczesnym monitorowaniu częstości rytmu serca i ciśnienia tętniczego po kolejnych dawkach d-amfetaminy. Nie wykazano jednak żadnych wyraźnych zmian w reakcjach na następujące po sobie dawki, przeciwnie, donoszono o powstaniu nieznacznej tolerancji 48 godzin po pierwszej ekspozycji na lek (48). Proces sensytyzacji u ludzi oraz ten obserwowany w warunkach doświadczalnych, np. u gryzoni, odnosić się może do innych parametrów behawioralnych i psychologicznych, konieczne są zatem dalsze badania pozwalające na jego precyzyjne określenie i pomiar.

Obserwując jednak proces sensytyzacji w warunkach modelowych można zauważyć, że znaczenie jego polega nie tylko na stopniowym nasilaniu działania leku, lecz na utrwalaniu i nawrotowości reakcji (odruchów) apetytywnych z tym lekiem związanych. Czy zatem sensytyzacja może być w pewnych sytuacjach istotnym czynnikiem warunkującym reakcje apetytywne związane z poszukiwaniem środka uzależniającego (drug seeking behavior)? Niektórzy badacze starają się znaleźć szczególnie związek sensytyzacji z nawrotami wykazując, że nawroty wywołują tylko te związki, np. agoniści receptora D2, które zdolne są do wywołania sensytyzacji (46). Agoniści receptora D2, lecz nie agoniści receptora D1 naśladują efekt środków uzależniających pod względem zdolności powodowania sensytyzacji. Takie właściwości wykazuje na przykład dość selektywny agonista D2 kwinpirol (quinpirole) (7, 41). Wyniki te sugerują, że sensytyzacja neuroprzekazywania dopaminergicznego mezolimbicz-

nego może być ważnym warunkiem wystąpienia nawrotu, przynajmniej w badanych modelach doświadczalnych (38, 40).

Układ cyklicznego AMP i kinazy białkowe

Cyklaza adenylanowa powodująca przekształcenie adenozyntrifosforanu (ATP) w cykliczny 3,5-adenozynomonofosforan (cAMP) jest kluczowym enzymem uczestniczącym w przetwarzaniu sygnałów docierających do komórki na sygnały rozpoznawane we wnętrzu komórki, prowadzące do konkretnych reakcji wykonawczych (np. skurcz mięśnia, sekrecja hormonu itd.). Ważnym ogniwem wewnątrzkomórkowym jest kinaza białkowa aktywowana przez cAMP (czyli „zależna” od cAMP) określana jako PKA (protein kinase cAMP-dependent). Zjawiskiem towarzyszącym przewlekłemu działaniu środków uzależniających jest aktywacja układu cAMP, wzrost jego oddziaływań komórkowych, czyli tzw. regulacja „w górę” („upregulacja”) cAMP. Dotyczy to np. działania opiatów: dawki jednorazowe morfiny i innych opiatów hamują aktywność cAMP, na efekt ten rozwija się tolerancja, a podawaniu przewlekłemu towarzyszy wspomniana „upregulacja”. Zjawisko to może być odpowiedzialne za rozwój tolerancji na morfinę i za obraz zespołu abstynencyjnego (32), prowadzi bowiem, poprzez aktywację cAMP, do pobudzenia wielu grup neuronów, w tym neuronów noradrenergicznych miejsca sinawego (locus coeruleus), struktury związanej z wieloma objawami behawioralnymi zespołu (25). W aktywacji układu cAMP w obrębie locus coeruleus istotną rolę odgrywa czynnik transkrypcyjny CREB (cAMP response element binding protein), usunięcie bowiem jego wpływu poprzez podanie odpowiednich przeciwciał znosi „upregulację” cAMP przez morfinę i łagodzi objawy zespołu abstynencyjnego (32). Wzrost aktywności układu cAMP występuje także, w wyniku działania kokainy, opiatów i alkoholu – w obrębie jądra półleżącego (nucleus accumbens), a więc struktury mającej zdaniem wielu badaczy związek z działaniami nagradzającymi leków (32). Wzrost aktywności układu cAMP prowadzi także do zmian funkcji receptorów, obserwowano np. zwiększenie wrażliwości receptorów dopaminergicznych D1 w niektórych strukturach mózgu w wyniku długotrwałego podawania kokainy. Wiadomo też, że przewlekłe podawanie kokainy nasila ekspresję prodynorfiny (endogennej opioid) w nucleus accumbens, co z kolei (ze względu na charakter psychotropowego działania prodynorfiny) może odpowiadać za awersyjne doznania w zespole abstynencyjnym (32). Aktywacja układu cAMP występuje również w wyniku długotrwałego działania alkoholu, prowadzi to, zdaniem wielu badaczy do kaskady adaptacyjnych zmian komórkowych (16, 36).

Obecnie trwają intensywne badania w celu poznania mechanizmów komórkowych odpowiedzialnych za rozwój adaptacyjnych zmian receptorowych podczas długotrwałego działania środków uzależniających. Wiadomo np., że długotrwałe podawanie alkoholu prowadzi do wzrostu wpływu receptorów glutaminergicznych typu NMDA i zmniejszenia oddziaływań, przynajmniej niektórych podtypów receptora dla kwasu gamma-aminomasłowego (receptorów GABAA). Ze względu na charakter tych receptorów i odpowiadających im neuroprzekaźników, zmiany te mogą być

w dużej mierze odpowiedzialne za rozwój tolerancji na alkohol i za symptomy zespołu abstytyncyjnego. Mogą mieć, przynajmniej pośrednio, znaczenie w rozwoju uzależnienia, a więc trwałych zaburzeń motywacyjnych i behawioralnych.

Wydaje się, że istotne znaczenie w rozwoju tych zmian receptorowych mają zmiany w procesie fosforylacji białek receptorowych, a więc proces ściśle zależny od kinaz białkowych. Istotnie, okazało się, że u myszy pozbawionych kinazy białkowej C (PKC) a ściślej izoenzymu PKC α , receptory GABA A są odporne na wpływ alkoholu (5). Sugeruje się także, że zmiany stanu fosforylacji wspomnianych receptorów glutaminergicznych i GABA-ergicznych zachodzą w wyniku oddziaływań alkoholu na kinazy białkowe C (PKC), kinazy białkowe A (zależne od cAMP, PKA) i kinazy zależne od kalmoduliny. Jest też możliwe, że alkohol zmienia translokację komórkową izoenzymów PKC i PKA do białek „zakotwiczących” (5). Ostatnio zauważono, że przewlekłe działania alkoholu i innych silnych substancji psychoaktywnych mogą obejmować nie tylko procesy posttranslacyjne, lecz również zmiany w ekspresji genów.

Badania molekularne nad uzależnieniami: długo oczekiwane wykrycie zmian trwałych?

Trwałość zmian adaptacyjnych i ich zdolność do indukowania szybkich nawrotów nasuwało od dawna przypuszczenie, że procesy te dotyczą mechanizmu ekspresji genów (19). Szczególną uwagą zwrócono na rolę czynników transkrypcyjnych, czyli białek jądrowych, które wiążą się za specyficznymi sekwencjami DNA w regionach regulacyjnych poszczególnych genów wpływając w ten sposób na stopień transkrypcji genów. Ściślej, białka typu Fos i Jun tworzą czynnik transkrypcyjny AP-1 (activator protein-1) wiążący się do specyficznych miejsc AP-1 w regionach regulatorowych niektórych genów. Geny kierujące syntezą wspomnianych białek czyli geny *c-fos* i *jun* nazwane zostały genami odpowiedzi natychmiastowej (immediate early genes) (patrz 33, 35) ze względu na zdolność bardzo szybkiego indukowania wspomnianych białek z rodziny c-Fos w określonych obszarach mózgu. Reakcja ta jest gwałtowna lecz krótkotrwała, wspomniane białka, podobnie jak wiele innych produktów genów natychmiastowej odpowiedzi, są mało stabilne i zanikają szybko (w ciągu godzin) po ustąpieniu bodźca (33).

Indukowanie reakcji związanych z genami natychmiastowej odpowiedzi w neuronach jest wskaźnikiem aktywacji tych komórek przez różne czynniki i bodźce, w tym farmakologiczne (30, 32). Cechy takie wykazują także środki uzależniające, np. psychostymulujące, takie jak amfetamina i kokaina (33). Wykazano np., że kokaina zwiększa ekspresję odpowiedniego mRNA białka indukowanego przez gen *c-fos* w prążkowiu (striatum) i strukturach limbicznych, powtarzające się dawki koainy prowadzą jednak do powstania habituacji i stopniowego wygaszenia tej odpowiedzi (29). Wykazano też, że do indukcji przez kokainę *c-fos* konieczny jest receptor dopaminergiczny D1 (50) oraz że sensytyzacja na kokainę w wyniku uprzedniego stresu następuje również dzięki indukcji przez bodziec stresowy *c-fos* w niektórych strukturach mózgu, szczególnie w układzie limbicznym (34). Zarówno kokaina, jak stres

wywołują podobne działania indukujące geny *c-fos* a także inne geny odpowiedzi natychmiastowej takie jak *c-jun*, *zif*, *jun-B* (34).

Gen *c-fos* może mieć istotne znaczenie w genetycznie uwarunkowanych mechanizmach zwiększonego picia i preferencji alkoholu. Okazało się, że niektóre genetycznie wyselekcjonowane linie szczurów w kierunku zwiększonego picia alkoholu, np. linie P (Preferring) i AA (Alco Alcohol) wykazują mniejszą ekspresję białka będącego produktem genu *c-fos* w obrębie jądra miejsca sinawego (locus coeruleus), w porównaniu z odpowiednimi liniami nisko preferującymi alkohol, takimi jak NP. (Non-Preferring) i ANA (Alco Non-Alcohol). Wzmoczona ekspresja cFos w tej strukturze u zwierząt nie preferujących alkoholu może być zatem przyczyną ich genetycznie uwarunkowanej cechy: u zwierząt tych alkohol silniej aktywuje locus coeruleus i z tego względu (biorąc pod uwagę rolę neuronów noradrenergicznych tego jądra pnia mózgu) wywołuje silniejszy efekt awersyjny (44).

Wykazano także, że zjawisku głodu alkoholu (craving) towarzyszy również indukcja genu *c-fos*.

Szczury przyzwyczajone do picia atrakcyjnego w smaku piwa (zawierającego 4% alkoholu) w sytuacji „głodu” (uniemożliwienie kontynuacji picia w klatkach, w których uprzednio miały wolny dostęp do niego) miały znamienne podwyższony poziom produktu genu *c-fos* w wielu strukturach korowych i limbicznych mózgu. Zmiany w poziomie Fos nie występowały natomiast u zwierząt, które miały umożliwiającą kontynuację picia. Opisane zmiany, ze względu na ich lokalizację, mogą odzwierciedlać stan motywacyjny awersyjny towarzyszący zjawisku głodu narkotyku (45). Wszystkie te zmiany, jakkolwiek dowodzące molekularnego podłoża procesu uzależnienia, były jednak krótkotrwałe. Pewien przełom nastąpił w badaniu innej grupy białek Fos.

Ostatnio wykryto obecność białek z rodziny Fos, które wykazują pod pewnymi względami odmienne właściwości i zostały nazwane „chronicznymi antygenami związanymi z Fos” (FRAs czyli Fos-related antigens). Okazuje się, że białka te są indukowane w wyniku wielu długo utrzymujących się, przewlekłych bodźców i zaburzeń, w tym także reakcji na podanie leków psychotropowych, np. przeciwdepresyjnych i neuroleptycznych (9) ale również silnych środków uzależniających, takich jak kokaina, amfetamina i opiaty (35). Występują także po serii elektrowstrząsów (17) i po innych powtarzających się bodźcach stresowych (12). W przeciwieństwie do indukcji uprzednio poznanych białek transkrypcyjnych z rodziny Fos, indukcję białek FRAs cechuje długotrwałość: raz indukowane mogą przetrwać w mózgu przez wiele tygodni po zaprzestaniu działania bodźca. Wszystkie wymienione bodźce aplikowane jednorazowo czy krótkotrwałe nie wywołują chronicznej indukcji FRAs (33). Białka FRAs, jak niedawno określono, okazały się izoformami białka Δ FosB, produktu genu *c-fos* (6, 33).

Środki uzależniające mają zdolność indukowania FRAs w prążowiu (striatum) oraz, co wydaje się szczególnie ciekawe, w strukturze tzw. brzuszego prążkowiecia (ventral striatum) związanego funkcjonalnie z układem limbicznym. Obszar ten znajduje się anatomicznie w obrębie przegrody (septum) i zawiera wspomniane już po-

przednio jądro półleżące (nucleus accumbens), które wydaje się mieć ważne znaczenie w regulacji zjawisk motywacyjnych i w mechanizmie uzależnień (23). W odróżnieniu od środków uzależniających, indukcja FRAs po serii bodźców stresowych zachodzi głównie w korze przedczołowej (prefrontal cortex) a po serii elektrowstrząsów – w hipokampie (33). Indukcję FRAs cechuje zatem specyfika neuroanatomiczna, co może mieć znaczenie w zrozumieniu mechanizmu przetrwania i przechowywania efektu bodźca (jakim jest środek uzależniający) oraz nawrotu reakcji poszukiwania leku. Jest prawdopodobne, że te dopiero rozpoznawane zjawiska leżą u podstaw neurobiologicznej natury uzależnienia.

Niezwykle ciekawe są wyniki doświadczeń z tzw. nokautem genu, to jest na zwierzętach, u których usunięty został określony gen, w tym wypadku *fos-B*. Wykazano, że myszy pozbawione tego genu (*fos-B* knockout mice) są bardziej wrażliwe na ogólnie aktywujące i „nagradzające” działania kokainy. Nasuwa to przypuszczenie, że gen ten i jego produkt, białko Δ FosB są potrzebne do rozwoju tolerancji na kokainę (16). Obecnie prowadzi się badania techniką pozwalającą (przy użyciu tetracyklin, działających jak wiadomo na układ rybosomów) na selektywne zwiększenie ekspresji białka delta FosB w określonych strukturach (33).

Wększość dotychczas poznanych zmian receptorowych, wewnątrzkomórkowych i molekularnych towarzyszących działaniu środków uzależniających ma charakter przejściowy. Wyjątek mogą stanowić przedstawione zmiany prowadzące do ekspresji białka Δ FosB, prace w tym kierunku są nadal kontynuowane w wielu laboratoriach. Zwrócić należy jednak uwagę, że wiedza o komórkowych i molekularnych podstawach działania środków uzależniających rozwija się i pogłębia, wraz z nowo wprowadzanymi technikami badawczymi. Niewątpliwie przyczyni się to nie tylko do dokładniejszego poznania neurobiologicznej natury uzależnień, lecz miejmy nadzieję, w niedalekiej przyszłości, do wyraźnego przełomu w farmakoterapii tych ciężkich zaburzeń.

STRESZCZENIE

Zasadniczą cechą uzależnień lekowych jest zaburzenie procesu motywacji, prowadzące do wytwarzania się trwałej i nawracającej reakcji poszukiwania oraz konsumowania środka uzależniającego. Zaburzenie to wynikać może ze zmian neuroadaptacyjnych rozwijających się w wyniku długotrwałego działania narkotyku. Zmiany te obserwować można na różnych poziomach – receptorowym, wtórnych przekazyńców jak cykliczny AMP, kinaz białkowych a także na poziomie molekularnym – w zakresie transkrypcji i ekspresji genów. Obecnie poszukuje się zmian na poziomie molekularnym odpowiedzialnych czy związanych czasowo z trwałymi zaburzeniami behawioralnymi charakteryzującymi proces uzależnienia. Uwagę zwracają geny odpowiedzi natychmiastowej z rodziny *c-fos* i ich produkty białkowe takie jak białko cFos. Ostatnio wykryto, że produkty genu *fosB* takie jak białko Δ Fos pojawiają się w wyniku długotrwałego działania środków uzależniających i utrzymują się bardzo długo. Mogą być zatem bli-

żej powiązane z zasadniczymi mechanizmami warunkującymi trwałość procesu patologicznego.

Słowa kluczowe: uzależnienia, nawroty, geny *c-fos*, sensytyzacja

Wojciech Kostowski

Persistence and relapses of dependence symptomatology: in search for neuronal and molecular background

SUMMARY

Motivational processes disorder leading to craving, drug seeking and drug taking behaviour is central to the symptomatology of drug dependence. Drug dependence, called also chronic relapsing disorder, results from neuroadaptations that occur with repeated drug administration. These changes can be seen on various levels – either that of receptors, secondary transmitters such as the cyclic AMP system, protein kinases, or at the molecular level involving gene transcription and expression. The recent interest of researchers has focused on the molecular level changes responsible for or temporally related to stable behavioural disorders typical of the dependence process. Particular attention is paid to immediate response genes of the *c-fos* family and their protein products such as the cFos protein. The *fos-B* gene products such as the Δ Fos protein have been recently found to result from long-term administration of substances of abuse and to persist for a long time. Thus, they may be involved in crucial mechanisms underlying the pathological process persistence.

Key words: drug dependence, relapse, *c-fos* genes, sensitisation

PIŚMIENNICTWO

1. Altman J., Everitt B. J., Glautier S., Markou A., Nutt D., Oretti R., Philips G. D., Robbins T. W.; *The biological, social and clinical bases of drug addiction: commentary and debate*. Psychopharmacology 1996, 125: 285-345.
2. Bieńkowski P.: *Glód alkoholu i nawroty picia – postępy psychofarmakologii doświadczalnej*. Farmakoterapia w Psychiatrii i Neurologii 1999, 3: 82-96.
3. Bieńkowski P., Kuca P., Piasecki J., Kostowski W.: *Low dose of ethanol induced conditioned place preference in rats after repeated exposures to ethanol or saline injections*. Alcohol and alcoholism 1996, 31: 547-551.
4. Carr G.D., Fibiger H.C., Philips A.G.: *Conditioned place preference as a measure of drug reward*. W: *The Neuropharmacological Basis of Reward* (red. J.M. Lieberman i S. Cooper), Oxford University Press, New York, Oxford, 1989, 264-266.
5. Chandler L.J., Harris R., Crews F.T.: *Ethanol tolerance and synaptic plasticity*. Trends in Pharmacol. Sci. 1998, 19: 491-495.
6. Chen J. S., Kelz M. B., Hope B. T., Nakabeppu Y., Nestler E. J.: *Chronic FRAs: stable variants of DfosB induced in brain by chronic treatments*. J. Neurosci 1997, 17: 4933-4941.

7. De Vries T.J., Schofelmeer A., Binnekade R., Vanderschuren L. J.: *Dopaminergic mechanism mediating incentive to seek cocaine and heroin following long-term withdrawal of i.v. drug self-administration*. Psychopharmacol. 1998, 143: 254-260.
8. DiChiara G.: *A motivational learning hypothesis of the role of mesolimbic dopamine in compulsive drug use*. Psychopharmacology 1998, 12: 54-67
9. Doucet J. P., Nakabeppu Y., Bedard P. J. i wsp.: *Chronic alterations in dopaminergic neurotransmission produces a persistent elevation of delta FosB-like proteins*. Eur. J. Neurosci. 1996, 8: 365-385.
10. Gianoulakis Ch.: *Implications of endogenous opioids and dopamine in alcoholism: human and basic sciences*. Alcohol and Alcoholism 1996, 31: 33-42.
11. Gossop M.: *Nawroty w uzależnieniach (tłum. Polskie)*, Państwowa Agencja Rozwiązywania Problemów Alkoholowych, Warszawa 1997.
12. Hadaishi Y., Morinobu S., Hope B. T., Nestler E. J., Duman R. S.: *Repeated stress-induced chronic Fos-related antigens (FRAs) in specific brain regions*. Soc. Neurosci 1994 Abs. 20: 375.
13. Heidbreder C. A., Thompson A. C., Shippenberg T.S.: *Role of extracellular dopamine in the initiation and long-term expression of behavioral sensitization to cocaine*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996, 278: 490-502.
14. Herz A.: *Endogenous opioid system and alcohol addiction*. psychopharmacology 1997, 129: 99-111.
15. Hiroi N., Brown J. R., Haile C. N., Ye H., Greenber E. J., Nestler E. J.: *FosB mutant mice: loss of chronic cocaine induction of Fos-related proteins and heightened sensitivity to cocaine's psychomotor rewarding effects*. Proc. Natl. Acad. Sci USA 1997, 94: 10397-10402.
16. Hoffman P., Tabakoff B.: *Alcohol dependence: a commentary on mechanism*. Alcohol and Alcoholism 1996, 31: 333-340.
17. Hope B. T., Kelz M. B., Duman R. S., Nestler E. J.: *Chronic electroconvulsive seizures (ECS) treatment results in expression of long-lasting AP-1 complex in brain with altered composition and characteristics*. J. Neurosci 1994, 14: 4318-4328
18. Hull C. L.: *Principles of Behavior*, Appleton Ltd., London 1963.
19. Hyman S.E., Nestler E. J.: *Initiation and adaptation: A paradigm to understand psychotropic action*. Am. J. Psychiatry 1996, 153: 151-162.
20. Kalivas P.W.: *Neural basis of behavioral sensitization to cocaine*. W: The Neurobiology of Cocaine (Red. R.P. Hammer), Boca Raton F.L. CRC Press 1995, str. 81-99.
21. Kalivas P.W., Duffy P.: *Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine*. J. Neurosci 1993, 13: 266-275.
22. Konorski J.: *Integrative Activity of Brain*. Univ. Chicago Press, Chicago 1967.
23. Koob G.F.: *Drugs of Abuse: Anatomy, pharmacology and function of reward pathways*. Trends in Pharmacol. Sci. 1992, 13: 177-184.
24. Koob G.F.: *Drug addiction: the yin and yang of hedonic homeostasis*. Neuron 1996, 16: 893-896.
25. Koob G. F., Maldonado R., Stinus L.: *Neuronal substrate of opiate withdrawal*. Trends in Neurosci. 1992, 15: 186-191.

26. Koroś E., Kostowski W., Bieńkowski P.: *Operant responding for ethanol in rats with a long-term history of free choice ethanol drinking*. Alcohol and Alcoholism 1999, 34: 685-689.
27. Meil W. M., See R. E.: *Lesions of basolateral amygdala abolish the ability of drug associated cues to reinstate responding during withdrawal from self-administered cocaine*. Behav. Brain Res. 1997, 87: 139-148.
28. Mendelson J.H., Sholar M., Mello N. K., Teoch S. K., Sholar J. W.: *Cocaine tolerance: behavioral, cardiovascular and neuroendocrine function in men*. Neuropsychopharmacology 1998, 18: 263-271.
29. Moratalla B. Elibol M., Vallejo M., Graybiel A. M.: *Network-level changes in expression of inducible Fos-Jun proteins in the striatum during chronic cocaine treatment and withdrawal*. Neuron 1996, 17: 1461-56.
30. Morgan J.J., Curran T.: *Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun*. Ann. Rev. Neurosci. 1991, 14: 421-451.
31. Nestby P., Vanderschuren L., De Vries i wsp.: *Ethanol like psychostimulants and morphine causes long-lasting hyperreactivity of dopaminergic and cholinergic neurons of rat nucleus accumbens: possible role in behavioral sensitization*. Psychopharmacol. 1997, 133: 69-76.
32. Nestler E. J.: *Molecular mechanism of opiate and cocaine addiction*. Current Opinion in Neurobiology 1997, 7: 713-719.
33. Nestler E. J., Kelz M. B., Chen J.: *Delta fos: a molecular mediator of long-term neural and behavioral plasticity*. Brain Research 1999, 835: 10-17.
34. Nikulina E. M., Marchand J., Kream R. M., Miczek K.: *Behavioral sensitization to cocaine after brief social stress is accompanied by changes in Fos expression in the murine brainstem*. Brain Research 1998, 810: 200-210.
35. Nye H. E., Nestler E. J.: *Induction of chronic Fos-related antigens in rat brain by chronic morphine administration*. Mol. Pharmacol. 1996, 49: 636-645.
36. Pandey S.C., Allig Ch. (Symp. Chairmen) *Symposium: Protein Kinase C: Molecular and Cellular Targets for the Action of Ethanol*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 1996, 20 (suppl. 8): 67A-71A.
37. Paulson P.E., Robinson T. E.: *Amphetamine-induced time-dependent sensitization of dopamine neurotransmission in the dorsal and ventral striatum: a microdialysis study*. Synapse 19: 56-65.
38. Robinson T. E., Berridge K. C.: *The neuronal basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction*. Brain Res. 1993, 18: 247-291.
39. Sadowski B., Chmurzyński J.: *Biologiczne mechanizmy zachowania*, PWN Warszawa 1989.
40. Self D.W., Nestler E.J.: *Relapse to drug-seeking: neuronal and molecular mechanisms*. Drug and Alcohol Dependence 1998, 51: 49-60.
41. Self D. W., Banhart W. J., Lehman D. A., Nestler E. J.: *Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D-1 and D-2 – like dopamine receptor agonists*. Science 1996, 271: 1586-1589.
42. Stewart J., Bodiani A.: *Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs*. Behavioral Pharmacol. 1993, 4: 289-312.
43. Stolerman I. P.: *Behavioural pharmacology of nicotine: multiple mechanisms*. British J. Addiction 1991, 86: 533-540.

44. Thiele V. E., Van Dijk G., Bernstein J.: *Ethanol-induced c-Fos expression in rat lines selected for low and high alcohol consumption*. Brain Research 1997, 756: 278-282.
45. Topple A. N., Hunt G., McGregor I.S.: *Possible neural substrates of beer-craving in rats*. Neurosci Letters 1998, 252: 99-102.
46. Vanderschuren L.J., Scholffelmeer A.N., Mulder A., DeVries T. J.: *Dopaminergic mechanism mediating the long-term expression of locomotor sensitization following pre-exposure to morphine or amphetamine*. Psychopharmacology 1999, 143: 244-253.
47. Vezina P.: *D-1 receptor dopamine activation is necessary for the induction of sensitization by amphetamine in the ventral tegmental area*. J. Neurosci. 1996, 16: 2411-2420.
48. Wachtel S. R., Dewit H.: *Subjective and behavioral effects of repeated d-amphetamine in humans*. Behavioral Pharmacol. 1999, 10: 271-281.
49. Wise R.A.: *Neurobiology of addiction*. Current Opinion in Neurobiol. 1996, 6: 243-251.
50. Young S. T., Porrino L.J., Iadarola M.J.: *Cocaine induces striatal c-fos immunoreactivity proteins via dopaminergic D1 receptors*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88: 1291-1295.