

Roman Stefański, Wojciech Kostowski
Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

MODELOWANIE POZYTYWNE WZMACNIAJĄCEGO DZIAŁANIA ŚRODKÓW UZALEŻNIAJĄCYCH

WSTĘP

Alkoholizm i narkomania stanowią poważny i narastający problem zdrowotny i społeczny na całym świecie. W laboratoriach i klinikach wielu krajów podejmowane są próby zrozumienia patomechanizmu i znalezienia efektywnego sposobu leczenia uzależnień lekowych. Podobnie jak w wypadku badania różnych grup leków psychotropowych i różnych sytuacji patologii ośrodkowego układu nerwowego prowadzi się badania przy udziale odpowiednich modeli zwierzęcych. Wiele interesujących i dość dobrze odzwierciedlających mechanizmy uzależnień modeli zostało w ostatnich latach wprowadzonych do praktyki badawczej. W badaniach tych modele zwierzęce wydają się odgrywać bardzo istotną rolę z następujących powodów:

- mogą przyczynić się do poznania neurobiologicznego substratu uzależnień, zakładając iż mechanizmy wielu procesów behawioralnych i biologicznych są podobne lub wspólne dla ludzi i zwierząt,
- w przeciwieństwie do badań klinicznych pozwalają dokładnie kontrolować zmienne środowiskowe i badać oddzielnie poszczególne czynniki mające wpływ na powstawanie i rozwój uzależnień,
- są niezbędne w procesie wyboru potencjalnych leków do prób klinicznych,
- są użyteczne w konceptualizacji procesu uzależnień, od fazy poszukiwania, poprzez zażywanie do nawrotu przyjmowania narkotyku po okresie abstynencji.

Nagroda i wzmocnienie w procesach motywacyjnych

Chociaż w literaturze istnieje tendencja do naprzemiennego używania pojęć „nagroda” i „wzmocnienie”, White (1989) zwrócił uwagę na różne pochodzenie i zna-

czenie obu wyrażań. *Nagroda* odnosi się do subiektywnego pojęcia „przyjemności” używanego w hedonistycznych teoriach psychologicznych i filozoficznych. Można ją scharakteryzować jako zachowanie związane z aktywnym poszukiwaniem i dążeniem do bliskiego kontaktu z bodźcami nagradzającymi takimi jak pożywienie, woda czy seks. Z kolei *wzmocnienie* odzwierciedla zdolność pewnych wydarzeń do utrwalania i nasilania poprzednio nabytych skojarzeń typu bodziec-odpowiedź lub rzadziej skojarzeń typu bodziec-bodziec. Inaczej mówiąc, wzmocnienie ma miejsce wtedy, gdy konsekwencje odpowiedzi zwiększają prawdopodobieństwo wystąpienia następnej odpowiedzi. Na przykład zwierzęta z ograniczonym dostępem do pokarmu uczą się w klatkach Skinera naciskać dźwignię, by uzyskać dostęp do pożywienia. Dostarczone pożywienie zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia następnej odpowiedzi (naciskanie dźwigni) której konsekwencją będzie dostarczenie kolejnych porcji pokarmu.

Koncepcja pozytywnie wzmacniającego działania środków uzależniających u zwierząt wywodzi się z zasad warunkowania instrumentalnego. Jeżeli zwierzę nauczy się naciskać dźwignię lub wykonywać inną odpowiedź instrumentalną, by otrzymać dożylnie injekcję substancji uzależniającej, to mamy do czynienia ze wzmocnieniem pozytywnym, a substancja ta jest definiowana jako pozytywnie wzmacniająca. W sytuacjach gdy badane zwierzę (i) zwiększa ilość przyjmowanego narkotyku do dawek toksycznych, (ii) przewycięża bodźce awersyjne, by otrzymać narkotyk lub (iii) kosztem przyjmowania pokarmu czy wody, preferuje ciągłe dożylnie infuzje narkotyku, możemy przypuszczać, że środek uzależniający ma znaczące właściwości nagradzające. Tak więc wydarzenia wzmacniające mogą, choć nie zawsze muszą, być wydarzeniami nagradzającymi.

Pod pojęciem wzmocnienia negatywnego rozumiemy działanie, które przerywa lub zapobiega oddziaływaniom substancji awersyjnej, nieprzyjemnej, np. naciśnięcie dźwigni zapobiega pojawieniu się bodźca bólowego wywołanego drażnieniem elektrycznym.

Dowody na pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających u zwierząt

Przyczyny, dla których zwierzęta eksperymentalne uczą się różnych odpowiedzi instrumentalnych (np. naciskania dźwigni), by uzyskać dostęp do narkotyku, nie zawsze są związane z jego pozytywnie wzmacniającym działaniem i mogą być wynikiem wzmoczonego pragnienia, zachowania eksploracyjnego czy ogólnego odhamowania psychomotorycznego spowodowanego przez badany środek farmakologiczny (15). Przyczyny wystąpienia reakcji behawioralnej mogą być więc różne i złożone. Następujące kryteria muszą być spełnione, by wykazać pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających w modelach przedklinicznych: (i) wygaszanie reakcji (ekstynkcja), (ii) charakterystyczny schemat odpowiedzi instrumentalnej, (iii) efekt odwrócenia dźwigni oraz (iv) zależność pomiędzy dawką narkotyku a odpowiedzią instrumentalną.

Wygaszanie odpowiedzi instrumentalnej (vehicle substitution) i nawrót reakcji (reinstatement) są ważnymi, jeśli nie podstawowymi dowodami na pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających (3). W układzie eksperymentalnym „ABA” zwierzęta uzyskują dostęp do narkotyku poprzez naciskanie „aktywnej” (skutecznej) dźwigni w klatce Skinnera (A). Gdy odpowiedź instrumentalna ustabilizuje się na określonym poziomie, zaprzestaje się wzmacniania reakcji, czyli narkotyk jest wycofany i zastępowany solą fizjologiczną. Powoduje to gwałtowny spadek liczby naciśnień na dźwignię (B). Po kilku dniach wygaszania odpowiedzi instrumentalnej (tzn. samopodawania soli) zwierzęta ponownie uzyskują dostęp do narkotyku, a liczba odpowiedzi powraca do poprzedniego poziomu (A). Tak więc, zdecydowana różnica w tempie naciskania dźwigni w okresie samopodawania narkotyku (A) i soli (B) sugeruje, iż odpowiedź instrumentalna jest pozytywnie wzmacniana poprzez środek uzależniający. Nawrót reakcji wystąpić może nie tylko w wyniku prezentacji narkotyku, lecz także prezentacji sygnałów warunkowych uprzednio kojarzonych z narkotykiem. Nawrót pojawić się może także po bodźcach stresowych.

Schemat odpowiedzi instrumentalnej (pattern of responding) podtrzymywanej przez narkotyk i naturalną nagrodę taką jak np. pokarm powinien być podobny (22) i znajdować się pod kontrolą określonego schematu (planu) wzmocnienia (schedule of reinforcement) (3). Taki plan wzmocnienia można scharakteryzować jako sposób powiązań pomiędzy odpowiedzią instrumentalną a dostarczeniem narkotyku. Wyróżniamy dwa podstawowe typy schematu wzmocnienia. Pierwszy z nich determinowany jest liczbą pojedynczych reakcji i nosi nazwę „współczynnиковego” schematu wzmocnienia (ratio schedules of reinforcement) i wymaga stałej (FR-fixed ratio) lub zmiennej (VR-variable ratio) liczby odpowiedzi w celu uzyskania dostępu do narkotyku. W drugim, determinowanym czynnikiem czasu i noszącym nazwę międzyprzedziałowego (interval schedules of reinforcement), dostęp do narkotyku jest wyzwalany pierwszą odpowiedzią instrumentalną mającą miejsce po upływie ściśle określonego (FI-fixed interval) lub zmiennego (VI-variable interval) przedziału czasowego. Współczynnиковy schemat wzmocnienia charakteryzuje się stabilnym tempem odpowiedzi, pozytywną korelacją tempa odpowiedzi i ilości zdobytego (samopodanego) narkotyku oraz obecnością tzw. pauzy powzmocnieniowej, czyli przerwy w odpowiedzi bezpośrednio po uzyskaniu narkotyku. Odmienny schemat odpowiedzi instrumentalnej jest widoczny w międzyprzedziałowym schemacie wzmocnienia, w którym tempo odpowiedzi na początku przedziału czasowego jest zdecydowanie mniejsze niż w jego fazie końcowej. Dodatkowo nie obserwujemy pozytywnej korelacji pomiędzy tempem odpowiedzi a ilością pobranego narkotyku.

Efekt odwrócenia dźwigni (lever reversal) jest kolejnym dowodem na pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających (16). W klatce Skinnera wyposażonej w dźwignię (A) i (B) zwierzę uczy się i zdecydowanie preferuje naciskanie dźwigni (A), tzw. „aktywnej”, konsekwencją czego jest uzyskanie dostępu do narkotyku. Jeżeli w trakcie eksperymentu dźwignia dotychczas „nieaktywna” (B) staje się dźwignią „aktywną” to liczba odpowiedzi na byłej dźwigni „aktywnej” (A) maleje do zera, a badane zwierzę zaczyna preferować dźwignię (B). Następuje szybkie prze-

uczenie reakcji już „utorowanej” i wzmacnianej w poprzednim procesie uczenia. Reakcja ta musi być przejawem wielkiego „ciśnienia wzmacniającego” narkotyku pod którego wpływem zwierzę gwałtownie poszukuje możliwości kontynuowania pobierania środka nagradzającego.

Dawkozależność odpowiedzi instrumentalnej (dose-response functions) jest istotnym, choć nie decydującym dowodem na pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających. Wraz ze wzrostem dawki narkotyku liczba odpowiedzi staje się funkcją odwróconej litery „U”, czyli stopniowo narasta uzyskując „plateau” i następnie maleje wraz ze wzrostem dawki. Spadek odpowiedzi przy wyższych dawkach można wytłumaczyć efektem nasycenia oraz awersyjnym lub ogólnie destrukcyjnym działaniem narkotyku na zachowanie badanego organizmu (20).

Metody badania pozytywnie wzmacniającego działania środków uzależniających oparte na reakcji samopodawania (self-administration)

Samopodawanie dożyłne (intravenous self-administration) jest najczęściej stosowaną metodą oceny wzmacniającego działania środków uzależniających (12, 17). Dożylna droga podania eliminuje potencjalnie awersyjne doznania smakowe i węchowe oraz zapewnia natychmiastowy dostęp narkotyku poprzez krew do mózgu. Metoda ta wymaga zabiegu chirurgicznego – implantacji cewnika do żyły szyjnej lub udowej, którego drożność jest okresowo sprawdzana przy pomocy ultrakrótko działających barbituranów. Nabywanie samopodawania dożylnego trwa nie dłużej jak 5 do 10 dni i może ulec wydatnemu skróceniu poprzez wcześniejszy trening polegający na nauce naciskania dźwigni w celu otrzymania pokarmu oraz bierne podawanie pierwszej iniekcji narkotyku na początku sesji.

Samopodawanie dokomorowe (intracerebroventricular self-administration) różni się od samopodawania dożylnego miejscem implantacji cewnika w komorze bocznej mózgu przy użyciu aparatu stereotaktycznego. Jest metodą bardziej pracochłonną i wymaga histologicznej weryfikacji umiejscowienia cewnika w komorze bocznej. Wśród zalet wymienić należy mniejszą ilość zużywanego narkotyku, możliwość oddzielenia efektów obwodowych od centralnych oraz możliwość badania substancji nie przenikających przez barierę krew-mózg. Stosując tę metodę badano wzmacniające działanie opioidów (19), amfetaminy (9) i acetaldehydu (2).

Samopodawanie dostrukturalne (intracranial self-administration) umożliwia identyfikowanie specyficznych rejonów mózgu będących neurobiologicznym substratem wzmacniającego działania badanego narkotyku. Kaniuła prowadząca jest umieszczana w wybranej strukturze mózgu przy użyciu aparatu stereotaktycznego. Przy użyciu tej metody wykazano istotną rolę mezolimbicznego układu dopaminergicznego w samopodawaniu amfetaminy (11), morfiny (1), kokainy (8) i endogennych neuroprzekazników takich jak dopamina (5), neurotensyna (7) czy cholecystokinina (10).

Samopodawanie doustne (oral self-administration) jest ważną metodą oceny wzmacniającego działania substancji uzależniających zażywanych tą drogą u ludzi

(np. alkohol etylowy, kofeina, amfetamina). Przy samopodawaniu doustnym istotną rolę mogą odgrywać doznania smakowe, które, spełniając rolę bodźca dyskryminującego czy warunkowo wzmacniającego, mogą w istotny sposób modyfikować pozytywnie wzmacniające działanie badanych środków uzależniających. Najprostszym przykładem samopodawania doustnego pozbawionego elementu instrumentalizacji jest *test wolnego wyboru (two bottle test)* pomiędzy np. alkoholem dostępnym do picia w jednej butelce a wodą w drugiej (13). Miarą działania wzmacniającego jest preferencja picia alkoholu w sytuacji nieskrepowanego dostępu do obu butelek. Bardziej wyrafinowane i dostarczające więcej informacji, w porównaniu z testem wolnego wyboru, sposoby modelowania różnych faz picia alkoholu czy doustnego zażywania narkotyków u ludzi są procedury warunkowania instrumentalnego. Pierwszą instrumentalną metodą samopodawania doustnego była *zasada polidypsji (schedule-induced polydipsia)* (6). W metodzie tej pożywienie w małych ilościach jest dostarczane rytmicznie w równych odstępach czasu zwierzętom z ograniczonym dostępem do pokarmu. Towarzyszy temu zwiększone spożycie wody, która może być stopniowo zastępowana przez wzrastające stężenia alkoholu, który jest pity w przerwach między spożywanym pokarmem. Działanie wzmacniające alkoholu badane jest w końcowej fazie sesji, kiedy instrumentalnie kontrolowany dostęp do pokarmu zastępuje się nieograniczonym dostępem do reszty pożywienia, co indukuje z kolei wysokie spożycie alkoholu. Modyfikacją zasady indukowanej polidypsji jest procedura *picia indukowanego pokarmem (food-induced drinking)*, gdzie zamiast instrumentalnie kontrolowanego dostępu do pożywienia zwierzę od razu otrzymuje całą dzienną rację pokarmu czemu oczywiście towarzyszy zwiększone spożycie wody, stopniowo zastępowanej alkoholem czy innym środkiem uzależniającym (14). W procedurze *dostępu do narkotyku (drug access)* środek uzależniający jest dostępny przez pewien, stały okres w ciągu dnia (np. 3 godziny). Zwierzęta nie mając w tym czasie dostępu do wody rozpoczynają konsumpcję narkotyku, którego stężenie jest stopniowo zwiększane. Często spadek wagi ciała koreluje pozytywnie z prawdopodobieństwem i tempem spożycia środka uzależniającego. *Metoda „zanikania” (fading method)*, jest z powodzeniem stosowana w ustanowieniu samopodawania doustnego alkoholu, pentobarbitalu i kokainy (18). Instrumentalne picie jest początkowo podtrzymywane przez dodanie do wody zachęcającej do picia substancji którą może być np. sacharoza. Narkotyk, którego właściwości wzmacniające mają być badane, jest dodawany stopniowo do roztworu sacharozy w stężeniach wzrastających podczas gdy jednocześnie stężenie sacharozy ulega stopniowej redukcji aż do zupełnego wyeliminowania. Prostą odmianą metody „zanikania” jest *metoda podstawiania (substitution method)* w której narkotyk z określonym wcześniej działaniem wzmacniającym zostaje stopniowo zastąpiony przez nowy środek uzależniający (4).

Metoda inhalacji substancji wziewnych (inhalation of volatile substances) jest przydatnym sposobem modelowania narastającego problemu uzależnień od substancji ulatniających się w temperaturze pokojowej (24, 25). W eksperymentach tych reakcja instrumentalna (np. naciskanie aktywnej dźwigni) inicjuje uwalnianie substancji wziewnej, która poprzez system regulujący przepływ powietrza dostaje się w

określonej ilości do komory inhalacyjnej, w której umieszczone jest badane zwierzę. Zamiast komory inhalacyjnej można używać specjalnie skonstruowanych kasków, cewników nosowych lub masek twarzowych.

Jak dotąd nie udało się stworzyć dobrego zwierzęcego modelu inhalacji substancji znajdujących się w dymie, np. inhalacji dymu tytoniowego (23). Chodzi przy tym nie o bierną inhalację dymu wtłaczanego do pomieszczenia, lecz czynnego „zaciągania się” dymem z specjalnego urządzenia. Podejmowane próby zakończyły się niepowodzeniem.

Inne sposoby samopodawania, takie jak np. **dożoładkowe** i **domięśniowe** należą do rzadko obecnie stosowanych metod oceny pozytywnie wzmacniającego działania środków uzależniających i praktycznie zostały zaniechane w ciągu ostatnich 10 lat.

Metody stosowane w modelowaniu pozytywnie wzmacniającego działania środków uzależniających niewątpliwie przyczyniają się do lepszego poznania podstawowych etapów złożonego procesu uzależnienia i stały się podstawą rozszerzonych o zjawiska komórkowe i molekularne badań skorelowanych z określonymi odpowiedziami behawioralnymi.

STRESZCZENIE

W artykule opisano przedkliniczne metody badania pozytywnie wzmacniającego działania środków uzależniających. Przedstawiono dowody na pozytywnie wzmacniające działanie środków uzależniających u zwierząt. Wykazano wiele podobieństw w sposobie przyjmowania tych samych środków uzależniających przez ludzi i zwierzęta. Stwierdzono, iż modele oparte na reakcji samopodawania przyczyniają się do lepszego poznania neurobiologicznego substratu poszczególnych etapów procesu uzależnienia (od fazy poszukiwania, poprzez zażywanie do nawrotu przyjmowania narkotyku po okresie abstynencji), co może przyczynić się do znalezienia skutecznego sposobu zapobiegania i leczenia uzależnień u ludzi.

Słowa kluczowe: wzmocnienie, samopodawanie, modele zwierzęce, uzależnienia.

Roman Stefański, Wojciech Kostowski
Drug reinforcement in animals

SUMMARY

The paper describes pre-clinical methods of investigating the reinforcing action of habit-forming substances. Evidence for drug reinforcement in animals has been presented. Many similarities between animal and human drug-seeking and drug-taking behaviour have been demonstrated for the same habit-forming substances. Models based on the self-administration response have been found to contribute to a better understanding of the neurobiological substrate of particular stages of the dependence process (from drug seeking through drug taking to relapse after a period of abstinence).

ce). This may contribute to the development of more effective methods of drug dependence prevention and treatment in humans.

Key words: reinforcement, self-administration, animal models, drug dependence

PIŚMIENNICTWO

1. Bozarth M.A., Wise R.A. (1981) *Intracranial self-administration of morphine into the ventral tegmental area in rats*. Life Sci. 28: 551-555.
2. Brown Z.W., Amit Z., Rockman G.E. (1979) *Intraventricular self-administration of acetaldehyde, but not ethanol, in naive laboratory rats*. Psychopharmacology 64: 271-276.
3. Carroll M.E., Lac S.T., Nygaard S.L. (1989) *A concurrently available nondrug reinforcer prevents the acquisition or decreases the maintenance of cocaine-reinforced behavior*. Psychopharmacology 97: 23-29.
4. Carroll M.E., Stoltz D.C. (1983) *Oral d-amphetamine and ketamine self-administration by rhesus monkeys: effects of food deprivation*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 227: 28-34.
5. Dworkin S.I., Goeders N.E., Smith J.E. (1985) *The reinforcing and rate effects of intracranial dopamine administration*. In: Harris L.E. (ed.) Problems of drug dependence. NIDA Research Monograph, pp. 242-248.
6. Falk J.L. (1961) *Production of polydipsia in normal rats by an intermittent food schedule*. Science 133: 195-196.
7. Glimcher P.W., Giovino A.A., Hoebel B.G. (1983) *Self-injection of neurotensin into the ventral tegmental area (VTA)*. Neurosci. Abstr. 9: 120.
8. Goeders N.E., Smith J.E. (1983) *Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement*. Science 221: 773-775.
9. Gustafson L.K., Pickens R. (1975) *Intraventricular amphetamine self-administration in rats*. Fed. Proc. 34: 780.
10. Hoebel B.G., Aulisi E. (1984) *Cholecystokinin self-injection in the nucleus accumbens and block with proglumide*. Neurosci. Abstr. 10: 694.
11. Hoebel B.G., Monaco A.P., Hernandez L., Aulisi E.F., Stanley B.G., Lenard L. (1983) *Self-injection of amphetamine directly into the brain*. Psychopharmacology 81: 158-163.
12. Koob G.F., Vaccarino F.J., Amalric M., Bloom F.E. (1987) *Positive reinforcement properties of drugs: search for neural substrates*. In: Engel J., Oreland L. (eds.) Brain reward systems and abuse. New York: Raven Press, pp. 35-50.
13. Meisch R.A., Carroll M.E. (1987) *Oral drug self-administration: drugs as reinforcers*. In: Bozarth M.A. (ed) *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York: Springer-Verlag, pp. 143-160.
14. Meisch R.A., Kliner D.J. (1979) *Etonitazene as a reinforcer for rats: increased etonitazene-reinforced behavior due to food deprivation*. Psychopharmacology 63: 97-98.
15. Meisch R.A., Lemaire G.A. (1993) *Drug self-administration*. In: van Haaren F. (ed) *Methods in behavioral pharmacology*. New York: Elsevier Science, pp. 257-300.
16. Olds M.E. (1979) *Hypothalamic substrate for the positive reinforcing properties of morphine in the rat*. Brain Res. 168: 351-360.

17. Roberts D.C.S., Koob G.F., Klonoff P., Fibiger H.C. (1980) *Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens*. *Pharmacol Biochem. Behav.* 12: 781-787.
18. Samson H.H. (1986) *Initiation of ethanol reinforcement using a sucrose-substitution procedure in food- and water-satiated rats*. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 10: 436-442.
19. Smith J.E., Freeman M.E., Lane J.D. (1982) *Brain neurotransmitter turnover correlated with morphine-seeking behavior of rats*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16: 509-519.
20. Stefański R., Ladenheim B., Lee S.H., Cadet J.L., Goldberg S.R. (1999) *Neuroadaptations in the dopaminergic system after active self-administration of methamphetamine*. *Eur. J. Pharmacology* 371: 125-135.
21. White N.M. (1989) *Reward and reinforcement: What's the difference?* *Neurosci. Biobehav. Rev.* 13: 181-186.
22. Winsauer P.J., Thompson D.M. (1991) *Cocaine self-administration in pigeons*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40: 41-52.
23. Wood R.W. (1990) *Animal models of drug self-administration by smoking*. In: Chiang C.N., Hawks R.L. (eds) *Research findings on smoking of abused substances*. Rockville, MD: National Institute on Drug Abuse, Research Monograph 99, DHHS Publication No. (ADM) 90-1690, pp. 159-171.
24. Wood R.W., Grubman J., Weiss B. (1977) *Nitrous oxide self-administration by the squirrel monkey*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202: 491-499.
25. Yanagita T., Takahashi S., Ishida K., Funamoto H. (1970) *Voluntary inhalation of volatile anesthetics and organic solvents by monkeys*. *Jpn. J. Clin. Pharmacol.* 1: 13-16.