

Kokaina i układ odpornościowy

Cocaine and the immune system

**Maciej M. Jankowski¹, Bogna Ignatowska-Jankowska¹,
Krzysztof Kumański², Agnieszka Kamińska³, Artur H. Świergiel^{1, 4, 5}**

¹Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Gdańsk

²Miejski Ośrodek Profilaktyki i Terapii Uzależnień, Łódź

³Praktyka Lekarska w Miejscu Wezwania, Warszawa

⁴Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Polska Akademia Nauk, Jastrzębiec

⁵Department of Pharmacology, Toxicology and Neuroscience,
Louisiana State University Health Sciences Center, USA

Abstract – Studies on the effects of cocaine on the immune system in humans and experimental animals are reviewed. Results suggest that cocaine addiction is associated with a weakening of immune functions. However, in some instances occasional exposure to cocaine may not result in the detectable inhibition of several immune parameters. Moreover, under certain conditions immunostimulative effects are observed. Such different effects of cocaine could be attributed to the dose and pattern of cocaine administration.

Key words: cocaine, immune system

Streszczenie – Omówiony jest wpływ kokainy na układ odpornościowy w badaniach na zwierzętach laboratoryjnych, jak również u ludzi. Należy sądzić, że uzależnienie od kokainy związane jest z upośledzeniem funkcji wybranych składowych układu odpornościowego. Jednakże w niektórych przypadkach sporadyczne przyjmowanie kokainy może nie wywoływać widocznego hamującego wpływu na funkcję i liczbę komórek układu odpornościowego. Ponadto, w określonych warunkach można również zaobserwować efekty immunostymulacyjne. Różne skutki działania kokainy zależne są, być może, od dawki i schematu jej podawania.

Słowa kluczowe: kokaina, układ odpornościowy

WSTĘP

Kokaina (metylobenzoiloeogonina) jest alkaloidem tropanowym pozyskiwanym z liści krasnodrzewu pospolitego (*Erythroxylon coca*) i zażywany przez ludzi ze względu na właściwości psychostymulujące. Występuje w formie soli, chlorowodoru kokainy – białego, łatwo rozpuszczalnego w wodzie proszku, który można przyjmować doustnie, przez błony śluzowe lub dożylnie oraz w formie zasadowej – kryształów

Praca była finansowana z grantów promotorów MNiSW Numery: N N303 417137 i N N303 394036 dla Macieja Jankowskiego i Bogny Ignatowskiej-Jankowskiej.

określanych jako *freebase* lub biało-żółtych kamyków o zwyczajowej nazwie *crack*. Formy zasadowe w trakcie palenia ulegają pirolizie, ich pary są wdychane, a kokaína wchłaniana do krwi przez pęcherzyki płucne (1). Zażywanie kokainy wywołuje subiektywne uczucie dobrostanu, zadowolenia i euforii oraz pobudzenie lokomotoryczne i prowadzi do uzależnienia o charakterze psychicznym. Charakterystycznym objawem pojawiającym się po zaprzestaniu jej przyjmowania jest anhedonia, czyli brak odczuwania przyjemności (2). Uważa się, że im szybciej substancja euforyzująca, na przykład kokaína, przenika do docelowych struktur w mózgu, tym intensywniejsze jest jej działanie. W zależności więc od dawki, drogi podania oraz czasu, w jakim zostaje wprowadzona do organizmu, jej działania fizjologiczne, w tym także wpływ na układ odpornościowy i potencjał do wywoływania uzależnienia, mogą ulegać zmianom. Działanie kokainy przyjmowanej donosowo lub doustnie będzie mniej intensywne i w mniejszym stopniu uzależniające niż po podaniu dożylnym lub paleniu jej zasadowej formy. Czas działania kokainy także zależy od zastosowanej dawki oraz drogi i schematu jej podawania. Po zażyciu doustnym lub donosowym czas ten jest dłuższy, a intensywność doznań subiektywnych niższa niż po podaniu dożylnym lub wdychaniu par formy zasadowej (3–5).

W doświadczeniach preklinicznych, przeprowadzanych na zwierzętach laboratoryjnych, kokaína najczęściej podawana jest drogą iniekcji dootrzewnowych, podskórnych lub domięśniowych, wlewów dożylnych lub doustnie (*per os*). W zależności od drogi podawania, farmakokinetyka oraz efekty neurochemiczne wywołane przez kokaínę mogą ulegać zmianom (4, 6).

MECHANIZM DZIAŁANIA KOKAINY

Podstawowym mechanizmem działania kokainy jest blokowanie transportera wychwyty zwrotnego dopaminy (DAT) i akumulacja dopaminy (DA) w przestrzeni synaptycznej (7). Podwyższone stężenie DA, działającej na receptory dopaminergiczne (DAR), skutkuje przejściowym zwiększeniem transmisji dopaminergicznej (4, 8). Blokowanie wychwyty zwrotnego DA w układach dopaminergicznych ośrodkowego układu nerwowego (OUN), takich jak układ nigrostriatalny, mezolimbiczny oraz mezokortykolimbiczny, wywołuje pobudzenie lokomotoryczne oraz związane jest z nagradzającym działaniem kokainy (9, 10). Kokaína aktywuje również oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową (PPN), czego bezpośrednim skutkiem jest zwiększenie stężenia hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) oraz glikokortykoidów we krwi i innych tkankach (11). Kokaína stymuluje także część współczulną układu wegetatywnego, zwiększając stężenie katecholamin we krwi (12). Ponadto, działa na transportery zwrotnego wychwyty serotoniny (SERT) oraz noradrenaliny (NERT), na receptory sigma i muskarynowe oraz na kanały sodowe (13–16).

Ze względu na wielokierunkowe działanie kokaína może wywierać różny wpływ na układ odpornościowy. Podstawowymi mechanizmami, za pośrednictwem których zmienia działanie układu odpornościowego, są aktywacja osi PPN oraz układu współ-

czulnego. Kokaina może również wpływać na funkcje komórek układu odpornościowego poprzez oddziaływanie z receptorami sigma-1 oraz poprzez zmiany w transmisji dopaminergicznej zachodzącej w OUN (17–20).

ZNACZENIE EPIDEMIOLOGICZNE KOKAINY

Zażywanie narkotyków, w tym kokainy, jest poważnym problemem w skali światowej (21). Z używaniem substancji euforyzujących wiąże się zwiększenie częstości zakażeń ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV). W porównaniu z innymi substancjami euforyzującymi, przyjmowanie kokainy stanowi większe ryzyko zakażeń HIV i wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) (22). Obserwuje się również szybszą progresję zakażenia HIV i częstsze występowanie zespołu nabytego niedoboru odporności (AIDS) (23–26). Ponadto, palenie kokainy w formie zasadowej (*crack*) znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia gruźlicy (27). Zmniejszona odporność na zakażenia wirusowe i bakteryjne oraz szybsza progresja zakażeń u osób uzależnionych sugerują, że działanie kokainy upośledza układ odpornościowy.

WPŁYW KOKAINY NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY W BADANIACH *IN VITRO*

Powszechnie uważa się, że kokaina ma supresyjny wpływ na komórki układu odpornościowego. W celu zbadania jej bezpośredniego wpływu na komórki układu odpornościowego oraz neuronalne komórki prekursorowe, wybrane linie komórkowe oraz komórki pochodzące z krwi lub narządów limfatycznych eksponowane były na działanie kokainy *in vitro*. Przykładowe doświadczenia przedstawiają wpływ kokainy na proliferację komórek układu odpornościowego, produkcję katecholamin przez komórki układu odpornościowego oraz wpływ kokainy na ekspresję genów i produkcję cytokin.

1. Wpływ kokainy na proliferację komórek układu odpornościowego

Xu i współpracownicy (28) wykazali, że inkubacja mysich splenocytów z kokainą (4, 16 i 64 µg/ml) przez 24 godziny dawkozależnie hamowała proliferację komórek T i B w odpowiedzi na stymulację mitogenami. Najmniejsza dawka kokainy nie powodowała jednak istotnych efektów. Ekspozycja mysich tymocytów na działanie kokainy (20 różnych stężeń) wywołała dawkozależne zahamowanie proliferacji mierzonej ilością [³H]-tymidyny wbudowanej do struktury DNA (29). Przeprowadzone badanie miało na celu określenie bezpośredniego wpływu kokainy na proliferację tymocytów u myszy, u których zaobserwowano obniżenie masy grasicy spowodowane pobieraniem kokainy w wodzie do picia przez 10 dni. Poza kokainą zbadano także wpływ innych substancji nasilających lub hamujących transmisję dopaminergiczną, takich jak DA (dopamina), nieselektywny agonista DAR – apomorfina oraz nieselektywny

antagonista DAR – haloperidol. Dodatkowo zbadano wpływ ekspozycji tymocytów na adrenalinę. Podobnie jak kokaina, DA, apomorfina, haloperidol oraz w dużo mniejszym stopniu adrenalina dawkozależnie hamowały proliferację tymocytów. Największy potencjał do hamowania syntezy DNA tymocytów wykazały, w kolejności od najniższego począwszy: apomorfina, DA, haloperidol, kokaina, adrenalina. Wyniki sugerują, że kokaina oraz substancje działające na DAR mogą hamować proliferację. Odpowiedź na pytanie – dlaczego wszystkie badane związki, pomimo różnych mechanizmów działania, zmniejszyły proliferację tymocytów *in vitro* – wymaga dalszych badań. U podłoża zaobserwowanego efektu może leżeć mała selektywność zastosowanych związków względem ich naturalnych ligandów, co z kolei sugeruje, że nieswoista ingerencja w przekaznictwo monoaminergiczne w warunkach *in vitro* hamuje proliferację tymocytów.

Ponieważ kokaina, poza blokowaniem zwrotnego wychwytu monoamin, ma także zdolność do blokowania kanałów sodowych, zbadano *in vitro*, który z możliwych mechanizmów jest odpowiedzialny za hamowanie proliferacji limfocytów przez kokainę. W tym celu komórki T i B eksponowano na działanie lidokainy (będącej tylko blockerem kanałów sodowych) lub na działanie inhibitorów zwrotnego wychwytu monoamin, takich jak dezypramina, fluoksetyna czy nomifenzyna (nie blokujących kanałów sodowych) (30). W przeciwieństwie do dezypraminy, fluoksetyny i nomifenzyny, które istotnie hamowały proliferację badanych komórek, lidokaina nie wpłynęła na proliferację limfocytów T i B. Wyniki sugerują, że mechanizmem, poprzez który kokaina hamuje proliferację limfocytów jest hamowanie zwrotnego wychwytu monoamin.

Nie można pominąć badań *in vitro* wskazujących na stymulujący wpływ kokainy na proliferację komórek układu odpornościowego. Ekspozycja linii limfoblastycznych komórek B (IM-9) na działanie kokainy oraz jej metabolitów – benzoiloełgoniny i norkokainy – wywołała zwiększenie proliferacji tych komórek (31). Po 48 godzinach inkubacji, kokaina lub norkokaina zwiększyły proliferację komórek B (IM-9) o 150% pomiaru kontrolnego, natomiast benzoiloełgonina – o 170%. Wyniki badań zdają się sugerować, że poza bezpośrednim wpływem kokainy na proliferację komórek układu odpornościowego, istotne znaczenie może mieć także bezpośrednie działanie jej metabolitów. Konsekwencją immunologicznej aktywności metabolitów kokainy może być wydłużenie czasu, w którym obserwowane będą zmiany w funkcji komórek układu odpornościowego po ekspozycji na kokainę. Wydaje się, że w badaniach *in vitro*, zależnie od typu badanych komórek i czasu ekspozycji na kokainę, może ona zarówno hamować, jak i stymulować funkcje komórek układu odpornościowego, być może za pośrednictwem receptorów dopaminergicznych.

2. Produkcja katecholamin przez komórki układu odpornościowego

Po zbadaniu ekspresji hydroksylazy tyrozynowej w limfocytach w tkankach limfaticznych (węzłach chłonnych, śledzionie i grasicy) w różnych stanach ich aktywności, okazało się, że mają one zdolność do wytwarzania katecholamin, m.in. dopaminy, oraz wzajemnego oddziaływania na siebie za ich pośrednictwem (32).

Ludzkie limfocyty T, B oraz komórki typu *natural killers* (NK) wykazują ekspresję receptorów D1, D2, D3, D4 i D5 (33). Aktywacja receptorów D2, D3 oraz D1/D5 przez DA zwiększa wydzielanie cytokin, takich jak IL-10 czy TNF- α przez limfocyty T (34). Limfocyty wykazują także ekspresję DAT, która może ulegać zmianom podczas przebiegu choroby Parkinsona, zaniku wieloukładowego (MSA, *multiple system atrophy*), stwardnienia zanikowego bocznego (ALS, *amyotrophic lateral sclerosis*) oraz zaburzeń psychotycznych, czyli schorzeń związanych z patomorfologicznymi lub funkcjonalnymi zmianami w ośrodkowych układach dopaminergicznych (35–40). Ponadto, w śledzienie i grasicę szczura wykryto ekspresję DAT, DAR oraz DA (41–45). Pomimo faktu, że bezpośrednim mechanizmem działania kokainy jest blokowanie DAT, jej wpływ na układ odpornościowy poprzez zmianę aktywności obwodowej DA nie jest poznany.

3. Wpływ kokainy na ekspresję genów i produkcję cytokin

Wpływ kokainy na ekspresję genów badano w ludzkich neuronalnych komórkach prekursorowych (46). Po 24 godzinach inkubacji komórek z kokainą zaobserwowano maksymalne zwiększenie ekspresji genów immunomodulatorowych. Analiza mikromacierzy wykazała, że na poziomie genomu kokaina wywołuje dawko- i czasozależny efekt prozapalny, z widoczną aktywacją ścieżki sygnałowej dla IFN- α/β oraz IFN- γ , co w zależności od typu komórek mogłoby modulować wrodzoną lub nabytą odpowiedź immunologiczną.

Wyniki te potwierdziły wcześniejsze obserwacje, że ekspozycja mysich makrofagów M ϕ (pobranych z otrzewnej) lub komórek linii L929 na kokainę wywołuje dawkozależne zwiększenie wydzielania IFN- γ (47). W makrofagach M ϕ stwierdzono przede wszystkim zwiększenie ilości transkryptu IFN- β i w dużo mniejszym stopniu IFN- γ , a w komórkach L929 – transkryptów IFN- α i β . Już wcześniej doniesiono, że mysie makrofagi M ϕ eksponowane na kokainę, a następnie zakażane mysim wirusem zapalenia wątroby (MHV, *murine hepatitis virus*) wykazywały zwiększoną oporność na działanie wirusa (48). Po dodaniu swoistych przeciwciał przeciw IFN- α i β efekt ten uległ częściowemu zahamowaniu, co sugeruje, że zwiększenie wydzielania IFN- α i β przez makrofagi M ϕ pod wpływem działania kokainy, może hamować produkcję MHV. Podobny efekt obserwowany był w przypadku komórek linii L929 zakażanych wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV, *vesicular stomatitis virus*) i MHV (47). Również inkubacja linii komórek MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells*) z kokainą dawkozależnie hamowała replikację wirusa grypy PR-8 (49).

Z drugiej strony, we wspomnianym już doświadczeniu Xu i wsp. (28), kokaina dawkozależnie zredukowała produkcję IFN- γ przez limfocyty T stymulowane konkanawaliną A (Con A), natomiast nie zmieniła tempa wytwarzania IL-2. Ekspozycja ludzkich leukocytów krwi obwodowej na kokainę także hamowała tempo wytwarzania IFN- γ oraz IL-8 poprzez zmniejszenie ekspresji genów tych cytokin (50). W odrębnych badaniach wykazano hamujący wpływ kokainy na aktywność

fagocytarną ludzkich neutrofilii (51), co może być powiązane ze zmniejszeniem produkcji IL-8. Ponadto szereg badań wskazuje na hamujący wpływ kokainy na produkcję cytokin przez różne typy komórek układu odpornościowego. Wydzielanie TNF- α i IL-1 przez mysie makrofagi, stymulowane lipopolisacharydem (LPS), zostało istotnie zmniejszone po ekspozycji komórek na kokainę (52). Kokaina dawkozależnie hamowała produkcję IL-1 α , IL-6 i TNF- α przez mysie makrofagi stymulowane LPS oraz IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 i IFN- γ przez splenocyty stymulowane Con A (53). Ponadto, ekspozycja na kokainę splenocytów immunizowanych owoalbuminą (OVA) zmniejszyła wydzielanie IL-2 i IFN- γ , podczas gdy wydzielanie IL-4 i IL-5 pozostało niezmienione (54).

Istnieją jednak badania *in vitro* wyraźnie wskazujące na pobudzający wpływ kokainy na produkcję cytokin. Ponieważ kokaina bezpośrednio może działać na receptory sigma-1, których jest agonistą, podczas badania wpływu agonistów receptorów sigma-1 na wzrost nowotworów u myszy wykorzystano możliwość obserwacji wpływu kokainy na mysie splenocyty *in vitro*. Ekspozycja splenocytów na kokainę spowodowała wzrost produkcji mRNA oraz białka IL-10 w splenocytach (55). Podobny efekt zaobserwowano po ekspozycji komórek na agonistów receptorów sigma-1 (PRE-084, SKF 10047), a wszystkie zaobserwowane efekty hamowane były przez antagonistę receptorów sigma-1 (BD1047). Należy więc sądzić, że w warunkach *in vitro* kokaina może zarówno hamować, jak i stymulować funkcje komórek układu odpornościowego, być może za pośrednictwem receptorów dopaminergicznych oraz receptorów sigma-1. Ponadto *in vitro* kokaina może aktywować geny i zwiększać produkcję IFN, co z kolei może stanowić ważny mechanizm przeciwdziałający namnżaniu wybranych szczepów wirusów.

Jak już wspomniano, u osób nadużywających kokainy obserwowana jest zwiększona podatność i szybsza progresja zakażenia HIV. Zbadano więc *in vitro* bezpośredni wpływ kokainy na ekspresję genów i białek w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC), pobranych od nosicieli HIV-1 (26). Spośród PBMC wyizolowano subpopulacje limfocytów B i T oraz monocyty, a następnie eksponowano je na działanie kokainy przez 48 godzin. W limfocytach B kokaina nie zmieniła istotnie ekspresji badanych genów, natomiast w komórkach T i monocytach zwiększyła ekspresję genów wimentyny i galektyny-1, a zmniejszyła ekspresję genów białka szoku termicznego HSP70p5 oraz peroksyredoksyny 6.

Wimentyna jest białkiem cytoszkieletu pełniącym ważną rolę w mechanicznych i biologicznych funkcjach komórki takich, jak usztywnianie, migracja czy proliferacja (56). Proteaza HIV-1 degradowa białka cytoszkieletu, w tym wimentynę i wykorzystuje cytoszkielet komórek T do zakażeń i replikacji (57). Degradacja wimentyny przez proteazy HIV-1 jest niezbędna do zmian w organizacji i rozkładzie chromatyny podczas zakażenia HIV-1, dlatego zwiększona ekspresja genów wimentyny może przyspieszać rozprzestrzenianie się zakażeń HIV-1 (26, 58).

Ekspresja galektyny-1 została wykryta w płucach, mózgowiu, sercu, śledzionie oraz węzłach chłonnych (59). Galektyna-1 moduluje proliferację, adhezję i apoptozę komórek oraz stabilizuje interakcje wirus-komórka i może stymulować repli-

kację HIV-1 w komórkach T CD4⁺ i makrofagach (26, 59, 60). Zwiększona przez kokainę ekspresja genów galektyny-1 może być czynnikiem przyspieszającym progresję zakażenia HIV-1 poprzez ułatwienie współdziałania układu wirus-komórka (61). Obniżenie poziomu ekspresji genów białka szoku termicznego HSP70p5, pełniącego rolę nieswoistego czynnika chroniącego komórkę podczas zakażenia HIV-1, może być kolejnym czynnikiem zwiększającym podatność komórek na zakażenie HIV-1 (26, 62).

Peroksyredoksyna 6 jest antyoksydantem i ma zdolność do hamowania zakażeń HIV-1, a zmniejszona ekspresja jej genów także może przyspieszać progresję zakażenia HIV-1 (61).

Powyższe obserwacje wskazują na potencjał kokainy do upośledzania odpowiedzi immunologicznej, skierowanej przeciwko HIV-1 już na poziomie ekspresji genów w limfocytach T i monocytach.

W celu zweryfikowania, czy kokaina przyspiesza replikację HIV-1 poprzez bezpośrednie działanie na PBMC, przeprowadzono badania, podczas których od ośmiu zdrowych, HIV-1 seronegatywnych ludzi pobrano te komórki (63). Komórki eksponowano na działanie kokainy oraz jej metabolitu benzoiloeckgoniny, a następnie *in vitro* zakażano HIV-1. PBMC eksponowane na kokainę wykazywały dużo większy poziom replikacji HIV-1 niż komórki inkubowane bez kokainy, natomiast benzoiloeckgonina nie wywarła istotnego stymulującego wpływu na replikację HIV-1. W komórkach wcześniej zakażonych HIV-1, zarówno kokaina, jak i benzoiloeckgonina nie zmieniły istotnie poziomu replikacji wirusa. Na tej podstawie wnioskowano, że ekspozycja PBMC na kokainę (ale nie linii komórkowych przewlekle zakażonych HIV-1) może zwiększać replikację HIV-1 (63).

Ekspozycja komórek mikrogleju (wyizolowanych z próbek płodowej tkanki mózgowej) na kokainę przez 24 godziny przed zakażeniem komórek HIV-1 dawkozależnie zwiększała ekspresję białka wirusa (64). Dodanie do hodowli selektywnego antagonisty receptorów sigma-1 (BD 1047), selektywnego inhibitora kinazy receptora TGF- β 1 (SB 431542) lub przeciwciał przeciw TGF- β 1 na 30 minut przed ekspozycją na kokainę hamowało zwiększenie ekspresji białka HIV-1, wywołane przez kokainę. Wyniki te sugerują, że zwiększona ekspresja białka HIV-1 w komórkach eksponowanych na działanie kokainy jest zależna zarówno od receptorów sigma-1, jak i TGF- β 1 (64).

W podsumowaniu można stwierdzić, że w badaniach *in vitro* obserwowano zarówno hamujący, jak i stymulujący wpływ kokainy na komórki układu odpornościowego. Efekty działania kokainy mogą być widoczne jednocześnie na poziomie ekspresji genów oraz produkcji białek. Wyniki badań *in vitro* zależne są przede wszystkim od typu badanych komórek, stężenia kokainy oraz czasu ekspozycji komórek na kokainę. W ocenie wpływu kokainy na układ odpornościowy należy uwzględnić też działanie metabolitów kokainy, ponieważ mogą one bezpośrednio zmieniać funkcję komórek. Kokaina może zmieniać ekspresję genów kodujących białka, pełniące istotną rolę w ochronie komórki przed zakażeniem HIV-1. Ekspozycja komórek na kokainę przed zakażeniem HIV-1 może zwiększać replikację wirusa.

WPŁYW KOKAINY NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY ZWIERZĄT MODELOWYCH W BADANIACH *IN VIVO*

1. Narządy limfatyczne po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

Kokaina podawana obwodowo wywołuje zazwyczaj u zwierząt doświadczalnych efekty immunosupresyjne. Iniekcje kokainy wywoływały obniżenie bezwzględnej i względnej masy grasicy u myszy (65, 66). Obniżenie masy grasicy obserwowane było także u myszy pobierających kokainę w wodzie do picia (29). Progresywny schemat podawania myszom kokainy przez 11 tygodni istotnie obniżył masę śledziony (67). Natomiast u szczurów samopodawanie kokainy przez 18 dni wywołało istotne zwiększenie relatywnej masy śledziony oraz obniżenie relatywnej masy grasicy (68). Wyniki badań na modelach zwierzęcych sugerują więc, że kokaina obniża masę narządów limfatycznych, a wyjątek stanowiło tylko zwiększenie masy śledziony u szczurów w trakcie samopodawania.

2. Liczba komórek układu odpornościowego po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

Wpływ systemowego podawania kokainy na liczbę komórek układu odpornościowego we krwi obwodowej, śledzionie, grasicy oraz blaszce właściwej jelita został podsumowany w tabeli 1. Istotne dawkozależne obniżenie liczby leukocytów i tymocytów stwierdzono u myszy po jednorazowym podaniu kokainy (69). Wielokrotne iniekcje kokainy także wywoływały zmniejszenie ogólnej liczby leukocytów we krwi obwodowej obejmujące limfocyty, granulocyty oraz monocyty (70). Kokaina nie zmieniła natomiast proporcji pomiędzy subpopulacjami leukocytów, podczas gdy została zwiększona liczba komórek NK. Dożylnie podanie kokainy (w 3 infuzjach w odstępach 30-minutowych) również wywołało obniżenie ogólnej liczby leukocytów we krwi obwodowej, jednak połączone ze zmianą proporcji pomiędzy subpopulacjami leukocytów (71). Kokaina selektywnie obniżyła liczbę limfocytów, lecz liczba neutrofilów nie uległa istotnym zmianom. Inaczej niż w badaniach u myszy, zmieniły się także proporcje pomiędzy subpopulacjami limfocytów; istotnie zwiększył się procentowy udział limfocytów T CD4⁺, a proporcje limfocytów B, T CD8⁺ oraz komórek NK uległy obniżeniu, czego konsekwencją było zwiększenie stosunku limfocytów CD4/CD8. Obserwowane zmiany w proporcjach subpopulacji limfocytów były stabilne przez 14 dni doświadczenia, pomimo zaobserwowanego zmniejszenia aktywności osi PPN siódmego i czternastego dnia. Dane te sugerują, że kortykosteron nie jest krytycznym czynnikiem dla zmian proporcji pomiędzy subpopulacjami krążących limfocytów (71). U myszy otrzymujących kokainę stwierdzono także obniżenie liczby komórek T CD4⁺, CD8⁺ i CD3⁺ w grasicy (72). Szczegółowa analiza wykazała, że obniżeniu uległa liczba komórek CD4⁺CD8⁻, CD4⁻CD8⁺ oraz niedojrzałych komórek T CD4⁺CD8⁺, a zwiększeniu – liczba pretymocytów CD4⁻CD8⁻. Wcześniej podobne zmiany w liczebności komórek T w grasicy zostały zaobserwowane u myszy

Tabela 1.
Wpływ kokainy (*in vivo*) na liczbę komórek układu odpornościowego we krwi obwodowej oraz w obwodowych narządach limfatycznych
Effects of cocaine (in vivo) on the immune cells number in peripheral blood and lymphoid organs

Gatunek <i>Species</i>	Czas podawania <i>Treatment duration</i>	Zastosowana dawka <i>Dose</i>	Droga podawania <i>Administration route</i>	Liczba komórek <i>Cells number</i>	Tkanka <i>Tissue</i>	Piśmiennictwo <i>Literature</i>
mysz <i>mouse</i>	jednorazowo <i>single administration</i>	5–30 mg/kg	i.m.	↓	grasica, krew obwodowa <i>thymus, peripheral blood</i>	Ou i wsp., 1989 (69)
mysz	7 dni <i>7 days</i>	1 lub 10 mg/kg/dzień <i>1 or 10 mg/kg per day</i>	i.p.	↓	krew obwodowa <i>peripheral blood</i>	Di Francesco i wsp., 1994 (70)
mysz	5 dni	5–50 mg/kg/dzień	i.p.	↓↑	grasica <i>thymus</i>	Wu i wsp., 1997 (73)
mysz	10 dni	40 mg/kg/dzień	i.p.	↓↑	grasica	Xu i wsp., 1998 (72)
szczur <i>rat</i>	1, 7, 14 dni	3 × 5 mg/kg/dzień	i.v.	↓	krew obwodowa	Jankowski i wsp., 2010 (71)
mysz (model AIDS)	11 tygodni <i>11 weeks</i>	40 mg/kg/dzień	i.p.	↓↑	śledziona spleen	Lopez i wsp., 1992 (74)
mysz (model AIDS)	11 tygodni	40 mg/kg/dzień	i.p.	↓↑	blaszka właściwa jelita <i>intestinal lamina propria</i>	Lopez i Watson, 1994 (85)

Wykaz skrótów i symboli/abbreviations:

i.m. – domięśniowo; i.p. – dootrzewnowo; i.v. – dożylnie; ↓ zmniejszenie liczby komórek/cell number decrease;

↑ zwiększenie liczby komórek/cell number increase

otrzymujących kokainę, z tą różnicą, że liczba komórek CD4⁺CD8⁻ nie uległa istotnym zmianom (73). Wyniki obu doświadczeń wskazują, że kokaina zmniejsza liczbę immunokompetentnych komórek w grasicy, równocześnie zwiększając liczbę prekursorów komórek T, u których nie doszło jeszcze do rearanżacji genów ich receptorów dla antygeny (TCR).

W celu zbadania wpływu kokainy na liczbę i proporcje limfocytów u zwierząt z nabytym niedoborem odporności, myszy zakażono retrowirusem mysiej białaczki LP-BM5, który wywołuje immunosupresję i funkcjonalny mysi AIDS (74). Zakażone myszy eksponowane były przez 11 tygodni na progresywnie zwiększane dawki kokainy. Kokaina spowodowała zmniejszenie procentowego udziału limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ oraz zwiększenie liczby i procentowego udziału limfocytów B w śledzionie. Przesunięcie równowagi w puli limfocytów w kierunku limfocytów B, odpowiedzialnych za odpowiedź humoralną, może być niekorzystnym zjawiskiem podczas zakażenia wirusowego, ponieważ może sprzyjać rozprzestrzenianiu się wirusa w tkankach.

3. Proliferacja limfocytów po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

Wpływ kokainy podawanej zwierzętom doświadczalnym na proliferację limfocytów stymulowanych *ex vivo* mitogenem został podsumowany w tabeli 2. Dożylna infuzja kokainy dawko- i czasozależnie hamowała proliferację limfocytów krwi obwodowej szczura stymulowanych Con A (22, 75). Również jednorazowe i wielokrotne podanie kokainy szczurom wywoływało zmniejszenie tempa proliferacji splenocytów w odpowiedzi na stymulację fitohemaglutyniną (PHA) lub Con A (76). Po jednorazowym podaniu kokainy hamowanie proliferacji zauważalne było już po 5 minutach od iniekcji, osiągając maksimum po 60 minutach. Po upływie 6 godzin szybkość proliferacji limfocytów nie wykazywała już różnic w stosunku do pomiaru kontrolnego. Po 30 dniach codziennego podawania kokainy istotne obniżenie proliferacji limfocytów widoczne było pomiędzy pierwszym a siódmym dniem po zakończeniu iniekcji. U myszy jednorazowe i wielokrotne iniekcje kokainy hamowały proliferację splenocytów stymulowanych Con A i PHA (66).

U szczurów samodzielnie pobierających dożylnie infuzje kokainy w procedurze warunkowania instrumentalnego (*self-administration*) nie stwierdzono istotnych zmian w proliferacji splenocytów stymulowanych Con A. Pomimo długiego okresu samopodawania (18 dni) oraz średniej konsumpcji kokainy w trakcie dwugodzinnej sesji wynoszącej 12,5 mg/kg/dzień, nie wpłynęła ona istotnie na proliferację splenocytów. Pozbawienie szczurów dostępu do kokainy również nie zmieniło proliferacji splenocytów, która uległa obniżeniu dopiero po prezentacji bodźca warunkowego, skojarzonego z kokainą lub po dootrzewnowym podaniu kokainy w okresie abstynencji (68).

Domózgowe podanie kokainy u szczurów nie zmieniło istotnie proliferacji limfocytów krwi obwodowej w odpowiedzi na stymulację Con A (22). Wyniki te mogą sugerować, że kokaina działa na proliferację limfocytów poprzez mechanizmy obwodowe. Jednak są także dane sugerujące, że mikroiniekcje kokainy do specyficznych struktur w OUN mogą w zróżnicowany sposób wpływać na proliferację limfocytów

Tabela 2.

Wpływ kokainy (*in vivo*) na proliferację limfocytów po stymulacji mitogenem *ex vivo*
Effects of cocaine (in vivo) on the ex vivo mitogen-stimulated lymphocytes proliferation

Gatunek/ płeć Species/sex	Czas podawania Treatment duration	Zastosowana dawka Dose	Droga podawania Administration route	Proliferacja Proliferation	Mitogen	Pochodzenie komórek Origin of cells	Piśmiennictwo Literature
szczur ♂ rat	jednorazowo <i>single administration</i>	5 mg/kg	i.v.	↓	Con A	krw obwodowa <i>peripheral blood</i>	Pellegrino i wsp., 2001 (22)
szczur ♂	jednorazowo	5 lub 10 mg/kg	i.v.	↓	Con A	krw obwodowa	Bayer i wsp., 1995 (75)
mysz ♂ <i>mouse</i>	jednorazowo	15 mg/kg	i.p.	↓	Con A, PHA	śledziona	Kubera i wsp., 2004 (66)
mysz ♂♀	jednorazowo	40 mg/kg	i.p.	↓	Con A	spleen	Xu i wsp., 1997 (77)
szczur ♂	jednorazowo	40 mg/kg	i.p.	↓	Con A, PHA	śledziona, grasicca <i>spleen, thymus</i>	Pacifici i wsp., 2003 (76)
szczur ♂	jednorazowo	1–50 µg/5 µl	i.c.v.	↔	Con A	śledziona	Pellegrino i wsp., 2001 (22)
szczur ♂	jednorazowo	100 nmol/0,5 µl	i.c. (CeA)	↑	Con A	śledziona	Caroleo i wsp., 1998 (18)
mysz ♂♀	10 dni <i>10 days</i>	40 mg/kg/dzień <i>40 mg/kg/day</i>	i.p.	↓	Con A	grasicca thymus	Xu i wsp., 1998 (72)
szczur ♂	30 dni	40 mg/kg/dzień	i.p.	↓	Con A, PHA	śledziona	Pacifici i wsp., 2003 (76)
mysz ♂	5 dni – 3 dni przerwy – 1 dzień <i>5 days – three-day break – 1 day</i>	10 mg/kg/dzień	i.p.	↓	Con A	śledziona	Kubera i wsp., 2004 (66)
szczur ♂	18 dni/days samopodawanie <i>self-administration</i>	0,5 mg/kg/infuzję <i>0,5 mg/kg/infusion</i> ~12,5 mg/kg/dzień ~12,5 mg/kg/day	i.v.	↔	Con A	śledziona	Kubera i wsp., 2008 (68)

Wykaz skrótów i symboli/abbreviations:

♂ samiec/male; ♀ samica/female; i.v. – dożylnie; i.p. – dootrzewnowo; i.c.v. – dokomorowo/intraventricular; i.c. – domózgowo/intracerebral;

CeA – jądro środkowe ciała migdałowatego/central amygdala; ↓ hamowanie proliferacji/proliferation inhibition; ↑ stymulacja proliferacji/proliferation stimulation;

↔ brak istotnych zmian/no significant effects; Con A – konkanawalina A/concavaline A; PHA – fitohemaglutynina/phytohemagglutinin

w odpowiedzi na stymulację mitogenem. Mikroiniekcja kokainy do jądra środkowego ciała migdałowatego szczura wywołała istotne zwiększenie proliferacji splenocytów stymulowanych Con A, natomiast mikroiniekcje kokainy do podstawno-bocznej części ciała migdałowatego i kory gruszkowatej nie zmieniły istotnie proliferacji splenocytów (18).

Interesująca jest obserwacja, że obniżenie proliferacji splenocytów wywołane podaniem kokainy (5 lub 40 mg/kg) było zależne od płci badanych myszy (77). Zdecydowanie większe zmiany obserwowane były u samców niż u samic. Splenocyty samców reagowały 50% obniżeniem proliferacji po obu zastosowanych dawkach, natomiast splenocyty samic wykazywały 15% redukcję proliferacji tylko w odpowiedzi na większą dawkę (40 mg/kg). Iniekcje kokainy (5 lub 40 mg/kg) przez 10 dni również wywołały obniżenie proliferacji tymocytów zależne od płci, jakkolwiek tym razem to tymocyty samic stymulowane Con A wykazywały większą wrażliwość na działanie kokainy (72). U samic wystąpił istotny spadek proliferacji tymocytów po obu dawkach kokainy, natomiast proliferacja tymocytów samców była hamowana tylko przez wyższą dawkę.

Podsumowując, systemowe podawanie kokainy związane jest z obniżeniem aktywności proliferacyjnej limfocytów, a wyjątek stanowi samopodawanie kokainy w procedurze warunkowania instrumentalnego. Ośrodkowe iniekcje kokainy najczęściej nie mają wpływu na proliferację limfocytów – jednak jej podanie do specyficznych struktur OUN może stymulować aktywność proliferacyjną limfocytów. Ponadto wydaje się, że płeć może istotnie różnicować odpowiedź proliferacyjną limfocytów, w zależności od pochodzenia limfocytów oraz czasu ekspozycji zwierząt na działanie kokainy.

4. Aktywność cytotoksyczna komórek NK po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

Podanie kokainy wywołało obniżenie aktywności cytotoksycznej komórek NK (ACNK) w śledzienie u szczurów. Efekt był obserwowany od piątej minuty do drugiej godziny po iniekcji. Wielokrotne iniekcje kokainy podawane przez 30 dni również spowodowały istotne obniżenie ACNK pomiędzy pierwszym i czternastym dniem po ostatniej iniekcji (76). Z drugiej strony, w badaniach, w których podawano szczurom kokainę dożylnie nie zaobserwowano istotnych zmian w ACNK w śledzienie po dwóch lub czterech godzinach od infuzji (75).

U myszy kokaina dawkozależnie hamowała ACNK. Poziom hamowania ACNK po iniekcji dootrzewnowej (1 mg/kg) lub dożylniej (1 mg/kg) był porównywalny do poziomu obserwowanego po podawaniu kokainy (1 mg/kg/dzień, i.p.) przez 7 dni lub po jej podskórnym uwalnianiu z minipomp osmotycznych (78). Po jednokrotnym podaniu kokainy ACNK powróciła do wartości kontrolnych już po 24 godzinach od podania, natomiast po wielokrotnym podaniu, ACNK unormowała się po około 144 godzinach od ostatniego podania. W badaniach przeprowadzonych równolegle na samcach i samicach myszy iniekcje kokainy istotnie obniżyły ACNK przy braku różnic pomiędzy płciami (77).

Wyniki sugerują, że systemowe podawanie kokainy zwierzętom doświadczalnym najczęściej obniża ACNK, co może upośledzać przeciwwirusową i przeciwnowotworową pierwotną odpowiedź komórkową. Należy także zwrócić uwagę, że obniżenie ACNK utrzymuje się przez dłuższy czas po zaprzestaniu podawania kokainy u zwierząt otrzymujących kokainę przez wiele dni, co sugeruje, że u osób uzależnionych od kokainy upośledzenie ACNK może postępować wraz z rozwojem uzależnienia.

5. Wydzielanie cytokin po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

Wpływ systemowego podawania kokainy na produkcję cytokin przez komórki układu odpornościowego u zwierząt doświadczalnych został podsumowany w tabeli 3. Wydzielanie cytokin jest zróżnicowane i zdaje się być zależne od wielu czynników doświadczalnych, m.in. od dawki i okresu ekspozycji zwierząt na kokainę, pochodzenia i typu badanych komórek, rodzaju mitogenu zastosowanego do stymulacji komórek *ex vivo*, stężenia mitogenu, czasu ekspozycji na działanie mitogenu oraz warunków hodowli komórek. Pomimo wielu różnic pomiędzy doświadczeniami przeprowadzonymi w różnych laboratoriach, można przedstawić uogólniony charakter zmian obserwowanych po podaniu kokainy w produkcji cytokin przez poszczególne typy komórek układu odpornościowego. Po systemowym podaniu kokainy myszom, ich splenocyty najczęściej wykazują obniżoną produkcję IL-2 (74, 77, 79), rzadziej stwierdzany jest brak istotnych zmian (72, 80) lub zwiększenie wydzielania IL-2 (53, 81). Produkcja IL-4 przez splenocyty najczęściej nie ulega zmianie (66, 81). Istnieją jednak prace, w których stwierdzono zmniejszenie wydzielania IL-4 (53, 79), a najrzadziej obserwowano zwiększenie produkcji IL-4 (80). W przypadku IL-10 najczęściej obserwowanym efektem było zwiększenie wydzielania IL-10 przez splenocyty (80, 82), stwierdzono jednak również hamowanie (53, 66) lub brak (66) wpływu kokainy na produkcję IL-10. Wydzielanie IFN- γ najczęściej nie ulegało zmianom (66, 80), ale zaobserwowano również stymulowanie (66, 74, 81) lub hamowanie (79, 82). Kokaina wykazuje dwukierunkowy wpływ na wydzielanie TNF- α przez splenocyty, gdyż może je stymulować (74) lub hamować (53).

Wydzielanie TGF- β_1 przez splenocyty zostało zbadane po jednorazowych i wielokrotnych iniekcjach kokainy u szczurów tylko w dwóch doświadczeniach i w obu przypadkach kokaina zwiększała wydzielanie TGF- β_1 (76). Natomiast wydzielanie TNF- α było zmniejszone (76) lub zwiększone (68) po podaniu kokainy.

Kokaina podana samcom i samicom myszy zmniejszyła wydzielania IL-2 przez tymocyty samców (77). Samice wyjściowo charakteryzowały się niskim poziomem IL-2; nie stwierdzono u nich istotnych różnic w stężeniu IL-2 po podaniu kokainy. Ponadto u samic kokaina zmniejszyła wydzielanie IL-1 przez makrofagi stymulowane przez LPS. Wielokrotne iniekcje kokainy u obu płci zmniejszyły wydzielanie IFN- γ przez tymocyty, natomiast nie wpłynęły na wydzielanie IL-2 (72). Podawanie kokainy przez 6 tygodni samicom myszy zmniejszyło wydzielanie TNF- α , zwiększyło wydzielanie IL-6, natomiast wydzielanie IL-1 α przez makrofagi pozostało niezmienione (53). Podobnie jak w przypadku proliferacji limfocytów, wyniki wskazują na występowanie zależnych od płci różnic w reakcji układu odpornościowego na kokainę.

Tabela 3.
 Wpływ kokainy (*in vivo*) na produkcję cytokin po stymulacji mitogenem *ex vivo*
Effects of cocaine (in vivo) on the ex vivo mitogen-stimulated cytokines production

Gatunek/ płeć Species/ sex	Czas podawania Treatment duration	Zastosowana dawka Dose	Droga podawania Administration route	Zmniejszona produkcja Decreased production	Niezmieniona produkcja Unchanged production	Zwiększona produkcja Increased production	Komórki produkujące Cells	Piśmiennictwo <i>Literature</i>
mysz ♂ <i>mouse</i>	jednorazowo single administration	1 mg/kg	i.p.	IL-2, IL-4, IFN- γ			splenocyty <i>splenocytes</i>	Di Francesco i wsp., 1992 (79)
mysz ♂♀	jednorazowo	5 lub 40 mg/kg 5 or 40 mg/kg	i.p.	IL-2 ♂			tymocyty <i>thymocytes</i>	Xu i wsp., 1997 (77)
mysz ♂♀	jednorazowo	5 lub 40 mg/kg	i.p.	IL-1 ♀	IL-1 ♂		makrofagi <i>macrophages</i>	Xu i wsp., 1997 (77)
mysz ♂	jednorazowo PR8	10 mg/kg	i.p.		IL-4	IL-2, IFN- γ	splenocyty	Di Francesco i wsp., 1999 (81)
mysz ♂	jednorazowo	15 mg/kg	i.p.		IL-4, IL-10	IFN- γ	splenocyty	Kubera i wsp., 2004 (66)
szczur ♂ <i>rat</i>	jednorazowo	40 mg/kg	i.p.	IL-2, TNF- α		IL-10, TGF- β_1	splenocyty	Pacifici i wsp., 2003 (76)
mysz ♀	1 dzień 1 day	2 x 30 mg/kg	i.p.		IL-2, IFN- γ	IL-4, IL-10	splenocyty	Stanulis i wsp., 1997 (80)
mysz ♂	7 dni 7 days	1 mg/kg/dzień 1 mg/kg/day	i.p.	IL-2, IL-4, IFN- γ			splenocyty	Di Francesco i wsp., 1992 (79)
mysz ♂♀	10 dni	40 mg/kg/dzień	i.p.	IFN- γ	IL-2		tymocyty	Xu i wsp., 1998 (72)
szczur ♂	30 dni	40 mg/kg/dzień	i.p.	IL-2, TNF- α		IL-10, TGF- β_1	splenocyty	Pacifici i wsp., 2003 (76)

Tab. 3 c.d.
Tab. 3 continued

Gatunek/ płeć <i>Species/ sex</i>	Czas podawania <i>Treatment duration</i>	Zastosowana dawka <i>Dose</i>	Droga podawania <i>Administra- tion route</i>	Zmniejszona produkcja <i>Decreased production</i>	Niezmieniona produkcja <i>Unchanged production</i>	Zwiększona produkcja <i>Increased production</i>	Komórki produkujące <i>Cells</i>	Piśmiennictwo <i>Literature</i>
mysz ♀	6 tygodni 6 weeks	40 mg/kg/dzień	i.p.	IL-4, IL-10	IFN-γ	IL-2, IL-5, IL-6, TNF-α	splenocyty	Wang i wsp., 1994 (53)
mysz ♀	6 tygodni	40 mg/kg/dzień	i.p.	TNF-α	IL-1α	IL-6	makrofagi	Wang i wsp., 1994 (53)
mysz ♂ <i>mouse</i>	5 dni – 3 dni przerwy – 1 dzień 5 days – three-day break – 1 day	10 mg/kg/dzień	i.p.	IL-10	IL-4, IFN-γ		splenocyty	Kubera i wsp., 2004 (66)
mysz ♂	as above	15 mg/kg/dzień	i.p.		IL-4, IL-10	IFN-γ	splenocyty	Kubera i wsp., 2004 (66)
szczur ♂ <i>rat</i>	18 dni/days samopodawanie self-administration	0,5 mg/kg/infuzję 0,5 mg/kg/infusion ~12,5 mg/kg/dzień ~12,5 mg/kg/day	i.v.		IL-1, IFN-γ	IL-10, TNF-α	splenocyty	Kubera i wsp., 2008 (68)

Wykaz skrótów i symboli/abbreviations: ♂ – samiec/male; ♀ – samic/female; i.p. – dootrzewnowo; i.v. – dożylnie;
PR8 – mysz przed podaniem kokainy immunizowano wirusem grypy PR8, before cocaine administration mice had been immunized with PR8 influenza virus

6. Odpowiedź humoralna – produkcja/miano przeciwciał po ekspozycji zwierząt doświadczalnych na kokainę

W celu sprawdzenia, czy kokaina może zaburzać odpowiedź humoralną zbadano jej wpływ na produkcję przeciwciał w odpowiedzi na immunizację T-zależnym antygenem (HEL) i kompleksem zawierającym T-zależne i T-niezależne antygeny (rHBcAg), który w praktyce wykazywał właściwości T-niezależnego antygeny (79). W odpowiedzi na immunizację rHBcAg myszy otrzymujące kokainę wykazywały normalną produkcję przeciwciał, natomiast w odpowiedzi na HEL stwierdzono znaczące hamowanie produkcji przeciwciał. Maksymalne hamowanie produkcji przeciwciał pojawiało się, kiedy kokaina podawana była we wczesnym okresie immunizacji T-zależnym antygenem, a efekt ten zanikał w miarę upływu czasu pomiędzy podaniem kokainy a immunizacją. Stanulis i wsp. (17) opracowali schemat podawania kokainy (2×30 mg/kg, z sześciogodzinną przerwą pomiędzy iniekcjami) samicom myszy, który stymulował odpowiedź przeciwciał po immunizacji T-zależnym antygenem. Zwiększone miano przeciwciał pojawiało się, kiedy immunizowane myszy były w wieku przynajmniej 16 tygodni, natomiast nie zmieniało się u myszy 8–10-tygodniowych. Wykazano również, że istotną rolę odgrywa kortykosteron, ponieważ wywoływał podobny efekt, a adrenalectomia i blokada osi PPN, po podaniu – przed kokainą – nieselektywnego antagonisty kortykoliberyny (α -CRF₉₋₄₁), znosiły zwiększoną odpowiedź przeciwciał obserwowaną po podaniu kokainy (17, 80). Podsumowując, kokaina zaburza produkcję przeciwciał wywołaną T-zależnym antygenem, a zmiany zależą od odstępu czasowego pomiędzy immunizacją a podaniem kokainy, od wieku zwierząt doświadczalnych oraz od aktywacji osi PPN.

7. Wpływ kokainy *in vivo* w zwierzęcych modelach zakażeń wirusowych i chorób nowotworowych

W badaniach epidemiologicznych zaobserwowano zwiększoną podatność na zakażenie HIV, szybszą progresję zakażenia HIV i częstsze występowanie AIDS u ludzi nadużywających kokainy (21, 25). W celu zbadania wpływu kokainy na przebieg zakażenia HIV *in vivo*, Roth i wsp. (83) wykorzystali ksenograficzny model myszy rekonstruowanych z zastosowaniem ludzkich leukocytów krwi obwodowej (PBL, *peripheral blood leukocytes*), opracowany wcześniej przez Mosiera i wsp. (84). Myszom z ciężkim złożonym niedoborem odporności (SCID, *severe combined immunodeficiency*) wszczepiano dootrzewnowo ludzkie PBL i otrzymywano hybrydowy model myszy (*huPBL-SCID mouse*). Następnie, przed rozpoczęciem podawania kokainy myszy zakażono zmodyfikowanym HIV. U myszy hybrydowych iniekcje kokainy wywołały zwiększenie liczby zakażonych PBL o 39%, podczas gdy u zwierząt z grupy kontrolnej liczba ta wzrosła o 18%. U myszy otrzymujących kokainę liczba komórek T CD4⁺ i stosunek limfocytów CD4/CD8 były istotnie obniżone, a wiremia niezwykle podniesiona. W kolejnych doświadczeniach kokaina spowodowała

2–3-krotne zwiększenie odsetka zakażonych PBL oraz 100–300-krotne zwiększenie wirerii u myszy huPBL-SCID (19). Blokada receptorów sigma-1, których kokaina jest agonistą, przy zastosowaniu antagonisty BD1047 znosiła efekty obserwowane po kokainie. Sugeruje to, że systemowa ekspozycja myszy na kokainę zwiększa replikację wirusa poprzez oddziaływanie z receptorami sigma-1. Zaobserwowano ponadto, że podczas zakażenia HIV myszy miały obniżone stężenie kortykosteronu w surowicy krwi, a kokaina, pomimo swojego potencjału do aktywacji osi PPN, jeszcze wyraźniej obniżyła stężenie kortykosteronu u myszy zakażonych HIV. W modelu mysiego AIDS, indukowanego przez wirusa mysiej białaczki LP-BM5, wykazano, że ekspozycja myszy na kokainę przez 11 tygodni pogłębiała niekorzystne zmiany w układzie odpornościowym związanym z błonami śluzowymi (MALT, *mucosa-associated lymphoid tissue*) (85).

Z drugiej strony, okazuje się, że kokaina może także hamować progresję chorób wirusowych wywoływanych u zwierząt doświadczalnych. Myszy otrzymujące kokainę przez 5 dni, drugiego dnia podawania kokainy zostały zakażone wirusem grypy PR8 (49). W porównaniu do zwierząt kontrolnych, osobniki otrzymujące kokainę miały zmniejszone miano wirusa w płucach o 50% oraz nieistotnie niższą liczbę lezji w tkance płucnej.

Okazuje się też, że kokaina może przyspieszać wzrost nowotworów u zwierząt doświadczalnych. U myszy ze wszczepionym nowotworem, które otrzymywały kokainę przez 10 dni stwierdzono powiększenie rozmiarów nowotworu w porównaniu do zwierząt kontrolnych (69). W celu sprawdzenia potencjalnego mechanizmu odpowiedzialnego za przyspieszony wzrost nowotworów u zwierząt eksponowanych na kokainę, przeprowadzono badania na myszach ze wszczepionymi komórkami syngenicznej linii nowotworu płuc (L1C2, H-2^d) (82). Myszy otrzymywały kokainę lub selektywnego agonistę receptorów sigma-1 (PRE 084) przed i po wszczepieniu komórek nowotworowych L1C2. Po 21 dniach od wszczepienia komórek nowotworowych stwierdzono, że guzy u myszy otrzymujących kokainę lub PRE 084 są istotnie większe niż u zwierząt kontrolnych. Przyspieszonemu wzrostowi nowotworu towarzyszyło zwiększenie produkcji IL-10 oraz zmniejszenie wytwarzania IFN- γ przez splenocyty i w miejscu guza. Podawanie BD1047, antagonisty receptorów sigma-1, w czasie traktowania kokainą lub agonistą receptorów sigma-1 (PRE 084) znosiło obserwowany efekt przyspieszonego wzrostu nowotworu (82). Dane te sugerują, że kokaina może przyspieszać wzrost wybranych typów nowotworów poprzez działanie na receptory sigma-1.

8. Farmakologiczne i fizjologiczne mechanizmy wpływu kokainy na układ odpornościowy *in vivo* u zwierząt doświadczalnych: wybrane przykłady doświadczeń

Jak wspomniano wcześniej, znane farmakologiczne mechanizmy działania kokainy to blokowanie transporterów zwrotnego wychwyty monoamin, działanie na receptory sigma-1 i muskarynowe oraz blokowanie kanałów sodowych (7, 13–16).

Ponadto, kokaina wywołuje szereg efektów fizjologicznych, takich jak aktywacja osi PPN czy układu współczulnego (11, 12). Wielokierunkowe działanie kokainy sprawia, że jednoczesne określenie roli poszczególnych mechanizmów jej działania we wpływie na składowe elementy układu odpornościowego zwierząt doświadczalnych jest trudnym zadaniem.

Wydaje się jednak, że farmakologiczne oddziaływanie na ośrodkową transmisję dopaminergiczną może wpływać na układ odpornościowy. Mikroiniekcje selektywnego agonisty receptorów dopaminergicznych D1 (SKF 38393) do jądra środkowego ciała migdałowatego (CeA) u szczura wywoływały wzrost proliferacji splenocytów w odpowiedzi na stymulację Con A. Obserwowany efekt był hamowany przez wcześniejsze, systemowe podanie selektywnego antagonisty receptorów D1 (SCH 23390) (86). Ponieważ kokaina nasila transmisję dopaminergiczną w OUN, sprawdzono czy domózgowe podanie kokainy także wywoła zmiany w układzie odpornościowym. Mikroiniekcja kokainy do CeA spowodowała dawkozależne zwiększenie aktywności proliferacyjnej splenocytów stymulowanych Con A. Obserwowany efekt był hamowany, jeżeli podczas mikroiniekcji kokainy do CeA jednocześnie podawany był antagonist receptorów D1 (SCH 23390), ale nie D2 (eticlopride). Mikroiniekcje kokainy do podstawno-bocznej części ciała migdałowatego lub kory gruszkowatej nie wywoływały zmian w proliferacji splenocytów (18). Wyniki sugerują, że wywoływane przez kokainę zmiany w transmisji dopaminergicznej w wybranych strukturach OUN, zależne od konkretnego typu receptora dopaminergicznego, mogą bezpośrednio wpływać na funkcję układu odpornościowego. Należy jednak zauważyć, że ten ewentualny mechanizm oddziaływania kokainy na układ odpornościowy jest jeszcze mało poznany.

Dożylnie podanie kokainy, jak również metylojodku kokainy (*cocaine methiodide*), który nie przenika przez barierę krew-mózg, hamowało proliferację limfocytów krwi obwodowej szczura w odpowiedzi na stymulację Con A. Natomiast podanie kokainy lub metylojodku kokainy do trzeciej komory mózgu szczura nie wpłynęło na zmianę proliferacji limfocytów krwi obwodowej (22). Wyniki sugerowały, że kokaina może wpływać na proliferację limfocytów poprzez mechanizmy obwodowe. Dlatego zbadano, jak oba związki po podaniu ośrodkowym i obwodowym będą wpływały na aktywację osi PPN, uważanej za jeden z głównych mechanizmów fizjologicznych, za pośrednictwem którego kokaina może zmieniać funkcję komórek układu odpornościowego. Zarówno kokaina, jak i metylojodek kokainy zwiększały poziom kortykosteronu w osoczu po podaniu ośrodkowym, natomiast tylko kokaina istotnie zwiększyła stężenie kortykosteronu po podaniu dożylnym, co sugeruje, że oś PPN aktywowana jest przez kokainę po osiągnięciu przez nią docelowych struktur w OUN (22). Już wcześniejsze obserwacje sugerowały, że aktywacja osi PPN po kokainie może nie być głównym czynnikiem wpływającym na proliferację limfocytów, ponieważ po obwodowym podaniu metylojodku kokainy nie obserwowano istotnego zwiększenia stężenia kortykosteronu, a proliferacja ulegała zahamowaniu. Ponadto, po dożylnym podaniu kokainy maksymalne stężenie kortykosteronu obserwowano po 30 minutach od infuzji i wracało do wyjściowego poziomu po godzinie, a limfocyty do pomiaru

prolifracji pobierane były po dwóch godzinach od infuzji (75). Dlatego też w późniejszych badaniach podano szczerom dożylnie lub domózkowo lidokainę blokującą kanały sodowe lub RTI-55, który jest tylko inhibitorem zwrotnego wychwytu monoamin. Lidokaina hamowała proliferację limfocytów tylko po podaniu obwodowym, natomiast RTI-55 hamował proliferację limfocytów po podaniu obwodowym w obydwu dawkach i po podaniu ośrodkowym w największej zastosowanej dawce (22). Uzyskane wyniki wskazują na duży stopień złożoności mechanizmu, przy pomocy którego kokaina zmienia proliferację limfocytów. Ostatecznie wspomniani badacze postulowali, że kokaina działa na proliferację limfocytów głównie przez mechanizmy obwodowe. Podkreślono jednak, że pomiary proliferacji wykonywane były tylko dla jednego punktu czasowego – 2 godziny po podaniu kokainy. Nie wiadomo więc, czy kokaina lub jej pochodna po podaniu ośrodkowym nie wpływały na proliferację limfocytów poprzez mechanizmy ośrodkowe w innych punktach czasowych. Ponadto, wyniki wpływu lidokainy i RTI-55 sugerowały, że kokaina działa na proliferację limfocytów jednocześnie poprzez kilka mechanizmów, wśród których aktywacja osi PPN nie stanowi czynnika o zasadniczym znaczeniu. W konfrontacji z wynikami badań Caroleo i wsp. (18) sugerującymi istnienie specyficznych struktur OUN, w których działanie kokainy może wpływać na funkcję limfocytów, obraz działania kokainy na układ odpornościowy ulega dalszym komplikacjom.

Pomimo uzyskanych w badaniach *in vitro* wyników wskazujących na możliwość pro-zapalnego wpływu kokainy poprzez aktywację genów odpowiedzialnych za produkcję IFN- γ , a więc podstawowej cytokiny odpowiedzi typu pierwszego (Th1), *in vivo* kokaina wywołuje przesunięcie równowagi profilu cytokin w kierunku odpowiedzi typu drugiego (Th2), skierowanej przeciwko patogenom zewnątrzkomórkowym (80). W doświadczeniach wykonanych na myszach zbadano wpływ kokainy na produkcję przez splenocyty cytokin pro-zapalnych (Th1) IFN- γ i IL-2 oraz przeciw-zapalnych (Th2) IL-4 i IL-10. Kokaina istotnie zwiększyła produkcję IL-4 i IL-10, podczas gdy stężenia IFN- γ i IL-2 nie uległy zmianie. Aby sprawdzić, czy obserwowany efekt był konsekwencją wywołanej działaniem kokainy aktywacji osi PPN i zwiększonego stężenia kortykosteronu, zbadano jak splenocyty eksponowane na bezpośrednie działanie kortykosteronu będą wytwarzały IL-4 i IL-10 oraz IFN- γ i IL-2. Okazało się, że efekt kortykosteronu jest dwufazowy: w małych stężeniach zwiększał produkcję IL-4 i IL-10, a w większych – hamował. W przypadku IFN- γ i IL-2 małe stężenia nie wywoływały efektów stymulacyjnych, a supresyjny wpływ widoczny był już przy mniejszych stężeniach niż w przypadku IL-4 i IL-10 (80). Wyniki sugerowały, że kokaina może zwiększać produkcję cytokin typu Th2 poprzez zwiększenie stężenia kortykosteronu.

Warto również wspomnieć, że przewlekłe podawanie kokainy szczerom może upośledzać enzymatyczną i nie-enzymatyczną komórkową obronę antyoksydacyjną splenocytów, powodując uszkodzenia komórek w wyniku peroksydacji lipidów i promując wydłużenie immunotoksycznego działania kokainy (76).

Immunologiczne konsekwencje oddziaływania kokainy na receptory sigma-1 zostały już przedstawione w podrozdziale opisującym badania na zwierzęcych modelach

chorób wirusowych i nowotworowych. Należy jednak podkreślić, że wpływ kokainy na układ odpornościowy poprzez działanie na receptory muskarynowe jest w dalszym ciągu mało poznany.

WPŁYW KOKAINY NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY U LUDZI

Badania przeprowadzane na zwierzętach doświadczalnych oraz badania *in vitro* często dają sprzeczne wyniki. Istotne rozbieżności zaobserwowano tu pomiędzy uzyskanymi danymi dotyczącymi wpływu kokainy na produkcję cytokin przez komórki układu odpornościowego u zwierząt doświadczalnych różnych gatunków a uzyskanymi w doświadczeniach *in vitro*. Gan i współpracownicy (87) postanowili zbadać wpływ kokainy na wydzielanie IL-10 i IFN- γ przez PBMC u pacjentów-ochotników, którzy spełniali trzy kryteria:

- 1) przewlekłe nadużywali kokainy, a więc mieli historię uzależnienia potwierdzoną pozytywnymi wynikami testów na obecność benzoiloeckgoniny w moczu;
- 2) byli HIV-1 seronegatywni;
- 3) nie nadużywali jednocześnie opiatów, przynajmniej przez ostatnie 30 dni przed doświadczeniem, co musiało być udowodnione historią i negatywnymi wynikami testów moczu.

Wśród ochotników było 14 mężczyzn i 1 kobieta, ze średnią wieku około 38 lat, uzależnieni średnio 14 lat i wydający na kokainę tygodniowo średnio 211 US\$. Wszyscy już 3 dni przed doświadczeniem byli hospitalizowani i nie mieli dostępu do kokainy. Czwartego dnia każda osoba otrzymała dożylną infuzję soli fizjologicznej, a po 1–2 godzinach – infuzję kokainy (20 mg). Piątego dnia powtórzono procedurę, podając w trakcie drugiej infuzji 40 mg kokainy. Krew pobierano 20 minut przed i 30 minut po infuzji kokainy. Porównywano wyniki uzyskane przed i po infuzji oraz uzyskane od grupy kontrolnej (4 zdrowe osoby personelu szpitala, które udowodniły, że nie nadużywały narkotyków). Kokaina wywołała zwiększenie wydzielania IFN- γ oraz zahamowała wydzielanie IL-10 przez PBMC stymulowane PHA, zwiększyła liczbę leukocytów, limfocytów, limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ we krwi obwodowej, ale nie zmieniła stosunku limfocytów CD4/CD8. Ponadto kokaina zahamowała proliferację limfocytów w odpowiedzi na stymulację PHA o 31%, a w odpowiedzi na stymulację LPS/PHA – o 47%. Wyniki te zgadzają się z niektórymi obserwacjami *in vitro* świadczącymi o zwiększonej ekspresji genów dla IFN po ekspozycji komórek na kokainę oraz z wynikami doświadczeń wykonanych na zwierzętach doświadczalnych. Te ostatnie wyniki jednoznacznie wskazują na hamujący wpływ kokainy na proliferację limfocytów krwi obwodowej (22, 46, 47, 75).

Ponieważ wrodzona odporność jest ważnym elementem obrony przeciwko zakażeniom bakteryjnym, zbadano wpływ kokainy na wewnątrzkomórkową ekspresję TNF- α i IL-6 w ludzkich monocytach krwi obwodowej stymulowanych przez LPS (20). Do badań zaangażowano 55 osób uzależnionych od kokainy i 19 zdrowych osób o porównywalnym wieku i indeksie masy ciała. Osoby uzależnione spełniały

podobne kryteria, jak w doświadczeniu Gana i wsp. (87), rozszerzone o informacje dotyczące używania alkoholu, tytoniu oraz czasu aktywności i odpoczynku w trakcie eksperymentu. Pomiar ekspresji TNF- α i IL-6 w monocytach wykonywane były siedem razy w ciągu doby. Po dwóch dniach abstynencji od kokainy osoby uzależnione ujawniły zmniejszony procent monocytów, wykazujących spoczynkową ekspresję TNF- α w ciągu całej doby, a ekspresja IL-6 nie różniła się istotnie pomiędzy grupami. Po stymulacji monocytów lipopolisacharydem ekspresja TNF- α nadal była istotnie obniżona u ochotników uzależnionych. W drugiej fazie doświadczenia ochotnicy otrzymywali jednorazową infuzję kokainy (40 mg) lub placebo. Kokaina mocno obniżyła ekspresję TNF- α w monocytach po stymulacji przez LPS, a ekspresja IL-6 nie uległa istotnym zmianom. Kokaina istotnie obniżyła również ilość krążącego receptora dla TNF- α , TNFRII. Podczas badań przeprowadzono szczegółowe pomiary pracy serca, mające na celu określenie aktywności układu współczulnego po infuzjach kokainy. Stwierdzono występowanie negatywnej korelacji między procentem monocytów wykazujących ekspresję TNF- α a aktywnością układu współczulnego. Wyniki wskazują, że przewlekłe uzależnienie od kokainy i jednorazowa infuzja kokainy mogą upośledzać składowe odporności wrodzonej u ludzi.

Dużym problemem społecznym jest obecnie palenie kokainy w formie zasadowej (*crack*), predestynujące osoby uzależnione do zwiększonej podatności na zakażenia bakteryjne układu oddechowego, m.in. na gruźlicę (27, 88, 89). U ludzi nałogowo palących *crack* podczas bronchoskopii pobrano makrofagi z pęcherzyków płucnych, a następnie zbadano *in vitro*, jaką mają zdolność do produkcji tlenku azotu (NO) i fagocytozy *Staphylococcus aureus* (90). Okazało się, że w porównaniu z makrofagami pobranymi od osób niepalących lub palących nałogowo tytoń, makrofagi pobrane od osób uzależnionych od palenia kokainy wykazywały dużo mniejszą produkcję NO i zdolność do fagocytozy. Ponadto, makrofagi z pęcherzyków płucnych osób palących nałogowo kokainę, gdy oceniano ich zdolność do zabijania komórek nowotworowych wyznakowanych [³H]-tymidyną, były zdecydowanie mniej skuteczne niż komórki pochodzące od osób niepalących lub nałogowych palaczy tytoniu. Makrofagi pobrane od osób uzależnionych od kokainy wykazywały średnią skuteczność w zabijaniu komórek nowotworowych – rzędu 23%, a makrofagi pochodzące od osób niepalących lub nałogowych palaczy tytoniu, odpowiednio: około 65% i 58% (91).

U pacjentów izby przyjęć, u których stwierdzono obecność kokainy lub jej metabolitów w moczu, przeprowadzono badania cytometryczne, mające na celu określenie zmian w proporcjach i liczbie subpopulacji limfocytów we krwi obwodowej (92). Podczas badań sprawdzono frekwencję limfocytów T, B i komórek NK oraz koekspresję markerów limfocytów T związanych z aktywnością komórek i pamięcią immunologiczną. Wyniki wykazały, że intoksykacja kokainą wywołała spadek procentowego udziału limfocytów T CD4⁺ i zwiększenie liczby komórek NK. Zwiększeniu uległ procent aktywnych komórek T CD4⁺ oraz CD8⁺, wykazujących ekspresję kompleksu zgodności tkankowej klasy II (class II⁺) i komórek T CD4⁺ z ekspresją receptora dla IL-2 (IL2r⁺). Zmniejszeniu uległ udział limfocytów T CD8⁺ związanych z pamięcią immunologiczną, wykazujących ekspresję CD45RO⁺. Natomiast

w kolejnych badaniach HIV seronegatywnych osób z pozytywnymi wynikami na obecność kokainy lub jej metabolitów w moczu, nie stwierdzono istotnych różnic w liczbie i proporcjach pomiędzy subpopulacjami limfocytów T, B i komórek NK oraz w ekspresji markera pamięci immunologicznej CD62L na badanych komórkach krwi obwodowej (93). Stwierdzono jedynie nieznaczne obniżenie proliferacji limfocytów T, ale tylko w odpowiedzi na stymulację PHA. Należy jednak zauważyć, że wśród badanych pacjentów były osoby, które w testach na obecność marihuany i heroiny uzyskały pozytywne wyniki, a osoby przewlekle uzależnione od kokainy stanowiły mniejszość badanej grupy. Obserwowane rozbieżności w uzyskanych wynikach mogą być zatem spowodowane stosowaniem zróżnicowanych dawek, zmiennymi przedziałami czasowymi, częstością i drogą podawania kokainy lub interakcjami z innymi substancjami zżywanymi przez pacjentów. Ponadto badane osoby często były hospitalizowane w związku z różnego typu urazami mechanicznymi, które bezpośrednio oraz pośrednio poprzez stres emocjonalny mogły wpływać na zmianę badanych parametrów. Dlatego badania prekliniczne na zwierzętach doświadczalnych stanowią użyteczny model do badania wpływu kokainy na układ odpornościowy, model zapewniający istotne ograniczenie liczby czynników, które mogą wpływać na zmianę badanych parametrów, niezależnie od działania kokainy.

W badaniach przeprowadzonych na ochotnikach zbadano także wpływ kokainy i jej metabolitu, benzoiloeogoniny (BE), na aktywność cytotoksyczną komórek NK (ACNK) we krwi obwodowej (94). Ośmiu ochotników, okazjonalnie zżywiających kokainę (w wieku 21–33 lata), otrzymało dożylnie infuzje kokainy (0,6 mg/kg) lub BE (0,4 mg/kg) lub soli fizjologicznej. Dawka BE została dobrana tak, aby stężenie BE w osoczu było porównywalne do maksymalnego stężenia obserwowanego po podaniu kokainy w dawce 0,6 mg/kg. Kokaina wywołała istotne zwiększenie ACNK obserwowane od 5 do 60 minuty po infuzji, natomiast BE tylko nieistotnie podniosła ACNK w 5 minucie po infuzji. Maksymalny efekt prawie czterokrotnego zwiększenia ACNK obserwowany był już po 20 minutach od infuzji kokainy. Zwiększeniu ACNK towarzyszyło podwyższenie liczby krążących komórek wykazujących, charakterystyczną dla komórek NK, ekspresję LEU-11⁺ oraz zwiększenie stężenia kokainy w osoczu. Wyniki badań sugerują, że pomimo dużego potencjału kokainy do supresyjnego wpływu na układ odpornościowy może ona także stymulować pierwotną odpowiedź komórkową. Należy jednak zauważyć, że wpływ na obserwowane immunostymulacyjne efekty mógł mieć fakt, że w doświadczeniu wzięły udział osoby sporadycznie przyjmujące kokainę a nie osoby uzależnione. Zaprezentowane w niniejszej pracy wyniki doświadczeń sugerują, że immunosupresyjny wpływ kokainy może nasilać się wraz z czasem podawania kokainy i przede wszystkim stwierdzany jest po wielokrotnym podawaniu kokainy w dużych dawkach.

W badaniach socjologicznych przeprowadzonych wśród narkomanów, nosicieli HIV-1, stosujących dożylną drogę podawania narkotyków wykazano, że osoby zżywiające kokainę częściej doświadczały obniżenia liczby komórek CD4⁺ niż osoby nie zżywiające kokainy. Między innymi, u narkomanów zżywiających heroinę nie stwierdzono istotnie częstszego występowania obniżenia liczby komórek CD4⁺. Wie-

loczynnikowa analiza danych wykazała, że obniżenie liczby komórek CD4⁺ jest prawie 3 razy bardziej prawdopodobne u narkomanów uzależnionych od kokainy (95).

W podsumowaniu, uzależnienie od kokainy u ludzi związane jest z upośledzeniem funkcji wybranych składowych elementów układu odpornościowego. Sporadyczne przyjmowanie kokainy może nie wywoływać widocznego hamującego wpływu na funkcję i liczbę komórek układu odpornościowego, a nawet w określonych warunkach można zaobserwować efekty immunostymulacyjne.

PIŚMIENNICTWO

1. Hatsukami DK, Fischman MW (1996) Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *Journal of the American Medical Association*, 276, 1580–1588.
2. Withers NW, Pulvirenti L, Koob GF, Gillin JC (1995) Cocaine abuse and dependence. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 15, 63–78.
3. Quinn DI, Wodak A, Day RO (1997) Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of illicit drug use and treatment of illicit drug users. *Clinical Pharmacokinetics*, 33, 344–400.
4. Bradberry CW (2002) Dynamics of extracellular dopamine in the acute and chronic actions of cocaine. *Neuroscientist*, 8, 315–322.
5. Samaha AN, Robinson TE (2005) Why does the rapid delivery of drugs to the brain promote addiction? *Trends in Pharmacological Sciences*, 26, 82–87.
6. Broderick PA (1992) Distinguishing effects of cocaine i.v. and SC on mesoaccumbens dopamine and serotonin release with chloral hydrate anesthesia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 43, 929–937.
7. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG (1996) Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*, 379, 606–612.
8. Schmitt KC, Reith ME (2010) Regulation of the dopamine transporter: aspects relevant to psychostimulant drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1187, 316–340.
9. Chen R, Tilley MR, Wei H, Zhou F, Zhou FM, Ching S, Quan N, Stephens RL, Hill ER, Nottoli T, Han DD, Gu HH (2006) Abolished cocaine reward in mice with a cocaine-insensitive dopamine transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 9333–9338.
10. Hall FS, Li XF, Randall-Thompson J, Sora I, Murphy DL, Lesch KP, Caron M, Uhl GR (2009) Cocaine-conditioned locomotion in dopamine transporter, norepinephrine transporter and 5-HT transporter knockout mice. *Neuroscience*, 162, 870–880.
11. Armario A (2010) Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by addictive drugs: different pathways, common outcome. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31, 318–325.
12. de Jong IE, Steenbergen PJ, de Kloet ER (2009) Behavioral sensitization to cocaine: cooperation between glucocorticoids and epinephrine. *Psychopharmacology (Berlin)*, 204, 693–703.
13. Yang Y, Ke Q, Cai J, Xiao YF, Morgan JP (2001) Evidence for cocaine and methylecgonidine stimulation of M(2) muscarinic receptors in cultured human embryonic lung cells. *British Journal of Pharmacology*, 132, 451–460.
14. Jayanthi LD, Ramamoorthy S (2005) Regulation of monoamine transporters: influence of psychostimulants and therapeutic antidepressants. *The AAPS Journal*, 7, E728–738.
15. Brown PL, Kiyatkin EA (2006) The role of peripheral Na(+) channels in triggering the central excitatory effects of intravenous cocaine. *European Journal of Neuroscience*, 24, 1182–1192.
16. Chen Y, Hajipour AR, Sievert MK, Arbabian M, Ruoho AE (2007) Characterization of the cocaine binding site on the sigma-1 receptor. *Biochemistry*, 46, 3532–3542.

17. Stanulis ED, Matulka RA, Jordan SD, Rosecrans JA, Holsapple MP (1997) Role of corticosterone in the enhancement of the antibody response after acute cocaine administration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280, 284–291.
18. Caroleo MC, Arbirio M, Di Francesco P, Pulvirenti L, Garaci E, Nistico G (1998) Cocaine induced T cell proliferation in the rat: role of amygdala dopamine D1 receptors. *Neuroscience Letters*, 256, 61–64.
19. Roth MD, Whittaker KM, Choi R, Tashkin DP, Baldwin GC (2005) Cocaine and sigma-1 receptors modulate HIV infection, chemokine receptors, and the HPA axis in the huPBL-SCID model. *Journal of Leukocyte Biology*, 78, 1198–1203.
20. Irwin MR, Olmos L, Wang M, Valladares EM, Motivala SJ, Fong T, Newton T, Butch A, Olmstead R, Cole SW (2007) Cocaine dependence and acute cocaine induce decreases of monocyte proinflammatory cytokine expression across the diurnal period: autonomic mechanisms. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320, 507–515.
21. Strathdee SA, Stockman JK (2010) Epidemiology of HIV among injecting and non-injecting drug users: current trends and implications for interventions. *Current HIV/AIDS Reports*, 7, 99–106.
22. Pellegrino TC, Dunn KL, Bayer BM (2001) Mechanisms of cocaine-induced decreases in immune cell function. *International Immunopharmacology*, 1, 665–675.
23. Baldwin GC, Roth MD, Tashkin DP (1998) Acute and chronic effects of cocaine on the immune system and the possible link to AIDS. *Journal of Neuroimmunology*, 83, 133–138.
24. Friedman H, Eisenstein TK (2004) Neurological basis of drug dependence and its effects on the immune system. *Journal of Neuroimmunology*, 147, 106–108.
25. Cabral GA (2006) Drugs of abuse, immune modulation, and AIDS. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 1, 280–95.
26. Reynolds JL, Mahajan SD, Aalinkeel R, Nair B, Sykes DE, Agosto-Mujica A, Hsiao CB, Schwartz SA (2009) Modulation of the proteome of peripheral blood mononuclear cells from HIV-1-infected patients by drugs of abuse. *Journal of Clinical Immunology*, 29, 646–656.
27. Story A, Bothamley G, Hayward A (2008) Crack cocaine and infectious tuberculosis. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 1466–1469.
28. Xu W, Flick T, Mitchel J, Knowles C, Ault K (1999) Cocaine effects on immunocompetent cells: an observation of in vitro cocaine exposure. *International Journal of Immunopharmacology*, 21, 463–472.
29. Choi SJ, Yoon KJ, Park KK, Ngong JM, Soliman KF (1998) The thymolytic effect of cocaine and monoaminergic drugs in the mouse. *Life Sciences*, 62, 905–912.
30. Berkeley MB, Daussin S, Hernandez MC, Bayer BM (1994) In vitro effects of cocaine, lidocaine and monoamine uptake inhibitors on lymphocyte proliferative responses. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 16, 165–178.
31. Phillips DL, Tebbett IR, Masten S, Shiverick KT (1995) Stimulatory effects of cocaine and its metabolites on IM-9 human B-lymphoblastoid cells. *International Journal of Immunopharmacology*, 17, 57–63.
32. Qiu YH, Peng YP, Jiang JM, Wang JJ (2004) Expression of tyrosine hydroxylase in lymphocytes and effect of endogenous catecholamines on lymphocyte function. *Neuroimmunomodulation*, 11, 75–83.
33. McKenna F, McLaughlin PJ, Lewis BJ, Sibbring GC, Cummerson JA, Bowen-Jones D, Moots RJ (2002) Dopamine receptor expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: a flow cytometric study. *Journal of Neuroimmunology*, 132, 34–40.
34. Besser MJ, Ganor Y, Levite M (2005) Dopamine by itself activates either D2, D3 or D1/D5 dopaminergic receptors in normal human T-cells and triggers the selective secretion of either IL-10, TNFalpha or both. *Journal of Neuroimmunology*, 169, 161–171.
35. Buttarelli FR, Circella A, Pellicano C, Pontieri FE (2006) Dopamine transporter immunoreactivity in peripheral blood mononuclear cells in amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Neurology*, 13, 416–418.

36. Buttarelli FR, Circella A, Pellicano C, Tiple D, Giovannelli M, Colosimo C, Pontieri FE (2009) Dopamine transporter immunoreactivity in peripheral blood lymphocytes in multiple system atrophy. *Journal of Neural Transmission*, 116, 161–165.
37. Pellicano C, Buttarelli FR, Circella A, Tiple D, Giovannelli M, Benincasa D, Colosimo C, Pontieri FE (2007) Dopamine transporter immunoreactivity in peripheral blood lymphocytes discriminates Parkinson's disease from essential tremor. *Journal of Neural Transmission*, 114, 935–938.
38. Marazziti D, Baroni S, Catena Dell'Osso M, Masala I, Fabbrini L, Betti L, Giannaccini G, Dell'osso B, Lucacchini A (2008) Presence and characterization of the dopamine transporter in human resting lymphocytes. *Neurochemical Research*, 33, 1011–1016.
39. Marazziti D, Catena Dell'osso M, Baroni S, Masala I, Dell'Osso B, Consoli G, Giannaccini G, Betti L, Lucacchini A (2010) Alterations of the dopamine transporter in resting lymphocytes of patients with different psychotic disorders. *Psychiatry Research*, 175, 54–57.
40. Marazziti D, Consoli G, Masala I, Catena Dell'Osso M, Baroni S (2010) Latest advancements on serotonin and dopamine transporters in lymphocytes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10, 32–40.
41. Ricci A, Vega JA, Amenta F (1994) Pharmacological characterization and autoradiographic localization of dopamine D1-like receptors in the thymus. *Journal of Neuroimmunology*, 50, 133–138.
42. Bencsics A, Sershen H, Baranyi M, Hashim A, Lajtha A, Vizi ES (1997) Dopamine, as well as norepinephrine, is a link between noradrenergic nerve terminals and splenocytes. *Brain Research*, 761, 236–243.
43. Mignini F, Traini E, Tomassoni D, Amenta F (2006) Dopamine plasma membrane transporter (DAT) in rat thymus and spleen: an immunochemical and immunohistochemical study. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 26, 183–189.
44. Mignini F, Tomassoni D, Traini E, Amenta F (2009) Dopamine, vesicular transporters and dopamine receptor expression and localization in rat thymus and spleen. *Journal of Neuroimmunology*, 206, 5–13.
45. Mignini F, Sabbatini M, D'Andrea V, Cavallotti C (2010) Intrinsic innervation and dopaminergic markers after experimental denervation in rat thymus. *European Journal of Histochemistry*, 54, e17.
46. Crawford FC, Wood ML, Wilson SE, Mathura VS, Hollen TR, Geall F, Kolippakkam DN, Mullan MJ (2006) Cocaine induced inflammatory response in human neuronal progenitor cells. *Journal of Neurochemistry*, 97, 662–674.
47. Grattendick K, Jansen DB, Lefkowitz DL, Lefkowitz SS (2000) Cocaine causes increased type I interferon secretion by both L929 cells and murine macrophages. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 7, 245–250.
48. Lefkowitz SS, Brown DJ, Grattendick K, Lefkowitz DL (1997) Cocaine inhibits production of murine hepatitis virus by peritoneal macrophages in vitro. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 215, 87–93.
49. Grattendick K, Lefkowitz DL, Lefkowitz SS (2000) Inhibition of influenza virus replication by cocaine. *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 105–111.
50. Mao JT, Huang M, Wang J, Sharma S, Tashkin DP, Dubinett SM (1996) Cocaine down-regulates IL-2-induced peripheral blood lymphocyte IL-8 and IFN-gamma production. *Cellular Immunology*, 172, 217–223.
51. Mukunda BN, Callahan JM, Hobbs MS, West BC (2000) Cocaine inhibits human neutrophil phagocytosis and phagolysosomal acidification in vitro. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 22, 373–386.
52. Shen HM, Kennedy JL, Ou DW (1994) Inhibition of cytokine release by cocaine. *International Journal of Immunopharmacology*, 16, 295–300.
53. Wang Y, Huang DS, Watson RR (1994) In vivo and in vitro cocaine modulation on production of cytokines in C57BL/6 mice. *Life Sciences*, 54, 401–411.

54. Falchetti R, Di Francesco P, Lanzilli G, Gaziano R, Casalnuovo IA, Ravagnan G, Garaci E (1995) In vitro effects of cocaine on cytokine secretion induced in murine splenic CD4+ T cells by antigen-specific stimulation. *Cellular Immunology*, 164, 57–64.
55. Zhu LX, Sharma S, Gardner B, Escudero B, Atianzar K, Tashkin DP, Dubinett SM (2003) IL-10 mediates sigma 1 receptor-dependent suppression of antitumor immunity. *Journal of Immunology*, 170, 3585–3591.
56. Wang N, Stamenovic D (2002) Mechanics of vimentin intermediate filaments. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 23, 535–540.
57. Höner B, Shoeman RL, Traub P (1992) Degradation of cytoskeletal proteins by the human immunodeficiency virus type 1 protease. *Cell Biology International Reports*, 16, 603–612.
58. Shoeman RL, Hüttermann C, Hartig R, Traub P (2001) Amino-terminal polypeptides of vimentin are responsible for the changes in nuclear architecture associated with human immunodeficiency virus type 1 protease activity in tissue culture cells. *Molecular Biology of the Cell*, 12, 143–154.
59. Elola MT, Wolfenstein-Todel C, Troncoso MF, Vasta GR, Rabinovich GA (2007) Galectins: matrix-cellular glycan-binding proteins linking cell adhesion, migration, and survival. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, 1679–1700.
60. Mercier S, St-Pierre C, Pelletier I, Ouellet M, Tremblay MJ, Sato S (2008) Galectin-1 promotes HIV-1 infectivity in macrophages through stabilization of viral adsorption. *Virology*, 371, 121–129.
61. Geiben-Lynn R, Kursar M, Brown NV, Addo MM, Shau H, Lieberman J, Luster AD, Walker BD (2003) HIV-1 antiviral activity of recombinant natural killer cell enhancing factors, NKEF-A and NKEF-B, members of the peroxiredoxin family. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 1569–1574.
62. Iordanskiy S, Zhao Y, Dubrovsky L, Iordanskaya T, Chen M, Liang D, Bukrinsky M (2004) Heat shock protein 70 protects cells from cell cycle arrest and apoptosis induced by human immunodeficiency virus type 1 viral protein R. *Journal of Virology*, 78, 9697–9704.
63. Bagasra O, Pomerantz RJ (1993) Human immunodeficiency virus type 1 replication in peripheral blood mononuclear cells in the presence of cocaine. *Journal of Infectious Diseases*, 168, 1157–1164.
64. Gekker G, Hu S, Sheng WS, Rock RB, Lokensgard JR, Peterson PK (2006) Cocaine-induced HIV-1 expression in microglia involves sigma-1 receptors and transforming growth factor-beta1. *International Immunopharmacology*, 6, 1029–1033.
65. Lopez MC, Colombo LL, Huang DS, Wang Y, Watson RR (1992) Modification of thymic cell subsets induced by long-term cocaine administration during a murine retroviral infection producing AIDS. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 65, 45–52.
66. Kubera M, Filip M, Basta-Kaim A, Nowak E, Siwanowicz J, Zajicova A, Holan V, Maes M, Lason W (2004) The effect of cocaine sensitization on mouse immunoreactivity. *European Journal of Pharmacology*, 483, 309–315.
67. Lopez MC, Huang DS, Watzl B, Chen GJ, Watson RR (1991) Splenocyte subsets in normal and protein malnourished mice after long-term exposure to cocaine or morphine. *Life Sciences*, 49, 1253–1262.
68. Kubera M, Filip M, Budziszewska B, Basta-Kaim A, Wydra K, Leskiewicz M, Regulska M, Jaworska-Feil L, Przegaliński E, Machowska A, Lason W (2008) Immunosuppression induced by a conditioned stimulus associated with cocaine self-administration. *Journal of Pharmacological Sciences*, 107, 361–369.
69. Ou DW, Shen ML, Luo YD (1989) Effects of cocaine on the immune system of Balb/C mice. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 52, 305–312.
70. Di Francesco P, Falchetti R, Gaziano R, Lanzilli G, Belogi L, Ravagnan G, Garaci E (1994) Differential effects of short-term or prolonged cocaine exposure on peripheral blood cells in mice. *Life Sciences*, 54, 2015–2020.
71. Jankowski MM, Ignatowska-Jankowska B, Glac W, Swiergiel AH (2010) Cocaine administration increases CD4/CD8 lymphocyte ratio in peripheral blood despite lymphopenia and elevated corticosterone. *International Immunopharmacology*, 10, 1229–1234.

72. Xu W, Flick T, Mitchell J, Knowles C, Ault K (1998) Interactive effects of cocaine and gender on thymocytes: a study of in vivo repeated cocaine exposure. *International Journal of Immunopharmacology*, 20, 737–749.
73. Wu YB, Shen ML, Gu GG, Anderson KM, Ou DW (1997) The effects of cocaine injections on mouse thymocyte population. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 214, 173–179.
74. Lopez MC, Chen GJ, Huang DS, Wang Y, Watson RR (1992) Modification of spleen cell subsets by chronic cocaine administration and murine retrovirus infection in normal and protein-malnourished mice. *International Journal of Immunopharmacology*, 14, 1153–1163.
75. Bayer BM, Mulrone SE, Hernandez MC, Ding XZ (1995) Acute infusions of cocaine result in time- and dose-dependent effects on lymphocyte responses and corticosterone secretion in rats. *Immunopharmacology*, 29, 19–28.
76. Pacifici R, Fiaschi AI, Micheli L, Centini F, Giorgi G, Zuccaro P, Pichini S, Di Carlo S, Bacosi A, Cerretani D (2003) Immunosuppression and oxidative stress induced by acute and chronic exposure to cocaine in rat. *International Immunopharmacology*, 3, 581–592.
77. Xu W, Bai F, Tummalapalli CM, Miller DD, Middaugh L, Boggan WO (1997) The interactive effects of cocaine/gender on immune function in mice. An observation of in vivo acute cocaine exposure. *International Journal of Immunopharmacology*, 19, 333–340.
78. Di Francesco P, Pica F, Croce C, Favalli C, Tubaro E, Garaci E (1990) Effect of acute or daily cocaine administration on cellular immune response and virus infection in mice. *Natural Immunity and Cell Growth Regulation*, 9, 397–405.
79. Di Francesco P, Marini S, Pica F, Favalli C, Tubaro E, Garaci E (1992) In vivo cocaine administration influences lymphokine production and humoral immune response. *Immunologic Research*, 11, 74–79.
80. Stanulis ED, Jordan SD, Rosecrans JA, Holsapple MP (1997a) Disruption of Th1/Th2 cytokine balance by cocaine is mediated by corticosterone. *Immunopharmacology*, 37, 25–33.
81. Di Francesco P, Falchetti R, Gaziano R, Lanzilli G, Casalinuovo IA, Ravagnan G, Garaci E (1999) Effects of cocaine administration to influenza virus-immunized mice on cytokine profiles of individual splenic CD4+ and CD8+ T cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 118, 428–434.
82. Gardner B, Zhu LX, Roth MD, Tashkin DP, Dubinett SM, Sharma S (2004) Cocaine modulates cytokine and enhances tumor growth through sigma receptors. *Journal of Neuroimmunology*, 147, 95–98.
83. Roth MD, Tashkin DP, Choi R, Jamieson BD, Zack JA, Baldwin GC (2002) Cocaine enhances human immunodeficiency virus replication in a model of severe combined immunodeficient mice implanted with human peripheral blood leukocytes. *Journal of Infectious Diseases*, 185, 701–705.
84. Mosier DE, Gulizia RJ, Baird SM, Wilson DB, Spector DH, Spector SA (1991) Human immunodeficiency virus infection of human-PBL-SCID mice. *Science*, 251, 791–794.
85. Lopez MC, Watson RR (1994) Effect of cocaine and murine AIDS on lamina propria T and B cells in normal mice. *Life Sciences*, 54, 147–151.
86. Nistico G, Caroleo MC, Arbitrio M, Pulvirenti L (1994) Dopamine D1 receptors in the amygdala enhance the immune response in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 741, 316–323.
87. Gan X, Zhang L, Newton T, Chang SL, Ling W, Kermani V, Berger O, Graves MC, Fiala M (1998) Cocaine infusion increases interferon-gamma and decreases interleukin-10 in cocaine-dependent subjects. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 89, 181–190.
88. Howard AA, Klein RS, Schoenbaum EE, Gourevitch MN (2002) Crack cocaine use and other risk factors for tuberculin positivity in drug users. *Clinical and Infectious Diseases*, 35, 1183–1190.
89. Nutt DJ, King LA, Phillips LD; Independent Scientific Committee on Drugs (2010) Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. *Lancet*, 376, 1558–1565.
90. Roth MD, Whittaker K, Salehi K, Tashkin DP, Baldwin GC (2004) Mechanisms for impaired effector function in alveolar macrophages from marijuana and cocaine smokers. *Journal of Neuroimmunology*, 147, 82–86.

91. Baldwin GC, Tashkin DP, Buckley DM, Park AN, Dubinett SM, Roth MD (1997) Marijuana and cocaine impair alveolar macrophage function and cytokine production. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 156, 1606–1613.
92. Ruiz P, Cleary T, Nassiri M, Steele B (1994) Human T lymphocyte subpopulation and NK cell alterations in persons exposed to cocaine. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 70, 245–250.
93. Ruiz P, Berho M, Steele BW, Hao L (1998) Peripheral human T lymphocyte maintenance of immune functional capacity and phenotypic characteristics following in vivo cocaine exposure. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 88, 271–276.
94. Van Dyke C, Stesin A, Jones R, Chuntharapai A, Seaman W (1986) Cocaine increases natural killer cell activity. *Journal of Clinical Investigation*, 77, 1387–1390.
95. Siddiqui NS, Brown LS Jr, Makuch RW (1993) Short-term declines in CD4 levels associated with cocaine use in HIV-1 seropositive, minority injecting drug users. *Journal of the National Medical Association*, 85, 293–296.

Adres do korespondencji

Artur H. Świergiel

ul. Nowogrodzka 62B/31, 02-002 Warszawa

tel. (48) 503 934 080

e-mail: psychoimmunologia@yahoo.com

Otrzymano: 29.08.2011

Przyjęto do druku: 30.04.2012