



2020-10-27

AUTOREFERAT
Znaczenie modulacji
aktywności mezo limbicznego
układu dopaminergicznego w
zachowaniach
poszukiwawczych kokainy



dr Wojciech Solecki

Zakład Neurobiologii i Neuropsychologii,
Instytut Psychologii Stosowanej, Wydział
Zarządzania i Komunikacji Społecznej,
Uniwersytet Jagielloński

Spis treści

1. Imię i nazwisko	2
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.....	2
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki.....	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	3
4.2. Lista publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.....	3
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ewentualnego wykorzystania.....	7
4.3.1. Wprowadzenie.....	7
4.3.2. Omówienie głównych wyników cyklu prac	11
4.3.2.1. Rola aktywności dopaminergicznej w układzie pole brzuszne nakrywki - jądra półleżącego przegrody w modulowaniu poszukiwania kokainy (Solecki i wsp. Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-methyl-D- aspartate receptors in cocaine-seeking. <i>Neuropharmacology</i> . 2013 75:9-18.)	11
4.3.2.2. Rola aktywności neuronów dopaminergicznych w VTA w modulowaniu poszukiwania kokainy (Solecki i wsp. Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence. <i>Addict Biol</i> . 2019 e12826)	13
4.3.2.3. Znaczenie aktywności noradrenergicznej w VTA w modulowaniu aktywności dopaminergicznej w układzie VTA-NAc (Pradel, Blasiak, Solecki. Adrenergic receptors' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. <i>Neuroscience</i> . 2018 375:119-134; Kielbinski, Bernacka, Solecki, Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling. <i>J Neurochem</i> . 2019 149(6):747-759).....	16
4.3.2.4. Wpływ aktywności noradrenergicznej w VTA na poszukiwanie kokainy (Solecki i wsp. Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving. <i>Addict Biol</i> . 2018 23(2):596-609; Solecki i wsp. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking. <i>Neuropharmacology</i> . 2019 158:107680).....	19
4.3.2.5. Wpływ aktywności noradrenergicznej w VTA na uwarunkowaną reakcję strachu (Solecki i wsp. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses. <i>Eur Neuropsychopharmacol</i> . 2017 27(8):782-794)	21
4.3.2.6. Wpływ aktywności noradrenergicznej na nasilenie symptomów zespołu odstawienia (Solecki i wsp. Noradrenergic and corticosteroid receptors regulate somatic and motivational symptoms of morphine withdrawal. <i>Behav Brain Res</i> . 2019 360:146-157)	22
4.3.2.7. Podsumowanie.....	23
4.3.3. Omówienie ewentualnego wykorzystania wyników prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.....	23
4.3.4. Dalsze plany badawcze.....	24
Bibliografia.....	24

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	27
5.1. Staże zagraniczne	28
5.2. Kierowanie i uczestnictwo w grantach badawczych	29
5.3. Współpraca naukowa (krajowa i zagraniczna).....	34
5.4. Wykłady na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych oraz spotkaniach naukowych	39
5.5. Udział w innych projektach badawczych realizowanych w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii Instytutu Psychologii Stosowanej, Wydział Zarządzania i Komunikacji Społecznej Uniwersytetu Jagiellońskiego	40
5.6. Recenzje publikacji w czasopiśmie naukowych	41
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	41
6.1. Działalność dydaktyczna	41
6.2. Działalność organizacyjna.....	44
6.3. Działalność popularyzatorska.....	45
6.4. Nagrody i członkostwo w towarzystwach naukowych.....	46
7. Podsumowanie całości dorobku naukowego oraz inne informacje dotyczące kariery zawodowej habilitanta	47
7.1. Podsumowanie całości dorobku naukowego.....	47
7.2. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej habilitanta	50

1. Imię i nazwisko

Wojciech Solecki

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2004 **magister psychologii**, Wydział Zarządzania i Komunikacji Społecznej, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie; 27.06.2004: obrona pracy

magisterskiej z wyróżnieniem (tytuł pracy magisterskiej: *Zmiany fizjologiczne, behawioralne i poznawcze towarzyszące uzależnieniu, abstynencji i nawrotowi w zwierzęcym modelu samopodawania heroiny*; promotor prof. dr hab. Ryszard Przewłocki);

2011 **doktor nauk medycznych**, Instytut Farmakologii PAN w Krakowie; 27.06.2011: obrona rozprawy doktorskiej z wnioskiem o wyróżnienie, 29.11.2011 nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych w dziedzinie biologia medyczna i specjalności neuropsychofarmakologia (tytuł rozprawy doktorskiej: *Znaczenie genotypu dla zachowań związanych z uzależnieniem*; promotor prof. dr hab. Ryszard Przewłocki).

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2004-2007	Instytut Farmakologii PAN w Krakowie, Zakład Neurofarmakologii Molekularnej, pracownik inżyniersko-techniczny;
2007-2011	Instytut Farmakologii PAN w Krakowie; uczestnik studiów III stopnia (doktoranckich) na kierunku Neuropsychofarmakologia
2011-2013	Yale School of Medicine, Yale University w New Haven, USA; staż podoktorski w Zakładzie Psychiatrii, post-doc (24 miesiące);
2013-2018	Instytut Farmakologii PAN w Krakowie, Zakład Neurofarmakologii Molekularnej, pracownik inżyniersko-techniczny;
2013 -	Instytut Psychologii Stosowanej, Wydział Zarządzania i Komunikacji Społecznej, Uniwersytet Jagielloński, adiunkt w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Znaczenie modulacji aktywności mezo limbicznego układu dopaminergicznego w zachowaniach poszukiwawczych kokainy

4.2. Lista publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Tabela 1. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz ze wskaźnikami bibliometrycznymi z roku opublikowania pracy i opisem wkładu habilitanta

L.p.	Publikacja (autorzy, tytuł, czasopismo)	IF	MNiSW	Wkład habilitanta
1	<p>Solecki W, Wickham RJ, Behrens S, Wang J, Zwerling B, Mason GF, Addy NA.</p> <p>Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-methyl-D-aspartate receptors in cocaine-seeking</p> <p>Neuropharmacology. 2013 75:9-18. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.07.001. PMID: 23850572.</p>	4.819	40 (140 wg listy z 2019 r.)	<p>Wspólnie z prof. NA Addym byliśmy pomysłodawcami i projektantami badań. Wykonałem wszystkie eksperymenty i analizy przeprowadzone w pracy, napisałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 75%.</u></p>
2	<p>Addy NA, Solecki W.</p> <p>Clinical syndromes of substance use disorder</p> <p>W podręczniku pt. Genomics, circuits, and pathways in clinical neuropsychiatry, pod redakcją T. Lehnera, B. L. Millera, i M. W. State</p> <p>London: Academic Press - Elsevier, 2016 doi:10.1016/B978-0-12-800105-9.00038-X, str. 619-634.</p>	-	75	<p>Zaprojektowałem i napisałem sekcje „Overview of substance use disorder”, „Circuits and pathways that mediate substance abuse”, „Neurophysiological mechanisms of reward learning: role in drug seeking” oraz „Genetic factors contributing to substance use disorder”.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 50%.</u></p>
3	<p>Solecki W, Szklarczyk K, Klasa A, Pradel K, Dobrzański G, Przewłocki R.</p> <p>Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses</p> <p>Eur Neuropsychopharmacol. 2017 27(8):782-794. doi: 10.1016/j.euroneuro.2017.05.008. PMID: 28606743.</p>	4.129	40 (140 wg listy z 2019 r.)	<p>Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant NCN Sonata 6). Zakupiłem i uruchomiłem niezbędną aparaturę. Wykonałem część eksperymentów oraz wyszkoliłem współautorów do przeprowadzania pozostałej części eksperymentów, które nadzorowałem. Wykonałem analizy przeprowadzone w badaniu oraz napisałem manuskrypt. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 70%.</u></p>
4	<p>Solecki W, Szklarczyk K, Pradel K, Kwiatkowska K, Dobrzański G, Przewłocki R.</p> <p>Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving</p> <p>Addict Biol. 2018 23(2):596-609. doi: 10.1111/adb.12514. PMID: 28635140.</p>	4.223	45 (140 wg listy z 2019 r.)	<p>Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant Sonata 6). Zakupiłem i uruchomiłem aparaturę do przeprowadzania badań. Wykonałem wszystkie operacje dożylniej implantacji cewnika oraz część eksperymentów behawioralnych. Wyszkołem współautorów do przeprowadzania</p>

				czynności eksperymentalnych, które nadzorowałem. Wykonałem wszystkie analizy oraz napisałem manuskrypt. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 70%.</u>
5	Pradel K, Blasiak T, Solecki W. Adrenergic receptor agonists' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area Neuroscience. 2018 375:119-134. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.002. PMID: 29138105.	3.244	25 (100 wg listy z 2019 r.)	Byłem pomysłodawcą badań, które zaprojektowałem wraz z KP i TB. Częściowo napisałem manuskrypt (sekcje „Introduction” i „Discussion”). Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 40%.</u>
6	Solecki W , Wilczkowski M, Pradel K, Karwowska K, Kielbinski M, Drwięga G, Zajda K, Blasiak T, Soltys Z, Rajfur Z, Szklarczyk K, Przewłocki R. Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence Addict Biol. 2019 e12826. doi: 10.1111/adb.12826. PMID: 31478293.	4.223	140	Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant NCN Opus 7). Zakupiłem i uruchomiłem niezbędną aparaturę do przeprowadzania badań optogenetycznych. Wykonałem wszystkie operacje dożylniej implantacji cewnika oraz część eksperymentów behawioralnych. Wyszkoliłem współautorów do procedur, które nadzorowałem. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Wykonałem wszystkie analizy eksperymentów behawioralnych oraz napisałem znaczącą część manuskryptu. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 70%.</u>
7	Solecki W , Kielbinski M, Karwowska K, Zajda K, Wilczkowski M, Rajfur Z, Przewłocki R. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking Neuropharmacology. 2019 158:107680. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107680. PMID: 31247269.	4.367	140	Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant NCN Sonata 6). Wykonałem operacje dożylniej implantacji cewnika oraz część eksperymentów behawioralnych. Nadzorowałem przeprowadzenie pozostałej części eksperymentów behawioralnych. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Wykonałem wszystkie analizy eksperymentów behawioralnych przeprowadzone w badaniu oraz napisałem znaczącą

				część manuskryptu. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym tej pracy. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 70%.</u>
8	<p>Solecki W, Kus N, Gralec K, Klasa A, Pradel K, Przewłocki R.</p> <p>Noradrenergic and corticosteroid receptors regulate somatic and motivational symptoms of morphine withdrawal</p> <p>Behav Brain Res. 2019 360:146-157. doi: 10.1016/j.bbr.2018.11.041. PMID: 30500430.</p>	2.77	100	Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant Homing Plus). Wykonałem część eksperymentów oraz wyszkoliłem NK, KG, AK i KP do przeprowadzania pozostałej części, które nadzorowałem. Wykonałem wszystkie analizy i napisałem manuskrypt. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym tej pracy. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 75%.</u>
9	<p>Kielbinski M, Bernacka J, Solecki W.</p> <p>Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling</p> <p>J Neurochem. 2019 149(6):747-759. doi: 10.1111/jnc.14706. PMID: 31001835.</p>	4.87	140	Byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem badania i zdobyłem środki na ich realizację (grant NCN Sonata 6). Zakupiłem i uruchomiłem niezbędną aparaturę do badań elektrochemicznych. Wyszkoliłem MK i JB w przeprowadzaniu eksperymentów elektrochemicznych. Uczestniczyłem w analizie wyników eksperymentów. Napisałem sekcje „Materials and methods” oraz część sekcji „Introduction”, „Results” i „Discussion” manuskryptu. Opracowałem wyniki w ostatecznej formie, uczestniczyłem w przygotowaniu finalnych wersji wszystkich rycin. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym. <u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 50%.</u>
Suma		32.645	745 (1115 wg listy z 2019 r.)	

Podsumowując, na osiągnięcie naukowe będące przedmiotem habilitacji składa się **8 prac oryginalnych i jeden rozdział w pracy zbiorowej**. Sumaryczny IF prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego - **32.645** (745 MNiSW), w tym **32.645** z prac oryginalnych.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ewentualnego wykorzystania

4.3.1. Wprowadzenie

Uzależnienie jest definiowane jako przewlekłe zaburzenie funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego prowadzące do nawracającego i często kompulsywnego poszukiwania substancji uzależniającej. Zaburzenia związane z używaniem środków psychoaktywnych są poważnym i narastającym problemem zdrowotnym, zarówno w Polsce jak i na świecie, przy czym niewielka ilość skutecznych sposobów leczenia tych zaburzeń sprawia, że zaburzenia te są nie tylko indywidualnym problemem jednostek, ale globalnym zagadnieniem społeczno-ekonomicznym.

Około 38% populacji na świecie pije alkohol (średnio 17 l na osobę rocznie), a 3.3 mln osób umiera w wyniku jego nadmiernego spożycia. Z kolei nikotyna zabija ponad 8 mln użytkowników rocznie (7 mln użytkowników aktywnych i 1.2 mln biernych). Kolejnymi po uzależnieniu od alkoholu są zaburzenia związane z nadużywaniem i uzależnieniem od środków psychoaktywnych, takich jak opioidy, kokaina, leki uspokajające i nasenne, inne substancje pobudzające i halucynogenne oraz lotne rozpuszczalniki¹. W Polsce w 2017 r. (według Głównego Urzędu Statystycznego) 167 tys. osób leczyło się z powodu zaburzeń spowodowanych używaniem alkoholu, a ponad 42 tys. z powodu używania środków psychoaktywnych. Co więcej, osoby z rozpoznaniem zaburzeń spowodowanych używaniem alkoholu lub innych środków psychoaktywnych stanowią największą procentowo grupę pacjentów leczonych w psychiatrycznej opiece całodobowej.

Zaburzenia związane z używaniem środków psychoaktywnych charakteryzują się powtarzającymi się cyklami niekontrolowanego używania substancji, okresami abstynencji wraz z często towarzyszącymi jej objawami odstawienia oraz nawrotami przyjmowania substancji. Według międzynarodowej klasyfikacji chorób i problemów zdrowotnych ICD-10 uzależnienie to kompleks zjawisk fizjologicznych (sensytyzacja, tolerancja i zależność fizyczna), psychicznych (głód substancji uzależniającej) i behawioralnych, wśród których nieodparte pragnienie przyjmowania substancji lub grupy substancji dominuje nad innym zachowaniem, które miało uprzednio dla pacjenta większą wartość². Innym ważnym symptomem uzależnienia jest pojawianie się negatywnych stanów emocjonalnych (drażliwość, lęk i dysforia) w sytuacji braku dostępu do substancji uzależniającej³. Z kolei klasyfikacja opracowana przez Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne przedstawiona w podręczniku „Kryteria diagnostyczne zaburzeń psychicznych, V edycja”⁴ wskazuje, że przyjmowanie substancji psychoaktywnych prowadzi do adaptacji w ośrodkowym układzie nerwowym, które mogą się utrzymywać w trakcie abstynencji. Adaptacje te mają przyczynowo skutkowe znaczenie dla rozwoju i występowania kluczowych symptomów uzależnienia, takich jak głód substancji, zachowania poszukiwawcze substancji oraz nawracające przyjmowanie substancji uzależniającej, pomimo negatywnych somatycznych, psychologicznych i społecznych konsekwencji takiego przyjmowania.

Na powstanie uzależnienia składają się zarówno czynniki biologiczne, psychologiczne jak i społeczne. Wraz z rozwojem zwierzęcych modeli uzależnienia, w których gryzonie czy małpy

naczelne mogły samodzielnie pobierać środki psychoaktywne, naukowcy zaczęli rozpoznawać, że uzależnienie jest rozwijającym się zaburzeniem związanym z określonymi zmianami w mózgu spowodowanymi przyjmowaniem środków i abstynencją. Zwierzęce modele uzależnień (np. dożylnie samopodawanie substancji uzależniającej, w której osobnik sam decyduje ile i kiedy podać sobie dawkę substancji) stanowią ważne narzędzie badań, przedstawiając wysoką wartość między innymi dzięki wyjątkowo wysokiej mocy opisowej (z ang. *face validity*), konstrukcyjnej (z ang. *construct validity*) i predykcyjnej (z ang. *predictive validity*). Badania z wykorzystaniem tych modeli umożliwiły wskazanie neurobiologicznych mechanizmów działania różnych środków uzależniających, w tym mechanizmów molekularnych działania euforyzującego. Wykazano, że substancje uzależniające, należące do różnych klas środków psychoaktywnych, nasilają uwalnianie i stężenie dopaminy w kilku strukturach przodomózgowia, w tym przede wszystkim w jądrze półleżącym przegrody. Podobne rezultaty uzyskano również w badaniach z użyciem neuro-obrazowania u ludzi, dostarczając silnych dowodów na międzygatunkową uniwersalność tych efektów i wysoką wartość translacyjną badań z użyciem modeli zwierzęcych. Kolejne badania wykazały znaczenie struktur mózgowych w zachwianiach motywacyjnych związanych z pobieraniem i poszukiwaniem substancji uzależniających, jak również znaczenie zmian neuroplastycznych w obrębie tych struktur, będące podstawą długotrwałego utrzymywania się symptomów uzależnienia pomimo abstynencji.

W początkowej fazie używania substancji uzależniających, osoby z reguły kontrolują ilości przyjmowanej substancji oraz nie doświadczają negatywnych społecznych konsekwencji. Jednak wraz z częstszym używaniem substancji dochodzi do wytworzenia się asocjacji pomiędzy efektami substancji, a bodźcami związanymi z substancją, takimi jak parafrenalia czy konteksty przyjmowania. Takie parowanie jest podstawą procesów warunkowania, w których bodźce związane z substancją wywołują głód tej substancji i nasilają zachowania poszukiwawcze. Z czasem coraz częstsze epizody intoksykacji prowadzą do uszczerbku na zdrowiu czy wystąpienia negatywnych społecznych konsekwencji. Doświadczenia te dla części osób są powodem ograniczenia spożycia danej substancji, co powoduje powrót do początkowej fazy używania lub decyzji o czasowej lub całkowitej abstynencji. Jednakże pozostała część (osoby wysoce podatne na uzależnienia) kontynuuje cykle intoksykacji, które z kolei nasilają rozwój fizycznej zależności manifestującej się występowaniem tolerancji czy zespołem odstawienia. Zjawiska te, będące konsekwencją specyficznych neuroadaptacji (opisanych w pracy przeglądowej⁵), prowadzą z jednej strony do zwiększenia dawek przyjmowanej substancji (tj. eskalacji), a z drugiej do pojawiania się silnych objawów fizjologicznych oraz negatywnych stanów motywacyjnych doświadczanych podczas spadania stężenia substancji w organizmie. Pojawić się może również uwrażliwienie na niektóre efekty substancji uzależniających (np. odpowiedź układu sercowo naczyniowego na psychostymulanty), co w szczególności w towarzystwie tolerancji na inne właściwości (np. na efekty euforyczne psychostymulantów) prowadzi do przedawkowania. Pełny obraz kliniczny uzależnienia charakteryzuje się dominującym doznaniem głodu substancji oraz utratą kontroli nad jej pobieraniem. W tej fazie nieodparty głód substancji wywołuje zachowania poszukiwawcze prowadzące do przyjęcia/spożycia substancji, przy czym zachowania te mają priorytet nad innym zachowaniem. Co więcej, głód substancji narasta (tzw. inkubacja głodu)

wraz z czasem abstynencji pomimo, że inne symptomy związane z zależnością fizyczną już nie występują. Co więcej, występowanie głodu jest najczęstszym powodem przedwczesnego zakończenia abstynencji i leczenia^{6,7}. Metaanaliza klinicznych badań wskazuje, że głód substancji można rozpatrywać na zróżnicowanych skalach czasowych (od miesięcy do minut), z wieloma czynnikami zwiększającymi jego nasilenie, takimi jak kontekst społeczny, stan organizmu (doświadczenie stresu lub zmęczenia poznawczego) czy krótkotrwałe wydarzenia, jak np. ekspozycja na bodźce skojarzone z substancją uzależniającą, *i.e.* bodźce warunkowe⁸. Właśnie w wyniku takiej ekspozycji najczęściej dochodzi do nawrotów zażywania substancji uzależniającej w trakcie abstynencji⁷. Co więcej, zwiększona reaktywność psychofizjologiczna w odpowiedzi na bodźce warunkowe jest predykatorem uciążliwości symptomów uzależnienia i negatywnie koreluje z efektywnością oddziaływań terapeutycznych⁹. Z drugiej strony, interwencje mające na celu zmniejszenie takiej reaktywności mają pozytywne efekty terapeutyczne¹⁰.

Taka dynamika procesów i symptomów uzależnienia wskazuje, że głód substancji uzależniającej jest kluczowy dla uporczywości tego zaburzenia, a strategie skutecznych oddziaływań terapeutycznych powinny koncentrować się na patofizjologicznych mechanizmach tego zjawiska.

Pierwsze hipotezy dotyczące neurobiologicznych podstaw uzależnienia wskazywały na kluczowe zaangażowanie mózgowego układu nagrody. Zarówno przełomowe eksperymenty Oldsa i Milnera (1954)¹¹, jak i farmakologiczne badania układu nagrody wskazały, że podstawą nagradzającego efektu (pozytywnego wzmocnienia), zarówno elektrycznego samodrażnienia struktur układu nagrody, jak i substancji uzależniających^{12,13} jest aktywność układu dopaminergicznego. Kolejne badania wskazały, że lezje w obrębie tego układu znacząco redukują ilość pobieranych psychostymulantów w zwierzęcym modelu dożylnego samopodawania kokainy czy amfetaminy^{14,15}. Jak pokazały kolejne badania, rola aktywności układu dopaminergicznego nie jest ograniczona wyłącznie do mediowania efektów intoksykacji. Badania elektrochemiczne z użyciem FSCV wskazały na dynamiczną i złożoną funkcję aktywności dopaminergicznej wywołanej przez bodźce skojarzone z kokainą czy związanej z poszukiwaniem kokainy^{16,17}. W szczególności, aktywność neuronów dopaminergicznych pola brzusznej nakrywki, prowadząca do gwałtownego, ale krótkotrwałego zwiększenia stężenia dopaminy w strukturach przodomózgowia (między innymi w jądrze półleżącym przegrody i jądrach migdałowatych) wskazywana jest jako neurofizjologiczna podstawa wywoływania/nasilania zachowania poszukiwawczego substancji uzależniającej przez bodźce warunkowe¹⁸⁻²⁰. Badania te były inspirowane przełomowymi eksperymentami Wolframa Schultza (1998)²¹, w których wykazano, że prezentacja zarówno niespodziewanej nagrody (*i.e.* nagradzającego bodźca bezwarunkowego), jak i CS wywołują iskrzenie napadowe (z ang. *bursting*) neuronów dopaminergicznych śródmózgowia makaków. Badania te zostały wielokrotnie zreplicowane, między innymi z użyciem szczurów, czy fazowego uwalniania dopaminy w jądrze półleżącym przegrody, zarówno dla CS związanych z nagrodą naturalną (np. słodkim jedzeniem), jak i substancją uzależniającą²²⁻²⁴. Jednak w przypadku substancji uzależniających, bodźce warunkowe nabierają specyficznych właściwości związanych z ich ważnością (z ang. *salience*) i ich wpływem na procesy uwagowe i motywacyjne. Według Robinsona i Berridge'a²⁵, w wyniku wielokrotnego parowania

bodźców nagradzających (w tym substancji uzależniających) i neutralnych bodźców środowiskowych, bodźce te nabierają zachęcającej wartości motywacyjnej (z ang. *incentive salience*) i stają się pożądane same w sobie. W wyniku warunkowania, ekspozycja na CS wywołuje chcenie (z ang. *wanting*), które z kolei wywołuje/nasila zachowanie poszukiwawcze bodźców nagradzających. Kolejne badania wykazały, że prezentacja bodźców o zachęcającej wartości motywacyjnej prowadzi do uwalniania dopaminy w rdzeniu jądra półleżącego²⁶, a wzrost ten jest niezbędny, by owe bodźce nasiliły zachowanie poszukiwawcze nagrody, z którą były skojarzone^{27,28}. Podobnie, optogenetyczna stymulacja neuronów dopaminergicznych, w taki sposób, aby wzbudzić ich aktywność na wzór wzbudzenia wywołanego przez bodziec o zachęcającej wartości motywacyjnej (*i.e.* CS), wywołuje zachowania poszukiwawcze nagrody²⁹. Co ważne, w przypadku parowania z substancją uzależniającą, która wywołuje specyficzne neuroadaptacje (zarówno w obrębie, jak i poza mezolimbicznym układem dopaminergicznym), zachęcająca wartość motywacyjna bodźców środowiskowych podlega uwrażliwieniu (z ang. *sensitization of incentive salience*), znacząco przyczyniając się do trudności w kontroli zachowań poszukiwawczych i w utrzymaniu abstynencji³⁰.

Biorąc pod uwagę powyższe, swoje badania skupiłem na poszukiwaniu neurofizjologicznych mechanizmów, za pośrednictwem których bodźce warunkowe wzbudzają aktywność układu dopaminergicznego i wywołują zachowania poszukiwawcze substancji uzależniającej. Wyniki takich badań mogą wskazać nowe strategie terapeutyczne mające na celu osłabienie głodu substancji uzależniającej.

Pomimo licznych przedklinicznych i klinicznych badań przeprowadzonych w poprzednich dekadach, współczesna medycyna nie dysponuje skutecznymi sposobami leczenia uzależnień, a mechanizmy towarzyszące przyjmowaniu substancji uzależniających i późniejszej abstynencji wciąż pozostają słabo poznane. W celu poszukiwania nowych, lepszych strategii leczenia uzależnień, istnieje potrzeba poznania zarówno mechanizmów patofizjologicznych, jak i molekularnych podstaw ich powstawania.

Cel naukowy

Celem naukowym, przyświecającym cyklowi prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego, była próba wyodrębnienia patofizjologicznego mechanizmu będącego podstawą głodu substancji uzależniającej – kluczowego symptomu uzależnienia przyczyniającego się do utrzymywania się objawów uzależnienia pomimo abstynencji. Początkowo dokonałem krytycznego przeglądu badań dotyczących patofizjologii uzależnień⁵, a następnie zaprojektowałem i wykonałem badania empiryczne z użyciem modeli zwierzęcych.

4.3.2. Omówienie głównych wyników cyklu prac

4.3.2.1. Rola aktywności dopaminergicznej w układzie pole brzuszne nakrywki - jądra półleżącego przegrody w modulowaniu poszukiwania kokainy (Solecki i wsp. *Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-methyl-D-aspartate receptors in cocaine-seeking. Neuropharmacology. 2013 75:9-18.*)

Pierwsze badania empiryczne wykonałem w trakcie stażu podoktorskiego w Stanach Zjednoczonych. Na początku wykazaliśmy, że wywołane bodźcami warunkowymi zachowania poszukiwawcze kokainy są zależne od aktywności neuronalnej pola brzusznej nakrywki (z ang. *ventral tegmental area*; VTA), prowadzącej do fazowego uwalniania dopaminy w rdzeniu jądra półleżącego przegrody (z ang. *nucleus accumbens septi*; NAc). W tym celu zastosowaliśmy mikropodania do tych struktur tuż przed testem behawioralnym, tj. wywołanym CS poszukiwaniem kokainy w warunkach wygaszania (z ang. *cocaine seeking under extinction condition*). Test ten wykonywano na szczurach, które wyuczono dożylnego samopodawania kokainy w klatkach Skinnera, a następnie poddano 3-dniowej abstynencji³¹. Długość abstynencji wybrano na podstawie badań wskazujących, że 72 h po ostatniej sesji samopodawania kokainy szczury wykazują największe nasilenie negatywnych symptomów związanych z syndromem odstawienia³², potencjalnie więc doświadczają największej motywacji (nasilenia głodu kokainy) do zachowań poszukiwawczych kokainy. W celu pomiaru zachowań poszukiwawczych wywołanych bodźcami warunkowymi, szczur po okresie 3-dniowego odstawienia (z ang. *withdrawal day 3*; WD 3) umieszczany był w klatce Skinnera (stanowiącej zbiór warunkowych bodźców kontekstowych), w której naciskanie na jedną z dźwigni (tzw. dźwignię aktywną) prowadzi do prezentacji złożonego bodźca warunkowego (CS+; światło i dźwięk przez 6 s), wcześniej sparowanego z dożylną infuzją kokainy. Ilość naciśnień na dźwignię aktywną stanowi miarę zachowań poszukiwawczych, będącą behawioralną miarą głodu kokainy.

Wyniki naszych badań wykazały, że farmakologiczna inaktywacja VTA (poprzez lokalne podanie lidokainy - blokera napięciowozależnych kanałów sodowych; Ryc. 1A), jak i blokada receptorów dopaminergicznych typu D₁ w rdzeniu NAc (poprzez lokalne podanie SCH23390 - selektywnego antagonisty receptora D₁; Ryc. 1C) prowadzi do zmniejszenia zachowań poszukiwawczych. Ponadto, elektryczna stymulacja VTA (poprzez elektrodę stymulującą w VTA; Ryc. 1B), wywołująca fazowe uwalnianie dopaminy w rdzeniu NAc, nasilała te zachowania. Wyniki te potwierdziły, że fazowa aktywność dopaminergiczna w obrębie VTA-rdzeń NAc jest kluczowym neurofizjologicznym mechanizmem zachowań poszukiwawczych kokainy.

Wcześniejsze badania wykonane przy użyciu szybko-skanowej woltamperometrii cyklicznej (z ang. *fast scan cyclic voltammetry*; FSCV; opis metody jak i przegląd badań z jej użyciem patrz³³) wskazywały na ważny udział aktywności receptorów glutaminianergicznych typu N-metyl-D-asparaginowych (NMDAR), jak i cholinergicznych receptorów nikotynowych (nAChR) w VTA w modulacji fazowego uwalniania dopaminy w rdzeniu NAc. Wykazano, że farmakologiczna blokada zarówno receptorów NMDA, jak i nAChR w VTA zmniejsza fazowe uwalnianie dopaminy w rdzeniu NAc wywołane elektryczną stymulacją VTA³⁴. Następnym krokiem było więc zbadanie, czy aktywność struktur zapewniających

glutaminianergiczną i cholinergiczną innerwację VTA może modulować zachowania poszukiwawcze kokainy. Do badań wybrano boczno-grzbietową część nakrywki (z ang. *laterodorsal tegmentum*; LDTg) - strukturę pnia mózgu zapewniającą gęstą innerwację glutaminianergiczną i cholinergiczną do VTA, której aktywność może być indukowana przez bodźce warunkowe³⁵ i prowadzi do fazowego uwalniania dopaminy w NAc³⁶. Co więcej, aktywność innerwacji LDTg w VTA stanowi swoisty mechanizm bramkujący przejście aktywności neuronów dopaminergicznych z tonicznej na iskrzenie napadowe^{35,37,38}, wskazując na potencjalną rolę aktywności receptorów NMDA i cholinergicznych w VTA w modulacji zarówno fazowo uwalnianej dopaminy w NAcc, jak i zachowań poszukiwawczych kokainy. Wyniki eksperymentów wykazały, że zarówno farmakologiczna inaktywacja LDTg (poprzez lokalne podanie koktajlu agonistów receptorów GABA_A i GABA_B; Ryc. 1E), jak i farmakologiczna blokada receptorów cholinergicznych typu nAChR (Ryc. 1F) i muskarynowych (mAChR; Ryc. 1G) w VTA skutecznie hamuje zachowania poszukiwawcze kokainy. Efekty te nie wynikały z zahamowania aktywności lokomotorycznej, ponieważ zarówno lokalne podanie mekamylaminy (selektywnego antagonisty nAChR), jak i skopolaminy (selektywnego antagonisty mAChR) nie skutkowało zmniejszeniem ruchliwości w teście wolnego pola. Co ciekawe, farmakologiczna blokada receptorów NMDA w VTA (poprzez lokalne podanie AP-5 - selektywnego antagonisty NMDAR; Fig. 1H) nie miała wpływu na badane zachowania. Badania z użyciem FSCV wykazały, że podania AP-5 do VTA u szczurów, które wcześniej samopodawały kokainę i przeszły 3-dniową abstynencję, nie skutkowało zmniejszeniem fazowego uwalniania dopaminy w rdzeniu NAcc. Taki spadek natomiast zaobserwowano po podaniu AP-5 u szczurów z grupy kontrolnej (samopodających sól fizjologiczną), jak również po podaniu mekamylaminy czy skopolaminy w grupach eksperymentalnych (samopodających kokainę). Takie wyniki wskazują, że ekspozycja na kokainę prowadzi do zmniejszenia znaczenia receptora NMDA (ale nie nAChR i mAChR) w VTA w regulacji fazowej aktywności dopaminergicznej i zachowań zależnych od CS. Kolejne badania potwierdziły, że aktywność receptora NMDA w VTA u zwierząt bez ekspozycji na kokainę, jest ważna dla zachowań zależnych od CS³⁹ (pozycja 5 z listy publikacji dodatkowych). Wyniki tych dwóch badań wskazują na funkcjonalną neuroadaptację wywołaną samopodawaniem kokainy i abstynencją, a dotyczącą zmiany znaczenia aktywności glutaminianergicznej i receptora NMDA w VTA.

Badania te pozwoliły na postawienie 3 ogólnych wniosków: (i) iskrzenie napadowe neuronów dopaminergicznych VTA, prowadzące do fazowego uwalniania dopaminy w rdzeniu NAc, może stanowić neurobiologiczną podstawę zachowań poszukiwawczych substancji uzależniających wywołanych CS; (ii) specyficzne mechanizmy receptorowe w VTA wpływają na fazowe uwalnianie dopaminy w NAc i wywołane bodźcem warunkowym zachowania poszukiwawcze substancji uzależniających; (iii) ekspozycja na substancje uzależniające może prowadzić do zmian (neuroadaptacji) w specyficznych mechanizmach receptorowych regulujących fazową aktywność dopaminergiczną w układzie VTA-NAc, potencjalnie będących neurofizjologiczną podstawą długotrwałego i uporczywego utrzymywania się głodu substancji uzależniającej. Wnioski te były bezpośrednią zachętą do kontynuowania (po powrocie ze stażu podoktorskiego do kraju) badań dotyczących neurofizjologicznych

mechanizmów regulujących zarówno aktywność VTA-NAc, jak i zachowania poszukiwawcze substancji uzależniających.

4.3.2.2. Rola aktywności neuronów dopaminergicznych w VTA w modulowaniu poszukiwania kokainy (Solecki i wsp. *Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence. Addict Biol.* 2019 e12826)

Kolejne badania zostały podjęte w celu doprecyzowania roli aktywności neuronów dopaminergicznych VTA w zachwianiach poszukiwawczych kokainy wywołanych bodźcem warunkowym. Kwestią nierozwiązaną pozostawało, czy potencjalne strategie terapeutyczne, polegające na modulacji aktywności dopaminergicznej w układzie VTA-NAc nie będą skutkowały wytworzeniem silnych stanów dysforycznych i awersji do terapii, tak jak w przypadku farmakologicznych prób z ligandami receptorów dopaminergicznych⁴⁰. Drugim problemem w stosowaniu takiej terapii jest jej potencjalny wpływ na zachowania związane z poszukiwaniem naturalnych nagród (np. nagród pokarmowych, społecznych, seksualnych), tj. zahamowanie aktywności dopaminergicznej może zmniejszać motywację do angażowania się w społecznie akceptowane zachowania.

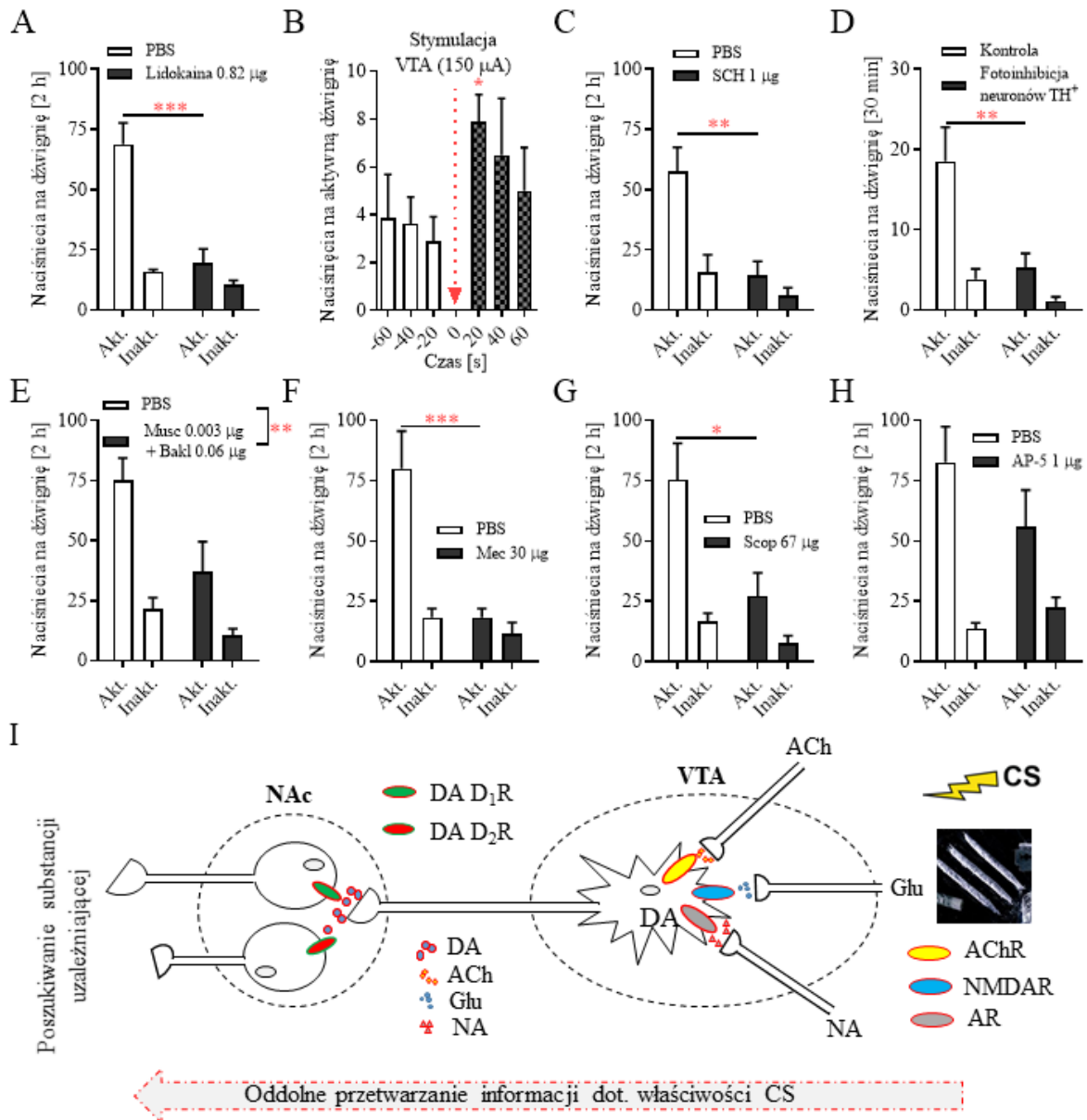
Do badań użyto metod optogenetycznych⁴¹ umożliwiających selektywną, bezpośrednią i krótkotrwałą inhibicję aktywności dopaminergicznej w trakcie testów behawioralnych oraz szczurów transgenicznych Th IRES-Cre^{+/-} (SD-Th^{cretm1sage};⁴²) z rekombinazą Cre pod kontrolą promotora genu hydroksylazy tyrozynowej (z ang. *tyrosine hydroxylase*; Th – enzym konwertujący tyrozinę w prekursor dopaminy DOPA). Szczurom tym podano wektory wirusowe (np. AAV5-EF1a-DIO-eArchT3.0-EYFP) umożliwiające selektywną ekspresję światłoczułej opsyny (archerodopsyny) i/lub białka reporterowego (EYFP) w neuronach Th pozytywnych. Rezultaty tych badań zostały opublikowane⁴³. W pierwszej kolejności, w badaniu elektrofizjologicznej aktywności pojedynczych komórek *in vivo* wykazano, że krótkotrwała fotoinhibicja (tj. wzbudzenie aktywności archerodopsyny światłem laserowym o określonej długości fali) prowadzi do krótkotrwałego zahamowania aktywności neuronów dopaminergicznych w VTA. Następnie przystąpiono do wstępnej charakteryzacji behawioralnych efektów fotoinhibicji. Rezultaty tych badań pozwoliły na dobranie takich parametrów fotoinhibicji (ograniczając jej długość w czasie), by nie wywoływać stanów dysforycznych (mierzonych jako awersja miejsca), hamować aktywności lokomotorycznej czy nasilać zachowań związanych z lękiem (mierzonych w teście wolnego pola). Na koniec, zbadano wpływ tak wybranej fotoinhibicji na wywołane bodźcami warunkowymi poszukiwanie kokainy (według opisu z poprzedniego badania³¹) i naturalnej nagrody (słodkiego jedzenia). Wyniki eksperymentów wykazały, że krótkotrwałe zahamowanie aktywności neuronów dopaminergicznych VTA w trakcie ekspozycji na CS skutkuje zmniejszeniem zachowań poszukiwawczych kokainy, ale nie naturalnej nagrody (Ryc. 1D). Dowiedziono więc, że nefarmakologiczne strategie terapeutyczne wycelowane w zahamowanie aktywności dopaminergicznej mogą skutecznie i selektywnie zmniejszać zachowania poszukiwawcze kokainy, ale nie naturalnej nagrody. Co więcej, takie zahamowanie aktywności nie skutkuje wystąpieniem negatywnych stanów afektywnych i motywacyjnych, ani nie powoduje sedacji, wskazując na potencjalnie mniejszą ilość możliwych skutków

ubocznych takich strategii. Badania te wykazały również niespodziewany długotrwały efekt fotoinhibicji – szczury wykazywały obniżony poziom poszukiwania kokainy dzień po zahamowaniu neuronalnej aktywności VTA. Takie rezultaty wskazują na zaangażowanie procesów uczenia się i pamięci oraz, potencjalnie, procesów neuroplastycznych w VTA. Zahamowanie aktywności dopaminergicznej VTA w kontekście ekspozycji na CS związane z kokainą zmienia ich wpływ na zachowanie poszukiwawcze, potencjalnie, poprzez trwałe zmniejszenie ich zachęcającej wartości motywacyjnej. Taki mechanizm wyjaśniałby również, dlaczego fotoinhibicja była nieskuteczna w przypadku poszukiwania naturalnej nagrody. Zwierzęta poszukujące słodkiej nagrody pokarmowej nie były w stanie deprywacji pokarmowej, tj. nie były głodne. W takiej sytuacji CS skojarzone ze słodkim pokarmem mają mniejszą zachęcającą wartość motywacyjną w porównaniu do CS (skojarzonych z kokainą) eksponowanych u szczurów znajdujących się w abstinencji od kokainy.

Na podstawie tych i poprzednich badań^{31,43} zaproponowano teoretyczny model wyjaśniający, w jaki sposób CS wywołują głód substancji uzależniającej (Ryc. 1I). Ekspozycja na CS o wysokiej zachęcającej wartości motywacyjnej indukuje fazową aktywność neuronów dopaminergicznych (*i.e.* aktywność erupcyjną neuronów dopaminergicznych VTA prowadzącą do fazowego uwalniania dopaminy w NAc), która, *via* aktywacja receptorów dopaminergicznych D₁ w strukturach odpowiedzialnych za inicjację i ekspresję zachowania zorientowanego na cel (rdzeń NAc), inicjuje poszukiwanie substancji uzależniającej.

Model ten implikuje następujące predykcje: (i) CS o wysokiej zachęcającej wartości motywacyjnej musi zostać wpięrow zauważony i rozpoznany przez organizm, tak więc pierwotne względem ekspresji zachowania są procesy sensoryczne, uwagowe i pamięciowe związane z tymi bodźcami; (ii) wzbudzenie iskrzenia napadowego neuronów dopaminergicznych jest zależne od specyficznych, prawdopodobnie nieglutaminianergicznych mechanizmów receptorowych w VTA; (iii) aktywność struktur zaangażowanych w oddolne przetwarzanie informacji (w tym sensorycznych, uwagowych czy pamięciowych) powinna wpływać na prawdopodobieństwo wzbudzenia fazowej aktywności dopaminergicznej wywołanej przez CS.

Implikacje modelu pozwoliły na postawienie hipotezy dotyczącej zaangażowania aktywności noradrenergicznej w VTA, regulującej zarówno fazową aktywność dopaminergiczną, jak i wywołane bodźcem warunkowym poszukiwanie substancji uzależniającej. Aktywność noradrenergiczna wydawała się szczególnie obiecującym kandydatem do dalszych badań z pięciu powodów. Po pierwsze, aktywność tego systemu związana jest nie tylko z kontrolą uwagi, pobudzenia, pobudliwości, snu i czuwania oraz zachowań związanych ze stresem, ale również z kodowaniem ważności bodźców środowiskowych⁴⁴⁻⁴⁸.



Ryc. 1. Wpływ modulacji aktywności dopaminergicznej VTA-NAc na wywołane przez CS poszukiwanie kokainy (A-H) wraz z propozycją modelu wyjaśniającego wpływ bodźców warunkowych (CS) na zachowania poszukiwawcze substancji uzależniającej (I). Podanie do VTA lidokainy (A) lub selektywnych antagonistów receptorów nAChR (F), mAChR (G), ale nie NMDAR (H), zmniejsza poszukiwanie kokainy. Podobne efekty wywoływała fotoinhibicja (1 s co 9 s) neuronów dopaminergicznych VTA (D), podanie do rdzenia NAc selektywnego antagonistę receptora D1 (C), czy farmakologiczna inaktywacja LDTg (E). Z kolei elektryczna stymulacja VTA nasilała te zachowania. (I) Ekspozycja na bodźce środowiskowe o wysokiej zachęcającej wartości motywacyjnej indukuje aktywność erupcyjną neuronów dopaminergicznych VTA, prowadzącą do fazowego uwalniania dopaminy, która *via* aktywacja receptorów dopaminergicznych D₁ na średnich neuronach kolczystych jądra półleżącego przegrody z ekspresją tego receptora (neurony *go pathway*) inicjuje poszukiwanie substancji uzależniającej. Fazowa aktywność dopaminergiczna jest zależna od specyficznych mechanizmów receptorowych w VTA, podatnych na neuroadaptację wywołane ekspozycją na substancje uzależniające (np. wpływ kokainy na funkcje receptora NMDA w VTA). DA – dopamina, ACh – acetylocholina, Glu – glutaminin, NA – noradrenalina, AChR – receptory cholinergiczne, NMDAR – receptor NMDA, AR – adrenoreceptory, DA D₁R – receptory dopaminergiczne D₁, DA D₂R – receptory dopaminergiczne D₂. SCH - SCH23390, Musc – muscimol, Bakl – baklofen, Mec – mekamlamina, Scop – skopolamina, Akt. – dźwignia aktywna, Inakt. – dźwignia nieaktywna. ***p<0.001; **p<0.01; *p<0.05. Dane pokazane jako średnia +SEM^{31,43}.

Po drugie, podobnie jak w przypadku układu dopaminergicznego, ważne bodźce środowiskowe wywołują aktywność erupcyjną (iskrzenie napadowe) neuronów noradrenergicznych i w konsekwencji fazowe uwalnianie noradrenaliny na zakończeniach aksonalnych⁴⁹⁻⁵². Po trzecie, zarówno neurony noradrenergiczne miejsca sinawego (z ang. *locus coeruleus*; LC) czy jąder A1, A2 i A5 rdzenia przedłużonego wysyłają projekcje wstępujące do VTA⁵³⁻⁵⁶. Po czwarte, aktywność LC i receptorów adrenergicznych moduluje aktywność neuronalną w VTA⁵⁷⁻⁶⁷. Na koniec, w postawieniu hipotezy dotyczącej zaangażowania aktywności noradrenergicznej w VTA w regulacji fazowej aktywności dopaminergicznej znacząco pomogły również nieopublikowane wyniki badań pilotażowych przeprowadzonych na stażu podoktorskim w 2012 r., które wykazały, że farmakologiczna blokada receptora α_1 -adrenergicznego (α_1 -AR) w VTA zmniejsza fazowe uwalnianie dopaminy w rdzeniu NAc (Solecki 2012, nieopublikowane).

W kolejnych badaniach skupiłem się na scharakteryzowaniu fizjologicznych i behawioralnych konsekwencji aktywności noradrenergicznej w VTA. Strategia badawcza zakładała podejście 3 etapowe: (i) badanie wpływu farmakologicznego aktywowania receptorów adrenergicznych w VTA na aktywność neuronalną tej struktury⁶⁸; (ii) badanie efektów farmakologicznej blokady tych receptorów w VTA na fazowo uwalnianą dopaminę w przodomózgowiu⁶⁹; (iii) scharakteryzowanie behawioralnych efektów farmakologicznej modulacji aktywności receptorów adrenergicznych w VTA⁷⁰⁻⁷².

4.3.2.3. Znaczenie aktywności noradrenergicznej w VTA w modulowaniu aktywności dopaminergicznej w układzie VTA-NAc (Pradel, Blasiak, Solecki. *Adrenergic receptor Agonists' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. Neuroscience. 2018 375:119-134*; Kielbinski, Bernacka, Solecki, *Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling. J Neurochem. 2019 149(6):747-759*)

W celu zrealizowania pierwszego etapu badań (ad. i) użyto podań do VTA selektywnych agonistów receptorów α_1 -, α_2 - i β -AR oraz pomiarów aktywności elektrofizjologicznej pojedynczych komórek (z ang. *single unit recordings*) *in vivo* u szczurów w anestezji⁶⁸. Do podania agonistów użyto jontoforezy, co umożliwiło badanie bezpośredniego wpływu tych substancji na pojedyncze neurony. Rejestrowano i analizowano takie elektrofizjologiczne właściwości neuronów VTA jak: czas trwania potencjału czynnościowego, spontaniczna częstotliwość generowania potencjałów czynnościowych, długość interwałów czasowych pomiędzy potencjałami, cechy aktywności erupcyjnej (%), częstotliwość oraz średnia ilość potencjałów w paczce, długość paczek iskrzenia, długość interwałów czasowych pomiędzy paczkami iskrzenia). Aktywność rejestrowanych komórek była również analizowana w celu określenia ich fenotypu⁷³, co umożliwiło wskazanie odrębnych efektów aktywowania receptorów adrenergicznych w VTA na aktywność neuronów dopaminergicznych i nie-dopaminergicznych. Wyniki tych badań wskazują, że lokalne podanie fenylefryny (selektywnego agonisty receptora α_1 -AR) hamuje (11% spadek; Ryc. 2A) aktywność neuronów dopaminergicznych i długotrwale nasila (59% wzrost częstotliwości generowania potencjałów czynnościowych; Ryc. 2B) aktywność nie-dopaminergicznych – potencjalnie GABA-ergicznych. Z kolei podania klonidyny (selektywnego agonisty receptora α_2 -AR), czy

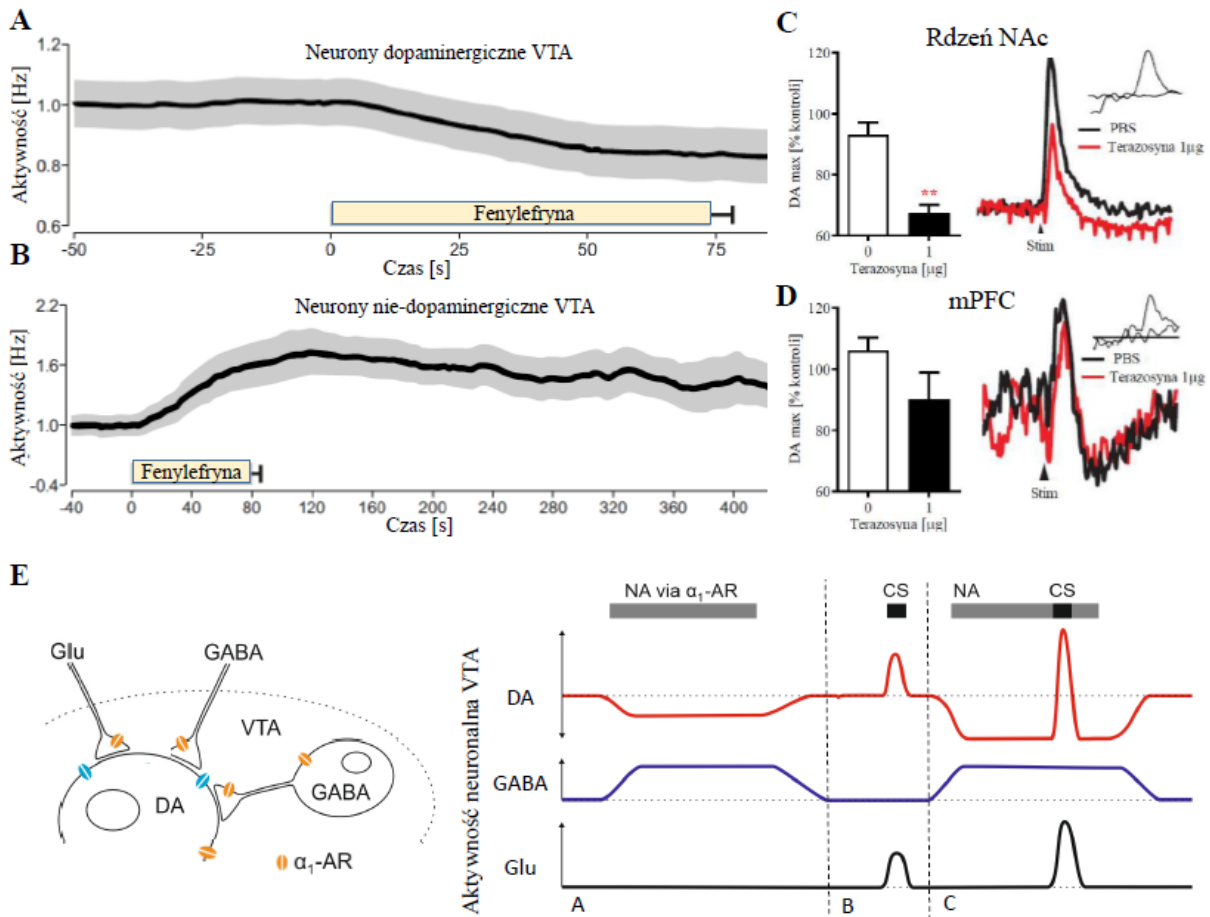
izoprenaliny (selektywnego agonisty receptora β -AR), nie wpłynęły na aktywność neuronów dopaminergicznych i nieznacznie zmieniały wzorzec aktywności (lecz nie samą aktywność) neuronów nie-dopaminergicznych. Wyniki tych badań oraz innych autorów wskazują, że aktywność receptora α_1 -AR moduluje zarówno aktywność dopaminergiczną, jak i GABA-ergiczną w VTA. Receptory te są najprawdopodobniej zlokalizowane zarówno na ciałach komórkowych neuronów dopaminergicznych⁷⁴, jak i na dochodzących do VTA glutaminianergicznych i GABA-ergicznymi zakończeniach aksonalnych^{66,67}. Ponadto, różny poziom aktywności noradrenergicznej może skutkować uruchomieniem różnych mechanizmów receptorowych, dodatkowo zróżnicowanych w zależności od neuroanatomicznego podziału VTA na mniejsze jądra czy dominującą w danej chwili aktywność włókien aferentnych (pobudzających vs hamujących) w VTA. Badania te pozwoliły na sformułowanie modelu znaczenia aktywności receptorów α_1 -AR w przedniej części VTA w sytuacji ekspozycji na bodźce warunkowe (Ryc. 2E). W modelu tym noradrenalina nasila stosunek sygnału do tła poprzez jednoczesne zmniejszanie aktywności tonicznej i nasilanie aktywności erupcyjnej neuronów dopaminergicznych.

Model ten implikuje fizjologiczne i behawioralne efekty blokady receptorów α_1 -AR w VTA - podanie do VTA antagonistów receptora α_1 -AR powinno (i) osłabiać zachowania zależne od bodźców warunkowych i (ii) zmniejszać fazowe uwalnianie dopaminy w przodomózgowiu. Kolejne etapy badań były poświęcone empirycznej weryfikacji tych założeń.

Badania z użyciem FSCV *in vivo* u szczurów w anestezji umożliwiło dalsze doprecyzowanie roli receptorów adrenergicznych w VTA w modulacji aktywności dopaminergicznej w przodomózgowiu⁶⁹. Odpowiednie dobranie częstotliwości elektrycznej stymulacji VTA (5 Hz vs 40 Hz) umożliwiło modelowanie tonicznego (5 Hz) lub fazowego (40 Hz) uwalniania dopaminy w dwóch strukturach mózgowych wchodzących w skład dwóch odrębnych szlaków dopaminergicznych: szlaku mezolimbicznego (VTA-NAc) i mezokortykalnego (VTA-PFC). Używając FSCV i podając do VTA selektywnych antagonistów receptorów AR wykazaliśmy, że blokada receptora α_1 -AR w VTA (przy użyciu terazosyny – selektywnego antagonisty tego receptora) zmniejsza wywołane elektryczną stymulacją VTA fazowe (Ryc. 2C), ale nie toniczne uwalnianie dopaminy w rdzeniu NAc.

Podobnie, blokada receptora α_2 -AR w VTA (przy użyciu RX821002 - selektywnego antagonisty tego receptora) zmniejszała fazowe (ale nie toniczne) uwalnianie dopaminy w rdzeniu NAc, przy czym efekt ten był blokowany przez wcześniejsze podanie do VTA selektywnego antagonisty receptora D₂. Co ciekawe, podanie terazosyny (Ryc. 2D) czy RX821002 nie miało efektów na uwalnianie dopaminy w korze przedczołowej. Blokada receptora β -AR nie miała żadnych efektów.

Ważnym wnioskiem z tych badań było potwierdzenie kluczowej i selektywnej roli receptorów α_1 -AR w VTA w modulowaniu aktywności erupcyjnej neuronów dopaminergicznych i fazowego uwalniania dopaminy w NAc, w warunkach przeważającej aktywności pobudzających włókien aferentnych (np. wzbudzonych elektryczną stymulacją włókien glutaminianergicznych i cholinergicznymi³¹) w VTA.



Ryc. 2. Rola receptora α_1 -AR w VTA na modulowanie aktywności neuronalnej. Jontoforetyczne podanie agonisty receptora α_1 -AR (fenylefryny) do VTA hamuje aktywność neuronów (A) dopaminergicznych i nasila (B) nie-dopaminergicznych. Podanie terazosyny (antagonisty) zmniejsza wywołane elektryczną stymulacją VTA fazy uwalnianie dopaminy w (C) rdzeniu NAc, ale nie ma wpływu na uwalnianie w (D) mPFC. (E) W trakcie ekspozycji na bodziec warunkowy (CS) noradrenalina (NA) zwiększa amplitudę aktywności dopaminergicznej (DA) poprzez: (i) aktywację receptorów α_1 -AR w VTA zlokalizowanych na neuronach dopaminergicznych (aktywność tych postsynaptycznych α_1 -AR skutkuje aktywnością erupcyjną neuronów dopaminergicznych; Goertz i wsp., 2015); (ii) aktywację receptorów α_1 -AR zlokalizowanych na interneuronach GABA-ergicznym i zakończeniach włókien GABA-ergicznym w VTA (skutkującą wzbudzeniem aktywności GABA-ergicznej, hamującej toniczną aktywność neuronów dopaminergicznych; Pradel, Blasiak i Solecki, 2018); (iii) aktywację receptorów α_1 -AR zlokalizowanych na zakończeniach włókien glutaminianergicznym (Glu) w VTA (skutkującą wzbudzeniem aktywności erupcyjnej neuronów dopaminergicznych^{66,67}). Dane pokazane jako średnia + SEM. ** $p < 0.01$. Dane opublikowane^{68,69}.

Nową obserwacją natomiast było wskazanie roli receptorów α_2 -AR w VTA jako autoreceptorów kluczowych w regulacji stężenia noradrenaliny w synapsach i przestrzeni międzykomórkowej. Co więcej, zsumowane efekty blokady tego receptora i elektrycznej stymulacji VTA prowadzą do wzrostu stężenia noradrenaliny, która aktywuje receptory dopaminergiczne D_2 , przez co hamuje dalszą aktywność neuronów dopaminergicznych.

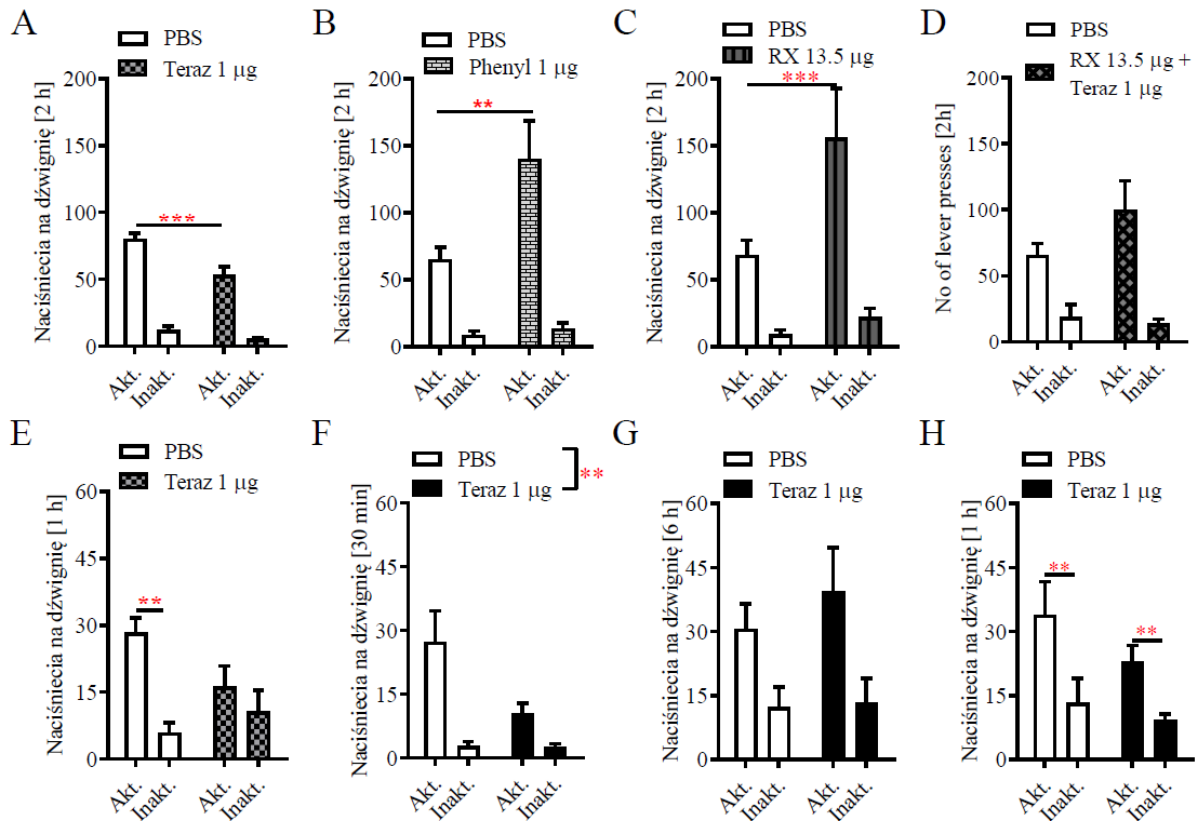
Na podstawie powyższych wyników oraz modeli teoretycznych (Ryc. 1I i Ryc. 2E) w kolejnym kroku zaplanowano badania behawioralne. Przewidywano, że blokada receptora α_1 -AR w VTA będzie osłabiać reakcje wywołane bodźcami warunkowymi o wysokiej wartości zachęcającej. Ponadto, jeżeli aktywność tego receptora w VTA wpływa na kodowanie ważności bodźca, to podanie selektywnego antagonisty do VTA powinno hamować reakcje na bodźce, niezależnie od ich wartości hedonistycznej (z ang. *valence*).

4.3.2.4. Wpływ aktywności noradrenergicznej w VTA na poszukiwanie kokainy (Solecki i wsp. *Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving. Addict Biol.* 2018 23(2):596-609; Solecki i wsp. *Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking. Neuropharmacology.* 2019 158:107680)

W pierwszej kolejności zbadano efekty podań selektywnych antagonistów receptorów AR do VTA na zachowania poszukiwawcze kokainy w czasie abstynencji⁷⁰. Do tego celu wykorzystano wcześniej już użyty, a opisany powyżej paradygmat behawioralny (wywołane CS poszukiwanie kokainy w warunkach wygaszania) oraz podania do VTA selektywnych ligandów receptorów AR. Badania wykazały, że podanie selektywnych antagonistów receptora α_1 -AR (prazosyna, terazosyna) do VTA osłabia, a podanie agonisty (fenylefryna) nasila zachowanie poszukiwawcze kokainy. Z kolei lokalne podanie RX821002 (antagonisty α_2 -AR) nasila te zachowania w sposób zależny od aktywności receptora α_1 -AR w VTA. Co więcej, blokada receptorów α_1 -AR i α_2 -AR w VTA nie miała wpływu na wywołane bodźcem warunkowym poszukiwanie nagrody pokarmowej (słodkie jedzenie), jak również nie wywoływała zahamowania aktywności lokomotorycznej czy nasilenia zachowań lękowych mierzonych w teście otwartego pola. Badania nie wykazały wpływu propranololu (selektywnego antagonisty β -AR) na żadne z mierzonych zachowań. Takie wyniki potwierdziły hipotetyczną i selektywną rolę aktywności receptora α_1 -AR w VTA w inicjowaniu reakcji wywołanej bodźcami warunkowymi o wysokiej wartości zachęcającej, tj. poszukiwania kokainy po 72 h abstynencji. Jednocześnie zachowania wywołane bodźcem warunkowym o mniejszej ważności i wartości zachęcającej, jak w przypadku bodźców wywołujących poszukiwanie słodkiego pokarmu przez syte zwierzęta (w trakcie „abstynencji” nie mające dostępu przez 3 dni wyłącznie do słodkiej nagrody), nie jest zależne od aktywności tego receptora. Hipotetyczna rola autoreceptora α_2 -AR w VTA również zgadza się z wynikami tych badań. Można przypuszczać, że efekty farmakologicznej blokady tego autoreceptora, wraz ze wzbudzoną przez bodziec warunkowy aktywnością erupcyjną neuronów noradrenergicznych (wysyłających włókna aferentne do VTA), prowadzą do zwiększenia stężenia noradrenaliny, która, *via* pre- i postsynaptyczne receptory α_1 -AR w VTA, nasila fazową aktywność dopaminergiczną w NAc i zależne od niej zachowanie poszukiwawcze kokainy. Zsumowane efekty blokady receptora α_2 -AR i prezentacji CS nie skutkują aktywnością receptorów D₂ (co prowadziłoby do zmniejszenia poszukiwania kokainy) prawdopodobnie w wyniku czasowego ograniczenia aktywności włókien noradrenergicznych, uniemożliwiającego akumulację neuroprzekaźnika.

Kluczowe dla wykazanej roli aktywności noradrenergicznej w VTA jest założenie, że bodźce warunkowe wzbudzają krótkotrwałą aktywność erupcyjną neuronów noradrenergicznych (np. LC), która w konsekwencji moduluje (facylituje *via* α_1 -AR w VTA) fazową aktywność dopaminergiczną na szlaku VTA - rdzeń NAc. Taką aktywność dopaminergiczną wzbudzają dyskretne CS bezpośrednio sparowane z dożylną infuzją kokainy (światelko i dźwięk w trakcie działania pompy infuzyjnej uruchamianej przez reakcję instrumentalną w procedurze samopodawania kokainy), ale nie warunkowe bodźce kontekstowe (i.e. klatka Skinnera, w której osobnik samopodawał kokainę)^{16,17}. Zahamowanie

tej aktywności w czasie wywołanego dyskretnym bodźcem warunkowym nawrotu wygaszonej reakcji poszukiwania kokainy zmniejsza tę reakcję⁷⁵.



Ryc. 3. Wpływ modulacji aktywności noradrenergicznej w VTA na wywołane przez CS poszukiwanie kokainy (A) Podanie do VTA terazosyny zmniejsza poszukiwanie kokainy. Zarówno (B) aktywacja receptora α_1 -AR, jak i (C) blokada receptora α_2 -AR w VTA nasila poszukiwanie kokainy. (D) Nasilone poszukiwanie kokainy wywołane przez podanie RX821002 jest zależne od aktywności receptora α_1 -AR w VTA. (E) Błokada receptora α_1 -AR zmniejsza wywołane CS poszukiwanie kokainy w nowym kontekście. Podobnie, podanie do VTA terazosyny zmniejsza nawrót wywołany przez (E) CS, ale nie (F) stres (systemowym podaniem johimbiny). Z kolei mikropodanie terazosyny do VTA nie zmienia wywołanego przez CS poszukiwania słodkiego pokarmu w nowym kontekście. Akt. – dźwignia aktywna, Inakt. – dźwignia nieaktywna. *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$. Dane pokazane jako średnia +SEM^{70,76}.

W naszych wcześniejszych badaniach^{31,70} bodźcami warunkowymi wywołującymi poszukiwanie kokainy były zarówno kontekstowe, jak i dyskretnie bodźce środowiskowe, a użyty test uniemożliwia odseparowanie efektów różnych rodzajów bodźców warunkowych (kontekstowych vs dyskretnych) na badane zachowanie. W kolejnych badaniach roli receptora α_1 -AR użyto więc dwóch innych testów behawioralnych: wywołane dyskretnym bodźcem warunkowym poszukiwanie kokainy w nowym kontekście, jak i wywołany dyskretnym bodźcem warunkowym nawrót wygaszonej reakcji poszukiwania kokainy. W badaniach kontrolnych użyto testów mierzących wywołane dyskretnym bodźcem warunkowym poszukiwanie naturalnej nagrody (słodkiego pokarmu) w nowym kontekście, jak i wywołany farmakologicznym stresorem (systemowe podanie johimbiny) nawrót wygaszonej reakcji poszukiwania kokainy. Uzyskane wyniki wskazują, że blokada receptora α_1 -AR w VTA osłabia poszukiwanie kokainy (ale nie naturalnej nagrody) wywołane dyskretnym CS, ale nie stresem. Co więcej, wykorzystując metody immunohistologiczne z użyciem białka reporterowego (EYFP) i szczurów transgenicznym Th-Cre⁺ wykazano i opisano poziom ekspresji β -

hydroksylazy dopaminy (Dbh) w przedniej części VTA u szczurów po dożylnym samopodawaniu kokainy i 3 dniach abstynencji. Enzym Dbh konwertuje dopaminę w noradrenalinę, a jego obecność jest używana jako marker ciał i włókien aksonalnych neuronów noradrenergicznych. Użycie białka reporterowego EYFP i szczurów transgenicznych pozwoliło na wizualizację włókien noradrenergicznych (Dbh⁺) w VTA w relacji przestrzennej do neuronów dopaminergicznych (EYFP⁺). Wykazaliśmy, że włókna te znajdują się w części przyśrodkowej jądra (jądro międzypęczkowe i jądro wzdłużne dziobowe), jak i bocznej (brzuszne pole nakrywki, część dziobowa i jądro przyramieniowe barwne) kompleksu jąder VTA. W części przyśrodkowej znajduje się stosunkowo duże zagęszczenie neuronów nie-dopaminergicznych, a w części bocznej przeważają neurony dopaminergiczne. Obecność włókien Dbh⁺ z widocznymi żyłakowatościami w bezpośrednim sąsiedztwie neuronów dopaminergicznych VTA (zarówno w części przyśrodkowej jak i bocznej) wskazuje na możliwość regulacji ich aktywności i stanowi neuroanatomiczny substrat aktywności noradrenergicznej w VTA u szczurów w trakcie abstynencji od kokainy.

4.3.2.5. Wpływ aktywności noradrenergicznej w VTA na uwarunkowaną reakcję strachu (Solecki i wsp. *Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses. Eur Neuropsychopharmacol. 2017 27(8):782-794*)

Kolejnym krokiem w badaniach behawioralnych efektów receptorów AR w VTA było wykazanie roli receptora α_1 -AR w VTA w behawioralnych reakcjach na dysforyczny bodziec warunkowy⁷². W tym celu użyto paradygmatu warunkowania strachu (z ang. *fear conditioning*) u szczurów wraz z podaniami do VTA antagonistów receptora α_1 -AR. Procedura warunkowania strachu składa się z dwóch etapów, każdy badający odmienne zjawiska. W pierwszym etapie (dzień 1), osobnik umieszczony w klatce Skinnera (kontekst A) nabywa uwarunkowaną reakcję strachu poprzez powtarzaną ekspozycję na bodziec bezwarunkowy (elektryczny szok w łapę) sparowany z ekspozycją na neutralny bodziec środowiskowy (światło i dźwięk). W drugim etapie bada się poziom uwarunkowanych reakcji behawioralnych, w tym reakcji zamierania (z ang. *freezing*), stanowiącej behawioralny marker strachu. Reakcje te wywołuje się poprzez ekspozycje na kontekstowe CS (kontekst A) lub dyskretne CS (światło i dźwięk w nowym kontekście B). Podanie antagonisty receptora α_1 -AR do VTA tuż przed pierwszym etapem umożliwia zbadanie jego wpływu na reakcje wywołane bodźcem stresowym, uczenie się natychmiastowe (z każdym parowaniem nasila się reakcja strachu wywołana samym bodźcem warunkowym), jak i stabilizację nabytego śladu pamięciowego, czyli ekspresję uwarunkowanego zachowania dzień później. Podanie antagonisty tuż przed drugim etapem (dzień 2) umożliwia zbadanie jego wpływu na ekspresję uwarunkowanych reakcji behawioralnych wywołanych kontekstowymi lub dyskretnymi CS. Badania wykazały, że podanie do VTA (ale nie do ciał suteczkowatych – struktury znajdującej się w brzusznym względem przedniej części VTA) antagonistów receptora α_1 -AR przed pierwszym etapem (przed parowaniem z bodźcem bezwarunkowym) nieznacznie osłabia behawioralne reakcje w trakcie parowania (niższy poziom znieruchomienia przy zachowanym jego narastaniu w trakcie kolejnych parowań) i znacząco skraca czas reakcji znieruchomienia, wywołanej zarówno kontekstowymi, jak i dyskretnymi CS 24 h później. Ponadto, blokada receptora α_1 -AR w VTA tuż przed fazą badającą ekspresję uwarunkowanego strachu (etap 2) zmniejsza tę reakcję wywołaną kontekstowymi i dyskretnymi CS. Badania te potwierdziły

rolę aktywności receptora α_1 -AR w VTA w inicjacji/ekspresji zachowania wywołanego przez dysforyczny bodziec warunkowy. Co więcej, wyniki wskazały na rolę tego receptora w nabywaniu reakcji wyuczonego strachu i implikują ich potencjalną rolę w modulowaniu behawioralnych reakcji na dysforyczne bodźce bezwarunkowe czy negatywne stany afektywne. Obserwacje te były inspiracją do kolejnych badań dotyczących roli aktywności noradrenergicznej w negatywnych stanach motywacyjno-afektywnych doświadczanych w trakcie abstynencji.

4.3.2.6. Wpływ aktywności noradrenergicznej na nasilenie symptomów zespołu odstawienia (Solecki i wsp. *Noradrenergic and corticosteroid receptors regulate somatic and motivational symptoms of morphine withdrawal. Behav Brain Res. 2019 360:146-157*)

Dysforia często towarzyszy zaprzestaniu pobierania substancji uzależniających, tj. pierwszej fazy abstynencji, w czasie której rozwija się zespół odstawienia. Na zespół ten składają się objawy somatyczne (skurcze brzucha, biegunka, wycieki z nosa, poty, przyspieszenie akcji serca i zwiększenie ciśnienia krwi) i negatywne stany motywacyjno-afektywne (dysforia, drażliwość, męczliwość, nasilony lęk). Doświadczenie negatywnych stanów motywacyjno-afektywnych może wywoływać przemożne pragnienie substancji uzależniającej, ponieważ jej zażycie/przyjęcie powoduje ustanie tych nieprzyjemnych objawów. Tak więc w konsekwencji dysforia nasila kompulsywne poszukiwanie substancji uzależniającej, która w czasie abstynencji jest pożądana zarówno z powodu jej euforyzującego działania (pozytywne wzmocnienie), jak i chęci uniknięcia objawów zespołu odstawienia (negatywne wzmocnienie). Szczególnie nasilone objawy zespołu odstawienia występują w trakcie abstynencji od opioidów. Zespół odstawienia od opioidów jest związany ze wzmożoną aktywnością noradrenergiczną w jądrze okołokomorowym, która wzbudza oś podwzgórze-przysadka-nadnercza i prowadzi do wydzielania hormonów stresu na obwodzie. Przypuszcza się, że takie neuronalne i endokrynne reakcje są związane z powstawaniem somatycznych i motywacyjno-afektywnych objawów zespołu odstawienia od opioidów. Kolejnym etapem badań nad wpływem aktywności noradrenergicznej w czasie abstynencji było więc wykazanie roli aktywności receptorów adrenergicznych w modulowaniu objawów zespołu odstawienia od opioidów⁷⁷ (publikacja nr 8 sekcji 2.2). Dodatkowo, z uwagi na aktywność endokrynną w czasie zespołu odstawienia zbadaliśmy również wpływ blokady receptorów kortykosteroidowych (z ang. *corticosteroid receptors*; CR). W celu eksperymentalnego wywołania zespołu odstawienia od opioidów użyliśmy chronicznych podań morfiny u myszy. Wpływ systemowej blokady receptorów AR i CR na negatywne stany motywacyjno-afektywne mierzyliśmy przy pomocy uwarunkowanej awersji miejsca, w którym wywołano (poprzez podanie naloksonu) zespół odstawienia. W tym wysoce wrażliwym paradygmacie behawioralnym negatywne stany motywacyjno-afektywne towarzyszące odstawieniu są sparowane z danym kompartymeniem aparatu (kontekstem), co prowadzi do wytworzenia uwarunkowanej awersji tego miejsca, badanej już po warunkowaniu w czasie posttestu. Zbadano również wpływ systemowych podań antagonistów receptorów AR (prazosyna, RX821002, propranolol) i CR (mefipryston – selektywny antagonist receptoru glikokortykoidowego i spironolakton - selektywny antagonist receptoru mineralokortykoidowego) na somatyczne objawy odstawienia (skoki, utrata wagi, stójka, drżenie przednich łap, otrzępywanie się, potrząsanie głową, zgrzytanie zębami, ilość urynacji, biegunka) wywołanego podaniem naloksonu. Wyniki badań wskazują

na relatywną nieskuteczność blokady receptorów AR i CR w osłabianiu uwarunkowanej awersji miejsca wywołanej odstawieniem. Wyjątkiem był propranolol, który w najwyższej dawce (10 mg/kg) zablokował nabywanie tej reakcji, jednakże efekt ten potencjalnie związany jest z blokowaniem stabilizacji śladu pamięciowego, a nie z osłabieniem dysforii. Z kolei zarówno blokada receptorów α_1 -, α_2 - i β -AR, jak i receptora mineralokortykoidowego (MR) zmniejszała poziom somatycznych objawów odstawienia. Badania te wykazały, że blokowanie aktywności receptorów AR i MR jest skuteczną strategią zmniejszającą nasilenie somatycznych, ale nie motywacyjno-afektywnych objawów zespołu odstawienia.

4.3.2.7. Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazały znaczenie specyficznych mechanizmów receptorowych w VTA modulujących fazową aktywność dopaminergiczną w przodomózgowiu i behawioralne reakcje na bodźce warunkowe. W szczególności, wykazano wpływ aktywności receptorów AR w VTA na wywołane bodźcem warunkowym poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji i reakcje uwarunkowanego strachu. Zaproponowano, że aktywność receptor α_1 -AR w VTA jest związana z kodowaniem ważności bodźców środowiskowych i odzwierciedla zdolność funkcji wzbudzeniowych i orientacyjnych, wynikających z oddolnego przetwarzania informacji do kierowania/sterowania zachowaniem. Wykazano ponadto, że zahamowanie aktywności noradrenergicznej zmniejsza symptomy zespołu odstawienia doświadczanego w trakcie abstynencji, co w połączeniu z postulowanym neurofizjologicznym mechanizmem, dzięki któremu bodźce warunkowe wywołują głód substancji uzależniającej, wzmacnia użyteczność terapeutyczną strategii celujących w modulację tej aktywności.

4.3.3. Omówienie ewentualnego wykorzystania wyników prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Głód substancji uzależniającej u ludzi współwystępuje ze wzmożoną aktywnością noradrenergiczną w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), a farmakologiczna modulacja tej aktywności skutecznie ten głód zmniejsza⁷⁸⁻⁸¹. Powyższe badania wykazały użyteczność terapeutyczną ligandów receptorów AR u ludzi, ale nie ich miejsce działania w OUN, czy mechanizm neurofizjologiczny, przez który moduluje głód w czasie abstynencji. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na VTA oraz na mechanizm modulacji fazowej aktywności dopaminergicznej jako kluczowe dla efektywności ligandów receptorów AR w zmniejszaniu głodu kokainy. Zastosowane modele zwierzęce i testy behawioralne pozwoliły również wskazać, że efektywność takich manipulacji może być ograniczona do specyficznych sytuacji – poszukiwania kokainy wywołanego bodźcem warunkowym, a nie stresem. Takie rezultaty pomogą dostosować farmakologiczne strategie leczenia uzależnień do zróżnicowanej dynamiki tego zaburzenia i indywidualnych potrzeb/uwarunkowań pacjenta. Ponadto, badania te wykazały znaczenie receptorów AR w modulowaniu wywołanej przez dysforyczny bodziec warunkowy reakcji strachu, czy nasilenia objawów zespołu odstawienia. Na koniec, zaproponowana rola aktywności noradrenergicznej w VTA (kodowanie ważności i zachęcającej wartości motywacyjnej bodźców środowiskowych) jest uzupełnieniem wiedzy dotyczącej sposobu, w jakim funkcje wzbudzeniowe i orientacyjne modułują zachowanie.

4.3.4. Dalsze plany badawcze

W kolejnych krokach badawczych skupiono się na doprecyzowaniu roli aktywności noradrenergicznej w VTA w modulowaniu zachowań wywołanych znaczącymi (tj. o dużej ważności) bodźcami środowiskowymi i w procesach pamięciowych. Obiecujące wyniki wstępne były podstawą do kontynuacji badań w kolejnym projekcie badawczym (grant NCN OPUS 15 2018/29/B/NZ7/02672, pt: „Poszukiwanie nowych mechanizmów terapii zaburzeń związanych z używaniem substancji uzależniających lub ze stresem”; kierownik projektu: Wojciech Solecki). Głównym celem tych badań jest zrozumienie roli aktywności neuronów dopaminergicznych VTA i modulującej jej aktywności noradrenergicznej w poszukiwaniu substancji uzależniających i w reakcjach na stres oraz potencjalnie wskazanie nowych sposobów leczenia uzależnień czy zaburzeń związanych ze stresem. W tym celu kontynuuje się badania z użyciem farmakologicznej i optogenetycznej modulacji aktywności noradrenergicznej w VTA lub bezpośrednio, optogenetycznej modulacji aktywności neuronów dopaminergicznych VTA. Badania dotyczą sprawdzenia, czy aktywność noradrenergiczna w VTA moduluje poszukiwanie innych niż kokaina substancji uzależniających (zaplanowano badania z użyciem oksykodonu i nikotyny) oraz czy aktywność ta jest niezbędna dla nabywania i stabilizacji śladów pamięciowych (asocjacji CS-US). Ponadto, planujemy wykazać zróżnicowanie efektywności modulacji aktywności neuronalnej VTA i badanego zachowania w zależności od podtypu receptora adrenergicznego (np. α_{2A} -AR vs α_{2B} -AR vs α_{2C} -AR). Dotychczasowo zbadano:

1. Wpływ optogenetycznego hamowania neuronów dopaminergicznych VTA w trakcie ekspozycji na CS na poszukiwanie kokainy;
2. wpływ blokady receptorów α_1 - i α_2 -AR w VTA na poszukiwanie oksykodonu;
3. wpływ blokady receptora α_2 -AR w VTA na nabywanie uwarunkowanej reakcji strachu;
4. wpływ podań do VTA selektywnych względem podtypu antagonistów receptora α_2 -AR na fazowe uwalnianie dopaminy w NAc.

Kolejnym, nowym tematem badawczym jest wpływ czynników środowiskowych (stresor systemowy, stres społeczny, abstynencja od środków uzależniających po okresie ekspozycji) na receptory adrenergiczne w VTA. Rozpoczęto badania nad wpływem bodźców stresowych na poziom i funkcję receptorów AR w VTA. Wyniki wstępnych badań wykazały zmianę w funkcjonowaniu receptorów α_2 -AR (ale nie α_1 -AR) w VTA wywołaną ekspozycją na stres systemowy (fizyczny).

Bibliografia

1. Kiejna, A. *et al.* Rozpowszechnienie wybranych zaburzeń psychicznych w populacji dorosłych Polaków z odniesieniem do płci i struktury wieku - Badanie EZOP Polska. *Psychiatr. Pol.* **49**, 15–27 (2015).
2. ICD-10. Tenth Revision of the International Classification of Diseases, Chapter V (F): Mental and behavioural disorders. Clinical descriptions and diagnostic guidelines. *WHO 1992; Geneva 182/184.* (1992).
3. Koob, G. F. Addiction is a reward deficit and stress surfeit disorder. *Front. Psychiatry* (2013) doi:10.3389/fpsy.2013.00072.
4. APA. *American Psychiatric Association, 2013. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). American Journal of Psychiatry* (2013).

5. Addy, N. A. & Solecki, W. B. Clinical syndromes of substance use disorder. *Genomics, circuits, and pathways in clin. neuropsychiatry* 619–634 (2016) doi:10.1016/B978-0-12-800105-9.00038-X.
6. Shaham, Y. & Hope, B. T. The role of neuroadaptations in relapse to drug seeking. *Nature Neuroscience* (2005) doi:10.1038/nn1105-1437.
7. Sayette, M. A. The Role of craving in substance use disorders: theoretical and methodological issues. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* **12**, 407–433 (2016).
8. Serre, F., Fatseas, M., Swendsen, J. & Auriacombe, M. Ecological momentary assessment in the investigation of craving and substance use in daily life: A systematic review. *Drug Alcohol Depend.* **148**, 1–20 (2015).
9. Volkow, N. D. *et al.* Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J. Neurosci.* **26**, 6583–6588 (2006).
10. Courtney, K. E., Schacht, J. P., Hutchison, K., Roche, D. J. O. & Ray, L. A. Neural substrates of cue reactivity: association with treatment outcomes and relapse. *Addict. Biol.* **21**, 3–22 (2016).
11. Olds, J. & Milner, P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.* (1954) doi:10.1037/h0058775.
12. Fouriez, G., Hansson, P. & Wise, R. A. Neuroleptic-induced attenuation of brain stimulation reward in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* (1978) doi:10.1037/h0077500.
13. Wise, R. A. & Bozarth, M. A. A Psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol. Rev.* (1987) doi:10.1037/0033-295X.94.4.469.
14. Roberts, D. C. S., Corcoran, M. E. & Fibiger, H. C. On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* (1977) doi:10.1016/0091-3057(77)90084-3.
15. Yokel, R. A. & Wise, R. A. Attenuation of intravenous amphetamine reinforcement by central dopamine blockade in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* (1976) doi:10.1007/BF00496868.
16. Phillips Stuber, G. D., Heien, M. L. A. V., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. P. E. M. Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking. *Nature* **422**, 614–618 (2003).
17. Stuber, G. D., Wightman, R. M. & Carelli, R. M. Extinction of cocaine self-administration reveals functionally and temporally distinct dopaminergic signals in the nucleus accumbens. *Neuron* **46**, 661–669 (2005).
18. Yahyavi-Firouz-Abadi, N. & See, R. E. Anti-relapse medications: Preclinical models for drug addiction treatment. *Pharmacology and Therapeutics* (2009) doi:10.1016/j.pharmthera.2009.06.014.
19. Childress, A. R. *et al.* Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am. J. Psychiatry* (1999) doi:10.1176/ajp.156.1.11.
20. Shaham, Y., Shalev, U., Lu, L., De Wit, H. & Stewart, J. The reinstatement model of drug relapse: History, methodology and major findings. *Psychopharmacology* (2003) doi:10.1007/s00213-002-1224-x.
21. Schultz, W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J. Neurophysiol.* **80**, 1–27 (1998).
22. Day, J. J., Roitman, M. F., Wightman, R. M. & Carelli, R. M. Associative learning mediates dynamic shifts in dopamine signaling in the nucleus accumbens. *Nat. Neurosci.* **10**, 1020–1028 (2007).
23. Phillips, P. E. M., Stuber, G. D., Heien, M. L. A. V, Wightman, R. M. & Carelli, R. M. Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking. *Nature* **422**, 614–618 (2003).
24. Hyland, B. I., Reynolds, J. N. J., Hay, J., Perk, C. G. & Miller, R. Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience* (2002) doi:10.1016/S0306-4522(02)00267-1.
25. Robinson, T. E. & Berridge, K. C. The incentive sensitization theory of addiction: Some current issues. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **363**, 3137–3146 (2008).
26. Flagel, S. B., Akil, H. & Robinson, T. E. Salience to reward-related cues : implications for addiction. *Behav. Neurosci.* **56**, 139–148 (2010).
27. Saunders, B. T. & Robinson, T. E. The role of dopamine in the accumbens core in the expression of pavlovian-conditioned responses. *Eur. J. Neurosci.* (2012) doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08217.x.
28. Saunders, B. T., Yager, L. M. & Robinson, T. E. Cue-evoked cocaine ‘craving’: Role of dopamine in the accumbens core. *J. Neurosci.* (2013) doi:10.1523/JNEUROSCI.0450-13.2013.
29. Tsai, H. C. *et al.* Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science (80-.)*. **324**, 1080–1084 (2009).
30. Robinson, T. E. & Berridge, K. C. The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res. Rev.* **18**, 247–291 (1993).
31. Solecki, W. *et al.* Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-methyl-d-aspartate receptors in cocaine-seeking. *Neuropharmacology* **75**, 9–18 (2013).
32. Frankowska, M. *et al.* Effects of imipramine or GABAB receptor ligands on the immobility, swimming and climbing in the forced swim test in rats following discontinuation of cocaine self-administration. *Eur. J. Pharmacol.* **627**, 142–149 (2010).
33. Wickham, R. J. *et al.* Advances in studying phasic dopamine signaling in brain reward mechanisms. *Front.*

- Biosci. - Elit.* (2013) doi:10.2741/e678.
34. Wickham, R., Solecki, W., Rathbun, L., McIntosh, J. M. & Addy, N. A. Ventral tegmental area $\alpha\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors modulate phasic dopamine release in the nucleus accumbens core. *Psychopharmacology (Berl)*. **229**, 73–82 (2013).
 35. Lodge, D. J. & Grace, A. A. The laterodorsal tegmentum is essential for burst firing of ventral tegmental area dopamine neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 5167–5172 (2006).
 36. Lammel, S. *et al.* Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature* **491**, 212–217 (2012).
 37. Kitai, S. T., Shepard, P. D., Callaway, J. C. & Scroggs, R. Afferent modulation of dopamine neuron firing patterns. *Current Opinion in Neurobiology* (1999) doi:10.1016/S0959-4388(99)00040-9.
 38. Maskos, U. The cholinergic mesopontine tegmentum is a relatively neglected nicotinic master modulator of the dopaminergic system: Relevance to drugs of abuse and pathology. in *British Journal of Pharmacology* (2008). doi:10.1038/bjp.2008.5.
 39. Addy, N. A., Nunes, E. J. & Wickham, R. J. Muscarinic, but not nicotinic, acetylcholine receptor blockade in the ventral tegmental area attenuates cue-induced sucrose-seeking. *Behav. Brain Res.* **291**, 372–376 (2015).
 40. Moreira, F. A. & Dalley, J. W. Dopamine receptor partial agonists and addiction. *Eur. J. Pharmacol.* **752**, 112–115 (2015).
 41. Gralec, K., Kuś, N. & Solecki, W. Metody optogenetyczne w służbie neuronauki i medycyny. *Ból* (2014) doi:10.5604/1640324x.1108257.
 42. Brown, A. J. *et al.* Whole-rat conditional gene knockout via genome editing. *Nat. Methods* **10**, 638–640 (2013).
 43. Solecki, W. *et al.* Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence. *Addict. Biol.* e12826–e12826 (2019) doi:10.1111/adb.12826.
 44. Sara, S. J. & Bouret, S. Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron* **76**, 130–141 (2012).
 45. Ventura, R., Morrone, C. & Puglisi-Allegra, S. Prefrontal/accumbal catecholamine system determines motivational salience attribution to both reward-and aversion-related stimuli. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 5181–5186 (2007).
 46. Feenstra, M. G. P. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. in *Progress in Brain Research* vol. 126 133–163 (Elsevier, 2000).
 47. Mingote, S., Bruin, J. P. C. de & Feenstra, M. G. P. Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of drive. *J. Neurosci.* **15**, 5169–5178 (2004).
 48. Puglisi-Allegra, S. & Ventura, R. Prefrontal/accumbal catecholamine system processes high motivational salience. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* vol. 6 (2012).
 49. Bouret, S. & Richmond, B. J. Relation of locus coeruleus neurons in monkeys to Pavlovian and operant behaviors. *J. Neurophysiol.* **101**, 898–911 (2009).
 50. Bouret, S., Ravel, S. & Richmond, B. J. Complementary neural correlates of motivation in dopaminergic and noradrenergic neurons of monkeys. *Front. Behav. Neurosci.* **6**, 1–12 (2012).
 51. Park, J., Aragona, B. J., Kile, B. M., Carelli, R. M. & Wightman, R. M. In vivo voltammetric monitoring of catecholamine release in subterritories of the nucleus accumbens shell. *Neuroscience* **169**, 132–142 (2010).
 52. Park, J. *et al.* Catecholamines in the bed nucleus of the stria terminalis reciprocally respond to reward and aversion. *Biol. Psychiatry* **71**, 327–334 (2012).
 53. Masana, M., Bortolozzi, A. & Artigas, F. Selective enhancement of mesocortical dopaminergic transmission by noradrenergic drugs: therapeutic opportunities in schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **14**, 53–68 (2011).
 54. Meijas-Aponte, C. A., Drouin, C. & Aston-Jones, G. Adrenergic and noradrenergic innervation of the midbrain ventral tegmental area and retrorubral field: prominent inputs from medullary homeostatic centers. *J. Neurosci.* **29**, 3613–3626 (2009).
 55. Rinaman, L. Hindbrain noradrenergic A2 neurons: Diverse roles in autonomic, endocrine, cognitive, and behavioral functions. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* (2011) doi:10.1152/ajpregu.00556.2010.
 56. Rinaman, L. Ascending projections from the caudal visceral nucleus of the solitary tract to brain regions involved in food intake and energy expenditure. *Brain Research* (2010) doi:10.1016/j.brainres.2010.03.059.
 57. Aghajanian, G. K. & Bunney, B. S. Pharmacological characterization of dopamine ‘autoreceptors’ by microiontophoretic single-cell recording studies. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* (1977).
 58. White, F. J. & Wang, R. Y. Pharmacological characterization of dopamine autoreceptors in the rat ventral tegmental area: Microiontophoretic studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1984).

59. Williams, M. A., Li, C., Kash, T. L., Matthews, R. T. & Winder, D. G. Excitatory drive onto dopaminergic neurons in the rostral linear nucleus is enhanced by norepinephrine in an $\alpha 1$ adrenergic receptor-dependent manner. *Neuropharmacology* **86**, 116–124 (2014).
60. Grenhoff, J., North, R. A. & Johnson, S. W. Alpha 1 -adrenergic effects on dopamine neurons recorded intracellularly in the rat midbrain slice. *Eur. J. Neurosci.* **7**, 1707–1713 (1995).
61. Paladini, C. A. & Williams, J. T. Noradrenergic inhibition of midbrain dopamine neurons. *J. Neurosci.* **24**, 4568–4575 (2004).
62. Arencibia-Albite, F., Paladini, C., Williams, J. T. & Jiménez-Rivera, C. A. Noradrenergic modulation of the hyperpolarization-activated cation current (I_h) in dopamine neurons of the ventral tegmental area. *Neuroscience* (2007) doi:10.1016/j.neuroscience.2007.08.009.
63. Guiard, B. P., El Mansari, M. & Blier, P. Cross-talk between dopaminergic and noradrenergic systems in the rat ventral tegmental area, locus ceruleus, and dorsal hippocampus. *Mol. Pharmacol.* **74**, 1463–1475 (2008).
64. Inyushin, M. U., Arencibia-Albite, F., Vázquez-Torres, R., Vélez-Hernández, M. E. & Jiménez-Rivera, C. A. Alpha-2 noradrenergic receptor activation inhibits the hyperpolarization-activated cation current (I_h) in neurons of the ventral tegmental area. *Neuroscience* (2010) doi:10.1016/j.neuroscience.2010.01.052.
65. Jiménez-Rivera, C. A. *et al.* Presynaptic inhibition of glutamate transmission by $\alpha 2$ receptors in the VTA. *Eur. J. Neurosci.* **35**, 1406–1415 (2012).
66. Velásquez-Martínez, M. C., Vázquez-Torres, R. & Jiménez-Rivera, C. A. Activation of alpha1-adrenoceptors enhances glutamate release onto ventral tegmental area dopamine cells. *Neuroscience* **216**, 18–30 (2012).
67. Velásquez-Martínez, M. C., Vázquez-Torres, R., Rojas, L. V., Sanabria, P. & Jiménez-Rivera, C. A. Alpha-1 adrenoceptors modulate GABA release onto ventral tegmental area dopamine neurons. *Neuropharmacology* **88**, 110–121 (2015).
68. Pradel, K., Blasiak, T. & Solecki, W. B. Adrenergic receptor agonists' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Neuroscience* **375**, 119–134 (2018).
69. Kielbinski, M., Bernacka, J. & Solecki, W. B. Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling. *J. Neurochem.* **149**, (2019).
70. Solecki, W. B. *et al.* Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving. *Addict. Biol.* **23**, 596–609 (2018).
71. Solecki, W. *et al.* Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA attenuates reinforcement learning. *submitted* (2018).
72. Solecki, W. B. *et al.* Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **27**, 782–794 (2017).
73. Ungless, M. A. & Grace, A. A. Are you or aren't you? Challenges associated with physiologically identifying dopamine neurons. *Trends in Neurosciences* (2012) doi:10.1016/j.tins.2012.02.003.
74. Goertz, R. B. *et al.* Cocaine increases dopaminergic neuron and motor activity via midbrain $\alpha 1$ adrenergic signaling. *Neuropsychopharmacology* **40**, 1151–1162 (2015).
75. Stefanik, M. T. *et al.* Optogenetic inhibition of cocaine seeking in rats. *Addict. Biol.* **18**, 50–53 (2013).
76. Solecki, W. B. *et al.* Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking. *Neuropharmacology* **158**, (2019).
77. Solecki, W. B. *et al.* Noradrenergic and corticosteroid receptors regulate somatic and motivational symptoms of morphine withdrawal. *Behav. Brain Res.* (2019) doi:10.1016/j.bbr.2018.11.041.
78. Jobes, M. L. *et al.* Clonidine blocks stress-induced craving in cocaine users. *Psychopharmacology (Berl)*. **218**, 83–88 (2011).
79. Sinha, R., Kimmerling, A., Doebrick, C. & Kosten, T. R. Effects of lofexidine on stress-induced and cue-induced opioid craving and opioid abstinence rates: preliminary findings. *Psychopharmacology (Berl)*. **190**, 569–574 (2007).
80. Fox, H. & Sinha, R. The role of guanfacine as a therapeutic agent to address stress-related pathophysiology in cocaine-dependent individuals. *Adv. Pharmacol.* **69**, 217–265 (2014).
81. Shorter, D., Lindsay, J. A. & Kosten, T. R. The alpha-1 adrenergic antagonist doxazosin for treatment of cocaine dependence: A pilot study. *Drug Alcohol Depend.* **131**, 66–70 (2013).

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

5.1. Staże zagraniczne

W latach 2011 – 2013 przebywałem na ponad 2-letnim (26 miesięcy) stażu podoktorskim w Yale School of Medicine (Uniwersytet Yale) w New Haven (Stany Zjednoczone) w grupie prof. Nii Addy’ego (Addy Lab at Yale, Zakład Psychiatrii Molekularnej). Pobyt ten pozwolił mi na praktyczne zapoznanie się z metodą szybko-skanowej voltamperometrii cyklicznej (FSCV), używanej do pomiaru katecholamin *in vivo*. Ponadto, podczas stażu rozpocząłem badania w nowej tematyce dotyczącej neurofizjologicznych aspektów zachowań związanych z uzależnieniem. Początkowo przy użyciu FSCV badałem rolę receptorów nikotynowych i muskarynowych w uwalnianiu fazowym dopaminy w przodomózgowiu u szczurów w anestezji. Następnie przy pomocy tej metody badałem fazowe uwalnianie dopaminy u szczurów swobodnie się poruszających w odpowiedzi na nagrodę naturalną (słodki pokarm) lub podanie kokainy. Kolejnymi etapami badań były wykazanie roli aktywności receptorów nikotynowych i muskarynowych w modulacji poszukiwania kokainy u szczurów. W tym celu, bazując na własnych umiejętnościach wykształconych w toku pracy naukowej w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja PAN ustawiłem metodę samopodawania dożylnego kokainy u szczurów. Ostatnim etapem badania była próba zastosowania metod optogenetycznych do modulacji fazowo uwalnianej dopaminy i poszukiwania kokainy. W tym celu nawiązałem współpracę z prof. Ralphem DiLeone (DiLeone Lab at Yale, Zakład Psychiatrii Molekularnej), dzięki której udało mi się wykazać znaczenie włókien aferentnych w polu brzusznej nakrywki z boczno-grzbietowej nakrywki w indukowaniu fazowego uwalniania dopaminy w jądrze półleżącym przegrody. Współpraca ta umożliwiła mi nauczenie się i praktyczne zastosowanie metod optogenetycznych.

Oprócz tego brałem również udział w innych projektach badawczych, w tym m.in. dot. wpływu ketaminy (we współpracy z prof. Rolandem Dumanem) oraz witaminy D (we współpracy z Prof. Ralphem DiLeone) na fazowe uwalnianie dopaminy w przodomózgowiu.

Efektom stażu – oprócz publikacji i nauczenia się nowych technik badawczych, było nawiązanie trwałej współpracy naukowej z prof. Addym i Prof. DiLeone – obaj zgodzili się wspierać moje badania po powrocie do Polski w ramach grantu FNP Homing Plus, a prof. Addy wygłosił wykład w IF PAN w Krakowie podczas swojej wizyty w Polsce.

Bezpośrednim efektem stażu podoktorskiego były następujące publikacje:

1. Solecki W, Wickham RJ, Behrens S, Wang J, Zwerling B, Mason GF, Addy NA. Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-methyl-D- aspartate receptors in cocaine-seeking. *Neuropharmacology*. 2013 Dec;75:9-18. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.07.001. PMID: 23850572;
2. Wickham RJ, Solecki W, Rathbun LR, Neugebauer NM, Wightman RM, Addy NA. Advances in studying phasic dopamine signaling in brain reward mechanisms. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2013 Jun 1;5:982-99. doi: 10.2741/e678. PMID: 23747914; PMCID: PMC3725633;
3. Wickham RJ, Solecki WB, Nunes EJ, Addy NA. Distinct effects of ventral tegmental area NMDA and acetylcholine receptor blockade on conditioned reinforcement produced by food-associated cues. *Neuroscience*. 2015 Aug 20;301:384-94. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.021. PMID: 26093048; PMCID: PMC4510872;
4. Wickham R, Solecki W, Rathbun L, McIntosh JM, Addy NA. Ventral tegmental area $\alpha\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors modulate phasic dopamine release in the nucleus accumbens core.

- Psychopharmacology (Berl). 2013 Sep;229(1):73-82. doi: 10.1007/s00213-013-3082-0. PMID: 23624852;
5. Trinko JR, Land BB, Solecki WB, Wickham RJ, Tellez LA, Maldonado-Aviles J, de Araujo IE, Addy NA, DiLeone RJ. Vitamin D3: a role in dopamine circuit regulation, diet-induced obesity, and drug consumption. *eNeuro*. 2016 May 19;3(2):ENEURO.0122-15.2016. doi: 10.1523/ENEURO.0122-15.2016. PMID: 27257625;
 6. Addy, NA, Solecki W. (2016). Clinical syndromes of substance use disorder. In T. Lehner, B. L. Miller, & M. W. State (Eds.), *Genomics, circuits, and pathways in clinical neuropsychiatry* (pp. 619–634). London: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-800105-9.00038-X.

Wkład w badania: Publikacje [1] i [6] wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego, a dokładny wkład habilitanta został opisany w części pkt. 5. W publikacji [2] napisałem sekcję „The role of *in vivo* DA signaling: recent findings” i współredagowałem manuskrypt. W pracy [3] uczestniczyłem w projektowaniu doświadczeń, wykonywaniu połowy operacji i części eksperymentów behawioralnych. Uczestniczyłem w analizie danych i współredagowałem manuskrypt. W pracy [4] uczestniczyłem w projektowaniu doświadczeń i wykonaniu części doświadczeń FSCV oraz współredagowałem manuskrypt. W pracy [5] zaprojektowałem, wykonałem i analizowałem wszystkie eksperymenty z użyciem FSCV, stworzyłem rycinę oraz współredagowałem manuskrypt.

5.2. Kierowanie i uczestnictwo w grantach badawczych

Przed uzyskaniem stopnia doktora byłem zaangażowany w dwóch grantach międzynarodowych (IV PR EU PHECOMP LSHM-CT-2007-037669 oraz EU grant LSHM-CT-2004-005166 GENADDICT) jako główny wykonawca. Po uzyskaniu stopnia doktora kierowałem i kieruję następującymi projektami i grantami:

2013- 2015 FNP HOMING PLUS (2013-7/14): Noradrenergic regulation of motivational control. Budżet projektu 287 000 PLN (kierownik projektu).

Celem projektu było zbadanie neurobiologicznych podstaw zaangażowania poszczególnych części układu noradrenergicznego w modulowaniu dysforycznych (afektywnych/motywacyjnych) objawów doświadczanych podczas zespołu odstawienia od morfiny. W toku realizacji projektu zrekrutowałem mały zespół naukowy (dwoje magistrantów) w Jednostce (IF im. Jerzego Maja PAN). W badaniach użyliśmy m.in. metod optogenetycznych w celu stymulowania aktywności neuronów noradrenergicznych u zwierząt w czasie testów behawioralnych. W tym celu prowadzono hodowlę myszy transgenicznych *Dbh-Cre⁺*, u których za pomocą wektorów wirusowych dokonywaliśmy transfekcji neuronów noradrenergicznych oraz zakupiono źródło lasera wraz z oprzyrządowaniem do badań optogenetycznych. W badaniach wykazaliśmy rolę poszczególnych typów receptorów adrenergicznych i receptorów sterydowych w somatycznych i afektywnych/motywacyjnych objawach towarzyszących zespołowi odstawienia od morfiny u myszy, potwierdziliśmy brak zaangażowania neuronów noradrenergicznych LC w powstawaniu doznań dysforycznych związanych z zespołem odstawienia oraz wskazaliśmy na rolę fazowej aktywności neuronów noradrenergicznych LC w procesach związanych z funkcjami poznawczymi, ale nie motywacyjnymi.

Efektom projektu były 3 prace magisterskie i następujące publikacje:

1. Solecki WB, Kus N, Gralec K, Klasa A, Pradel K, Przewłocki R. Noradrenergic and corticosteroid receptors regulate somatic and motivational symptoms of morphine withdrawal. *Behav Brain Res*. 2019; 360:146-157;

2. Gralec K, Kuś N, Solecki W. Optogenetic methods in the service of neuroscience and medicine. *Ból* 2014; 15(1): str. 36-45.

Wkład w badania: byłem pomysłodawcą projektu, na który otrzymałem finansowanie. Zakupiłem i uruchomiłem aparaturę badawczą. Zrekrutowałem i wyszkoliłem zespół badawczy. Zaprojektowałem badania. Publikacja [1] wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego i dokładny opis wkładu habilitanta znajduje się w sekcji 2.2. W pracy [2] byłem pomysłodawcą oraz zaprojektowałem manuskrypt, wyszkoliłem współautorów do zbierania materiałów i pisanie pracy przeglądowej. Ponadto opracowałem i przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Opracowałem finalną wersję manuskryptu. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym tej pracy. Swoją wkład w powstanie pracy [2] oceniam na 50%.

2013- 2018 **NCN SONATA 6 (2013/11/D/NZ4/02371):** Modulacja noradrenergiczna poszukiwania kokainy. Budżet projektu 1 223 200 PLN (kierownik grantu). Wniosek na pierwszym miejscu listy rankingowej.

Projekt dotyczył wykazania nowych mechanizmów regulujących głód substancji uzależniającej w czasie abstynencji i stanowi podstawę osiągnięcia naukowego składającego się na habilitację. Założono, że reakcje poszukiwania kokainy u szczurów (behawioralna miara głodu substancji uzależniającej modelująca to zjawisko u ludzi), może zależeć od aktywności noradrenergicznej w VTA, która z kolei moduluje aktywność neuronów dopaminowych. W badaniach, wraz z zespołem, zastosowaliśmy innowacyjne połączenie oznaczania komórek za pomocą znaczników fluorescencyjnych i wektorów wirusowych, optogenetyki, szybko-skanowej voltamperometrii cyklicznej *in vivo*, przez-czaszkowych podań leków oraz szeregu testów behawioralnych u szczurów w jedną strategię badawczą. W toku realizacji projektu zrekrutowałem nowy zespół naukowy w Jednostce (IF im. Jerzego Maja PAN). Ponadto, rozpoczęliśmy hodowlę szczurów transgenicznym Th-Cre⁺ sprowadzonych ze Stanów Zjednoczonych oraz zakupiliśmy i uruchomiliśmy aparaturę do przeprowadzenia niezbędnych badań (m.in. 8 klatek Skinnera, aparaturę do szybko-skanowej voltamperometrii cyklicznej, źródła lasera wraz z oprzyrządowaniem do badań optogenetycznych). W pierwszym etapie badań wykazaliśmy, że aktywność specyficznych receptorów adrenergicznych w VTA moduluje aktywność neuronalną w VTA i fazowe, ale nie toniczne uwalnianie DA w wybranych strukturach mezolimbicznego układu dopaminowego. Ponadto, wyniki badań optogenetycznych i elektrofizjologicznych prowadzonych we współpracy z dr hab. Tomaszem Błasiakiem z Zakładu Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii (Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie) wykazały, że aktywność noradrenergiczna w VTA moduluje aktywność glutamatergicznych i/lub GABA-ergicznych zakończeń aksonalnych w VTA. W kolejnym etapie badań wykazaliśmy, że aktywność włókien eferentnych z LC w VTA oraz aktywność specyficznych receptorów adrenergicznych w VTA moduluje wywołane bodźcami warunkowymi poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji. Przypuszczamy, że aktywność neuronów noradrenergicznych LC „sygnalizuje” do VTA zmianę ważności/znaczenia bodźców warunkowych. Sygnał ten moduluje aktywność innych włókien eferentnych w VTA i w ten sposób wpływa na fazowe uwalnianie DA w mezolimbicznym układzie dopaminowym i co za tym idzie, uwarunkowane reakcje na bodźce warunkowe, takie jak np. głód narkotyku.

W wyniku realizacji projektu powstało laboratorium dedykowane badaniom z użyciem szybko-skanowej woltamperometrii cyklicznej *in vivo*, optogenetyki i testów behawioralnych u szczurów transgeniczných. W toku realizacji projektu pierwsi w Polsce wdrożyliśmy dwie nowoczesne metody badawcze - szybko-skanowej woltamperometrii cyklicznej *in vivo* i optogenetyki na szczurach transgeniczných. Efekty tych wdrożeń są szeroko udostępniane dla środowiska naukowego w Polsce poprzez liczne wystąpienia konferencyjne, seminaria, warsztaty, konsultacje oraz współpracę i wdrożenia w innych jednostkach naukowych. Przykładem udanego wdrożenia jest połączenie optogenetyki z badaniami elektrofizjologicznymi *in vivo* w Zakładzie Neurofizjologii i Chronobiologii (Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, UJ). Wdrożenia te poskutkowały również współtworzeniem wniosku grantowego NCN Opus 16, kierowanego przez prof. Mariusza Pappa (Zakład Farmakologii, IF im. Jerzego Maja PAN). Efektem projektu były 3 prace magisterskie i następujące publikacje:

1. Addy N, Solecki W. (2016). Clinical syndromes of substance use disorder. In T. Lehner, B. L. Miller, & M. W. State (Eds.), *Genomics, circuits, and pathways in clinical neuropsychiatry* (pp. 619–634). London: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-800105-9.00038-X;
2. Solecki W, Szklarczyk K, Klasa A, Pradel K, Dobrzański G, Przewłocki R. Alpha₁-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2017 Aug; 27(8):782-794. doi: 10.1016/j.euroneuro.2017.05.008;
3. Pradel K, Blasiak T, Solecki WB. Adrenergic receptor agonists' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Neuroscience.* 2018 Apr 1;375:119-134. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.002;
4. Solecki W, Szklarczyk K, Pradel K, Kwiatkowska K, Dobrzański G, Przewłocki R. Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving. *Addict Biol.* 2018 Mar;23(2):596-609. doi: 10.1111/adb.12514;
5. Solecki W, Kielbinski M, Karwowska K, Zajda K, Wilczkowski M, Rajfur Z, Przewłocki R. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking. *Neuropharmacology.* 2019 Nov 1;158:107680. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107680;
6. Kielbinski M, Bernacka J, Solecki W. Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling. *J Neurochem.* 2019 Jun;149(6):747-759. doi: 10.1111/jnc.14706.

Wkład w badania: byłem pomysłodawcą projektu, na który otrzymałem finansowanie. Zakupiłem i uruchomiłem aparaturę badawczą (8 klatek Skinnera, FSCV, lasery). Zrekrutowałem i wyszkoliłem zespół badawczy. Zaprojektowałem badania. Nadzorowałem hodowlę szczurów transgeniczných. Publikacje [1-6] wchodzą w skład dzieła habilitacyjnego i dokładny opis wkładu habilitanta znajduje się w sekcji 2.2.

2015 - 2019 NCN OPUS 7 (2014/13/B/NZ4/00146): Rola fazowej aktywności katecholamin w przyśrodkowej korze czołowej w poszukiwaniu kokainy. Budżet projektu 1 372 453 PLN (kierownik grantu). Wniosek na pierwszym miejscu listy rankingowej.

Projekt dotyczył wykazania nowych mechanizmów regulujących zachowania poszukiwawcze kokainy w czasie abstynencji u szczurów i był rozwinięciem badań prowadzonych w ramach projektu Sonata 6. Hipotezy badawcze dotyczyły znaczenia aktywności projekcji dopaminergiczných i noradrenergicznych z pnia mózgu do przyśrodkowej kory przedczołowej w regulacji tego zachowania. W pierwszym etapie badań, wykorzystując

metody immunohistologiczne, wektory wirusowe i szczury transgeniczne Th-Cre⁺ scharakteryzowano różnicowanie poziomu ekspresji hydroksylazy tyrozynowej (*Th*) i β -hydroksylazy dopaminy (*Dbh*) w mPFC. Następnie zbadano możliwość eksperymentalnego wywołania uwalniania katecholamin w przodomózgowiu przy użyciu stymulacji elektrycznej lub fotostymulacji optogenetycznej oraz wykazano mechanizmy receptorowe w pniu mózgu regulujące fazowe uwalnianie katecholamin w przodomózgowiu. Następnie wykazano, że te same mechanizmy receptorowe w VTA modulują poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji. W ostatnim etapie badań, wykorzystując fotostymulację włókien aferentnych w PFC, wykazano, że toniczna aktywność dopaminergiczna (ale nie noradrenergiczna) w mPFC może osłabiać poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji. Najważniejszym wnioskiem wyłaniającym się z tych badań (NCN Opus 7) było wskazanie VTA jako kluczowego „węzła” w układzie struktur mózgowych przetwarzających informację oddolnie (*bottom-up*) i regulującego poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji. W celu dodatkowej weryfikacji i wzmocnienia tych obserwacji wykonano dodatkowe badania z użyciem optogenetyki. Wykazano, że krótkotrwała i przejściowa fotoinhibicja neuronów DA w VTA, jak i fotostymulacja włókien aferentnych neuronów dziobowo-przyśrodkowej nakrywki (RMTg) w VTA oraz fotostymulacja włókien aferentnych neuronów bocznej uzdeczki (LHb) w RMTg zmniejsza poszukiwanie kokainy w czasie abstynencji. W toku realizacji projektu i w wyniku współpracy naukowej z prof. dr hab. Krystyną Gołębiowską (Zespół III, Zakład Farmakologii, IF im. Jerzego Maja PAN) wdrożyliśmy metody optogenetyczne w badaniach uwalniania neurotransmiterów z użyciem mikrodializy *in vivo*. Efektem projektu były 2 prace magisterskie i następujące publikacje:

1. Solecki W, Szklarczyk K, Klasa A, Pradel K, Dobrzański G, Przewłocki R. Alpha₁-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2017 Aug; 27(8):782-794. doi: 10.1016/j.euroneuro.2017.05.008;
2. Solecki W, Szklarczyk K, Pradel K, Kwiatkowska K, Dobrzański G, Przewłocki R. Noradrenergic signaling in the VTA modulates cocaine craving. *Addict Biol.* 2018 Mar;23(2):596-609. doi: 10.1111/adb.12514;
3. Solecki WB, Kielbinski M, Karwowska K, Zajda K, Wilczkowski M, Rajfur Z, Przewłocki R. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area modulates conditional stimulus-induced cocaine seeking. *Neuropharmacology.* 2019 Nov 1;158:107680. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107680;
4. Solecki W, Wilczkowski M, Pradel K, Karwowska K, Kielbinski M, Drwięga G, Zajda K, Blasiak T, Soltys Z, Rajfur Z, Szklarczyk K, Przewłocki R. Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence. *Addict Biol.* 2019 Sep 2:e12826. doi: 10.1111/adb.12826;
5. Kielbinski M, Bernacka J, Solecki W. Differential regulation of phasic dopamine release in the forebrain by the VTA noradrenergic receptor signaling. *J Neurochem.* 2019 Jun;149(6):747-759. doi: 10.1111/jnc.14706.

Wkład w badania: byłem pomysłodawcą projektu, na który otrzymałem finansowanie. Zakupiłem i uruchomiłem aparaturę badawczą (8 klatek Skinnera). Zrekrutowałem i wyszkoliłem zespół badawczy. Zaprojektowałem badania. Nadzorowałem hodowlę szczurów transgenicznych. Publikacje [1-5] wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego i dokładny opis wkładu habilitanta znajduje się w sekcji 2.2.

2016 - 2018 **EC REA FP7 Marie Curie International Incoming Fellowship** (FP7-PEOPLE-IIF-GA-2013-629 661): VTA-specific noradrenergic regulation of motivational control. Budżet 140 864 EUR (stypendysta - *researcher*).

Projekt był kontynuacją badań rozpoczętych w ramach projektu FNP HOMING PLUS (2013-7/14). Naszym celem było wskazanie neurobiologicznych mechanizmów w polu brzusznej nakrywki zaangażowanych w procesy uczenia się i powstawania asocjacji pawłowskich wywołanych ekspozycją na nagradzający bodziec bezwarunkowy. Hipotezy dotyczyły wpływu fazowej (tj. wynikającej z erupcyjnej aktywności neuronów) aktywności noradrenergicznej w VTA. Wyniki badań z użyciem optogenetycznej stymulacji i szczurów transgeniczych Th-Cre⁺ wykazały, że określona stymulacja optogenetyczna (10 Hz ale nie 3 Hz) włókien noradrenergicznych, modulująca fazową (ale nie toniczną) aktywność noradrenergiczną w VTA, nasila zachowania lękowe i zaburza nabywanie wywołanej kokainą uwarunkowanej preferencji miejsca. Co ciekawe, toniczna (3 Hz) stymulacja tych włókien w trakcie warunkowania z kokainą wykazywała wyraźną tendencję do nasilania uwarunkowanej preferencji miejsca badanej 24 h później. Wynik ten był inspiracją do badań farmakologicznych roli aktywności receptora α_1 -AR w nabywaniu tej reakcji. Wyniki badań wykazały, że blokada tego receptora przed warunkowaniem z kokainą zmniejsza uwarunkowaną preferencję miejsca. Wyniki tych badań zostały opisane i złożone do publikacji (Solecki i wsp., w recenzji).

2018 - 2022 NCN OPUS 15 (2018/29/B/NZ7/02672): Poszukiwanie nowych mechanizmów terapii zaburzeń związanych z używaniem substancji uzależniających lub ze stresem. Budżet projektu 1 878 959 PLN (kierownik grantu).

Obecnie realizowany projekt badawczy jest kontynuacją badań rozpoczętych w ramach projektu NCN Sonata 6. Naszym celem jest wskazanie neurobiologicznych mechanizmów w polu brzusznej nakrywki zaangażowanych w powstawanie reakcji poszukiwania substancji uzależniających, jak i reakcji uwarunkowanego strachu wywołanych przez bodźce warunkowe. Przypuszczamy, że reakcje poszukiwania substancji uzależniających, takich jak kokaina, oksykodon i nikotyna oraz uwarunkowanego strachu zależą od aktywności receptorów adrenergicznych w polu brzusznej nakrywki kodującej ważność bodźca warunkowego, niezależnie od jego wartości hedonistycznej. Ponadto, planujemy zbadać czy regulacja adrenergiczna mezolimbicznego układu dopaminowego zmienia się po wpływie stresu lub abstynencji od samopodawania substancji uzależniających. W badaniach zastosujemy połączenie oznaczania komórek za pomocą znaczników fluorescencyjnych i wektorów wirusowych, optogenetyki, szybko-skanowej voltamperometrii cyklicznej *in vivo*, przezczaszkowych podań leków oraz szeregu testów behawioralnych u szczurów w jedną strategię badawczą. Innowacyjność metodyki projektu polega na zaplanowaniu badań umożliwiających identyfikację specyficznych mechanizmów receptorowych odpowiedzialnych za modulację aktywności neuronów dopaminowych związanych z reakcją na bodźce warunkowe i/lub uwarunkowanym zachowaniem. Powodami podjęcia obecnych badań były: (i) potrzeba wykazania, czy bodźce związane z kokainą i uwarunkowanym strachem aktywują określone mechanizmy neuronalne i receptorowe w polu brzusznej nakrywki odpowiedzialne za inicjację uwarunkowanego zachowania; (ii) konieczność wykazania, że aktywność specyficznych podtypów receptorów adrenergicznych w polu brzusznej nakrywki stanowi uniwersalny mechanizm regulujący poszukiwanie substancji uzależniającej oraz (iii) silne przesłanki wskazujące na plastyczność w noradrenergicznej modulacji aktywności pola

brzusznego nakrywki w abstynencji i w odpowiedzi na bodźce stresowe. Spodziewamy się, że identyfikacja takich mechanizmów i zależności będzie stanowić znaczny progres w rozumieniu patofizjologii uzależnień i zaburzeń związanych ze stresem oraz pomoże wskazać nowe strategie leczenia tych zaburzeń. Dotychczas wykazaliśmy podobne mechanizmy receptorowe w VTA regulujące poszukiwanie kokainy i oksykodonu, wykazaliśmy funkcjonalne znaczenie podtypu receptora α_{2A} - ale nie α_{2B} - czy α_{2C} -adrenergicznego w VTA w modulowaniu fazowego uwalniania DA w NAc oraz kluczową adaptację w funkcji receptora α_2 -adrenergicznego w VTA w modulowaniu fazowego uwalniania DA w podstawno-bocznym jądrze migdałowatym. Ponadto jesteśmy w trakcie badań wykazujących znaczenie aktywności neuronów dopaminergicznych w VTA w inicjacji uwarunkowanego zachowania i rekonsolidacji śladu pamięciowego związanego z odpamiętaniem asocjacji bodziec warunkowy-bodziec bezwarunkowy. Na obecną chwilę efektem projektu były trzy doniesienia w postaci posterów oraz jeden wykład podczas konferencji (International Congress of the Polish Neuroscience Society, Katowice, Polska, 28-30.08.2019).

Ponadto byłem zatrudniony jako wykonawca w dwóch projektach badawczych:

2010-2014 NCBiR DeMeTer (POIG.01.01.02-12-004/09), zadanie "Depresja, mechanizmy, terapia" (Kierownik zadania realizowanego w IF PAN „Modele genetyczne dla badań funkcji układów monoaminowych w etiologii i farmakoterapii depresji” – prof. dr hab. Ryszard Przewłocki);

2018 - NCN OPUS 13 (2017/25/B/NZ7/02710): Farmakologiczne i optogenetyczne badania mechanizmu działania głębokiej stymulacji mózgu w przyśrodkowo-brzuszej korze przedczołowej w zwierzęcym modelu lekoopornej depresji (kierownik projektu – prof. dr hab. Mariusz Papp).

5.3. Współpraca naukowa (krajowa i zagraniczna)

Współpracowałem i współpracuję z naukowcami z krajowych, jak i zagranicznych ośrodków badawczych. Współpracuję zarówno z doświadczonymi badaczami (np. prof. dr hab. Ryszard Przewłocki, prof. dr hab. Mariusz Papp, prof. Ronald Duman), jak i wspieram młodych badaczy na początkowych etapach kariery (mgr Kamil Pradel). Ponadto, prowadząc od 2015 r. hodowlę szczurów transgenicznym, wspieram naukowców z innych ośrodków naukowych, udostępniając im model transgeniczny Th-Cre⁺. Odbiorcami zwierząt byli: dr hab. Anna Błasiak (Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie), dr Tomasz Wójtowicz (Pracownia Biofizyki Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie), dr hab. Ewelina Knapska (Pracownia Neurobiologii Emocji, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie) oraz mgr Kamil Pradel (Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie). Ponadto, dane uzyskane z badań z użyciem zwierząt Th-Cre⁺ są i będą wykorzystane przy realizacji prac magisterskich i doktoranckich w Zakładzie Neurofizjologii i Chronobiologii (IZiBB, WB, UJ).

Poniżej znajduje się lista partnerów współpracy naukowej:

2011 -

Prof. dr hab. Ryszard Przewłocki, Zakład Neurofarmakologii Molekularnej, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie. W latach 2011-2015 współpraca była kontynuacją badań rozpoczętych w trakcie doktoratu nad zróżnicowaniem fenotypowym i genotypowym 4 szczepów wsobnych myszy. Wykazaliśmy, że podatność na stres jest genetycznie zróżnicowana i współwystępuje ze zróżnicowaną ekspresją genów *Tsc22d3*, *Nfkbia* and *Pdyn* u myszy (Szklarczyk i wsp., 2012). Ponadto wykazaliśmy, że różnice genotypowe wpływają na ekspresję genów wczesnej odpowiedzi indukowaną podaniem morfiny (Ziółkowska i wsp., 2015).

Począwszy od 2019, wspólne badania dotyczą behawioralnych efektów selektywnych funkcjonalnie ligandów receptorów opioidowych. Tego rodzaju związki farmakologiczne po związaniu się z receptorem nie aktywują białka regulacyjnego - β -arestyny 2, wykazując „stronniczość” wobec białka G, które mediuje ich terapeutyczne właściwości. Wspólny projekt polega na zbadaniu wpływu podania ligandów receptorów opioidowych selektywnych funkcjonalnie na zachowania poszukiwawcze u szczurów w modelu uzależnienia od oksykodonu.

Efektom tej współpracy były 3 publikacje:

1. Szklarczyk K, Korostynski M, Golda S, Solecki W, Przewłocki R. Genotype-dependent consequences of traumatic stress in four inbred mouse strains. *Genes Brain Behav.* 2012; 11(8):977-85;
2. Ziółkowska B, Gieryk A, Solecki W, Przewłocki R. Temporal and anatomic patterns of immediate-early gene expression in the forebrain of C57BL/6 and DBA/2 mice after morphine administration. *Neuroscience.* 2015; 284:107-24;
3. Kudła L, Bugno R, Skupio U, Wiktorowska L, Solecki W, Wojtas A, Golembiowska K, Zádor F, Benyhe S, Buda S, Makuch W, Przewłocka B, Bojarski AJ, Przewłocki R. Functional characterization of a novel opioid, PZM21, and its effects on the behavioural responses to morphine. *Br J Pharmacol.* 2019;176(23):4434-4445.

Wkład w badania: w pracy [1] pomagałem ustawić metodę behawioralną, w pracy [2] przeprowadziłem badania behawioralne. W pracy [3] zaprojektowałem, wykonałem i analizowałem eksperyment dotyczący samopodawania dożylnego PZM21, (Fig. 3), stworzyłem rycinę 3, napisałem sekcje metod i rezultatów dot. samopodawania dożylnego PZM21. Swój wkład szacuję na 10% w pracy 1 i 2 oraz 15% w pracy 3.

2011-2012

Dr hab. Jan Manuel Rodriguez Parkitna, Zakład Neurofarmakologii Molekularnej, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN w Krakowie. Wspólne badania dotyczyły wpływu usunięcia, za pomocą systemu miejscowo-specyficznych mutacji *Cre/loxP*, genu kodującego podjednostkę NR1 receptora NMDA selektywnie na neuronach noradrenergicznych na zachowania związane z uzależnieniem u myszy. W kolejnych badaniach wykazaliśmy, że aktywność receptorów NMDA na neuronach noradrenergicznych odgrywa ważną rolę w niektórych procesach uczenia się, których zaburzenie może prowadzić do utraty plastyczności zachowania i rozwoju uzależnienia. Efektom tej

współpracy była jedna publikacja (poniżej) oraz jedno wyróżnienie (European College of Neuropsychopharmacology ECNP Fellowship Award - 2011).

1. Parkitna JR, Solecki W, Gołombiowska K, Tokarski K, Kubik J, Gołda S, Novak M, Parlato R, Hess G, Sprengel R, Przewłocki R. Glutamate input to noradrenergic neurons plays an essential role in the development of morphine dependence and psychomotor sensitization. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012 15:1457-71.

Wkład w badania: zaprojektowałem, wykonałem i analizowałem wszystkie eksperymenty behawioralne (Fig. 2, 5 i 6), stworzyłem ryciny 2, 5 i 6, napisałem sekcje metod i rezultatów dot. badań behawioralnych oraz współredagowałem manuskrypt. Swój wkład szacuję na 30%.

2012-2013

Prof. Ronald Duman, Department of Molecular Psychiatry, Yale School of Medicine w New Haven, Stany Zjednoczone. Współpracę nawiązałem w ramach stażu podoktorskiego w Yale School of Medicine. Byłem wykonawcą projektu, w ramach którego mierzyłem wpływ systemowych podań ketaminy na fazowe uwalnianie dopaminy w jądrze półleżącym przegrody i korze przyśrodkowej. Ponadto badałem efekty przeciwdepresyjne ketaminy u szczurów z farmakologicznie zahamowaną aktywnością pola brzusznej nakrywki. Wyniki badań wskazały na niewielkie zmiany i nie zakończyły się publikacją.

2012-2013

Prof. Ralph DiLeone, Department of Molecular Psychiatry, Yale School of Medicine w New Haven, Stany Zjednoczone. Współpracę nawiązałem w ramach stażu podoktorskiego w Yale School of Medicine. W ramach wspólnych badań mierzyłem wpływ witaminy D na fazowo uwalnianą dopaminę w jądrze półleżącym przegrody.

Efektom tej współpracy jest jedna publikacja:

1. Trinko JR, Land BB, Solecki WB, Wickham RJ, Tellez LA, Maldonado-Aviles J, de Araujo IE, Addy NA, DiLeone RJ. Vitamin D3: a role in dopamine circuit regulation, diet-induced obesity, and drug consumption. *eNeuro.* 2016 May 19;3(2):ENEURO.0122-15.2016.

Wkład w badania: zaprojektowałem, wykonałem, analizowałem wszystkie eksperymenty z użyciem FSCV (Fig. 5B-E), stworzyłem rycinę 5 oraz współredagowałem manuskrypt. Swój wkład szacuję na 10%.

2014 – 2015

Dr hab. Rafał Ryguła, Pracownia Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych, IF im. Jerzego Maja PAN. Wspólne badania dotyczyły wpływu optogenetycznej stymulacji neuronów dopaminergicznych pola brzusznej nakrywki u szczurów Th-Cre⁺ na stan afektywny mierzony za pomocą wokalizacji ultradźwiękowych. W reakcji na bodźce nagradzające szczury emitują ultradźwięki (wokalizują; *ultrasonic vocalization* – USV) w paśmie częstotliwości 30–100 kHz. Spodziewaliśmy się, że bezpośrednia stymulacja neuronów dopaminergicznych, która w paradygmacie dynamicznej preferencji miejsca w czasie rzeczywistym wywołuje znaczącą preferencję miejsca

będzie skutkowała wokalizacjami apetytywnymi. Wyniki tych badań są przygotowane do publikacji (Solecki i wsp., w recenzji).

2016 -

Dr hab. Tomasz Błasiak, Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie. W latach 2016–2018 współpraca dotyczyła zbadania efektów jontoforetycznych podań selektywnych agonistów receptorów adrenergicznych do pola brzuszego nakrywki na aktywność elektrofizjologiczną neuronów dopaminergicznych za pomocą metody pomiarów aktywności pojedynczych komórek *in vivo* u szczurów w anestezji. W kolejnych latach wspólne badania dotyczyły wpływu różnych protokołów fotostymulacji i fotoinhibicji na aktywność neuronalną u szczurów za pomocą metod optogenetycznych i pomiarów aktywności pojedynczych komórek *in vivo* u szczurów w anestezji. Wyniki tych badań pozwoliły zaplanować efektywne protokoły fotomodulacji użyte następnie w badaniach behawioralnych. Efektem tej współpracy są dwie publikacje:

1. Solecki W, Wilczkowski M, Pradel K, Karwowska K, Kielbinski M, Drwięga G, Zajda K, Błasiak T, Soltys Z, Rajfur Z, Szklarczyk K, Przewłocki R. Effects of brief inhibition of the ventral tegmental area dopamine neurons on the cocaine seeking during abstinence. *Addict Biol.* 2019 Sep 2:e12826. doi: 10.1111/adb.12826. PMID: 31478293;
2. Pradel K, Błasiak T, Solecki WB. Adrenergic receptor agonists' modulation of dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Neuroscience.* 2018 Apr 1;375:119-134. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.11.002. PMID: 29138105.

Wkład w badania: Publikacje [1-2] wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego i dokładny opis wkładu habilitanta znajduje się w sekcji 2.2.

2017 - 2018

Prof. dr hab. Krystyna Gołombiowska, Zespół II, Zakład Farmakologii, IF im. Jerzego Maja PAN. Współpraca dotyczyła pomiaru pozakomórkowego stężenia neuroprzekazników w korze czołowej metodą mikrodializy u swobodnie poruszających się zwierząt i zmian w ich stężeniu w odpowiedzi na stymulację optogenetyczną u szczurów Th-Cre⁺. Ocena swoistości zmian w stężeniu dopaminy i serotoniny mierzonych metodą HPLC z detekcją elektrochemiczną posłużyła do zaplanowania parametrów stymulacji optogenetycznej kory czołowej w badaniach behawioralnych prowadzonych w projekcie NCN Opus 7.

2017 -

Prof. dr hab. Mariusz Papp, Zakład Farmakologii IF im. Jerzego Maja PAN. Współpraca dotyczy badania mechanizmu działania głębokiej stymulacji mózgu w przyśrodkowo-brzuszej korze przedczołowej w zwierzęcym modelu lekoopornej depresji. W tym celu użyto optogenetycznej modulacji aktywności neuronalnej tej części kory i badano jej wpływ na behawioralne i neuronalne markery depresji u

zwierząt. Badania są prowadzone w ramach grantu NCN OPUS 13 (2017/25/B/NZ7/02710; kierownik projektu – prof. dr hab. Mariusz Papp). W projekcie tym byłem odpowiedzialny za zaplanowanie badań optogenetycznych wraz z ustawieniem metody transdukcji wektorami wirusowymi i badań behawioralnych z użyciem optogenetyki *in vivo*. Efektem tej współpracy jest publikacja:

1. Papp M, Gruca P, Litwa E, Lason-Tyburkiewicz M, Solecki W, Willner P. AMPA receptors mediate the pro-cognitive effects of electrical and optogenetic stimulation of medial prefrontal cortex in antidepressant non-responsive Wistar-Kyoto rats. *Journal of Psychopharmacology*: JOP-2020-4308.R1.

Wkład w badania: współuczestniczyłem w projektowaniu badań optogenetycznych, ustawiłem aparaturę badawczą do badań optogenetycznych, przeszkoliłem zespół badawczy z metodyki badań oraz nadzorowałem i analizowałem eksperymenty z użyciem optogenetycznej modulacji PFC, współredagowałem manuskrypt. Swój wkład szacuję na 15%.

2018 - Mgr Kamil Pradel, Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie. Wspólne badania dotyczą funkcjonalnego znaczenia połączeń anatomicznych neuronów wzgórków górnych z neuronami dopaminergicznymi śródmózgowia. Do realizowania celów wykorzystujemy m.in. szczury transgeniczne Th-Cre⁺, metody znakowania szlaków neuronalnych, rejestracje elektrofizjologiczne *in vivo* oraz narzędzia optogenetyczne.

2019 - Dr Tomasz Wójtowicz, Pracownia Biofizyki Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie. Wspólne badania dotyczą wpływu wzbudzonej aktywności dopaminergicznej na S-palmitylację białek w hipokampie i jądrze połączonej przegrody u szczura. Zjawisko S-palmitylacji to odwracalne i kowalencyjne przyłączanie kwasu palmitynowego do białek, co może czynić je bardziej hydrofobowymi i przez to łatwiej wbudowującymi się w struktury lipidowe, jak również zmieniać funkcję białka lub oddziaływania białko-białko. Spodziewamy się, że proces ten jest kluczowy dla plastyczności neuronalnej i procesów uczenia się i pamięci, zależnych od dopaminy.

2019 - Dr hab. Ewelina Knapska, Pracownia Neurobiologii Emocji, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie. Wspólne badania dotyczą wpływu aktywności dopaminergicznej w przedniej korze zakrętu obręczy na transmisję społeczną emocji u szczurów. Szczegółowym celem współpracy jest wykazanie, czy komponenta emocjonalna interakcji społecznych, kodowana przez aktywność neuronalną w obrębie zespołu jądra

migdałowatego związana jest z aktywnością modulowanych przez dopaminę aferentów z kory przedczołowej.

- 2019 - Prof. dr hab. Irena Nalepa, Zakład Biochemii Mózgu, IF im. Jerzego Maja PAN.** Rozpoczęta współpraca dotyczy ekspresji białek receptorów adrenergicznych oraz efektów stresu na zmiany plastyczne w pniu mózgu szczurów. Dotychczas wykonaliśmy pomiary gęstości receptora α_2 -adrenergicznego ocenianej w polu brzusznej nakrywki metodą ilościowej autoradiografii z użyciem trytowanego radioligandu, stanowiące badania komplementarne dla naszych wyników uzyskanych metodą FSCV w projekcie NCN Opus 15.
- 2019 - Dr hab. Marzena Maćkowiak, Profesor IF im. Jerzego Maja PAN, Pracownia Farmakologii i Biostruktury Mózgu, Zakład Farmakologii, IF im. Jerzego Maja PAN.** Rozpoczęta współpraca dotyczy wpływu stresu na zmiany plastyczne w pniu mózgu szczurów. Dotychczas wykonaliśmy pomiary metodą Western blot ekspresji podtypów receptora α_{2A} - i α_{2C} -adrenergicznego w polu brzusznej nakrywki, stanowiące badania komplementarne dla naszych wyników uzyskanych metodą FSCV w projekcie NCN Opus 15.

5.4. Wykłady na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych oraz spotkaniach naukowych

W latach 2011-2020 wygłosiłem wykłady na 4 międzynarodowych konferencjach, 3 seminariach naukowych oraz jednej Szkole Zimowej. Wygłosiłem następujące wykłady:

- 2014 “Differential role of ventral tegmental area acetylcholine and N-Methyl-D-Aspartate receptors in cocaine-seeking”. International Psychiatric Conference, 04-07.06.2014, Warszawa;
- 2016 “Ventral tegmental area regulation of drug craving”. 1st Neuronline Project Conference, 25.11.2016, Kraków;
- 2017 “Stress and substance use disorder”. Szkoła Zimowa Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, „No stress – no life”, 18.02.2017, Zakopane;
- 2018 „Znaczenie aktywności noradrenergicznej w polu brzusznej nakrywki w modulacji zachowania”, Seminarium Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, 21.05.2018;
- 2018 „Behavioral and molecular endophenotypes of opioid addiction susceptibility”. The 13th European Opiate Addiction Treatment Association (EUROPAD), 25-27.05.2018, Kraków;
- 2018 “The role of the noradrenergic signaling in the ventral tegmental area in drug craving”. Konorski Seminars in Neuroscience, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, 14.03.2018, Warszawa;
- 2019 “Bottom-up regulation of the ventral tegmental area activity and function”. 14th International Congress of the Polish Neuroscience Society, 28-30.08.2019, Katowice.

- 2020 "Locus coeruleus noradrenergic projections into the ventral tegmental area regulate cocaine seeking". Konorski Seminars in Neuroscience, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, 13.01.2020, Warszawa.

5.5. Udział w innych projektach badawczych realizowanych w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii Instytutu Psychologii Stosowanej, Wydział Zarządzania i Komunikacji Społecznej Uniwersytetu Jagiellońskiego

W ramach kierowanych przeze mnie zadań badawczych, realizowanych ze środków statutowych Zakładu Neurobiologii i Neuropsychologii (IPS, WZiKS UJ) prowadzę szereg badań naukowych z dziedziny nauk społecznych. Badania te są bezpośrednio związane z moim głównym zainteresowaniem, tj. badaniem zachowania związanego z uzależnieniem. Pierwszym zadaniem jest przeprowadzenie polskiej adaptacji kwestionariuszy badających głód substancji uzależniających, takich jak nikotyna oraz heroina i inne opioidy. Obecnie w Polsce nie ma adekwatnych narzędzi diagnostycznych, pomimo że głód substancji uzależniającej jest jednym z kryteriów diagnostycznych uzależnienia. Taki stan rzeczy skutkuje nie tylko brakiem doniesień naukowych dot. zjawiska, lecz także tym, że miejsca i ośrodki, w których leczy się uzależnionych, stosują różne programy radzenia sobie z głodem, opierając się na niejednorodnej ocenie diagnostycznej, a ich skuteczność nie była - a przez brak narzędzi wciąż nie może być - weryfikowana i porównywana. Powstanie takich narzędzi ma posłużyć do lepszego poznania natury zjawiska, a także może skutkować opracowaniem lepszych strategii radzenia sobie z głodem substancji uzależniającej, co wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka nawrotu nadużywania substancji oraz cierpień z tym związanych.

Celem pierwszego zadania badawczego („Polska adaptacja narzędzi do pomiaru głodu narkotykowego wśród uzależnionych od heroiny oraz przeprowadzenie ich walidacji”) jest adaptacja i walidacja narzędzi kwestionariuszowych, służących do pomiaru głodu heroiny i innych opioidów (*Heroin Craving Questionnaire; HCQ-Now-SF-14R* oraz *Desires for Drug Questionnaire; DDQ*). Zadanie to jest realizowane we współpracy z prof. dr hab. Jackiem Gorzelańczykiem z Katedry Podstaw Teoretycznych Nauk Biomedycznych i Informatyki Medycznej Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy oraz lek. med. Andrzejem Grymkim, ordynatorem Oddziału Psychiatrii w Szpitalu Specjalistycznym im. L. Rydygiera w Krakowie. Dotychczas zakończono proces tłumaczenia kwestionariuszy oraz rozpoczęto badania na pacjentach w leczeniu substytucyjnym.

Celem drugiego zadania badawczego („Polska adaptacja oraz walidacja Krótkiej Formy Kwestionariusza Głodu Tytoniowego”) jest adaptacja i walidacja kwestionariusza służącego do pomiaru głodu nikotyny (*Tobacco Craving Questionnaire – Short Form*). Zadanie to jest realizowane we współpracy z Małopolskim Państwowym Wojewódzkim Inspektorem Sanitarnym. Dotychczas zakończono proces tłumaczenia kwestionariuszy i przeprowadzono trzy badania pilotażowe na palaczach rekreacyjnych (n = 96, n = 80 i n = 16).

Celem trzeciego zadania badawczego („Reakcja fizjologiczna organizmu osoby uzależnionej od nikotyny w odpowiedzi na bodziec warunkowy”) jest zmierzenie reakcji psychofizjologicznych (elektrodermalnej i aktywności serca) na bodźce związane z paleniem papierosów u osób uzależnionych od nikotyny. Dotychczas zakończono proces ustawiania aparatury (zakup aparatury do mierzenia reakcji fizjologicznej, stworzenie stanowiska w

laboratorium procesów poznawczych w IPS WZiKS UJ), tworzenia procedury badawczej oraz przeprowadzono badania pilotażowe. W następnym etapie rozpoczyna się badania na ludziach.

5.6. Recenzje publikacji w czasopismach naukowych

Recenzowałem publikacje dla *Neuropsychopharmacology*, *Journal of Neurochemistry*, *Neuropharmacology*, *Neuroscience*, *International Journal of Molecular Science* i *Acta Neurobiologiae Experimentalis*.

Jestem członkiem szerokiej Rady Redakcyjnej (*Editorial Board*) w czasopiśmie *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, pełniąc funkcję *Review Editor*.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

6.1. Działalność dydaktyczna

Począwszy od 2013 r. prowadzę zajęcia dydaktyczne na kierunku Psychologia stosowana (WZiKS UJ) w następującym wymiarze godzin: 2013 – 289 godzin; 2014 – 289 godzin; 2015 – 210 godzin; 2016 – 240 godzin; 2017 - 210 godzin; 2018 - 210 godzin; 2019 – 210 godzin; 2020 – 214 godzin; w sumie 1718 godzin w ciągu 7 lat.

W tym czasie byłem i jestem koordynatorem oraz prowadzącym następujących kursów na kierunku Psychologia Stosowana (WZiKS UJ):

1. Biofizjologiczne podstawy zachowania, wykład na studiach stacjonarnych:
 - 2013/2014 (30 godzin);
 - 2014/2015 (30 godzin);
 - 2015/2016 (26 godzin);
 - 2016/2017 (26 godzin);
 - 2017/2018 (30 godzin);
 - 2018/2019 (30 godzin);
 - 2019/2020 (30 godzin).
2. Biofizjologiczne podstawy zachowania, wykład na studiach niestacjonarnych:
 - 2013/2014 (26 godzin);
 - 2014/2015 (26 godzin);
3. Psychologia neurobiologiczna, wykład na studiach niestacjonarnych:
 - 2013/2014 (45 godzin);
 - 2014/2015 (45 godzin).
4. Neurobiologiczne podstawy psychoterapii, wykład w języku angielskim na studiach stacjonarnych:
 - 2013/2014 (60 godzin);
 - 2014/2015 (60 godzin);
 - 2015/2016 (60 godzin);
 - 2016/2017 (60 godzin);
 - 2017/2018 (60 godzin);
 - 2018/2019 (60 godzin);
 - 2019/2020 (60 godzin).

5. Nowe trendy w badaniach mózgu, konwersatorium na studiach stacjonarnych III stopnia:
 - 2016/2017 (30 godzin).
 - 2017/2018 (30 godzin).
6. Neurobiologiczne podstawy uzależnień, wykład na studiach stacjonarnych:
 - 2017/2018 (20 godzin);
 - 2019/2020 (20 godzin).
7. Neurobiologiczne podstawy ja i świadomości, wykład na studiach stacjonarnych:
 - 2018/2019 (10 godzin);
8. Mózg i stres, wykład na studiach stacjonarnych:
 - 2018/2019 (10 godzin);
9. Neurobiologiczne podstawy zachowania, seminarium magisterskie na studiach stacjonarnych:
 - 2018/2019 (30 godzin);
 - 2019/2020 (60 godzin);

Dodatkowo prowadziłem następujące zajęcia na kierunku Psychologia stosowana (WZiKS UJ):

1. Psychologia neurobiologiczna, ćwiczenia na studiach stacjonarnych:
 - 2013/2014 (120 godzin);
 - 2014/2015 (120 godzin);
 - 2015/2016 (120 godzin);
 - 2016/2017 (120 godzin);
 - 2017/2018 (60 godzin);
 - 2018/2019 (60 godzin);
 - 2019/2020 (30 godzin).
2. Metody oraz techniki badania i diagnozy psychologicznej Część II, wykład na studiach stacjonarnych:
 - 2013/2014 (4 godziny);
 - 2014/2015 (4 godziny);
3. Metody oraz techniki badania i diagnozy psychologicznej Część II, wykład na studiach niestacjonarnych:
 - 2013/2014 (4 godziny);
 - 2014/2015 (4 godziny);
4. Warsztaty psychologii stosowanej: warsztaty z neuropsychologii, ćwiczenia na studiach stacjonarnych:
 - 2015/2016 (4 godzin);
 - 2016/2017 (4 godzin);
 - 2017/2018 (10 godzin);
 - 2018/2019 (10 godzin);
 - 2019/2020 (10 godzin);

Od 2019 r. prowadziłem również zajęcia na kierunku Neurobiologia (WB UJ):

1. Current advances in neuroscience, konwersatorium na studiach stacjonarnych II stopnia:
 - semestr zimowy 2019/2020 (2 godziny);
 - semestr letni 2019/2020 (2 godziny).

W latach 2014-2016 byłem opiekunem trzech prac magisterskich studentów kierunków Neurobiologia i Psychologia stosowana na Uniwersytecie Jagiellońskim realizowanych w Zakładzie Neurofarmakologii Molekularnej IF im. Jerzego Maja PAN (2 prace) oraz w Zakładzie Neurofizjologii i Chronobiologii IZiBB, WB UJ (jedna praca). Prace te były realizowane w ramach badań w kierowanych przeze mnie grantach badawczych FNP Homing plus (2 prace) i NCN Sonata 6 (1 praca), a magistranci byli wyłonieni na podstawie konkursów i zatrudnieni jako stypendyści. Promotorem tych prac był prof. dr hab. Ryszard Przewłocki (IF im. Jerzego Maja PAN; 2 prace) i dr hab. Tomasz Błasiak (IZiBB, WB UJ; 1 praca). Dwie z tych prac zostały obronione z wyróżnieniem. Dwoje z tych magistrantów dostało się na studia III stopnia, jeden na pierwszym miejscu rankingowym:

2014/15	Natalia Kuś. Znaczenie układu kortykoidowego i adrenergicznego w mechanizmie odstawienia od opioidów;
2014/15	Katarzyna Gralec. Udział receptorów α -1 adrenergicznych w polu brzusznej nakrywki w regulacji nagradzających efektów kokainy;
2015/16	Kamil Pradel. Noradrenergic signaling in the ventral tegmental area of the rat – an electrophysiological and microiontophoretic study.

W latach 2016-2019 byłem promotorem 5 prac magisterskich oraz opiekunem 1 pracy magisterskiej studentów kierunków Neurobiologia i Psychologia stosowana na Uniwersytecie Jagiellońskim realizowanych w Zakładzie Neurofarmakologii Molekularnej IF im. Jerzego Maja PAN (2 prace), w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii, IPS, WZiKS UJ (3 prace) oraz w Zakładzie Neurofizjologii i Chronobiologii IZiBB, WB UJ (1 praca). Prace te były realizowane w ramach badań w kierowanych przeze mnie grantach badawczych NCN Sonata 6 (3 prace) i Opus 7 (3 prace). 3 magistrantów było wyłonionych na podstawie konkursów i zatrudnionych jako stypendyści, dwoje magistrantów było zatrudnionych na umowę zlecenie. Jeden magistrant nie otrzymywał wynagrodzenia. Dwie z tych prac były obronione z wyróżnieniem. Troje z tych magistrantów dostało się na studia III stopnia, w tym dwoje z pierwszego miejsca rankingowego:

2016/17	Krystyna Kwiatkowska. Wpływ blokady receptorów α 1 adrenergicznych w polu brzusznej nakrywki na wywołane bodźcami warunkowymi poszukiwanie oksykodonu;
2016/17	Adam Klasa. Effects of alpha-1 adrenergic receptor blockade in the ventral tegmental area on stress related behavior in rats;
2018/19	Katarzyna Zajda. Rola aktywności dopaminergicznej w przyśrodkowej korze przedczołowej w poszukiwaniu kokainy;
2018/19	Michał Wilczkowski. Stymulacja włókien eferentnych komórek dziobowo-przyśrodkowego jądra nakrywki w polu brzusznej nakrywki osłabia zachowania poszukiwawcze kokainy;
2018/19	Gniewosz Drwięga. Charakterystyka odpowiedzi neuronów niedopaminergicznych brzusznej nakrywki szczura na szok elektryczny. Badania elektrofizjologiczne <i>in vivo</i> z wykorzystaniem anestezji uretanowej;

- 2018/2019 Joanna Bernacka. Rola receptorów adrenergicznych typu $\alpha 2$ i dopaminowych typu D2 w brzusznyemu polu nakrywki w uwalnianiu dopaminy w przodomózgowiu. Promotor prof. dr hab. Ryszard Przewłocki.

W latach 2017-2020 r. byłem promotorem dwóch prac licencjackich studentek kierunków Biologia i Neurobiologia na Uniwersytecie Jagiellońskim, realizowanych w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii, IPS, WZiKS UJ:

- 2016/2017 Paulina Wira. Znaczenie rekonsolidacji pamięci w terapii uzależnień;
 2019/2020 Natalia Baran. Wpływ modulacji aktywności neuronów dopaminergicznych pola brzusznyemu nakrywki na reakcje uwarunkowanego strachu szczura.

W latach 2019-2020, w ramach pensum dydaktycznyemu, byłem promotorem 6 prac magisterskich studentów kierunku Psychologia stosowana na Uniwersytecie Jagiellońskim, realizowanych w Zakładzie Neurobiologii i Neuropsychologii, IPS, WZiKS UJ:

- 2019/2020 Krzysztof Podgórski. Występowanie głodu nikotynowyemu oraz wpływ stresu na jego natężenie wśród rekreacyjnych palaczy;
 2019/2020 Małgorzata Król. Próba adaptacji i walidacji polskiej wersji narzędzia do badania głodu substancji uzależniającej u osób uzależnionych od opioidów - badanie pilotażowe;
 2019/2020 Urszula Kaleta. Wpływ bólu na funkcjonowanie pamięci operacyjnej i uwagi wśród osób z zespołem bólowym kręgosłupa;
 2019/2020 Maria Bujak. Forebrain neuronal activity patterns induced by the optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex in antidepressant non-responsive rats;
 2019/2020 Agnieszka Bąk. Wpływ dobrowolnej abstynencji na głód nikotynowy u młodych dorosłych palaczy;
 2019/2020 Michał Bajorek. Wpływ chronicznego stresu na aktywność neuronalną wybranych struktur mózgowych w zwierzęcym modelu depresji lekoopornej.

Jestem również promotorem pomocniczym jednej pracy doktorskiej realizowanej w Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej w dyscyplinie Biologia medyczna:

- 2020 Joanna Bernacka. Zakład Farmakologii IF im. Jerzego Maja PAN. Temat pracy: Rola receptorów adrenergicznych w polu brzusznyemu nakrywki w modulacji fazowo uwalnianej dopaminy w przodomózgowiu. Promotor prof. dr hab. Ryszard Przewłocki. Praca doktorska wykonywana w ramach kierowanego przeze mnie grantu NCN Opus 15. Planowana obrona – czerwiec 2023.

6.2. Działalność organizacyjna

W trakcie mojej pracy w Instytucie Psychologii Stosowanej (WZiKS UJ) aktywnie włączałem się w działalność organizacyjną. Od 2014 r. jestem opiekunem naukowym sekcji *Neuroscience* koła naukowyemu Pragma w Instytucie Psychologii Stosowanej UJ. W celu prowadzenia badań podstawowych z użyciem modeli zwierzęcych zaprojektowałem i zorganizowałem laboratorium w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. W tym celu zdobyłem niezbędne finansowanie (NCN Opus 7 i 15), wynajmowałem pomieszczenia (105 m²), zdobyłem niezbędne pozwolenia (na badania

z użyciem GMO oraz od Lokalnej Komisji Etycznej), a także urządziłem i wyposażylem (zgodnie z przepisami BHP) laboratorium. W ramach laboratorium powstała hodowla szczurów transgenicznych (TH-Cre⁺) oraz pomieszczenia dedykowane do badań elektrochemicznych, immunohistochemicznych oraz badań behawioralnych.

25.05.2018 r. byłem organizatorem sesji tematycznej *Opioid addiction mechanisms* na międzynarodowej konferencji 13th European Opiate Addiction Treatment Association (EUROPAD) w Krakowie.

Ponadto, w ramach pracy w IPS WZiKS UJ, uczestniczyłem w zakupie aparatury do badań psychofizjologicznych, a następnie samodzielnie uruchomiłem aparaturę do badania aktywności elektrodermalnej u ludzi, przeznaczoną do badań w ramach prac magisterskich studentów psychologii.

Uczestniczyłem również w powstaniu nowej specjalności na kierunku psychologia na WZiKS UJ – Neuropsychologia i neurokognitywistyka. W ramach tworzenia nowego kierunku opracowałem sylabusy przedmiotów „Neurobiologiczne podstawy uzależnień” oraz „Neurobiologiczne podstawy psychoterapii”.

6.3. Działalność popularyzatorska

W ramach upowszechniania wiedzy czynnie uczestniczyłem w następujących wydarzeniach:

- 30.09.2014** **Noc Naukowców.** Przeprowadziłem warsztaty adresowane do młodzieży szkolnej pt. „Dlaczego trzymamy się za ręce”;
- 27.05.2017** **17 Festiwal Nauki i Sztuki.** Byłem głównym organizatorem tego wydarzenia z ramienia IPS, WZiKS UJ. Zorganizowałem 2 pokazy dla nastolatków (pokaz 1: Poczuj moc neuronów! Kontroluj swoim mózgiem programy komputerowe. Zajęcia z wykorzystaniem biofeedbacku; pokaz 2. Niech moc będzie z Tobą! Pokaz możliwości interfejsu człowiek-człowiek), 5 warsztatów dla dzieci (warsztat 1: Czy rozmiar mózgu ma znaczenie?; warsztat 2: Zrób sobie mózg – zajęcia plastyczne uczące anatomii ośrodkowego układu nerwowego; warsztat 3: Czy można usłyszeć myśl? Zajęcia z EEG; warsztat 4: Z czego zbudowany jest mózg? Rysowanie/lepienie z plasteliny; warsztat 5: Jak komunikują się neurony? Zajęcia dla miłośników zimnych ognii) oraz jedną wystawę dla dorosłych (wystawa 1: Czy zanieczyszczenie powietrza wpływa na to jak myślimy?);
- 28.09.2018** **Noc Naukowców.** Przeprowadziłem warsztaty adresowane do młodzieży szkolnej pt. „Jak badać mózgowie podstawy zachowania i emocji”;
- 12.05.2018** **Święto Uniwersytetu Jagiellońskiego.** Przeprowadziłem warsztaty adresowane do młodzieży szkolnej i dorosłych pt. „Metody optogenetyczne w badaniach nad mózgowymi podstawami zachowania”;
- 02.06.2019** **Neuropiknik.** Przeprowadziłem warsztaty adresowane do młodzieży szkolnej i dorosłych pt. „Czym jest głód substancji uzależniających i jak zmieniać jego nasilenie wykorzystując neurobiologiczne mechanizmy procesów motywacyjnych”.

W trakcie swojego rozwoju naukowego służyłem i dzieliłem się swoją wiedzą i umiejętnościami ze studentami psychologii stosowanej WZiKS UJ. Od 13 lat prowadzę zajęcia

konwersatoryjne i kursy w Instytucie Psychologii Stosowanej i sprawuję funkcję opiekuna naukowego dla studentów chcących uczestniczyć w pracach badawczych Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja PAN (w sumie 7) oraz koła naukowego Pragma w Instytucie Psychologii Stosowanej WZiKS UJ.

Wykazywałem się humanistyczną postawą, wyrażającą się w zaangażowaniu na rzecz poprawy zdrowia psychicznego mieszkańców Krakowa. W latach 2009-2011 cel ten realizowałem poprzez pracę w Krakowskim Instytucie Psychoterapii (KIP). Praca ta polegała na świadczeniu nieodpłatnej opieki psychologicznej dla potrzebujących rodzin, obejmując przede wszystkim rodziny wykluczone społecznie, w których rodzice to osoby z diagnozą zaburzeń psychicznych, bezrobotne lub mające historię konfliktu z prawem, a ich dzieci są szczególnie zagrożone rozwojem psychopatologii. Moim obszarem oddziaływań było prowadzenie terapii rodzinnej dla zgłaszanych rodzin. Kolejnym sposobem oddziaływania było prowadzenie indywidualnych spotkań terapeutycznych dla młodzieży, jak również prowadzenie terapii grupowej dla szczególnie potrzebujących dzieci, doświadczających przemocy rówieśniczej, odrzucenia społecznego, kłopotów szkolnych i problemów rodzinnych. Bezpośrednim celem takiej działalności był spadek ilości hospitalizacji, wzrost wczesnego wykrywania zaburzeń psychicznych i ich terapii oraz profilaktyka zaburzeń psychicznych.

Moje zainteresowanie psychopatologią, zarówno w wymiarach badawczym i praktycznym, dało mi nie tylko okazję do przyglądania się tym samym zjawiskom z różnych perspektyw, ale umożliwiło budowanie pomostu pomiędzy teorią i praktyką. Taka ustrukturyzowana i trwała postawa może być także ilustracją tego, jak naukowiec może angażować się na potrzeby społeczności lokalnej. Mam nadzieję, że poprzez oddziaływania systemowe (jednostka, grupa, rodzina), przyczyniłem się nie tylko do poprawy jakości życia mieszkańców Krakowa, ale również do budowania społeczeństwa obywatelskiego. Co więcej, moje zaangażowanie w szkolenia pedagogów, pracowników socjalnych, kuratorów i policjantów pomagało kształtować sposób oddziaływań w sferze relacji międzyludzkich i przełamywać bariery we wzajemnej komunikacji, integrując różne środowiska. Moja działalność w tym obszarze została doceniona przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej, gdy zostałem finalistą konkursu im. A. Rojszczaka w 2012 r.

6.4. Nagrody i członkostwo w towarzystwach naukowych

W trakcie swojego rozwoju naukowego po doktoracie otrzymałem 6 następujących nagród i wyróżnień:

2011	European College of Neuropsychopharmacology ECNP Fellowship Award;
2012	Finalista nagrody im. A. Rojszczaka;
2012	Axelrod Travel Award;
2014	Nagroda Rektora zespołowa II stopnia za osiągnięcia naukowe;
2015	Stypendium naukowe dla wybitnego młodego naukowca, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego;
2018	Nagroda Rektora zespołowa I stopnia za osiągnięcia naukowe.

Jestem członkiem Society for Neuroscience oraz Polskiego Towarzystwa Terapii Środowiskowej.

7. Podsumowanie całości dorobku naukowego oraz inne informacje dotyczące kariery zawodowej habilitanta

7.1. Podsumowanie całości dorobku naukowego

Podsumowanie całości dorobku naukowego z podziałem na osiągnięcia przed i po uzyskaniu stopnia doktora zostało przedstawione w tabelach poniżej.

Tabela 2. Zbiorczy wykaz publikacji naukowych habilitanta (stan na 16.04.2020)

Rodzaj publikacji	Przed doktoratem			Po doktoracie		
	Liczba	IF	MNiSW	Liczba	IF	MNiSW
Publikacje oryginalne	8	30.921	167	15	60.445	970 (1720 wg listy z 2019 r.)
Publikacje przeglądowe	-	-	-	2	2.34	34 (104 wg listy z 2019 r.)
Rozdział w pracy zbiorowej	-	-	-	1	-	75
Razem	8	30.921	167	18	62.785	1079 (1899 wg listy z 2019 r.)
Sumaryczny IF wszystkich opublikowanych prac						93.709
Sumaryczna punktacja MNiSW wszystkich opublikowanych prac						1246
Całkowita liczba cytowań wg bazy JCR Web of Science						408
Całkowita liczba cytowań z wył. autocytowań wg bazy JCR Web of Science						366
h-index						11

Tabela 3. Zbiorczy wykaz innych osiągnięć naukowych habilitanta (stan na 16.04.2020)

Rodzaj osiągnięcia	Liczba przed doktoratem	Liczba po doktoracie
Streszczenia w materiałach pokonferencyjnych	14	30
Wykłady naukowe wygłoszone poza IPS WZiKS UJ i IF PAN	5	8
Udział w projektach grantowych	2	7
Nagrody i wyróżnienia	5	6

Tabela 4. Wykaz dodatkowych publikacji niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego habilitanta, opublikowanych po doktoracie, wraz ze wskaźnikami bibliometrycznymi z roku opublikowania pracy i opisem wkładu habilitanta

L.p.	Publikacja (autorzy, tytuł, czasopismo)	IF	MNiSW	Wkład habilitanta
	Szklarczyk K, Korostynski M, Golda S, Solecki W , Przewlocki R.			Ustawiłem metodę behawioralną – warunkowanie strachu u myszy oraz wyszkoliłem K. Szklarczyk w tej

1	<p>Genotype- dependent consequences of traumatic stress in four inbred mouse strains.</p> <p>Genes Brain Behav. 2012; 11(8):977-85. doi: 10.1111/j.1601-183X.2012.00850.x.</p>	3.16	35 (100 wg listy z 2019 r.)	<p>metodzie, jak i innych metodach behawioralnych użytych w tej pracy. Współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 10%.</u></p>
2	<p>Parkitna JR, Solecki W, Gołombiowska K, Tokarski K, Kubik J, Gołda S, Novak M, Parlato R, Hess G, Sprengel R, Przewłocki R.</p> <p>Glutamate input to noradrenergic neurons plays an essential role in the development of morphine dependence and psychomotor sensitization.</p> <p>Int J Neuropsychopharmacol. 2012; 15(10):1457-71. doi: 10.1017/S1461145711001568.</p>	4.2	40 (140 wg listy z 2019 r.)	<p>Zaprojektowałem, wykonałem i zanalizowałem wszystkie eksperymenty behawioralne (Fig. 2, 5 i 6), stworzyłem ryciny 2, 5 i 6, napisałem sekcje metod i rezultatów dot. badań behawioralnych oraz współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład szacuję na 30%.</u></p>
3	<p>Wickham RJ, Solecki W, Rathbun LR, Neugebauer NM, Wightman RM, Addy NA.</p> <p>Advances in studying phasic dopamine signaling in brain reward mechanisms.</p> <p>Front Biosci (Elite Ed). 2013; 5:982-99. doi: 10.2741/e678. PMID: 23747914.</p>	2.34	30 (100 listy z wg.2019 r.)	<p>Samodzielnie napisałem sekcję „The role of <i>in vivo</i> DA signaling: recent findings” i współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 40%.</u></p>
4	<p>Wickham R, Solecki W, Rathbun L, McIntosh JM, Addy NA.</p> <p>Ventral tegmental area $\alpha\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors modulate phasic dopamine release in the nucleus accumbens core.</p> <p>Psychopharmacology (Berl). 2013; 229(1):73-82. doi: 10.1007/s00213-013-3082-0.</p>	3.42	35 (100 wg listy z 2019 r.)	<p>Uczestniczyłem w projektowaniu doświadczeń i wykonaniu części doświadczeń FSCV oraz współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 25%.</u></p>
5	<p>Gralec K, Kuś N, Solecki W.</p> <p>Optogenetic methods in the service of neuroscience and medicine.</p> <p>Ból 2014; 15(1): str. 36-45.</p>	-	4	<p>Byłem jedynym pomysłodawcą oraz samodzielnie zaprojektowałem manuskrypt. Wyszkoliłem współautorów do zbierania materiałów i pisania pracy przeglądowej. Opracowałem i przygotowałem w finalnej wersji wszystkie ryciny. Opracowałem finalną wersję manuskryptu. Koordynowałem pracę zespołu autorów oraz jestem autorem korespondencyjnym tej pracy.</p>

				<u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 50%.</u>
6	<p>Wickham R, Solecki W, Nunes E, Addy N.</p> <p>Distinct effects of ventral tegmental area NMDA and acetylcholine receptor blockade on conditioned reinforcement produced by food-associated cues.</p> <p>Neuroscience. 2015; 301:384-94. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.021.</p>	3.24	25 (100 wg listy z 2019 r.)	<p>Byłem współpomysłodawcą badań, które zaprojektowałem wraz z R. Wickhamem. Wykonałem połowę operacji i część eksperymentów behawioralnych. Uczestniczyłem w analizie danych i współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 25%.</u></p>
7	<p>Ziółkowska B, Gieryk A, Solecki W, Przewłocki R.</p> <p>Temporal and anatomic patterns of immediate-early gene expression in the forebrain of C57BL/6 and DBA/2 mice after morphine administration.</p> <p>Neuroscience. 2015; 284:107-24. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.069.</p>	3.24	25 (100 wg listy z 2019 r.)	<p>Przeprowadziłem badania behawioralne i współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład w powstanie pracy oceniam na 10%.</u></p>
8	<p>Trinko J, Land B, Solecki WB, Wickham R, Tellez L, Maldonado-Aviles J, de Araujo I, Addy N, DiLeone R.</p> <p>Vitamin D3: a role in dopamine circuit regulation, diet-induced obesity, and drug consumption.</p> <p>eNeuro. 2016 19;3(2):ENEURO.0122-15.2016. doi: 10.1523/ENEURO.0122-15.2016.</p>	3.46	-	<p>Zaprojektowałem, wykonałem i zanalizowałem wszystkie eksperymenty z użyciem FSCV (Fig. 5B-E), stworzyłem rycinę 5 oraz współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład szacuję na 10%.</u></p>
9	<p>Kudła L, Bugno R, Skupio U, Wiktorowska L, Solecki W, Wojtas A, Golembiowska K, Zádor F, Benyhe S, Buda S, Makuch W, Przewłocka B, Bojarski AJ, Przewłocki R.</p> <p>Functional characterization of a novel opioid, PZM21, and its effects on the behavioural responses to morphine.</p> <p>Br J Pharmacol. 2019; 176(23):4434-4445. doi: 10.1111/bph.14805.</p>	6.58	140	<p>Zaprojektowałem, wykonałem i zanalizowałem eksperyment dotyczący samopodawania dożylnego PZM21 (Fig. 3), stworzyłem rycinę 3, napisałem sekcje metod i rezultatów dot. samopodawania dożylnego PZM21 oraz współredagowałem manuskrypt.</p> <p><u>Swój wkład szacuję na 15%</u></p>
		30.14	334 (784 wg listy z 2019 r.)	

7.2. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej habilitanta

Wykształcenie uzupełniające:

- 2002 - 2004 Studium Socjoterapii i Psychoterapii Młodzieży w Krakowskim Centrum Psychodynamicznym;
- 2004 - 2008 Szkoła Psychoterapii Psychodynamicznej w Krakowskim Centrum Psychodynamicznym: specjalistyczne, 4-letnie podyplomowe szkolenie rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Psychologiczne i Polskie Towarzystwo Psychoterapii Psychodynamicznej, przygotowujące do certyfikatu psychoterapeuty; tytuł zawodowy: Terapeuta środowiskowy (2011).

Dodatkowe zatrudnienie:

- 2004 - 2011 Instytut Psychologii Stosowanej, Wydział Zarządzania i Komunikacji Społecznej, Uniwersytet Jagielloński, wykładowca;
- 2004 - 2006 Ośrodek Profilaktyki i Terapii Rodzin Stowarzyszenia „Dobra Nadzieja” w Krakowie, psycholog, terapeuta;
- 2006 - 2011 Krakowski Instytut Psychoterapii stowarzyszenia „Siemacha” w Krakowie, psycholog, terapeuta.