

Mgr Karolina Noworyta-Sokołowska

Promotor: Prof. dr hab. Krystyna Gołębiewska

Tytuł: *Zmiany neurotoksyczne w mózgu dorosłych szczurów powstałe w wyniku ekspozycji zwierząt w okresie dojrzewania na 5-metoksy-N,N-diizopropylotryptaminę (5-MeO-DIPT)*

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM:

Powszechnym problemem współczesnego świata jest rosnące spożycie Nowych Substancji Psychoaktywnych (NSP) popularnie nazywanych dopalaczami. Alarmującym jest także fakt, iż po te substancje sięgają najczęściej osoby w okresie dojrzewania. Przypuszcza się, że spożycie NSP w tym okresie może znacząco wpływać na rozwój i funkcjonowanie w społeczeństwie dorastających ludzi. Niepokojąca jest też rosnąca w sposób niekontrolowany ilość nowych substancji pojawiających się corocznie na tzw. „rynku dopalaczy”. Syntetyczne tryptaminy są jedną z najmniej poznanych grup NSP. Obok fenyletyloamin należą do grupy substancji halucynogennych.

Najpopularniejszą syntetyczną tryptaminą wśród osób przyjmujących substancje psychoaktywne jest 5-metoksy-N,N-diizopropylotryptamina (5-MeO-DIPT). Wynika to z faktu, że 5-MeO-DIPT na dzień dzisiejszy jest zaklasyfikowany jako substancja kontrolowana w Stanach Zjednoczonych. Natomiast, w Europie brak jest regulacji prawnych dotyczących 5-MeO-DIPT. W badaniach *in vitro* wykazano, że 5-MeO-DIPT jest agonistą receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C}. Ponadto, jest inhibitorem transportera serotoninowego SERT, jednak nie wykazuje zdolności do odwracania jego funkcji. Pomimo wysokiej popularności 5-MeO-DIPT wśród użytkowników wciąż niewiele wiadomo o toksycznym działaniu tej substancji. Toksycznymi efektami spożycia 5-MeO-DIPT są: splątanie, wymioty, tachykardia, hipertensja, drżenie i napady padaczkowe. Udokumentowano, że ekspozycja na 5-MeO-DIPT może prowadzić do długotrwałych zmian w organizmie takich jak posthalucynogenne zaburzenia

postrzegania czy przedłużone urojenia odnotowane u byłych użytkowników 5-MeO-DIPT.

Uważa się, że ekspozycja na ksenobiotyki, w tym NSP w okresie dojrzewania może mieć istotne znaczenie dla rozwoju organizmu. Zmiany zachowania charakterystyczne dla okresu dojrzewania są podobne międzygatunkowo i uważa się, że mają wartość adaptacyjną. Zachowanie nakierowane na poszukiwanie nowości, typowe dla okresu dojrzewania jest silnym predyktorem używania narkotyków lub alkoholu. Udokumentowano, że wrażliwość na substancje psychoaktywne i związki psychotropowe różni się między dojrzewającymi a dorosłymi ludźmi. Bez wątplenia ma to znaczne konsekwencje dla osobników dojrzewających. Przykładowo, zmniejszona wrażliwość na substancje uzależniające, w tym NSP, może sprzyjać ich częstszemu przyjmowaniu.

Celem Rozprawy Doktorskiej było określenie wpływu 5-MeO-DIPT na neuroprzebieżność mózgową oraz potencjalnego neurotoksycznego działania w mózgu szczura. Przeprowadzone doświadczenia podzielono na dwie części. W pierwszej badano efekty jednorazowych podań 5-MeO-DIPT na uwalnianie neuroprzebieżników i zachowanie zwierząt. W drugiej części dojrzewającym szczurom podawano 5-MeO-DIPT wielokrotnie w okresie pomiędzy 30 a 40 PND. Następnie oceniano efekty tej substancji na uwalnianie neuroprzebieżników i neurotoksyczność u dorosłych zwierząt (w 90 PND).

Jednorazowe podania 5-MeO-DIPT zwiększały zewnątrzkomórkowy poziom DA, 5-HT i glutaminianu oraz hamowały syntezę DA i metabolizm 5-HT. Po podaniu dawek wielokrotnych 5-MeO-DIPT w okresie dojrzewania odpowiedź na dawkę przypominającą u dorosłych osobników była zróżnicowana, zależna od struktury i neuroprzebieżnika. Obserwowano zwiększoną reakcję układu glutaminianergicznego na dawkę przypominającą 5-MeO-DIPT w STR. Natomiast odpowiedź neuronów DA w STR i FCx była osłabiona w porównaniu do zwierząt przyjmujących fizjologiczny roztwór soli. Zewnątrzkomórkowy poziom DA i 5-HT był obniżony w STR i NAc, a poziom glutaminianu był zwiększony w NAc i FCx. Ekspozycja na wielokrotne dawki 5-MeO-DIPT w okresie dojrzewania wywołała zmiany adaptacyjne na poziomie receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} u zwierząt dorosłych. Obserwowano spadek ekspresji mRNA genów dla receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}

Zarówno jednorazowe jak i wielokrotne podania 5-MeO-DIPT wywoływały stres oksydacyjny skutkujący uszkodzeniem DNA w FCx. Dodatkowo, wielokrotne podania 5-MeO-DIPT zwiększały aktywność kaspazy-3 oraz ekspresję mRNA genów dla enzymów antyoksydacyjnych Gpx3 i Sod1.

Jednorazowe dawki 5-MeO-DIPT wywoływały zmiany w zachowaniu charakterystyczne dla aktywacji receptorów serotoniny 5-HT_{2A} oraz 5-HT_{1A} takie jak potrząsanie głową (tzw. „wet dog shakes”) sugerujące efekt halucynogeny oraz przebieranie przednimi łapami (tzw. „playing piano”). Wielokrotne podania 5-MeO-DIPT osłabiały aktywność eksploracyjną zwierząt w wolnym polu oraz zaburzały zdolność uczenia się w teście powtarzalnych wzorców.

Podsumowując, 5-MeO-DIPT wpływał na funkcje neuronów dopaminergicznych, serotonergicznych i glutaminianergicznych za pośrednictwem receptorów serotoniny 5-HT_{2A} i 5-HT_{1A}. Obserwowane zmiany w uwalnianiu DA, 5-HT i glutaminianu oraz zaburzenie zdolności uczenia się sugerują trwałe zmiany w mózgu pod wpływem 5-MeO-DIPT.

STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM:

Uncontrollable abuse of the New Psychoactive Substances (NPS) by adolescents and constantly increasing number of NPS is one of the biggest issue in the world. It was suggested that, exposure to the NPS during adolescence may influence brain development and result in long-term adverse effects in the adult life. One of the most not examined but frequently used group of hallucinogenic NPS are tryptamines.

The most commonly used tryptamine is 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT). Importantly, 5-MeO-DIPT use is controlled in the United States but not in the entire Europe. Despite high popularity of 5-MeO-DIPT among adolescents there was only few studies concerning its mechanism of action and toxicity. It was shown that 5-MeO-DIPT is a serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor agonist and a serotonin transporter (SERT) inhibitor. Moreover, high concentrations of 5-MeO-DIPT produced a cytotoxicity measured by viability of COS-7 cells. Clinical data indicated several adverse effects after 5-MeO-DIPT use such as vomiting, tachycardia, hypertension, myoclonus and restlessness. Additionally, it was documented that exposure to 5-MeO-DIPT may lead to long term effects including the posthallucinogen perception disorder and prolonged delusional state.

It was speculated that exposure to the NPS during adolescence may have potent influence on organism, including brain development. Behavioral changes characteristic for adolescents such as novelty seeking may lead to higher risk of the drugs of abuse and alcohol use. Importantly, several studies showed greater addictive potential of the drugs of abuse in adolescent animals as compared to adults. Moreover, decreased sensitivity to the drugs of abuse may contribute to their greater use by adolescent individuals.

The aim of this dissertation was to examine the effects of 5-MeO-DIPT on the brain neurotransmission and its potential neurotoxic properties in the rat brain. In the first part of the study effects of single 5-MeO-DIPT administration on the neurotransmission and rat's behavior was investigated. In the second part, effects of the repeated-intermittent administration of 5-MeO-DIPT during adolescence (30 – 40 PND) on the neurotransmitters release and neurotoxicity in the adult rats (90 PND) was assessed.

Administration of single doses of 5-MeO-DIPT increased extracellular levels of DA,

5-HT, and glutamate in the rat STR, NAc and FCx. However, response to the challenge dose of 5-MeO-DIPT in adult animal receiving 5-MeO-DIPT during adolescence differed depending on the brain structure and neurotransmitter. Increased response in the glutamatergic neurotransmission was observed in the STR after challenge dose of 5-MeO-DIPT. In contrary, attenuated response of dopaminergic neurons was demonstrated in the STR and FCx, in comparison to control animals. The basal extracellular level of DA and 5-HT decreased in the STR and NAc. Additionally, enhanced basal extracellular level of glutamate in the NAc and FCx was observed. Repeated-intermittent administration of 5-MeO-DIPT during adolescence resulted in adaptatory changes in the serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors observed in adult animals. Decreased mRNA expression of genes for abovementioned serotonin receptors was observed.

Single as well as repeated-intermittent administration of 5-MeO-DIPT resulted in the oxidative stress which produced frontocortical DNA damage. Moreover, repeated-intermittent administration of 5-MeO-DIPT during adolescence resulted in increased caspase-3 activity and increased antioxidative enzymes (Gpx3 and Sod1) mRNA expression.

Single 5-MeO-DIPT administration indicated behaviors characteristic for the serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors activation such as the wet dog shakes and playing piano episodes. Repeated-intermittent administration of 5-MeO-DIPT during adolescence attenuated exploratory activity in the open field test and impaired learning in the serial pattern learning test.

In summary, 5-MeO-DIPT administration altered function of dopaminergic, serotonergic and glutamatergic neurons function via serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors activation. Changes observed in the DA, 5-HT and glutamate release as well as impaired learning indicate long-term effects after 5-MeO-DIPT administration.