

Raport z Umowy NR 72/H/E/13: Badania przydatności ligandów metabotropowych receptorów glutaminianergicznych w hamowaniu zachowań przypominających hazard w zwierzęcym modelu patologicznego hazardu.

Pełna nazwa organizacji: Instytut Farmakologii PAN, Zakład Badań Nowych Leków

Adres i telefon organizacji:

ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

tel: (+4812) 662-32-20 or 637-40-22

Bezpośredni wykonawca zadania:

Instytut Farmakologii PAN, Zakład Badań Nowych Leków

Adres i telefon bezpośredniego wykonawcy zadania:

ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

Tel: (+48 12) 66 23 375

Imię i nazwisko koordynatora programu, telefon kontaktowy oraz e-mail:

Prof. dr hab. Piotr Popik

popikp@if-pan.krakow.pl

a) pełny wykaz źródeł publikacji wykorzystany przy realizacji projektu wraz z wykazem baz danych bibliograficznych i ich krótkim omówieniem

Anderson JJ, Bradbury MJ, Giracello DR, Chapman DF, Holtz G, Roppe J, King C, Cosford ND, Varney MA (2003). *In vivo* receptor occupancy of mGlu5 receptor antagonists using the novel radioligand [3H]3-methoxy-5-(pyridin-2-ylethynyl)pyridine). *Eur J Pharmacol* 473: 35-40.

Baptista MA, Martin-Fardon R, Weiss F (2004). Preferential effects of the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 on conditioned reinstatement versus primary reinforcement: comparison between cocaine and a potent conventional reinforcer. *J Neurosci* 24: 4723-4727.

Bisaga A, Comer SD, Ward A, Popik P, Kleber HD, Fischman MW (2001). The NMDA antagonist memantine attenuates the expression of opioid physical dependence in humans. *Psychopharmacology* 157: 1-10.

Bisaga A, Danysz W, Foltin RW (2008). Antagonism of glutamatergic NMDA and mGluR5 receptors decreases consumption of food in baboon model of binge-eating disorder. *Eur Neuropsychopharmacol* 18: 794-802.

Brennan BP, Roberts JL, Fogarty KV, Reynolds KA, Jonas JM, Hudson JI (2008). Memantine in the treatment of binge eating disorder: an open-label, prospective trial. *Int J Eat Disord* 41: 520-526.

Cardinal R, Aitken MRF (2006). *ANOVA for the behavioural sciences researcher*. Lawrence Erlbaum Associates: London.

Chiamulera C, Epping-Jordan MP, Zocchi A, Marcon C, Cottiny C, Tacconi S, Corsi M, Orzi F, Conquet F (2001). Reinforcing and locomotor stimulant effects of cocaine are absent in mGluR5 null mutant mice. *Nat Neurosci* 4: 873-874.

Clark L (2010). Decision-making during gambling: an integration of cognitive and psychobiological approaches. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365: 319-330.

Cocker PJ, Le FB, Rogers RD, Winstanley CA (2014). A selective role for dopamine D(4) receptors in modulating reward expectancy in a rodent slot machine task. *Biol Psychiatry* 75: 817-824.

Cocker PJ, Winstanley CA (2015). *Irrational beliefs, biases and gambling: Exploring the role*

of animal models in elucidating vulnerabilities for the development of pathological gambling. Behav Brain Res 279: 259-273.

Dakwar E, Levin F, Foltin RW, Nunes EV, Hart CL (2014). The effects of subanesthetic ketamine infusions on motivation to quit and cue-induced craving in cocaine-dependent research volunteers. Biol Psychiatry 76: 40-46.

de Castro V, Fong T, Rosenthal RJ, Tavares H (2007). A comparison of craving and emotional states between pathological gamblers and alcoholics. Addict Behav 32: 1555-1564.

Grant JE, Chamberlain SR, Odlaug BL, Potenza MN, Kim SW (2010a). Memantine shows promise in reducing gambling severity and cognitive inflexibility in pathological gambling: a pilot study. Psychopharmacology 212: 603-612.

Grant JE, Kim SW, Odlaug BL (2007). N-acetyl cysteine, a glutamate-modulating agent, in the treatment of pathological gambling: a pilot study. Biol Psychiatry 62: 652-657.

Grant JE, Potenza MN, Weinstein A, Gorelick DA (2010b). Introduction to behavioral addictions. Am J Drug Alcohol Abuse 36: 233-241.

Griffiths M (1996). Pathological gambling: a review of the literature. J Psychiatr Ment Health Nurs 3: 347-353.

Henry SA, Lehmann-Masten V, Gasparini F, Geyer MA, Markou A (2002). The mGluR5 antagonist MPEP, but not the mGluR2/3 agonist LY314582, augments PCP effects on prepulse inhibition and locomotor activity. Neuropharmacology 43: 1199-1209.

Higgins GA, Enderlin M, Haman M, Fletcher PJ (2003). The 5-HT_{2A} receptor antagonist M100,907 attenuates motor and 'impulsive-type' behaviours produced by NMDA receptor antagonism. Psychopharmacology 170: 309-319.

Lee B, Platt DM, Rowlett JK, Adewale AS, Spealman RD (2005). Attenuation of behavioral effects of cocaine by the Metabotropic Glutamate Receptor 5 Antagonist 2-Methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine in squirrel monkeys: comparison with dizocilpine. J Pharmacol Exp Ther 312: 1232-1240.

Lesieur HR, Rosenthal RJ (1991). Pathological gambling: A review of the literature (prepared for the American Psychiatric Association task force on DSM-IV committee on disorders of impulse control not elsewhere classified). J Gambl Stud 7: 5-39.

Li X, Need AB, Baez M, Witkin JM (2006). Metabotropic glutamate 5 receptor antagonism is

associated with antidepressant-like effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 319: 254-259.

Liu F, Grauer S, Kelley C, Navarra R, Graf R, Zhang G, Atkinson PJ, Popielek M, Wantuch C, Khawaja X, Smith D, Olsen M, Kouranova E, Lai M, Pruthi F, Pulicicchio C, Day M, Gilbert A, Pausch MH, Brandon NJ, Beyer CE, Comery TA, Logue S, Rosenzweig-Lipson S, Marquis KL (2008). ADX47273 [S-(4-fluoro-phenyl)-{3-[3-(4-fluoro-phenyl)-[1,2,4]-oxadiazol-5-yl]-piperidin-1-yl}-methanone]: a novel metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulator with preclinical antipsychotic-like and procognitive activities. *J Pharmacol Exp Ther* 327: 827-839.

McGeehan AJ, Janak PH, Olive MF (2004). Effect of the mGluR5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine (MPEP) on the acute locomotor stimulant properties of cocaine, D-amphetamine, and the dopamine reuptake inhibitor GBR12909 in mice. *Psychopharmacology* 174: 266-273.

Moghaddam B, Adams BW (1998). Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 281: 1349-1352.

Olive MF, Cleva RM, Kalivas PW, Malcolm RJ (2012). Glutamatergic medications for the treatment of drug and behavioral addictions. *Pharmacol Biochem Behav* 100: 801-810.

Parkitna JR, Sikora M, Golda S, Golembiowska K, Bystrowska B, Engblom D, Bilbao A, Przewlocki R (2013). Novelty-seeking behaviors and the escalation of alcohol drinking after abstinence in mice are controlled by metabotropic glutamate receptor 5 on neurons expressing dopamine D1 receptors. *Biol Psychiatry* 73: 263-270.

Parsons CG, Danysz W, Quack G (1999). Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist - a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 38: 735-767.

Popik P, Kos T, Zhang Y, Bisaga A (2011). Memantine reduces consumption of highly palatable food in a rat model of binge eating. *Amino Acids* 40: 477-485.

Popik P, Kozela E, Pilc A (2000). Selective agonist of group II glutamate metabotropic receptors, LY354740, inhibits tolerance to analgesic effects of morphine in mice. *Brit J Pharmacol* 130: 1425-1431.

Popik P, Skolnick P (1996). The NMDA antagonist memantine blocks the expression and maintenance of morphine dependence. *Pharmacol Biochem Behav* 53: 791-798.

Popik P, Wrobel M (2002). Morphine conditioned reward is inhibited by MPEP, the mGluR5

antagonist. *Neuropharmacology* 43: 1210-1217.

Popik P, Wrobel M, Bisaga A (2006). Reinstatement of morphine conditioned reward is blocked by memantine. *Neuropsychopharmacology* 31: 160-170.

Potenza MN (2008). Review. The neurobiology of pathological gambling and drug addiction: an overview and new findings. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363: 3181-3189.

Potenza MN (2009). The importance of animal models of decision making, gambling, and related behaviors: implications for translational research in addiction. *Neuropsychopharmacology* 34: 2623-2624.

Quarta D, Naylor CG, Morris HV, Patel S, Genn RF, Stolerman IP (2007). Different effects of ionotropic and metabotropic glutamate receptor antagonists on attention and the attentional properties of nicotine. *Neuropharmacology* 53: 421-430.

Reid RL (1986). The psychology of the near miss. *Journal of Gambling Behavior* 2: 32-39.

Robinson TE, Berridge KC (2001). Incentive-sensitization and addiction. *Addiction* 96: 103-114.

Schoepp DD, Wright RA, Levine LR, Gaydos B, Potter WZ (2003). LY354740, an mGlu2/3 receptor agonist as a novel approach to treat anxiety/stress. *Stress* 6: 189-197.

Semenova S, Markou A (2007). The effects of the mGluR5 antagonist MPEP and the mGluR2/3 antagonist LY341495 on rats' performance in the 5-choice serial reaction time task. *Neuropharmacology* 52: 863-872.

Spooren WP, Vassout A, Neijt HC, Kuhn R, Gasparini F, Roux S, Porsolt RD, Gentsch C (2000). Anxiolytic-like effects of the prototypical metabotropic glutamate receptor 5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)pyridine in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 1267-1275.

Tatarczynska E, Klodzinska A, Chojnacka-Wojcik E, Palucha A, Gasparini F, Kuhn R, Pilc A (2001). Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of MPEP, a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist. *Brit J Pharmacol* 132: 1423-1430.

Tomek SE, LaCrosse AL, Nemirovsky NE, Olive MF (2013). NMDA receptor modulators in the treatment of drug addiction. *Pharmaceuticals* 6: 251-268.

van Holst RJ, van den Brink W, Veltman DJ, Goudriaan AE (2010). Why gamblers fail to win: a review of cognitive and neuroimaging findings in pathological gambling. *Neurosci Biobehav*

Rev 34: 87-107.

Volkow ND, Skolnick P (2012). New medications for substance use disorders: challenges and opportunities. Neuropsychopharmacology 37: 290-292.

Winstanley CA (2011). The utility of rat models of impulsivity in developing pharmacotherapies for impulse control disorders. Br J Pharmacol 164: 1301-1321.

Winstanley CA, Cocker PJ, Rogers RD (2011). Dopamine modulates reward expectancy during performance of a slot machine task in rats: evidence for a 'near-miss' effect. Neuropsychopharmacology 36: 913-925.

Wykorzystano bazę PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> zawierającą ponad 24 miliony cytacji literatury biomedycznej

b) opis założeń i metodologii badania

Uzależnienia lekowe stanowią istotny problem medyczny związany z destruktywną naturą tego zjawiska. Długotrwałe przyjmowanie substancji uzależniających wiedzie do nieprzepracowanej chęci ich pozyskiwania i przyjmowania oraz do utraty kontroli nad zachowaniem. Owa utrata kontroli nad zachowaniem stanowi także objaw osiowy zachowań hazardowych: według Potenza (2008), przez hazard należy rozumieć ryzykowanie utraty czegoś istotnego, w nadziei na uzyskanie czegoś o większej wartości.

Niektórzy hazardziści wykazują patologiczną formę zachowania (hazard patologiczny), polegający na niekontrolowanym zachowaniu hazardowym co wiedzie do dewastujących psychologicznie i ekonomicznie konsekwencji: utraty pracy, bankructwa, zniszczenia więzi rodzinnych i społecznych itp. (Lesieur and Rosenthal 1991; Griffiths 1996). Patologiczny hazard został ostatnio (DSM-5) zakwalifikowany do uzależnień behawioralnych z powodu funkcjonalnych podobieństw do uzależnień narkotykowych, takich jak niepohamowane pożądanie, odstawienie i tolerancja (van Holst et al. 2010; Potenza 2009). W obu rodzajach uzależnień biorą udział podobne systemy neuroprzekaźnikowe: serotonina, opioidy i glutaminian: dotyczy to narkotyków (Volkow and Skolnick 2012) i hazardu (Clark 2010); przeglądówka Grant et al. (2010b).

Obecnie stosowana farmakoterapia uzależnień narkotykowych jest niesatysfakcjonująca (Volkow and Skolnick 2012), jednak do leczenia patologicznego hazardu jak dotąd nie zaproponowano jakiegokolwiek podejścia farmakologicznego. Wynika to po części z braku modelu do badania hazardu u zwierząt. Niedawno Winstanley et al. (2011) zaproponowali model szczurzego jednorękiego bandyty (Cocker and Winstanley 2015) do badania reakcji „prawie wygranej” (ang. „*near miss*”). W modelu „jednorękiego bandyty” bada się reakcję szczurów na serię zaświecania 3 lampek. Zapalenie wszystkich 3 lampek jest sygnałem pewnej wygranej, zapalenie dwóch z trzech lampek „prawie wygranej” a jednej lampki lub żadnej – pewnej przegranej. Pod koniec każdej prezentacji wzoru zaświecenia lampek, zwierzę wybiera, czy nacisnąć na dźwignię „odbieram nagrodę”, co skutkuje nagrodą pokarmową gdy dana próba byłaby wygrana, lecz karą, gdy próba byłaby przegrana. Co ciekawe, zwierzęta zazwyczaj interpretują zarówno zapalenie 3 jak i jedynie 2 lampek, jako wygraną, co sugeruje nasilone przekonanie o spodziewanej nagrodzie nawet gdy w dana próba oznacza jedynie „prawie-wygraną”. Uważa się, że bodziec sygnalizujący „prawie-wygraną” (lub: nie do końca przegrana (*near miss*)) może sugerować bezpośrednią wygraną oraz nasilać przekonanie o spodziewanej nagrodzie, co stymuluje dalszą grę (Clark 2010). Odpowiedzi „prawie wygranej” zwiększają pragnienie dalszej gry poprzez podobieństwo do wygranej (Reid 1986).

W przeprowadzonych badaniach zastosowano model jednorękiego bandyty do zbadania efektów funkcjonalnych antagonistów jonotropowych i metabotropowych receptorów glutaminianergicznym, ponieważ uzależnienia narkotykowe znajdują się pod kontrolą układu glutaminianergicznego (Olive et al. 2012; Tomek et al. 2013).

c) skonstruowane narzędzia badawcze wraz ze szczegółowym opisem

Do badań wykorzystano 20 szczurów szczepu Sprague-Dawley (o wadze 200-250g). Tydzień przed rozpoczęciem treningów szczury zostały pozbawione stałego dostępu do paszy, przechodząc na żywienie limitowane – dzienna dawka paszy ok. 15g/szczura. W tym czasie zwierzęta były też oswajane dwa razy dziennie przez eksperymentatorów. Treningi przeprowadzane były w 4 odpowiednio skonfigurowanych aparatach instrumentalnych (Coulbourn Instruments, USA) umieszczonych w dźwiękoszczelnych i wentylowanych szafkach. Lewa strona aparatu instrumentalnego zbudowana jest z 5-otworowej ściany (5 nosepoke) – każdy otwór wyposażony jest w fotokomórkę oraz żarówki LED-owe. W teście biorą udział 3 środkowe otwory (2,3,4), dwa skrajne (1,5) zakryte są aluminiowymi płytkami. Na prawej ścianie aparatu znajdują się dwie (lewa i prawa) wysuwalne dźwignie, pomiędzy którymi umieszczony jest podajnik peletek pokarmowych (nagroda w teście). Nad podajnikiem pokarmu znajduje się głośnik podłączony do generatora tonów, a w otworze sufitu umieszczone jest światło domowe (*House Light – HL*). Aparaty instrumentalne programowane są i ich praca sterowana jest w programie Graphic State 3.03 (Coulbourn Instruments, USA).

Dzień przed rozpoczęciem doświadczenia, do domowych klatek szczurów wrzucono 50-60 peletek będących nagrodą w teście, w celu zaznajomienia szczurów z nowym pokarmem (Dustless Precision Pellets 45mg, Bio Serv). Przed rozpoczęciem treningów instrumentalnych przez dwa dni habituowano szczury do aparatów – umieszczano każdego szczura na 30 minut w oświetlonej klatce, z wsypanymi peletkami do podajnika pokarmu oraz do otworków na ścianie po przeciwnej stronie.

Po odpowiednim przygotowaniu klatek i szczurów do pracy, wykonywano kolejno następujące fazy treningu, wg procedury Winstanley et al. (2011).

Faza 1: Sesja treningowa trwała maksymalnie 30 minut, raz dziennie dla każdego szczura. W treningu podstawowym szczury trenowane były na naciskanie jednej dźwigni w schemacie FR1 (fixed ratio1 – jedno naciśnięcie dźwigni – jedna peletka nagrody). Tylko jedna dźwignia

była wysunięta w trakcie sesji. Po spełnieniu kryterium >50 aktywnych naciśnień na jedną dźwignię (premiowanych nagrodą) wysuwała się druga dźwignia (przy jednoczesnym wsunięciu pierwszej) i trening był powtarzany. Kolejność rozpoczynania treningu od dźwigni prawej bądź lewej była losowa dla poszczególnych szczurów i zbalansowana (50% szczurów rozpoczynało trening od lewej dźwigni, 50% od prawej). Większość szczurów spełniła założone kryteria po 8 dniach treningu, po czym przeszła do kolejnej fazy. Dwa szczury nie przeszły pierwszego treningu i zostały wyeliminowane z eksperymentu.

Faza 2: Na początku każdej próby szczur musiał nacisnąć lewą dźwignię – „odbieram nagrodę” *roll lever* (jedyna w tej fazie treningu wysunięta do klatki dźwignia). Naciśnięcie dźwigni powodowało jej wsunięcie oraz mruganie żarówki w otworze 2 (nosepoke 2) z częstotliwością 2Hz. Wsunięcie przez szczura nosa do mrugającego otworu skutkowało przejściem z mrugania żarówki do światła stałego przy równoczesnej emisji tonu 'nagradzającego' (o częstotliwość 15kHz, natężeniu 68dB i czasie trwania 1s, będącym dodatkową, prócz świecącego światłem stałym otworu wskazówką skojarzoną z nagrodą) oraz dostarczeniem do podajnika pokarmu jednej nagradzającej peletki. Po 4 sekundach (w trakcie, których szczur ma czas na zjedzenie peletki) lewa dźwignia wysuwa się ponownie umożliwiając rozpoczęcie kolejnej próby. Szczury przechodziły do następnej fazy treningu po spełnieniu kryterium >50 prób w czasie maks. 30 minut, co zajęło szczurom 4 dni.

Faza 3: Sesja rozpoczynała się podobnie jak poprzednio. Szczur naciskał dźwignię lewą „gram dalej” (*roll lever*) co powodowało mruganie żarówki (2Hz) w otworze 2 (i wsunięcie się dźwigni lewej). Po wsunięciu nosa do ww. otworu żarówka albo przechodziła do świecenia światłem stałym albo gasła (prawdopodobieństwo 50:50). Przejście mrugania do świecenia światłem stałym z towarzyszącą 1-sekundową emisją tonu wysokiego (15kHz) oznaczało 'próbę wygrywającą' (*'WIN TRIAL'*), przejście mrugania do wygaszenia żarówki z towarzyszącą 1-sekundową emisją tonu niskiego (4kHz) oznaczało 'próbę przegrywającą' (*'LOSS TRIAL'*). W obu próbach po emisji tonu wysuwa się prawa dźwignia „odbieram nagrodę”. Aby zakończyć próbę szczur w obu przypadkach musiał nacisnąć wysuniętą dźwignię, co oprócz wsunięcia naciśniętej dźwigni skutkowało w dwójnasób: w przypadku prób wygrywających szczur otrzymywał dwie peletki nagrody, w przypadku prób przegrywających szczur otrzymywał karę w postaci 10 sekund wygaszenia klatki (*time-out*). Tak po zjedzeniu nagrody jak i po 10 sekundach wygaszenia (kary) do klatki wysuwała się dźwignia lewa „gram dalej” umożliwiając rozpoczęcie kolejnej próby. Szczury przechodziły do kolejnej fazy treningu po spełnieniu kryterium >50 prób w sesji w czasie nie dłuższym niż

30 minut, co zajęło im dwa dni.

Faza 4: Sesja, podobnie jak w poprzednich fazach treningu, rozpoczynała się naciśnięciem przez szczura wysuniętej do klatki dźwigni lewej „gram dalej”, co powodowało mruganie żarówki w otworze 2 (i wsunięcie się dźwigni). Włożenie nosa do aktywnego otworu powodowało, tak jak poprzednio, przejście do świecenia żarówki światłem stałym z towarzyszącą emisją wysokiego tonu (15Hz) ('wygrywająca próba'), bądź jej wygaszenie z towarzyszącą emisją niskiego tonu (4Hz) ('przegrywająca próba'). W obu przypadkach, po włożeniu nosa do aktywnego otworu i emisji jednego z dwóch tonów wysuwały się do klatki obie dźwignie. W przypadku 'próby wygrywającej' naciśnięcie dźwigni lewej „gram dalej” skutkowało wsunięciem się prawej dźwigni z pozostawieniem wysuniętej lewej dźwigni, co umożliwiało natychmiastowe rozpoczęcie nowej próby (brak nagrody, ale brak też kary), natomiast naciśnięcie prawej dźwigni „odbieram nagrodę” skutkowało dostarczeniem dwóch peletek nagrody. W przypadku 'próby przegrywającej' skutek naciśnięcia dźwigni lewej „gram dalej” jest taki sam, jak w przypadku 'próby wygrywającej' (brak nagrody, ale brak też kary), natomiast naciśnięcie dźwigni prawej „odbieram nagrodę” pociąga za sobą 10-sekundowe wygaszenie klatki (*time-out* - kara). W każdym przypadku po zakończeniu próby wysuwa się dźwignia lewa „gram dalej” umożliwiając rozpoczęcie kolejnej próby. Trening może być kontynuowany jeśli szczury spełnią kryterium: >80% naciśnień na prawą dźwignię „odbieram nagrodę” w 'próbach wygrywających' ('WIN TRIAL'), oraz <20% naciśnień na prawą dźwignię „odbieram nagrodę” w 'próbach przegrywających' ('LOSS TRIAL'). Czas potrzebny do spełnienia warunków kryterium szacowany jest na około 20 dni treningu.

Każda próba mogła skutkować sześcioma z możliwych ośmiu wzorów zaświecenia lampek: ON-ON-ON, ON-ON-OFF, OFF-ON-ON, ON-OFF-OFF, OFF-OFF-ON i OFF-OFF-OFF. Daje to 1 stan ze wszystkimi zapalonymi lampkami (pewna wygrana), 2 stany „prawie wygranej” z dwiema zapalonymi lampkami (ON-ON-OFF lub OFF-ON-ON), dwa stany z jedną zapaloną lampką (ON-OFF-OFF, OFF-OFF-ON) i jeden stan ze wszystkimi lampkami zgaszonymi (pewna przegrana). Częstotliwość pojawiania się każdego z 6 możliwości została ustalona wcześniej w sposób prawie przypadkowy, a każdy wzór prezentowano jeden raz na blok sześciu prób, tak więc każdy szczur miał możliwość wygranej raz na próbę.

Zadaniem zwierzęcia było zinterpretowanie wzoru zaświecenia lampek jako próby wygranej lub przegranej. Miało to miejsce podczas momentu decyzji, gdy wysuwały się dźwignie „odbieram nagrodę” lub „gram dalej”. Jak opisano wyżej, naciśnięcie na dźwignię odbieram nagrodę” w przypadku wzoru ON-ON-ON skutkowało nagrodą pokarmową i dalszą grą; w przypadku innego wzoru, skutkowało karą w postaci oczekiwania na dalszą grę. Niezależnie

od wzoru lampek, wybór dźwigni „gram dalej” nie powodowało kary (oczekiwania) lecz uruchamiało dalszą grę.

Optymalna strategia zwierzęcia polegała na wyborze dźwigni „odbieram nagrodę” w przypadku pewnej wygranej i dźwigni „gram dalej” w każdym innym przypadku.

d) opis przeprowadzonych wszystkich etapów badań

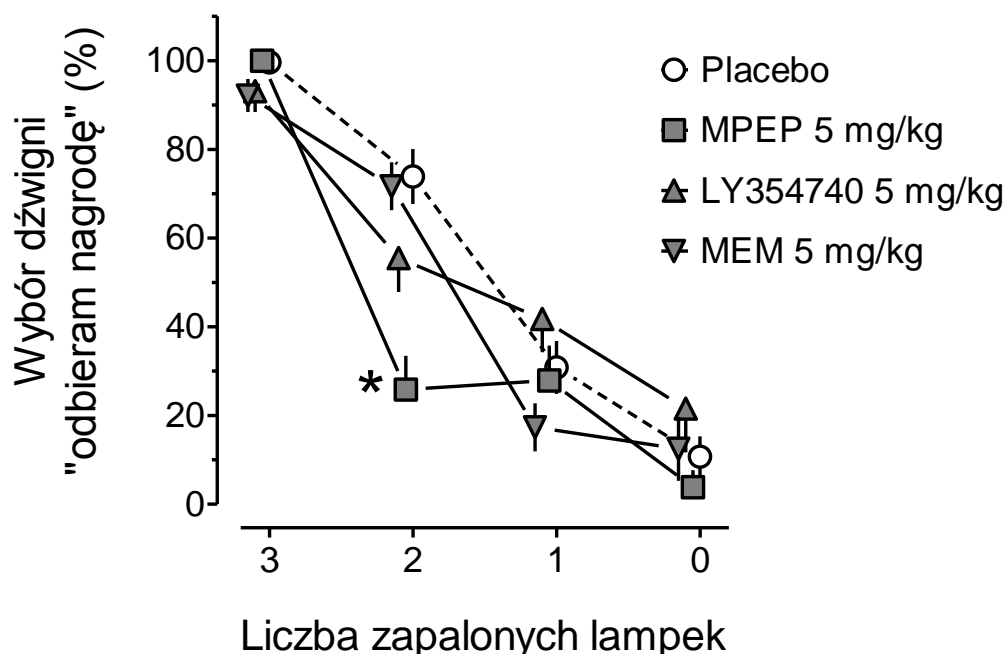
Badano efekt podania a) antagonisty receptorów NMDA, związku memantyna (Sigma-Aldrich, Poznań), b) antagonisty glutaminianergicznych rec mGluR5 związku MPEP (6-methyl-2-(phenylethynyl)-pyridine, Sigma-Aldrich, Poznań), oraz c) (+)-2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY354740), agonisty glutaminianergicznych rec mGluR2/3. Związki podawano dootrzewnowo w dawce 5 mg/kg, 30 min przed sesją.

e) wyniki badania właściwego

Spośród olbrzymiej liczby parametrów możliwych do oceny działania związków w teście jednorękiego bandyty, najistotniejszy dotyczy liczby wyborów dźwigni „odbieram nagrodę” (a dokładniej, proporcji wyborów dźwigni „odbieram nagrodę” w stosunku do sumy naciśnień na obie dźwignie wyrażonej w procentach) w zależności od zastosowanego związku i wzoru zaświecenia lampek. Szczególnie interesujące były reakcje wyboru dźwigni „odbieram nagrodę” w przypadku zapalenia wzoru „prawie wygrana”. Spodziewano się, że związki obniżą tę reakcję w stosunku do efektów soli fizjologicznej (placebo). Wyniki opracowano za pomocą wieloczynnikowej analizy wariancji (ANOVA).

Żaden z badanych związków nie wpływał na wybór dźwigni „odbieram nagrodę” gdy analizowano całość sesji (30 min): czynnik wzoru lampek: $F(3,267) = 248.52$, $P < 0.001$; czynnik podań związków: $F(3,267) = 0.88$, NS; interakcja między czynnikami: $F(9,267) = 0.827$, NS. Jednakże analiza sesji podzielonych na dziesięciominutowe interwały wykazała, że związki statystycznie istotnie wpływały na wybór dźwigni „odbieram nagrodę” w czasie pierwszych dziesięciu minut sesji (lecz nie później) i tylko wtedy, gdy zapalone były 2 lampki: interakcja między czynnikiem wzoru lampek x czynnikiem podań związków x czynnikiem czasu: $F(18,480) = 2.72$, $P < 0.001$. Dodatkowa analiza z użyciem testu post-hoc Tukey’a wykazała, że podanie związku MPEP istotnie hamowało wybór dźwigni „odbieram nagrodę” w ciągu pierwszych 10 minut sesji testu jednorękiego bandyty. Dodatkowo, MPEP istotnie zmniejszyła liczbę wykonywanych prób w trakcie trwania sesji, w porównaniu do grupy kontrolnej.

Efekt podania związków MPEP, LY354740 i memantyny na reakcje przypominające hazard w teście jednorękiego bandyty u szczurów



f) wnioski i rekomendacje badawcze wynikające z przeprowadzonego projektu

Obecne wyniki wskazują, że antagonisty metabotropowych receptorów typu 5, związek MPEP hamuje selektywnie wybór dźwigni wskazującej na nagrodę w przypadku „prawie wygranej”, co sugeruje specyficzne hamowanie zachowań związanych z hazardem. Antagoniści metabotropowych receptorów typu 5, w tym MPEP wykazują podobne działanie hamujące inne formy uzależnienia. U zwierząt laboratoryjnych, hamowanie różnych form uzależnień lekowych wykazano nie tylko dla antagonistów glutaminianergicznych receptorów jonotropowych takich jak memantyna (Popik et al. 2006; Popik and Skolnick 1996), lecz również dla antagonistów receptorów mGluR5. MPEP (2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine), antagonist mGluR5 hamował behawioralne efekty kokainy (Chiamulera et al. 2001; McGeehan et al. 2004; Lee et al. 2005), morfiny (Popik and Wrobel 2002) i amfetaminy (McGeehan et al. 2004).

Wyjaśnienie mechanizmu działania związku MPEP wychodzi poza granice obecnego opracowania. Można sądzić, że MPEP hamował nagradzający efekt zaświecenia dwóch z

trzech lampek, traktowane przez szczury jako „wygrana”. Inne, mniej prawdopodobne czynniki mogą uwzględniać efekt hamowania impulsywności, jednakże wymaga to dalszych badań. Obecne doświadczenia wsparte środkami Funduszu Rozwiązywania Problemów Hazardowych Ministra Zdrowia: Program I: Wspieranie badań naukowych dotyczących zjawiska uzależnienia od hazardu lub innych uzależnień niestanowiących uzależnienia od substancji psychoaktywnych a także rozwiązywania problemów z tym związanych – stanowią pierwsze na świecie sugestie farmakologicznego hamowania zachowań przypominających hazard.

Piotr Popik, Profesor nauk medycznych
Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie
Kraków, 2015-03-26