



Analiza molekularna neuroplastyczności mózgu alkoholików – perspektywa genomiczna i neuropsychologiczna

*Molecular analysis of neuroplasticity of the brain of alcoholics
– a genomic and neuropsychological perspective*

MARIUSZ PANCZYK¹, PAWEŁ KRUKOW²

1. Zakład Dydaktyki i Efektów Kształcenia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
2. Zakład Psychologii Klinicznej i Neuropsychologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

STRESZCZENIE

Cel. Przedstawiono przegląd badań z zakresu molekularnej analizy wybranych struktur mózgu osób nadużywających alkoholu z uwzględnieniem swoistości mechanizmów neuroplastyczności podlegających patologicznym zmianom w wyniku intoksykacji alkoholowej.

Poglądy. System mezokortykolimbiczny jest głównym szlakiem w układzie nagrody stanowiącym cel większości obecnie stosowanych leków w terapii uzależnienia od alkoholu. Zmiany neuroadaptacyjne, jakie zachodzą pod wpływem alkoholu w tym regionie mózgu, leżą u podstaw rozwoju tolerancji i uzależnienia. W ostatniej dekadzie kilka zespołów naukowych, badając post mortem tkankę mózgową alkoholików, podjęło próbę opisu zmian w ekspresji kilku tysięcy genów celem określenia zespołów genów „alkoholowo-wrażliwych”. W świetle wyników, jakie uzyskali różni badacze, wspólny jest przede wszystkim opis zmian w panelu genów odpowiedzialnych za stres oksydacyjny oraz szlaków biochemicznych odpowiedzialnych za dostarczanie energii. Ponadto, w tkance pozyskanej z regionu jądra półleżącego oraz brzuszego obszaru nakrywki stwierdzono zmiany w ekspresji genów odpowiedzialnych za przekazywanie nerwowe (neuroprzekaźniki, transportery i receptory synaptyczne) oraz transdukcję sygnałów wewnątrzkomórkowych.

Wnioski. Obserwowane zmiany ekspresyjne w regionach korowych mózgu mają związek z procesami patologicznymi wywołanymi długotrwałym ekspozowaniem tkanki nerwowej na działanie alkoholu i jego metabolitów. Ponadto, całość zmian opisanych na poziomie molekularnym dotyczącym szlaku dopaminergicznego systemu mezokortykolimbicznego, przekłada się na wydolność neuroplastyczną systemu neurochemicznego mózgu. Wskazane wydaje się zatem ponowne rozpatrzenie tradycyjnych neuropsychiatrycznych i neuropsychologicznych poglądów na uwarunkowania degeneracji tkanki mózgowej u alkoholików.

SUMMARY

Objective. The paper presents a review of research on molecular analysis of selected brain structures in alcohol abusers, with particular emphasis on specific characteristics of neuroplasticity mechanisms subject to pathological changes resulting from alcohol intoxication.

Review. The mesocorticolimbic system constitutes the main pathway in the reward system targeted by most medications presently used in alcohol dependence treatment. Neuroadaptive changes induced in that cerebral area by alcohol use provide a substrate for the development of alcohol tolerance and dependence. During the past decade attempts have been made by a few research teams to describe changes in expression of several thousand genes in autopsy studies using alcohol-dependent persons' brain tissue, in order to identify alcohol-sensitive gene groups. Research findings reported by different authors have in common, first and foremost, the description of changes in the gene panel responsible for oxidative stress, as well as biochemical pathways responsible for energy provision. Moreover, in tissues acquired from the nucleus accumbens and ventral tegmental areas changes were found in expression of genes responsible for neurotransmission (i.e. neurotransmitters, transporters, and synaptic receptors) and for transduction of intercellular signals.

Conclusions. Expression changes found in cortical areas of the brain are associated with pathologic processes caused by a long-term exposure of nervous tissue to the impact of alcohol and its metabolites. Moreover, the body of changes described in the mesocorticolimbic dopaminergic pathway at the molecular level are related to the neuroplastic efficacy of the cerebral neurochemical system. Therefore, it seems that the traditional neuropsychiatric and neuropsychological views on the determinants of nervous tissue degeneration in the alcoholic brain should be re-examined.

Słowa kluczowe: neuroplastyczność / alkoholizm / kora przedczołowa / układ nagrody

Key words: neuroplasticity / alcoholism / prefrontal cortex / reward system

Aktualnie, w neuronaukach klinicznych – z neuropsychiatrią i neuropsychologią na czele – mechanizmy neuroplastyczności stanowią jeden z głównych obszarów zainte-

resowań empirycznych i praktycznych. Neuroplastyczność definiowana jest przez Rybakowskiego jako „procesy związane ze zdolnością mózgu do adaptacji czynnościowej

i strukturalnej pod wpływem bodźców zewnętrznych i wewnętrznych” [1, str. 144]. Z kolei Herzyk uznaje, że „plastyczność neuronalną można określić jako fundamentalną właściwość żywego mózgu, zachodzącą we wszystkich stadiach jego rozwoju, która pozwala na neuroadaptacyjne zmiany do mobilnych warunków środowiskowych oraz zwiększa szanse przetrwania i zdrowienia mózgu uszkodzonego” [2, str. 95]. Zjawisko neuroplastyczności może być rozumiane jako jeden z głównych mechanizmów rozwoju biologicznego mózgu, ale także jako jeden z wielu mechanizmów samonaprawczych aktywujących się w mózgu uszkodzonym.

Degeneracyjny wpływ nadużywania alkoholu na mózg został potwierdzony w badaniach klinicznych już wiele dziesięcioleci wcześniej [3]. Jednak przed szerokim rozpowszechnieniem metod neuroobrazowania uznawano, że wpływ ten jest pośredni, to znaczy akcentowano niedobór witamin i niedożywienie w toku przewlekłego alkoholizmu jako główne przyczyny neurodegeneracji – na czele z zespołem Korsakowa.

Ujęcie współczesne – którego elementy zostaną opisane niżej – nawiązuje do przemian w rozumieniu genetyki i rozwoju zaburzeń neuropsychiatrycznych, które charakteryzuje odchodzenie od interpretowania patologii mózgu i zachowania jako wyniku zakłóceń neuroprzekaznictwa w kierunku analiz zmian w obrębie procesów neuroplastyczności [1]. Zjawisko alkoholizmu, a także wpływ alkoholu na mózg, coraz częściej rozumiane jest jako zespół dynamicznych przemian funkcjonowania mózgu aktywujących się w różnych miejscach wymiaru neuroplastyczność–neurodegeneracja.

Hipoteza przyspieszonego starzenia się mózgu autorstwa Oscar-Berman i współpracowników jest jednym z nawiązań koncepcyjnych do takiego podejścia [4, 5, 6]. Według niej, nadużywanie alkoholu powoduje takie zmiany w funkcjonowaniu i strukturach mózgu, które są charakterystyczne dla osób w starszym wieku niż osoba nadużywająca. Innymi słowy, mózg alkoholika jest zawsze neurobiologicznie i poznawczo “starszy”, niż mózg jego niepijącego równolatka. Rozróżnia się dwa szczegółowe wyjaśnienia:

- hipoteza efektów skumulowanych – alkoholizmowi towarzyszy przedwczesne wystąpienie neuroanatomicznych i behawioralnych zmian zwykle związanych z podeszłym wiekiem,
- hipoteza zwiększonej podatności – starzejący się mózg jest bardziej podatny na negatywne działanie toksyn, w tym także alkoholu.

Hipoteza zwiększonej podatności sugeruje, że główny efekt – przyspieszone starzenie się mózgu – wystąpi przede wszystkim u osób po 50 roku życia, natomiast u osób młodszych neurodegeneracja tego typu może nie następować, lub też zachowując abstynencję mają oni większe szanse na odwrócenie negatywnych zmian neuronalnych. W świetle badań Pfeifferbauma i współpracowników [7] druga wersja jest bardziej adekwatna. Wykazali oni na podstawie analiz neuropatologicznych, że w zakresie objętości i metabolizmu struktur takich jak kora mózgu, ciało modzelowate, hipokamp i mózdzek, obserwuje się redukcję będącą skutkiem alkoholizmu, ale tylko u osób po 50 roku życia. Ważnym aspektem tych badań było odkrycie istotnej korelacji tych zmian neuropatologicznych z obniżeniem takich paramet

trów neuropsychologicznych, jak pamięć operacyjna oraz funkcje wzrokowo-przestrzenne [7].

Wydaje się, że jednym z najważniejszych odkryć dotyczących współczesnego, neuronaukowego podejścia do badań nad alkoholizmem, było empiryczne udowodnienie możliwości zahamowania neurogenetyki w mózgu dorosłego już osobnika (szczura), spowodowane spożyciem alkoholu [8]. Eksperyment Nixona i Crews wykazał, że po podaniu ilości alkoholu odpowiadającej trzem porcjom spożywanym przez ludzi, proliferacja neuronalnych komórek macierzystych spada o 40%. Zahamowanie to dotyczy jednego z głównych obszarów, w którym zachodzi neurogenetyka – zakrętu zębatego hipokampa. Częściowe zatrzymanie proliferacji spowodowało zaburzenie migracji komórek nerwowych, nieprawidłowości w różnicowaniu a następnie ich śmierć. Autorzy ci wskazują na jeszcze jeden istotny fakt dotyczący zakłóceń neurogenetyki. Już na początku lat 80., Walker ze współpracownikami wykazali, że w wyniku podawania zwierzęciu alkoholu przez 5 miesięcy bez przerwy dochodzi do utraty od 20 do 25% komórek zakrętu zębatego [9]. Jest to wartość bardzo zbliżona do tej, jaką otrzymałoby się obliczając ile komórek w tym rejonie nie powstanie w wyniku zahamowania neurogenetyki pod wpływem alkoholu. Dlatego uzasadniona staje się hipoteza, według której obserwowane przez wiele lat zaniki mózgu u przewlekłych alkoholików mogą być nie tylko wynikiem uszkodzeń neuronów przez toksyczne działanie alkoholu, ale także efektem braku nowych neuronów, które zastąpiły by te obumierające – nawet przez działanie prawidłowych procesów apoptotycznych – nowymi, powstałymi w skutek neurogenetyki. Wydaje się, że powyższe wyniki badań i sugestie teoretyczne wystarczająco uzasadniają konieczność podjęcia szczegółowych neurobiologicznych i molekularnych analiz uwarunkowań patologii funkcjonowania mózgu w wymiarze neuroplastyczność–neurodegeneracja.

BADANIA MOLEKULARNE GENOMU

Różnorodność typów komórek nerwowych w centralnym układzie nerwowym ssaków ma swoje odzwierciedlenie w specyficznym profilu ekspresyjnym tych komórek w zależności od lokalizacji i pełnionej funkcji w mózgu. Genom człowieka stanowi około 30.000 genów [10] z czego prawdopodobnie od 1/3 do 1/2 całej puli ulega specyficznej ekspresji w mózgu [11]. Transkrypcja (ekspresja genów) jest skomplikowanym, uporządkowanym procesem, który zachodzi w wyniku wybiórczego oddziaływania wielu różnych białek z określonymi regionami genomu. Ponieważ białka te – zwane czynnikami transkrypcyjnymi – są również kodowane przez geny, to genom można określić jako układ samoregulujący się.

Wzajemne interakcje w pętli... – gen – białko – gen – białko – ... pozwalają wyrazić określoną odpowiedź molekularną na wielokrotnie oddziaływujące czynniki środowiskowe adekwatnie do częstotliwości i czasu trwania tych oddziaływań.

Odpowiednie kształtowanie się aktywności synaptycznej jest kluczowym elementem w modulowaniu rozwoju określonych funkcji w różnych regionach mózgu pod wpływem

doświadczenia jednostki [12]. Czynniki chemiczne, w tym alkohol, mogą w znacznym stopniu zmieniać fizjologiczną zdolność sieci synaptycznej do organizowania nowych aktywnych połączeń między kształtującymi się w procesie neurogenezy neuronami. Obserwowane klinicznie zmiany w funkcjonowaniu poznawczym osób uzależnionych od alkoholu mają swoje odzwierciedlenie w procesach zachodzących na poziomie molekularnym, a w szczególności w aktywności transkrypcyjnej genomu [12].

Analiza mikromacierzy molekularnych (*microarray analysis*) to technika badania ekspresji niemal całego genomu w pojedynczym eksperymencie [11]. Wprowadzenie techniki mikromacierzy DNA (*DNA microarrays*) zrewolucjonizowało nauki biologiczne, gdyż stały się one bardziej ekonomiczne, ale równocześnie bardziej efektywne. Metoda ta opiera się na zasadach opracowanych już we wczesnych latach 70. przez Southerna. Imobilizowane na powierzchni szkła lub folii nylonowej fragmenty DNA lub RNA łączą się na zasadzie komplementarności z DNA lub RNA (proces hybrydizacji) pochodzącym z badanej próbki. Połączenie “pasujących” do siebie fragmentów (komplementarnych) DNA/RNA jest następnie odczytywane w detektorze (mierzy się fluorescencję). Dzięki tej metodzie możliwe stało się wykonanie analizy nawet do 20.000 genów w jednym eksperymencie [13]. Ponieważ w toku podjętej analizy uzyskanych wyników, przeprowadza się grupowanie genów pod względem funkcji jaką pełnią ich produkty białkowe, możliwe jest określenie różnic funkcjonalnych poszczególnych neuronów z typowanych regionów mózgu. Ponadto technika ta umożliwia wskazanie wzajemnych relacji między różnymi genami, również tymi, których funkcja nie jest jasno określona. Dane takie pozwalają w konsekwencji na ustalenie dokładnych szlaków molekularnej odpowiedzi komórek nerwowych na różne czynniki endogenne oraz środowiskowe [14]. Modyfikacje tej metody pozwalają na oznaczanie nie tylko profilu ekspresyjnego, ale również oznaczanie polimorfizmów różnych typów, znanych mutacji, a także oznaczanie profilu białkowego w badaniach proteomicznych (mikromacierze białkowe) [13].

ROLA DOPAMINERGICZNEGO SYSTEMU MEZOKORTYKOLIMBICZNEGO

Dopaminergiczny system mezikortykolimbiczny (*mesocorticolimbic dopaminergic system*, MDS) jest obszarem w mózgu składającym się z brzuszego obszaru nakrywki (*ventral tegmental area*, VTA) łączącego się z jądrem półleżącym (*nucleus accumbens*, NA) oraz przegrodą (*septum*) i korą przedczołową (*prefrontal cortex*, PFC). System ten stanowi szlak określany jako “układ nagrody”, którego pobudzenie ujawnia się pod wpływem jedzenia, seksu oraz po spożyciu alkoholu, narkotyków jak również przy nadużywaniu niektórych leków psychotropowych. Układ ten odpowiada za motywację poprzez uzyskanie nagrody, dochodzi więc do pozytywnego wzmocnienia i z czasem do rozwoju uzależnienia [15, 16, 17, 18, 19, 20]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że oddziaływanie alkoholu na szlak MDS jest złożone, a reakcja na poziomie genomu jest regioswoista. Na przykład ekspresja genu dla receptora dopaminergicznego

D₂ rośnie w regionie NA i prążkowie [21], a ekspresja licznych podtypów receptora NMDA glutaminergicznego, głównego w szlaku pobudzającego w mózgu, rośnie w obszarze kory [22]. Ponadto, zmiany składu podjednostek złożonego receptora NMDA w szlaku MDS u szczurów traktowanych alkoholem są neuro- i regioswoiste [23].

W mózgu człowieka, zmiany ekspresji genów ujawniające się pod wpływem alkoholu są wypadkową kilku czynników. Jedną z ważnych determinant jest wzorzec genetyczny, predysponujący daną osobę do uzależnienia. Czynniki genetyczne w odpowiednich warunkach środowiskowych oraz pod wpływem długotrwałej ekspozycji na alkohol, mogą sprzyjać utrwalaniu się patologicznych zmian w strukturze i funkcjonowaniu komórek nerwowych, co w konsekwencji przekłada się na neuroadaptacyjną przebudowę MDS [24, 25]. Obraz zmian związany z wpływem alkoholu na mózg jest skomplikowany, ponieważ różne regiony mózgu poprzez swoją odmienną patofizjologię, manifestują odmienne skutki, które możemy obserwować klinicznie u pacjenta. Osoby uzależnione od alkoholu wykazują się osłabieniem funkcji poznawczych, zdolnością do planowania, zmniejszeniem plastyczności [26, 27]. Zmiany powyższe mają swoje źródło w uszkodzeniu PFC, która odpowiada za funkcje wykonawcze. Ponadto zaobserwowano znaczną utratę istoty białej [28] i szarej [29, 30] u długoletnich alkoholików w PCF co kontrastuje z brakiem zmian neuromorfologicznych w pozostałym obszarze MDS. Natomiast zmiany molekularne takie jak identyfikacja wzorca w profilu ekspresyjnym genów z regionu MDS, może się przyczynić do lepszego zrozumienia mechanizmów komórkowych, które przekładają się na plastyczność MDS. Badania z wykorzystaniem wysoko wydajnych technik analizy genomu, takich jak analiza mikromacierzy molekularnych w połączeniu z możliwością uzyskania odpowiedniej ilości i jakości materiału genetycznego z niewielkich struktur mózgowych (NA i VTA) pozwoliły na opis zmian ekspresyjnych w MDS [31, 32, 33, 34, 35, 36]. Współczesna technologia w badaniach genomicznych umożliwia więc kompleksowe analizowanie złożonych mechanizmów zachodzących na poziomie molekularnym w wybranych obszarach mózgu.

BADANIA EKSPRESYJNE KORY PRZEDCZOŁOWEJ

Kora przedczołowa jest głównym obszarem, w którym dochodzi do widocznych uszkodzeń w istocie szarej i białej, które możemy zaobserwować u alkoholików z kilkuletnim stażem uzależnienia [28, 29, 30]. Skutki te, są przede wszystkim spowodowane toksycznym działaniem etanolu i jego bezpośredniego metabolitu – aldehydu octowego – na neurony. Ponadto, dochodzi do zaburzenia bilansu w obrębie dwoma neurotransmiterami: działającym hamująco – kwasem γ -aminomasłowym (GABA) oraz pobudzającym kwasem glutaminowym. Obraz zmian jest szczególnie widoczny w okresie odstawienia, kiedy to zwiększona w wyniku neuroadaptacji wrażliwość układu glutaminergicznego wywołuje zespół abstynencyjny [37, 38, 39, 40, 41].

Kilka grup naukowych zajęło się badaniem zmian ekspresyjnych, jakie zachodzą u alkoholików w tkance kory przedczołowej. Lewohl i współpracownicy w 2000 r. oraz Mayfield i współpracownicy w 2002 r. wykonali analizę profilu ekspresyjnego w PFC używając dwóch technik hybrydacyjnych, odpowiednio: techniki mikromacierzy oligonukleotydowych (bardzo krótkie fragmenty jednonicowego DNA) oraz techniki mikromacierzy cDNA (komplementarne do mRNA fragmenty DNA) [33, 36]. Określono między innymi zmiany w ekspresji genów dla czynników transkrypcyjnych. Produkty białkowe tych genów odpowiadają za procesy włączania (*enhancer*) lub wyłączania (*repressor*) ekspresji innych genów poprzez oddziaływania z regionami regulatorowymi. Stanowią one część swoistego mechanizmu regulującego aktywność ekspresyjną genomu. Jednakże w badaniach Lewohl z 2000 r. oraz Mayfield z 2002 r., spośród analizowanej puli genów niewiele było "alkoholo-wrażliwych" czynników transkrypcyjnych [33, 36]. W opozycji do tych wyników, późniejsze badania Flatscher-Bader i współpracowników z 2005 r. wskazały, że spośród typowanych genów wrażliwych, aż 15% stanowiły czynniki transkrypcyjne. Dodatkowo, niewielkie zmiany w ekspresji regionów regulatorowych dla AP-1 (*Activator Protein 1*) oraz CREB (*cAMP Responsive Element Binding Protein*) [31]. Uzupełnieniem tych wyników pozostają badania zespołu Iwamoto i współpracowników z 2004 r. potwierdzające znaczny udział zmian w obrębie genów regulujących transkrypcję w tkance z PFC [35]. Natomiast Liu i współpracownicy w 2004 r. zidentyfikowali około 2800 genów o zmienionej ekspresji, ale wśród nich nie było genów dla czynników transkrypcyjnych. Jednakże spora liczba genów nie została zakwalifikowana do żadnej z klas funkcyjnych, być może część z nich stanowią nieopisane jeszcze czynniki transkrypcyjne [32]. Nie jest jasne czy obserwowane zmiany funkcjonowania elementów regulatorowych w PFC są odzwierciedleniem późniejszych zmian ekspresji genów odpowiedzialnych za neuroprotekcję i naprawę powstałych uszkodzeń, a w konsekwencji za plastyczność mózgu.

Niektóre spośród analizowanych badań wskazują na zmiany ekspresyjne w obrębie genów związanych z mielogenezą zachodzącą w PFC u osób uzależnionych od alkoholu. Lewohl i współpracownicy w 2000 r. opisali znaczące obniżenie poziomu (*down-regulation*) ekspresji genów zaangażowanych w mielinizację [36]. Jednakże wyniki opisywanych badań nie są jednoznaczne w tej kwestii. W zależności od użytej strategii analitycznej, obserwowano również brak zmian [33], a także podwyższenie poziomu ekspresji (*up-regulation*) tej klasy genów [35]. Analiza pojedynczych przypadków (osobne pule mRNA) znacznie różniła się uzyskanymi wynikami w porównaniu z analizą łącznych pul mRNA ekstrahowanych z tkanek pochodzących od różnych pacjentów. Mimo że, w badaniu zespołu Flatscher-Bader w 2005 r. powyższe rozbieżności również się ujawniły, to interesujące jest zidentyfikowanie zmniejszonej ekspresji genu PMP22 (*peripheral myelination protein 22 gene*) we wszystkich badanych przypadkach [31] co koresponduje z wynikami opisanymi przez zespół Liu w 2004 r. [32]. W fizjologicznych warunkach ekspresja genu PMP22 zaznacza się szczególnie silnie w komórkach

Schwanna odpowiedzialnych za proces tworzenia osłonki mielinowej włókien nerwowych. Zaburzenia dynamiki procesu wykształcania osłonki mielinowej aksonów przez komórki glejowe i oligodendrocyty w obrębie ośrodkowego układu nerwowego może świadczyć o zmniejszeniu zdolności regeneracyjnych mózgu i objawiać się negatywnymi skutkami w jego funkcjonowaniu. Jednakże badania tkanki mózgowej alkoholików nie dają jednoznacznej odpowiedzi na faktyczny udział procesu remielinizacji w odpowiedzi tkanki mózgowej na intoksykację alkoholem. Przyczyną powyższych rozbieżności jest prawdopodobnie wysoka heterogeniczność badanych grup, dodatkowym czynnikiem komplikującym interpretację wyników jest pojawianie się w badanych grupach pacjentów z tzw. podwójną diagnozą, a więc takich, u których alkoholizm rozwija się na tle innej, wcześniej ujawniającej się choroby psychicznej – na przykład schizofrenii, co może świadczyć o niepoprawnym dobraniu kryteriów włączających przypadki do badania [42]. Takie nakładanie się na siebie u jednej osoby dwóch lub więcej zaburzeń neuropsychiatrycznych utrudnia wnioskowanie, czy obserwowane zmiany w aktywności genów zaangażowanych w mielogenezę są faktycznie uwarunkowane oddziaływaniem alkoholu, czy też mają swoje źródło w innych uwarunkowaniach [43].

W badaniach prowadzonych na modelach zwierzęcych, stwierdzono związek między stresem oksydacyjnym, a uszkadzającym wpływem alkoholu na PFC. Długotrwała ekspozycja szczurów na etanol wywoływała pęknięcia w niciach DNA oraz wzrost poziomu białek szoku cieplnego w korze mózgowej [44, 45]. Powyższa hipoteza została potwierdzona w badaniach na tkance ludzkiej pochodzącej z PFC; stwierdzono znaczny wzrost aktywności genów związanych z naprawą DNA oraz genów kodujących liczne białka szoku cieplnego (*Heat shock proteins*, HSP) [31, 35, 33]. HSP to tzw. białka opiekuńcze odpowiedzialne za prawidłowe funkcjonowanie proteomu (wszystkie białka występujące w komórce) poprzez zapewnienie odpowiedniego przebiegu procesów fałdowania, oligomeryzacji, translokacji oraz degradacji innych białek. Ekspresja genów kodujących HSP znacznie wzrasta w tkankach narażonych na czynniki uszkadzające takie jak: podwyższona temperatura, toksyny, promieniowanie UV, niedotlenienie etc. Poza zmianami w ekspresji HSP, dodatkowo zaobserwowano znaczny wzrost ekspresji genów kodujących czynniki antyoksydacyjne (wymiatacze wolnych rodników tlenowych). Przyczyny pojawienia się stresu oksydacyjnego indukowanego alkoholem można upatrywać w zakłóceniu funkcji mitochondriów komórkowych. Stwierdzono bowiem obniżenie ekspresji genów mitochondrialnych związanych z procesem transportu elektronów w łańcuchu oddechowym, który jest głównym źródłem energii dla komórki [31, 32]. Rozprzęgnięcie tych szlaków mitochondrialnych prowadzi do nagromadzenia reaktywnych form tlenu (rodniki), które uszkadzają DNA, RNA oraz białka. Komórki broniąc się przed tymi negatywnymi skutkami aktywują procesy ochronne, co manifestuje się wzrostem ekspresji genów dla czynników przeciwrodnikowych oraz HSP.

Analiza ekspresyjna panelu genów związanych z przekazaniem sygnałów wewnątrzkomórkowych nie daje

jednoznacznych wyników. Zidentyfikowane geny, ich liczba oraz szlaki sygnałowe w które produkty białkowe tych genów są zaangażowane, charakteryzują się zróżnicowaniem i nie dają w sumie możliwości postawienia jakis ogólnych wniosków.

Sumując wyniki powyższych badań można stwierdzić, że obserwowane zmiany w profilu ekspresyjnym genów w tkance pozyskanej z PFC mają charakter subtelny, gdyż poziomy różnic w ekspresji były w większości przypadków mniejsze niż 2-krotny. Ponadto tylko niewielka liczba zidentyfikowanych “alkoholo-wrażliwych” genów była wspólna dla wszystkich badań. Różnice w doborze przypadków, rodzaj użytej techniki badawczej (typ mikromacierzy molekularnej, rodzaj techniki hybrydyzacyjnej) i analitycznej (łącznie i rozdzielne pule mRNA, różnice w opracowaniu statystycznym) mogą być przyczyną różnic w wyselekcjonowaniu tych samych genów przez różne zespoły naukowe. Nie bez znaczenia pozostaje również odpowiedni dobór grupy kontrolnej oraz stan pozyskanej tkanki mózgowej. Bezpośrednia przyczyna zgonu, pH tkanki, czas jaki upłynął od zgonu do pobrania, stopień oczyszczenia RNA, będą bezpośrednio wpływać na końcowe wyniki i mogą przyczynić się do odmiennych obserwacji w różnych badaniach. Ponadto charakterystyka poszczególnych przypadków klinicznych powinna uwzględniać czas trwania uzależnienia, wiek pacjenta w chwili śmierci, stopień uzależnienia, obecność politoksymanii oraz chorób współtowarzyszących, w szczególności zaburzeń afektywnych dwubiegunowych i schizofrenii. Jednak mimo tych problemów metodologicznych bezsporny jest udział grup genów zaangażowanych w procesy naprawy DNA i stresu oksydacyjnego w neuropatologii PFC u alkoholików [46].

BADANIA EKSPRESYJNE UKŁADU MEZOLIMBICZNEGO – NEUROPLASTYCZNOŚĆ MÓZGU

W analizach z wykorzystaniem mikromacierzy molekularnych zidentyfikowano w sumie 125 genów wytypowanych jako “alkoholo-wrażliwe” w VTA, 68 w PFC oraz 51 w NA. Jednak żaden z nich nie był wspólny dla wszystkich 3 regionów, a mniej niż 4% było wspólne dla któregoś z dwóch [46]. W regionach NA i VTA wskazuje się na podobieństwo w stosunku do grup funkcyjnych genów o zmiennej ekspresji w porównaniu z PFC. W NA tylko kilka genów należało do grupy kodującej czynniki transkrypcyjne w przeciwieństwie do VTA. Ponadto, nie stwierdzono w NA i VTA istotnych zmian dotyczących genów związanych z funkcjonowaniem proteomu: translacji, modyfikacji potranslacyjnej oraz translokacji białek. W przeciwieństwie do PFC, również w dwóch pozostałych regionach nie było zmian wśród czynników zaangażowanych w szlaki dostarczające energii. Jeśli chodzi o system przekaźnictwa wewnątrzkomórkowego to najistotniejsza jest zmiana opisana dla VTA i dotyczy genu dla cAMP i szlaku sygnałowego związanego z jonami wapnia [46].

Jednym z najważniejszych paradygmatów dotyczących podstaw reakcji neurochemicznej mózgu na substancje uza-

leżniące jest aktywacja szlaku dopaminergicznego w układzie MDS. W badaniach z udziałem szczurów stwierdzono, że długotrwałe podawanie alkoholu wywołuje sensytyzację neuronów dopaminergicznym w obszarze VTA [47]. Stwierdza się również obniżenie aktywności dopaminergicznej w regionie NA zarówno u zwierząt i ludzi [48, 49, 50]. Nadaktywność kanałów wapniowych typu L została zaproponowana jako możliwy mechanizm osłabionego uwalniania dopaminy [51]. Ponadto stwierdzono zmniejszenie ekspresji genów dla receptorów dopaminergicznym D_2 i D_3 w obszarze NA i ciała migdałowego u osób uzależnionych od alkoholu [52]. Opisano również zmiany ekspresyjne kilku genów tworzących wspólny klastery transporterów dla kwasu glutaminowego: SLC1A2, SLC17A6 i SLC17A7 w VTA [53]. Transporter SLC1A2 odpowiada za modulowanie uwalniania glutaminianu do szczeliny synaptycznej oraz za plastyczność w obrębie hipokampa [54]. SLC17A7 jest odpowiedzialny za magazynowanie glutaminianu w pęcherzykach presynaptycznych oraz reguluje uwalnianie neuroprzekądnika w synapsach pobudzających [55, 56]. Konsekwencją opisanych neuroadaptacji może być zmiana wrażliwości całego układu pobudzającego, co w miarę pogłębiania się uzależnienia prowadzi do utraty nad nim kontroli. Ponadto pojawiające się problemy z uczeniem i zapamiętywaniem mają bezpośredni związek z molekularnymi mechanizmami adaptacyjnymi zachodzącymi w hipokampie.

Wśród obserwowanych zmian ekspresyjnych w regionach NA i VTA najważniejsze są te dotyczące neuroplastyczności. Do genów o zróżnicowanej ekspresji należały odpowiedzialne za cytoszkielet i architekturę komórki, białka zaangażowane w procesy adhezji komórek. Duże zmiany wykazano również względem genów zaangażowanych w neuroprzekaźnictwo, aczkolwiek większe dla VTA niż NA. W badaniach dotyczących plastyczności mózgu alkoholików stwierdzono zmiany w ekspresji genu *NTRK2* (*Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor, type 2*). Aktywność tego genu jest regulowana w procesie remodelowania mózgu przez czynnik BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) [57, 58]. Ta ścieżka sygnałowa jest uważana za kluczowy element w plastyczności synaptycznej, umożliwiająca zwiększenie uwalniania neurotransmiterów z pęcherzyków synaptycznych, głównie kwasu glutaminowego. Szczególna aktywność tego szlaku zaznacza się w procesach uczenia i zapamiętywania zachodzących w hipokampie [59, 60]. Również liczne geny kodujące białka cytoszkieletu oraz odpowiadające za tworzenie dendrytów zostały zidentyfikowane w regionie VTA jak np. *SYNPO* (*Synaptopodin*) [61] oraz gen *NRXN1* (*Neurexin 1*) zaangażowany w proces tworzenia synaps pobudzających i hamujących [62]. Taka strukturalna neuroplastyczność w obrębie VTA może być późnym następstwem długotrwałego oddziaływania alkoholu na ten obszar MDS. Zmian takich nie opisano dla PFC, co koresponduje również w różnicach dotyczących genów zaangażowanych w stres oksydacyjny oraz genów regulujących wzrost i podziały komórek, które nie zostały opisane dla NA i VTA.

Sumując można stwierdzić, że o ile zmiany obserwowane w regionach NA i VTA są zbliżone i dotyczą procesów neuroplastyczności, o tyle zmiany w PFC dotyczą przede

wszystkim procesów naprawy powstałych uszkodzeń o charakterze neurodegeneracyjnym. Odkrycia te dobrze nawiązują do obrazu klinicznego osób uzależnionych od alkoholu. Przyszłe badania nad rozwojem, funkcjonowaniem i patofizjologią mózgu będą wymagały integracji genomiki, proteomiki i neuropsychologii. Takie zintegrowane podejście we współczesnych neuronaukach pozwala na kompleksowy opis mechanizmów od poziomu molekularnego do obserwowanego klinicznie obrazu zmian w funkcjonowaniu pacjenta. Poza wpływem substancji uzależniających jak alkohol, również takie zjawiska jak polimorfizm genetyczny czy mutacje skutkujące zmianami w ekspresji genów odpowiedzialnych za neurogenezę, wpływają na zmniejszenie zdolności poznawczych pacjentów. W wielu przypadkach takie endogenne uwarunkowania mogą znacznie utrudnić prowadzenie skutecznej rehabilitacji neuropsychologicznej [63].

PODSUMOWANIE

Neuronauki korzystają z bogatego zasobu wiedzy zdobytej przez ostatnie dwie dekady badań genomicznych w kilku obszarach. Jednym z nich jest poznanie szczegółowych uwarunkowań rozwoju wielu chorób psychicznych, co wskazało na możliwość stosowania nowych strategii terapii. Współczesna psychofarmakologia stoi przed problemami leczenia chorób neurodegeneracyjnych oraz ograniczenia skutków urazów mózgowych. Znajomość naturalnych mechanizmów obrony komórek nerwowych przed negatywnym oddziaływaniem czynników zewnętrznych pozwala na opracowanie terapii opartej o strategię neuroprotekcji. Opis molekularnych ścieżek aktywujących się podczas neurogenезy ma istotne znaczenie dla farmakologicznego wspomagania procesów rehabilitacji neuropsychologicznej. Również wykorzystanie neuronalnych komórek macierzystych, których zastosowanie w psychiatrii i neurologii budzi spore nadzieje, nie będzie możliwe bez znajomości mechanizmów kierujących różnicowaniem i implementacją funkcjonalną w strukturę istniejącej tkanki mózgowej. Substancje określane, jako leki prokognitywne mają rozpoznawać takie punkty uchwytu, które jako elementy molekularne są szczególnie zaangażowane w tworzenie nowych połączeń synaptycznych oraz odbudowę uszkodzonego drzewa synaptycznego. Nowa generacja farmaceutyków tzw. przeciwciała monoklonalne (np. natalizumab, Tysabri®) zostały opracowane dzięki zaawansowanym technikom analizy molekularnej genomicznej i proteomicznej.

Wielkoskalowe analizy badające ekspresję kilku tysięcy genów w pojedynczym materiale biologicznym pozwala na zidentyfikowanie złożonych zmian, jakie zachodzą w typowanych obszarach mózgu pod wpływem długotrwałej ekspozycji na alkohol. Nakreślenie obrazu zmian patologicznych w takich obszarach mózgu jak VTA czy NA pozwala lepiej rozumieć podłoże i skutki kliniczne obserwowane u pacjentów uzależnionych. Poznanie mechanizmów neurodegeneracyjnych oraz zdolności plastycznych i adaptacyjnych mózgu dają nadzieję na opracowanie skuteczniejszych niż obecnie stosowane metod terapii, opartych o selektywnie działające leki nacelowane na wybrane pro-

cesy mózgowie. Poza tym, warto wskazać, że zmiany neurodegeneracyjne powstające w toku uzależniania się mogą w swoisty sposób wpływać lub nawet determinować dalszy rozwój uzależnienia.

Omawianym strukturom układu mezo-kortykolimbicznego przypisane są określone funkcje neuropsychologiczne. VTA jest strukturą o pierwszorzędym znaczeniu dla ludzkiego systemu motywacji oraz regulacji zachowań opartych o wzmocnienie pozytywne [64]. Wykazanie zakłócenia w funkcjonowaniu tego obszaru na poziomie molekularnym i nieprawidłowości procesów neuroplastyczności można uznać nie tylko za finalny skutek uzależnienia i nadużywania toksycznie działającego na mózg alkoholu, ale również jako jedną z potencjalnych przyczyn eskalowania głodu alkoholowego pojawiającego się w ciągu rozwoju uzależnienia. Do tego zjawiska dołączają również patologiczne zmiany w korze przedczołowej. Struktura ta, odpowiedzialna za funkcje wykonawcze – a więc planowanie, wyciąganie wniosków, samokrytycyzm, przewidywanie następstw własnych działań [65] – w przypadku uszkodzeń na poziomie mikro- i makrostrukturalnym może pogłębiać poziom uzależnienia poprzez odebranie potencjalnie uzależnionej osobie kompetencji automonitoringu i refleksyjnego podejścia do swojego funkcjonowania. Taka charakterystyka relacji między zmianami na poziomie komórkowym obszarów mózgu i istotnych, z punktu widzenia rozwoju uzależnienia, cech neurobehawioralnych skłania do zadania nowych pytań – uzasadnionych jak się wydaje badawczo i klinicznie; czy rozpoczęcie używania szkodliwego alkoholu jest w stanie wygenerować takie zmiany w wybranych parametrach molekularnych i neuropsychologicznych mózgu, że przyspiesza uzależnienie niejako samoczynnie? Czy zakłócenie ekspresji genów związanych z neuroplastycznością wybranych okolic mózgowia będzie można w przyszłości zatrzymać lub nawet odwrócić przy pomocy celowanej terapii lekami z komponentą neuroprotekcji? I w końcu – czy fakt cofania się zmian degeneracyjnych u osób zachowujących abstynencję może być wartościowym empirycznie prototypem opracowania koncepcji zatrzymywania innych – obok alkoholowej – typów demencji, o coraz lepiej poznawanych uwarunkowaniach genetycznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Rybakowski J. Wpływ leków psychotropowych na plastyczność neuronalną. *Farmakoterapia w Psychiatrii i Neurologii*. 2005; 2: 143-153.
2. Herzyk A. *Wprowadzenie do neuropsychologii klinicznej*. Warszawa: Wyd. Scholar; 2006.
3. Israel Y, Mardones J. *Biological basis of alcoholism*. New York: Wiley; 1971.
4. Oscar-Berman M, Marinković K. Alcohol: effects on neurobehavioral functions and the brain. *Neuropsychol Rev*. 2007; 17 (3): 239-257.
5. Ellis RJ, Oscar-Berman M. Alcoholism, aging, and functional cerebral asymmetries. *Psychol Bull*. 1989; 106 (1): 128-147.
6. Oscar-Berman M, Schendan HE. Asymmetries of brain function in alcoholics: Relationship to aging. W: Obler L, Connor LT. red. *Neurobehavior of language and cognition: Studies of normal aging and brain damage*. New York: Kluwer Academic Press; 2000: 213-240.

7. Pfefferbaum A, Adelsteinsson F, Sullivan EV. Dysmorphology and microstructural degradation of the corpus callosum: Interaction of age and alcoholism. *Neurobiol Aging*. 2006; 27 (7): 994-1009.
8. Nixon K, Crews FT. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem*. 2002; 83 (5): 1087-1093.
9. Walker DW, Barnes DE, Zornetzer SF. Neuronal loss in hippocampus induced by prolonged ethanol consumption in rats. *Science*. 1980; 209 (4457): 711-713.
10. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC. i wsp. International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409 (6822): 860-921.
11. Colantuoni C, Purcell AE, Bouton CM, Pevsner J. High throughput analysis of gene expression in the human brain. *J Neurosci Res*. 2000; 59 (1): 1-10.
12. Flavell SW, Greenberg ME. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 2008; 31: 563-590.
13. Blanchard AP, Friend SH. Cheap DNA arrays-it's not all smoke and mirrors. *Nat Biotechnol*. 1999; 17 (10): 953.
14. Nelson SB, Hempel C., Sugino K. Probing the transcriptome of neuronal cell types. *Curr Opin Neurobiol*. 2006; 16 (5): 571-576.
15. Bradley KC, Meisel RL. Sexual behavior induction of c-Fos in the nucleus accumbens and amphetamine-stimulated locomotor activity are sensitized by previous sexual experience in female Syrian hamsters. *J Neurosci*. 2001; 21 (6): 2123-2130.
16. Di Chiara G, Bassareo V, Fenu S, De Luca MA, Spina L, Cadoni C, Acquas E, Carboni E, Valentini V, Lecca D. Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology*. 2004; 47 (supplement 1): 227-241.
17. Hernandez L, Hoebel BG. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sci*. 1988; 42 (18): 1705-1712.
18. Mobbs D, Greicius MD, Abdel-Aziz E, Menon V, Reiss AL. Humor modulates the mesolimbic reward centers. *Neuron*. 2003; 40 (5): 1041-1048.
19. Pfau JG, Damsma G, Nomikos GG, Wenkstern DG, Blaha CD, Phillips AG, Fibiger HC. Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain Res*. 1990; 530 (2): 345-348.
20. Yoshida M, Yokoo H, Mizoguchi K, Kawahara H, Tsuda A, Nishikawa T, Tanaka M. Eating and drinking cause increased dopamine release in the nucleus accumbens and ventral tegmental area in the rat: measurement by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett*. 1992; 139 (1): 73-76.
21. Kim MO, Lee YK, Choi WS, Kim JH, Hwang SK, Lee BJ, Kang SG, Kim K, Baik SH. Prolonged ethanol intake increases D2 dopamine receptor expression in the rat brain. *Mol Cells*. 1997; 7 (5): 682-687.
22. Freund G, Ballinger WE. Loss of synaptic receptors can precede morphologic changes induced by alcoholism. *Alcohol Alcohol Suppl*. 1991; 1: 385-391.
23. Darstein MB, Landwehrmeyer GB, Feuerstein TJ. Changes in NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain following withdrawal from forced long-term ethanol intake. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2000; 361 (2): 206-213.
24. Bassareo V, De Luca MA, Aresu M, Aste A, Ariu T, Di Chiara G. Differential adaptive properties of accumbens shell dopamine responses to ethanol as a drug and as a motivational stimulus. *Eur J Neurosci*. 2003; 17 (7): 1465-1472.
25. Ericson M, Molander A, Löf E, Engel JA, Söderpalm B. Ethanol elevates accumbal dopamine levels via indirect activation of ventral tegmental nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol*. 2003; 467 (1-3): 85-93.
26. Ratti MT, Bo P, Giardini A, Soragna D. Chronic alcoholism and the frontal lobe: which executive functions are impaired? *Acta Neurol Scand*. 2002; 105 (4): 276-281.
27. Pfefferbaum A, Desmond JE, Galloway C, Menon V, Glover GH, Sullivan EV. Reorganization of frontal systems used by alcoholics for spatial working memory: an fMRI study. *Neuroimage*. 2001; 14 (1): 7-20.
28. Harper CG, Kril JJ, Holloway RL. Brain shrinkage in chronic alcoholics: a pathological study. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985; 290 (6467): 501-504.
29. Kril JJ, Harper CG. Neuronal counts from four cortical regions of alcoholic brains. *Acta Neuropathol*. 1989; 79 (2): 200-204.
30. Kril JJ, Halliday GM, Svoboda MD, Cartwright H. The cerebral cortex is damaged in chronic alcoholics. *Neuroscience*. 1997; 79 (4): 983-998.
31. Flatscher-Bader T, van der Brug M, Hwang JW, Gochee PA, Matsumoto I, Niwa S, Wilce PA. Alcohol-responsive genes in the frontal cortex and nucleus accumbens of human alcoholics. *J Neurochem*. 2005; 93 (2): 359-370.
32. Liu J, Lewohl JM, Dodd PR, Randall PK, Harris RA, Mayfield RD. Gene expression profiling of individual cases reveals consistent transcriptional changes in alcoholic human brain. *J Neurochem*. 2004; 90 (5): 1050-1058.
33. Mayfield RD, Lewohl JM, Dodd PR, Herlihy A, Liu J, Harris RA. Patterns of gene expression are altered in the frontal and motor cortices of human alcoholics. *J Neurochem*. 2002; 81 (4): 802-813.
34. Sokolov BP, Jiang L, Trivedi NS, Aston C. Transcription profiling reveals mitochondrial, ubiquitin and signaling systems abnormalities in postmortem brains from subjects with a history of alcohol abuse or dependence. *J Neurosci Res*. 2003; 72 (6): 756-767.
35. Iwamoto K, Bundo M, Yamamoto M, Ozawa H, Saito T, Kato T. Decreased expression of NEFH and PCP4/PEP19 in the prefrontal cortex of alcoholics. *Neurosci Res*. 2004; 49 (4): 379-385.
36. Lewohl JM, Wang L, Miles MF, Zhang L, Dodd PR, Harris RA. Gene expression in human alcoholism: microarray analysis of frontal cortex. *Alcohol Clin Exp Res*. 2000; 24 (12): 1873-1882.
37. Freund G, Anderson KJ. Glutamate receptors in the frontal cortex of alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1996; 20 (7): 1165-1172.
38. Hoffman PL, Tabakoff B. The role of the NMDA receptor in ethanol withdrawal. *EXS*. 1994; 71: 61-70.
39. Jasmin L, Wu MV, Ohara PT. GABA puts a stop to pain. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2004; 3 (6): 487-505.
40. Kumar S, Fleming RL, Morrow AL. Ethanol regulation of gamma-aminobutyric acid A receptors: genomic and nongenomic mechanisms. *Pharmacol Ther*. 2004; 101 (3): 211-226.
41. Nagy J. The NR2B subtype of NMDA receptor: a potential target for the treatment of alcohol dependence. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2004; 3 (3): 169-179.
42. Lambert TJ, Velakoulis D, Pantelis C. Medical comorbidity in schizophrenia. *Med J Aust*. 2003; 178: S67-70.
43. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, Haroutunian V, Fienberg AA. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98 (8): 4746-4751.
44. Calabrese V, Renis M, Calderone A, Russo A, Reale S, Barcellona ML, Rizza V. Stress proteins and SH-groups in oxidant-induced cellular injury after chronic ethanol administration in rat. *Free Radic Biol Med*. 1998; 24 (7-8): 1159-1167.
45. Renis M, Calabrese V, Russo A, Calderone A, Barcellona ML, Rizza V. Nuclear DNA strand breaks during ethanol-induced oxidative stress in rat brain. *FEBS Lett*. 1996; 390 (2): 153-156.
46. Flatscher-Bader T, van der Brug MP, Landis N, Hwang JW, Harrison E, Wilce PA. Comparative gene expression in brain regions of human alcoholics. *Genes Brain Behav*. 2006; 5 (supplement 1): 78-84.
47. Brodie MS. Increased ethanol excitation of dopaminergic neurons of the ventral tegmental area after chronic ethanol treatment. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002; 26 (7): 1024-1030.

48. Diana M, Pistis M, Carboni S, Gessa GL, Rossetti ZL. Profound deceleration of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: electrophysiological and biochemical evidence. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90 (17): 7966-1969.
49. Diana M, Pistis M, Muntoni A, Gessa G. Mesolimbic dopaminergic reduction outlasts ethanol withdrawal syndrome: evidence of protracted abstinence. *Neuroscience*. 1996; 71 (2): 411-415.
50. Thielen RJ, Engleman EA, Rodd ZA, Murphy JM, Lumeng L, Li TK, McBride WJ. Ethanol drinking and deprivation alter dopaminergic and serotonergic function in the nucleus accumbens of alcohol-preferring rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 309 (1): 216-225.
51. Rossetti ZL, Isola D, De Vry J, Fadda F. Effects of nimodipine on extracellular dopamine levels in the rat nucleus accumbens in ethanol withdrawal. *Neuropharmacology*. 1999; 38 (9): 1361-1369.
52. Tupala E, Hall H, Bergström K, Särkioja T, Räsänen P, Mantere T, Callaway J, Hiltunen J, Tiihonen J. Dopamine D(2)/D(3)-receptor and transporter densities in nucleus accumbens and amygdala of type 1 and 2 alcoholics. *Mol Psychiatry*. 2001; 6 (3): 261-267.
53. Flatscher-Bader T, Zuvela N, Landis N, Wilce PA. Smoking and alcoholism target genes associated with plasticity and glutamate transmission in the human ventral tegmental area. *Hum Mol Genet*. 2008; 17 (1): 38-51.
54. Huang YH, Sinha SR, Tanaka K, Rothstein JD, Bergles DE. Astrocyte glutamate transporters regulate metabotropic glutamate receptor-mediated excitation of hippocampal interneurons. *J Neurosci*. 2004; 24 (19): 4551-4559.
55. Wojcik SM, Rhee JS, Herzog E, Sigler A, Jahn R, Takamori S, Brose N, Rosenmund C. An essential role for vesicular glutamate transporter 1 (VGLUT1) in postnatal development and control of quantal size. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101 (18): 7158-7163.
56. Wilson NR, Kang J, Hueske EV, Leung T, Varoqui H, Murnick JG, Erickson JD, Liu G. Presynaptic regulation of quantal size by the vesicular glutamate transporter VGLUT1. *J Neurosci*. 2005; 25 (26): 6221-6234.
57. Koponen E, Lakso M, Castrén E. Overexpression of the full-length neurotrophin receptor trkB regulates the expression of plasticity-related genes in mouse brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004; 130 (1-2): 81-94.
58. Xu B, Gottschalk W, Chow A, Wilson RI, Schnell E, Zang K, Wang D, Nicoll RA, Lu B, Reichardt LF. The role of brain-derived neurotrophic factor receptors in the mature hippocampus: modulation of long-term potentiation through a presynaptic mechanism involving TrkB. *J Neurosci*. 2000; 20 (18): 6888-6897.
59. Tyler WJ, Pozzo-Miller LD. BDNF enhances quantal neurotransmitter release and increases the number of docked vesicles at the active zones of hippocampal excitatory synapses. *J Neurosci*. 2001; 21 (12): 4249-4258.
60. Bolton MM, Pittman AJ, Lo DC. Brain-derived neurotrophic factor differentially regulates excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal cultures. *J Neurosci*. 2000; 20 (9): 3221-3232.
61. Deller T, Korte M, Chabanis S, Drakew A, Schwegler H, Stefani GG, Zuniga A, Schwarz K, Bonhoeffer T, Zeller R, Frotscher M, Mundel P. Synaptopodin-deficient mice lack a spine apparatus and show deficits in synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100 (18): 10494-10499.
62. Graf ER, Zhang X, Jin SX, Linhoff MW, Craig AM. Neurexins induce differentiation of GABA and glutamate postsynaptic specializations via neuroligins. *Cell*. 2004; 119 (7): 1013-1026.
63. Valor LM, Grant SG. Integrating synapse proteomics with transcriptional regulation. *Behav Genet*. 2007; 37 (1): 18-30.
64. Panksepp J. *Affective Neuroscience: Foundation of human and animal emotion*. New York: Oxford University Press; 1998.
65. Jodzio K. *Neuropsychologia intencjonalnego działania. Koncepcje funkcji wykonawczych*. Warszawa: Wyd. Scholar; 2008.

Wpłynęło: 20.07.2009. Zrecenzowano: 17.08.2009. Przyjęto: 02.09.2009.

Adres do korespondencji: Dr Mariusz Panczyk, ul. Żwirki i Wigury 61, 02-091 Warszawa, tel. 600-044-356, mail: mariusz.panczyk@wum.edu.pl.