

STRESZCZENIE

Odpowiednie reagowanie na bodźce apetytywne w środowisku jest dla zwierząt kluczową umiejętnością, umożliwiającą im przetrwanie i reprodukcję. Niektóre substancje psychoaktywne też wywołują przyjemne doznania, ale ich działanie jest związane z farmakologicznym wpływem na neurony. Stąd wyróżnia się dwa rodzaje bodźców apetytywnych: nagrody naturalne oraz farmakologiczne.

Z nagrodami farmakologicznymi związane jest uzależnienie, u którego podstaw stoją wywołane przez daną substancję zmiany w jakości i liczbie połączeń neuronalnych, zwane zmianami plastycznymi. Procesy plastyczne występują też fizjologicznie w mózgu i są uznawane za molekularną podstawę śladu pamięciowego. Podejrzewa się, że farmakologicznie wywołane zmiany plastyczne występują w rejonach mózgu przetwarzających nagrody naturalne, gdzie kodują patologicznie trwałe wspomnienia o narkotyku.

Stosując dwa mysie modele ekspozycji na nagrody, sprawdziłem czy informacje o nich rzeczywiście przetwarzane są przez te same części mózgu. W przypadku nagrody naturalnej, myszy miały przez dwie godziny dziennie dostęp do słodkiego roztworu sacharozy. Nagrodą farmakologiczną były zastrzyki z roztworu kokainy. Zwierzęta były ekspozowane na te nagrody jednokrotnie lub przez siedem kolejnych dni.

By sprawdzić jakie struktury mózgowe angażuje każda z nagród, w całym mózgu sprawdziłem poziom c-Fos, który jest białkiem związanym ze zwiększoną aktywnością neuronalną i plastycznością synaptyczną. Wykorzystując optyczne oczyszczanie tkanek i mikroskopię arkusza światła ustaliłem, że obie nagrody angażowały struktury w rozległych częściach mózgu. Wzór podwyższonej aktywności częściowo pokrywał się ze sobą dla obu nagród, ale w przypadku wielu obszarów był specyficzny tylko dla ekspozycji na kokainę lub cukier. Analizując wzrost poziomu c-Fos po jednokrotnej i kilkukrotnej ekspozycji zwierząt na słodką wodę zauważyłem, że jest on wyższy w przypadku jednokrotnego podania. W przypadku kokainy, efekt ten był odwrotny i po siedmiu dniach podawania narkotyku ponad połowa struktur w mózgu wykazywała zmienioną aktywność.

Przetwarzanie informacji o cukrze i kokainie badałem też na poziomie pojedynczych neuronów w obrębie jądra środkowego ciała migdałowatego (CeA). CeA przetwarza bodźce o znaczeniu emocjonalnym i składa się z dwóch części: przyśrodkowej (CeM) i bocznej (CeL). Technikami elektrofizjologicznymi zbadałem zmiany plastyczne wywołane nagrodami w obrębie CeA i w CeM zaobserwowałem je u zwierząt zarówno po ekspozycji na cukier, jak i na kokainę. Analiza wykazała, że skutkowały one wzmocnieniem siły synaps dochodzących

do CeM. Zmiany plastyczne w CeL dotyczyły tylko zwierząt eksponowanych na kokainę i skutkowały osłabieniem siły synaps tamtejszych neuronów.

Zaangażowanie CeA w przetwarzanie obu typów nagród potwierdziłem poprzez badanie zachowania zwierząt ze zmienioną aktywnością CeM. Stosując metody inżynierii chemo-genetycznej zablokowałem motywację zwierząt do picia słodkiej wody oraz opóźniłem wystąpienie niektórych skutków behawioralnych wywołanych przez kokainę.

W CeA odkryłem też populacje wrażliwych na dopaminę neuronów o dwóch typach receptorów: DRD1 oraz DRD2. Określiłem, że neurony w CeL eksprymują tylko DRD2, a w CeM mają na swojej powierzchni albo DRD1 albo DRD2. Okryłem, że kokaina i cukier różnie modulują aktywność tych neuronów w CeM. Kokaina zwiększa spontaniczną aktywność neuronów z receptorami DRD1, a zmniejsza tych z DRD2. Cukier z kolei zwiększa spontaniczną aktywność neuronów z DRD2, a zmniejsza z DRD1.

Podsumowując, wyniki badań wskazują, że informacje o cukrze i o kokainie są różnie przetwarzane w mózgu. Odrębność tych nagród sprawia, że wymagają one scharakteryzowania indywidualnych modeli układu nagrody. Informacje dotyczące cukru i kokainy są także różnorodnie przetwarzane przez neurony CeA, jednak dokładne zrozumienie tych mechanizmów wymaga uwzględnienia roli różnych populacji neuronów.

ABSTRACT

Appropriate response to appetitive stimuli in the environment is a crucial skill for animals, enabling their survival and reproduction. While some psychoactive substances also induce pleasurable sensations, their actions rely on the pharmacological influence on neurons. Hence, two types of appetitive stimuli are distinguished: natural and pharmacological rewards.

Pharmacological rewards are associated with addiction, and at the core of substance dependence are changes in the quantity and quality of neuronal connections induced by psychoactive substances, known as plastic changes. Plastic changes also occur physiologically in the brain and are considered as the molecular bases of memorizing. It is suspected that the plastic changes induced by pharmacological rewards occur in brain regions that usually process natural rewards, encoding pathologically persistent memories of the drug.

Using two mouse models of reward exposure, I investigated whether information about them is indeed processed by the same brain regions. As natural reward, mice had access to a sweet sucrose solution for two hours daily. As pharmacological reward, mice received intraperitoneal injections of a cocaine saline solution. Animals were exposed to these rewards either once or for seven consecutive days.

To investigate brain structures engaged by these rewards, I examined the level of c-Fos (a protein associated with neuronal activity and synaptic plasticity) throughout the entire brain. Utilizing optical tissue clearing and light sheet microscopy, I found that both rewards engaged structures in extensive brain regions. The pattern of increased activity partially overlapped for both rewards, but in the case of many areas it was specific only to exposure to cocaine or sugar. By analyzing the increase of c-Fos level after single vs. multiple exposures of animals to sweet water, I observed that it was higher after a single administration. In the case of cocaine, these effects were opposite, and after seven days of drug administration, over half of brain structures showed altered activity.

I also examined the processing of information about sugar and cocaine at the level of individual neurons within the central nucleus of the amygdala (CeA). CeA processes emotionally significant stimuli and consists of two parts: medial (CeM) and lateral (CeL). Using electrophysiological techniques, I investigated plastic changes induced by rewards in CeA. I found that both sugar and cocaine induce plastic changes in CeM. Electrophysiological analysis showed that these plastic changes resulted in enhanced synaptic strength reaching CeM. On the other hand, plastic changes in CeL were observed only in animals exposed to cocaine, and they resulted in a weakening of synaptic strength.

I confirmed the involvement of CeA in processing both rewards by studying the behavior of animals with altered CeM activity. With chemogenetic tools, I blocked the motivation of animals to sweet water and delayed the onset of some behavioral effects induced by cocaine.

I also discovered in CeA a population of dopamine sensitive neurons with two types of receptors: DRD1 and DRD2. I found that neurons in CeL express only DRD2, while in CeM, they have either DRD1 or DRD2 on their surface. I found that cocaine and sugar differently modulate the activity of these neurons in CeM. Cocaine increases the spontaneous activity of neurons with DRD1 and decreases those with DRD2. Sugar, on the other hand, increases the spontaneous activity of neurons with DRD2 and decreases those with DRD1.

In summary, the results of the study indicate that information about sugar and cocaine is processed differently in the brain. The distinct nature of these rewards requires the characterization of individual reward system models. Information about sugar and cocaine is also variably processed by CeA neurons, but a precise understanding of these mechanisms requires consideration of the roles of different neuron populations.