

Uzależnienie od opioidów (z *ang.* opioid use disorder; OUD) to jeden z najważniejszych kryzysów trapiących współczesne społeczeństwa. Wraz z rozpowszechnieniem syntetycznych, opioidowych leków przeciwbólowych (np. oksykodonu), kryzys ten uległ znacznemu nasileniu, zarówno w Polsce jak i na świecie. OUD to zaburzenie, w którym do nasilenia głównych objawów dochodzi w trakcie abstynencji w wyniku ekspozycji na bodźce wcześniej skojarzone z opioidem, oraz w wyniku pojawiania się objawów syndromu odstawienia. Bodźce te wywołują patologiczne zachowania takie jak głód i poszukiwanie opioidu, motywowane chęcią osiągnięcia przyjemnego stanu wywołanego przez opioid, jak i uniknięcia nieprzyjemnych stanów związanych z syndromem odstawienia. Możliwość ograniczenia nawrotów przyjmowania opioidów jak i zmniejszenia negatywnych objawów odstawienia w trakcie abstynencji to główne cele dla skutecznej farmakoterapii OUD. Dotychczasowe próby jednak nie przyniosły satysfakcjonujących efektów, co skłoniło do poszukiwania alternatywnej strategii leczenia polegającej na zastąpieniu nadużywanego opioidu, lekiem o podobnym profilu receptorowym ale słabiej/wolniej działającym (np. metadon lub buprenorfina), będącym podstawą leczenia substytucyjnego. Pomimo ponad 60 letniej historii stosowania takiej strategii w leczeniu OUD, mechanizmy mózgowe, a w szczególności specyficzne układy struktur i szlaków neurotransmisyjnych zaangażowane w terapeutyczną skuteczność leczenia substytucyjnego są słabo poznane. Co więcej, stosowane leki same mogą mieć potencjał uzależniający oraz wywoływać szereg skutków ubocznych, wskazując na ryzyko ich stosowania. W ostatnich latach poznano strukturę receptorów opioidowych oraz opracowano modele komputerowe tych białek. Co więcej, najnowsze badania wskazują, że zróżnicowanie efektów aktywacji receptorów opioidowych zależy może od związanych z receptorami opioidowymi białek G lub białka  $\beta$ -arestyny. Badania te otworzyły możliwość poszukiwania substancji funkcjonalnie selektywnych („stronniczy” agonista, biased agonist), które aktywują selektywnie jedno z tych białek, przez co potencjalnie możliwe jest zminimalizowanie skutków ubocznych związanych z leczeniem substytucyjnym. Jedną z takich substancji jest PZM21 - funkcjonalnie selektywny agonista receptora opioidowego  $\mu$ , który po związaniu się z receptorem nie aktywuje  $\beta$ -arestyny. U gryzoni PZM-21 nie wywołuje pozytywnego wzmocnienia co wskazuje na mniejszy potencjał uzależniający w porównaniu z innymi opioidami *i.e.* z metadonem czy buprenorfiną.

**Celem projektu jest** wykazanie roli aktywności neuronów i struktur mózgowych w modulowaniu zachowań poszukiwawczych oksykodonu oraz objawów związanych z odstawieniem opioidów u szczurów oraz identyfikacja nowych leków zmniejszających symptomy OUD. Pierwszym zadaniem jest poszukiwanie węzłów aktywności neuronalnej w mózgu szczura związanych z ekspresją wybranych symptomów OUD przy pomocy nowoczesnych metod anatomicznych, optogenetycznych i neurofizjologicznych. Ostatnie odkrycia dotyczące nowych „stronniczych” agonistów receptorów opioidowych umożliwiły badania ich wpływu na neuronalne i behawioralne korelaty wybranych symptomów OUD. Z tego powodu drugim zadaniem jest wykazanie potencjału terapeutycznego wybranych nowych funkcjonalnie selektywnych agonistów receptorów opioidowych  $\mu$  i  $\kappa$  w zmniejszaniu nasilenia głodu i poszukiwania oksykodonu oraz objawów odstawienia od opioidów u szczurów.

**Opis badania** W badaniach zastosujemy innowacyjne połączenie oznaczania komórek za pomocą znaczników fluorescencyjnych i wektorów wirusowych, immunohistochemii, optogenetyki, pomiarów aktywności komórek i struktur *in vivo*, systemowych i przezczaszkowych podań leków oraz szeregu testów behawioralnych u szczurów w jedną strategię badawczą. Innowacyjność metodyki projektu polega na zaplanowaniu badań umożliwiających identyfikację neuronów aktywowanych przez bodźce warunkowe i/lub uwarunkowane zachowania oraz wpływu „stronniczych” agonistów receptorów opioidowych na taką aktywność.

**Powodem dla podjęcia badań** jest potrzeba wykazania czy uwarunkowane zachowania takie jak poszukiwanie oksykodonu czy negatywne stany towarzyszące odstawieniu od opioidów aktywują określone populacje neuronalne i układy struktur w mózgu odpowiedzialne za objawy OUD. Kolejnym ważnym powodem jest potrzeba wykazania czy leki stosowane w leczeniu substytucyjnym lub nowe leki funkcjonalnie selektywne względem receptorów opioidowych modulują aktywność w tych zidentyfikowanych węzłach aktywności neuronalnej, co wskazało by na neurofizjologiczne mechanizmy potencjału terapeutycznego ich stosowania.

**Oczekiwane rezultaty:** spodziewamy się, że identyfikacja takich mechanizmów stanowić będzie znaczny progres w rozumieniu patofizjologii uzależnienia od opioidów oraz pomoże wskazać nowe strategie leczenia tego zaburzenia.