Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

# AUTOREFERAT

Afektywne i neurobiologiczne mechanizmy uzależnienia od alkoholu i nikotyny z uwzględnieniem regulacji serotoninowej – badania przedkliniczne

**dr n. med. Magdalena Zaniewska**

**Kraków, 2026**

## Spis treści

1.Imię i nazwisko ..... 4

2.Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej. ..... 4

3.Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych ..... 4

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). ..... 5

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego ..... 5

4.2. Lista prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego ..... 5

4.3. Określenie indywidualnego wkładu w powstanie prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego ..... 6

4.4. Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania. ..... 8

4.4.1. Wprowadzenie ..... 8

4.4.2. Cel naukowy prac ..... 17

4.4.3. ROZWÓJ UZALEŻNIENIA – poszukiwanie czynników zwiększających podatność na rozwój uzależnienia ..... 17

4.4.4. ODSTAWIENIE I OBJAWY AFEKTYWNE – zmiany w redagowaniu mRNA receptorów 5-$HT_{2C}$ ..... 22

4.4.5. NAWRÓT UZALEŻNIENIA – poszukiwanie neurobiologicznych mechanizmów zwiększających ryzyko nawrotu ..... 25

4.4.6. Podsumowanie cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego ..... 33

4.4.7. Omówienie ewentualnego wykorzystania wyników prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego ..... 35

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej ..... 43

5.1. Aktywność naukowa i najważniejsze osiągnięcia PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora ..... 43

5.1.1. Aktywność naukowa PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora ..... 43

5.1.2. Najważniejsze osiągnięcia PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora ..... 48

5.1.3. Podsumowanie dorobku PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora ..... 48

5.2. Aktywność naukowa i najważniejsze osiągnięcia PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora .. 48

5.2.1. Aktywność naukowa PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora ..... 48

5.2.2. Najważniejsze osiągnięcia PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora ..... 56

5.2.3. Podsumowanie dorobku PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora ..... 57

5.3. Sumaryczny dorobek naukowy (2005-2026) (dotyczy wszystkich publikacji) ..... 57

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę ..... 58

6.1. Działalność dydaktyczna ..... 58

6.2. Działalność organizacyjna ..... 59
6.3. Działalność popularyzująca naukę ..... 59
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej. ..... 60
7.1. Udział w zagranicznych stażach naukowych ..... 60
7.2. Udział w projektach badawczych ..... 60
7.2.1. Kierowanie projektami badawczymi ..... 60
7.2.2. Udział w projektach jako wykonawca projektu ..... 60
7.3. Udział w konferencjach naukowych o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym ..... 62
7.3.1. Doniesienia zjazdowe – wygłoszone wykłady (PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora) ..... 62
7.3.2. Doniesienia zjazdowe – wygłoszone wykłady (PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora) ..... 62
7.3.3. Doniesienia zjazdowe – prezentacja posteru (PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora) ..... 63
7.3.4. Doniesienia zjazdowe – prezentacja posteru (PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora) 64
7.4. Rola recenzencka w międzynarodowych czasopismach naukowych ..... 65
7.5. Członkostwo w organizacjach naukowych ..... 65
7.6. Nagrody i wyróżnienia ..... 66

## 1. Imię i nazwisko

Magdalena Zaniewska

ORCID: 0000-0001-9716-6661

Scopus ID: 8931829900

Loop profile: 948958

SciProfiles: 1368320

## 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

06.2009 **Dr n. med.**

Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk (obecnie Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, IF PAN), Zakład Farmakologii, Pracownia Farmakologii Uzależnień (obecnie Zakład Farmakologii Uzależnień), Kraków

Dziedzina: nauki medyczne; dyscyplina: biologia medyczna

**Tytuł rozprawy doktorskiej:** *Wpływ ligandów receptorów serotoninowych 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ na behawioralne i biochemiczne efekty nikotyny u szczurów*

**Promotor:** Prof. dr hab. Małgorzata Filip
Rozprawa doktorska otrzymała wyróżnienie

06.2004 **Mgr biotechnologii**

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biotechnologii (obecnie Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii), Zakład Biochemii Fizycznej, Kraków

Specjalizacja: Biologia Molekularna

**Tytuł pracy magisterskiej:** *Molekularne i biochemiczne własności ludzkiej $\alpha_1$-mikroglobuliny*

**Promotor:** Prof. dr hab. Zygmunt Wasylewski
Pierwsza część pracy magisterskiej została wykonana na Uniwersytecie w Lund (Szwecja) pod kierunkiem Prof. Bo Åkerströma, druga część w Zakładzie Biochemii Fizycznej UJ pod kierunkiem Prof. dr hab. Zygmunta Wasylewskiego

## 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

08.2025 – obecnie Adiunkt
IF PAN, Zakład Biochemii Mózgu, Kraków

04.2024 – 08.2025 Adiunkt
IF PAN, Zakład Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych, Kraków

11.2017 – 04.2024 Adiunkt
IF PAN, Zakład Farmakologii, Pracownia Farmakologii i Biostruktury Mózgu (obecnie Zakład Farmakologii i Biostruktury Mózgu), Kraków

*1.08.2023–30.09.2023 – urlop wychowawczy*
*19.05.2020–30.04.2021 – urlop macierzyński/rodzicielski*
*23.10.2019–18.05.2020 – zasiłek chorobowy spowodowany ciążą*

08.2017 – 10.2017 Adiunkt

IF PAN, Zakład Farmakologii Uzależnień, Kraków

07.2009 – 07.2017 Asystent

IF PAN, Zakład Farmakologii, Pracownia Farmakologii Uzależnień (obecnie Zakład Farmakologii Uzależnień), Kraków

*1.12.2016–17.12.2016 – urlop wychowawczy*
*20.02.2013–18.02.2014 – urlop macierzyński /rodzicielski*
*23.11.2012–19.02.2013 – zasiłek chorobowy spowodowany ciążą*

07.2004 – 09.2005 Pracownik inżynieryjno – techniczny

IF PAN, Zakład Farmakologii, Pracownia Farmakologii Uzależnień (obecnie Zakład Farmakologii Uzależnień), Kraków

## 4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

**Afektywne i neurobiologiczne mechanizmy uzależnienia od alkoholu i nikotyny z uwzględnieniem regulacji serotoninowej – badania przedkliniczne**

### 4.2. Lista prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę rozprawy habilitacyjnej zostało udokumentowane cyklem **6 prac oryginalnych** opublikowanych w latach 2015-2024 w recenzowanych czasopismach, znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR).

**Tabela 1.** Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. IF – współczynnik wpływu czasopisma w roku publikacji. MNiSW – punkty MNiSW.

| Lp. | PUBLIKACJA | IF | MNiSW |
|---|---|---|---|
| 1 | **ZANIEWSKA, M***, Alenina, N, Wydra, K, Fröhler, S, Kuśmider, M, McCreary, AC, Chen, W, Bader, M, Filip, M. Discovering the mechanisms underlying serotonin (5-HT)$_{2A}$ and 5-HT$_{2C}$ receptor regulation following nicotine withdrawal in rats. *J Neurochem.* 2015, 134(4): 704-716. https://doi.org/10.1111/jnc.13192 | IF$_{2015}$=3.842 | 30 |
| 2 | **ZANIEWSKA, M***, Gawliński, D, Wyczesana, M, Nowak, E, Kula, K, Maciów-Głąb, M, Jastrzębska, J, Sadakierska-Chudy, A, Bader, M, Fuxe, K. Increased ethanol consumption and locomotion develop upon ethanol deprivation in rats overexpressing the adenosine (A)$_{2A}$ receptor. *Neuroscience* 2019, 418: 133-148. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.08.030 | IF$_{2019}$=3.056 | 100 |
| 3 | **ZANIEWSKA, M***, Nikiforuk, A, Głowacka, U, Brygider, S, Wesołowska, J, Litwa, E, Maćkowiak, M. Chronic lorcaserin treatment reverses the nicotine withdrawal-induced disruptions to | IF$_{2021}$=6.208 | 140 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | behavior and maturation in developing neurons in the hippocampus of rats. *Int J Mol Sci.* 2021, 22(2): 868. https://doi.org/10.3390/IJMS22020868 | | |
| **4** | **ZANIEWSKA, M*,** Mosienko, V, Bader, M, Alenina, N*. *Tph2* gene expression defines ethanol drinking behavior in mice. *Cells* 2022, 11(5): 874. https://doi.org/10.3390/CELLS11050874 | $IF_{2022}$=6.0 | 140 |
| **5** | **ZANIEWSKA, M*,** Alenina, N, Fröhler, S, Chen, W, Bader, M. Ethanol deprivation and central 5-HT deficiency differentially affect the mRNA editing of the 5-$HT_{2C}$ receptor in the mouse brain. *Pharmacol Rep.* 2023, 75(6): 1502-1521. https://doi.org/10.1007/S43440-023-00545-6 | $IF_{2023}$=3.6 | 140 |
| **6** | **ZANIEWSKA, M*,** Brygider, S, Majcher-Maślanka, I, Gawliński, D, Głowacka, U, Glińska, S, Balcerzak, Ł. The impact of voluntary wheel-running exercise on hippocampal neurogenesis and behaviours in response to nicotine cessation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2024, 241(12): 2585-2607. https://doi.org/10.1007/S00213-024-06705-7 | $IF_{2024}$=3.3 | 140 |

*** autor korespondencyjny**

Zgodnie z analizą bibliometryczną łączny **IF** cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego wynosi **26.006** (MNiSW: **690**).

### 4.3. Określenie indywidualnego wkładu w powstanie prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

**Artykuł 1:** Część tego artykułu dotycząca zachowań prodepresyjnych u zwierząt w okresie odstawienia nikotyny oraz zmian autoradiograficznych w obrazie receptorów serotoninowych (5-HT)$_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ po wielokrotnych podaniach nikotyny (tj. wyniki przedstawione w Artykule 1 na Ryc. 2–3 oraz w Tab. 1–2) stanowiła fragment mojej rozprawy doktorskiej wykonanej pod kierunkiem Prof. dr hab. Małgorzaty Filip.

Analiza poziomu transkryptów receptorów 5-$HT_{2C}$, a także wariantów mRNA oraz izoform receptora 5-$HT_{2C}$ w okresie odstawienia nikotyny (tj. wyniki zamieszczone w Artykule 1 na Ryc. 5–6 oraz w Tab. 3–4) wchodzą w zakres mojej rozprawy habilitacyjnej. Pomysłodawcą tej części badań byłam ja oraz Prof. dr hab. Małgorzata Filip. W tej części pracy byłam odpowiedzialna za: pozyskanie finansowania (stypendium programu DAAD) umożliwiającego realizację badań w Centrum Medycyny Molekularnej im. Max-Delbrücka (MDC) w Berlinie, wykonanie podań obwodowych nikotyny u szczurów oraz − wspólnie z KW − izolację struktur mózgowych na potrzeby dalszych analiz molekularnych przeprowadzonych w Berlinie. We współpracy z naukowcami z MDC (NA, SF, WC i MB) opracowaliśmy metodologię badań molekularnych. Wspólnie z SF wykonaliśmy badania molekularne (**MZ:** izolacja RNA, przygotowanie produktów PCR do sekwencjonowania nowej generacji (NGS); SF: wykonanie NGS) oraz analizy wyników (SF: analiza bioinformatyczna danych sekwencjonowania; **MZ:** analiza statystyczna). Odpowiadałam również za wizualizację i interpretację wyników, napisanie i korektę manuskryptu (po uwagach współautorów i recenzentów).

**Artykuł 2:** W tym artykule byłam pomysłodawcą badań i wspólnie z MB oraz KF zaprojektowaliśmy doświadczenia. Razem z EN wygenerowałam transgeniczne szczury z nadekspresją receptorów adenozynowych (A)$_{2A}$. Odpowiadałam za genotypowanie szczurów

oraz realizację badań behawioralnych. Kluczowe etapy badań behawioralnych, zwłaszcza procedury wymagające pracy zespołowej (testy do badania lęku i zachowań prodepresyjnych, pobieranie krwi oraz zabiegi pielęgnacyjne), realizowałam we współpracy z DG, MW, EN, JJ i ASC. Analizę stężenia alkoholu we krwi wykonałam wspólnie z KK i MMG. Byłam odpowiedzialna za analizę danych wspólnie z DG (DG: wprowadzenie danych do Excela, **MZ**: dalsze opracowanie danych, w tym analiza statystyczna), a także graficzną wizualizację wyników oraz ich interpretację. Napisałam (wspólnie z MB, KF i DG) i poprawiłam (po uwagach współautorów i recenzentów) manuskrypt.

**Artykuł 3:** W tej publikacji byłam odpowiedzialna za zdobycie funduszy umożliwiających wykonanie badań naukowych opisanych w manuskrypcie (projekt NCN OPUS 9). Wspólnie z MM i AN współtworzyłam koncepcję badań. Razem z MM planowałam metodologię związaną z neurogenezą. Wykonałam także badania behawioralne (wspólnie z UG i SB), z wyjątkiem testu rozpoznawania nowego obiektu, który wykonała EL. Byłam również odpowiedzialna za przeprowadzenie barwień immunoenzymatycznych oraz immunofluorescencyjnych (wspólnie z UG). Wspólnie z JW przeprowadziłam skanowanie wybarwionych preparatów na mikroskopie konfokalnym – JW uczestniczyła w wykonaniu pierwszych skanów, wspierając mnie w dostosowaniu parametrów obrazowania. Odpowiadałam także za przeprowadzenie analizy danych (wspólnie z AN, UG, SB, JW i EL), graficznej wizualizacji uzyskanych wyników (wspólnie z UG oraz SB). Dokonałam również interpretacji otrzymanych wyników, napisałam i poprawiłam (po uwagach współautorów i recenzentów) manuskrypt.

**Artykuł 4:** W tym artykule byłam współautorem koncepcji badań (wspólnie z MB oraz NA) i metodologii pracy (wspólnie z VM oraz NA). Pozyskałam fundusze umożliwiające wykonanie badań naukowych w MDC w Berlinie (stypendium MNiSW programu „Mobilność Plus"). Wykonałam również genotypowanie myszy *Tph2*$^{-/-}$, przeprowadziłam badania behawioralne i molekularne. Odpowiadałam za przeprowadzenie analizy, interpretacji i graficznej wizualizacji uzyskanych wyników, a także za napisanie i korektę (po uwagach współautorów i recenzentów) manuskryptu.

**Artykuł 5:** W tym artykule byłam odpowiedzialna za zdobycie funduszy umożliwiających wykonanie badań naukowych w MDC w Berlinie (stypendium MNiSW programu „Mobilność Plus"). Wspólnie z NA, WC i MB byliśmy autorami koncepcji badań i projektu metodologii pracy. Odpowiadałam również za genotypowanie myszy *Tph2*$^{-/-}$ oraz przeprowadzenie badań behawioralnych. Wspólnie z SF wykonaliśmy badania molekularne (**MZ:** izolacja RNA, przygotowanie produktów PCR do NGS; SF: wykonanie NGS). Wspólnie z SF i WC przeprowadziliśmy analizę uzyskanych wyników (SF i WC: bioinformatyczna analiza danych sekwencjonowania; **MZ:** analiza statystyczna wyników). Odpowiadałam także za graficzną wizualizację i interpretację wyników, napisanie i poprawę (po uwagach współautorów i recenzentów) manuskryptu.

**Artykuł 6:** W tym artykule byłam autorem koncepcji i projektu metodologii badań. Pozyskałam także fundusze umożliwiające wykonanie badań naukowych opisanych w manuskrypcie (projekt NCN OPUS 9). Wspólnie z SB i DG wykonałam badania behawioralne. Byłam odpowiedzialna za przeprowadzenie barwień immunoenzymatycznych oraz immunofluorescencyjnych (wspólnie z IMM, DG i UG). Wspólnie z SG i ŁB

przeprowadziłam skanowanie wybarwionych preparatów na mikroskopie konfokalnym na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Odpowiadałam również za przeprowadzenie analizy danych, graficznej wizualizacji wyników oraz obróbki obrazów z mikroskopu konfokalnego do publikacji. Dokonałam również interpretacji otrzymanych wyników, napisałam i poprawiłam (po uwagach współautorów i recenzentów) manuskrypt.

Źródła finansowania badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego:

1. *Signalling cascades underlying behavioural effects of nicotine in rats* – Niemiecka Centrala Wymiany Akademickiej – stypendium naukowe DAAD, nr projektu: A/10/05975 Referat 323, okres realizacji: 17.07.2010 – 16.09.2010, miejsce realizacji projektu: MDC w Berlinie. Rola habilitantki: **kierownik projektu i główny wykonawca** projektu. **Artykuł 1**.
2. *Zmiany w neurogenezie w okresie odstawienia samopodawania nikotyny u szczurów - rola receptorów serotoninowych (5-HT)$_{2C}$* – NCN – projekt OPUS 9, nr projektu: 2015/17/B/NZ4/02621, okres realizacji: 09.03.2016 – 08.07.2022, miejsce realizacji projektu: IF PAN. Rola habilitantki: **kierownik projektu i główny wykonawca** projektu. **Artykuł 3**, **6**.
3. *Definiowanie mechanizmu regulującego udział serotoniny w rozwoju zachowań depresyjnych i uzależnienia od alkoholu u zwierząt* – MNiSW – Program „Mobilność Plus", nr projektu: 632/MOB/2011/0, okres realizacji: 01.10.2011 – 31.10.2012, miejsce realizacji projektu: MDC w Berlinie. Rola habilitantki: **kierownik projektu i główny wykonawca** projektu. **Artykuł 4**, **5**.

## 4.4. Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

### *4.4.1. Wprowadzenie*

**Zaburzenie związane z używaniem alkoholu – skala problemu i mechanizmy**

Alkohol (alkohol etylowy, etanol) to powszechnie dostępna, legalna substancja psychoaktywna, której przewlekłe stosowanie – zgodnie z klasyfikacją DSM-5 – może prowadzić do rozwoju zaburzenia związanego z używaniem alkoholu (ang. ***A**lcohol **U**se **D**isorder*, AUD). AUD jest chronicznym, nawrotowym zaburzeniem charakteryzującym się kompulsywnym spożywaniem alkoholu. Rozpoznanie AUD według DSM-5 wymaga obecności co najmniej dwóch objawów spośród 11 w okresie 12 miesięcy, takich jak spożywanie alkoholu w dużych ilościach lub przez dłuższy czas, głód alkoholowy, kontynuowanie picia pomimo świadomości jego negatywnych konsekwencji, a także rozwój tolerancji czy występowanie objawów odstawiennych po zaprzestaniu spożywania alkoholu. W zależności od liczby występujących objawów wyróżnia się zaburzenie o nasileniu łagodnym (2–3 objawy), umiarkowanym (4–5 objawów) lub ciężkim (≥6 objawów).

Zgodnie z raportem Światowej Organizacji Zdrowia (ang. ***W**orld **H**ealth **O**rganization*, WHO), średnie globalne dzienne spożycie alkoholu 27 g wiąże się ze znacznymi konsekwencjami zdrowotnymi, a ryzyko to rośnie wraz z ilością spożywanego etanolu (WHO 2024). W 2019 r. alkohol był przyczyną 2.6 mln zgonów na całym świecie. Szczególnie niepokojące są dane dotyczące młodych ludzi: w 2019 r. 13% zgonów spowodowanych alkoholem dotyczyło ludzi młodych (WHO 2024). Wielu nastolatków, pod wpływem presji rówieśniczej i indywidualnych cech psychologicznych, takich jak zwiększona impulsywność

czy poszukiwanie wrażeń (ang. *sensation seeking*), angażuje się w ryzykowne zachowania związane ze spożywaniem alkoholu, które mogą zwiększać ryzyko zgonów w tej grupie.

Globalne obciążenie chorobami i urazami wynikającymi ze spożywania alkoholu obejmuje 31 kategorii jednostek chorobowych. Konsumpcja alkoholu powoduje choroby wątroby (stłuszczenie, zapalenie, marskość wątroby), zapalenie trzustki, zaburzenia sercowo-naczyniowe i żołądkowo-jelitowe (WHO 2024). Spożywanie alkoholu wiąże się również ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory (WHO 2024).

Ciężkie picie epizodyczne (ang. ***H**igh **E**pisodic **D**rinking*; HED), definiowane jako spożycie co najmniej 60 g czystego alkoholu podczas jednej okazji, powoduje upojenie alkoholowe (ang. *alcohol intoxication*) charakteryzujące się zaburzeniem świadomości, funkcji poznawczych i koordynacji ruchowej, zmniejszoną kontrolą impulsów, chwiejnością emocji, agresywnym zachowaniem i zwiększoną drażliwością. Długotrwała konsumpcja alkoholu może prowadzić do trwałych zmian w funkcjonowaniu mózgu, powodujących zaburzenia pamięci, uczenia się, uwagi i regulacji emocji (Oscar-Berman i wsp. 1997).

Zaprzestanie długotrwałego lub ciężkiego picia wywołuje alkoholowy zespół odstawienny, który obejmuje m.in. podwyższone ciśnienie krwi, tachykardię, drżenie rąk, objawy lękowe i problemy ze snem (Yang i wsp. 2022; Gottlieb i wsp. 2024). W ciężkich przypadkach, 2–4 dni po zaprzestaniu spożywania alkoholu, u niektórych osób uzależnionych od alkoholu może również wystąpić majaczenie alkoholowe (ang. *delirium*) charakteryzujące się splątaniem, omamami wzrokowymi i słuchowymi oraz drżeniem (Gottlieb i wsp. 2024). Okres odstawienia często wiąże się również z wystąpieniem objawów depresyjnych, które zwiększają ryzyko nawrotu (Marcinkiewcz 2015).

Na poziomie neurobiologicznym, etanol oddziałuje w mózgu głównie na receptory N-metylo-D-asparaginowe (NMDA), kwasu γ-aminomasłowego typu A ($GABA_A$), glicynowe, $5\text{-}HT_3$ oraz nikotynowe receptory cholinergiczne (nACh), a także na kanały jonowe, w tym kanały wapniowe typu L oraz kanały potasowe aktywowane przez białko G (ang. ***G** protein-activated **i**nwardly **r**ectifying **K**$^+$*; GIRK) (Spanagel 2009). W niskich dawkach etanol hamuje aktywność układu GABA-ergicznego oraz nasila aktywność układów glutaminianergicznego, dopaminergicznego, serotoninowego, cholinergicznego i opioidowego w polu brzusznym nakrywki oraz jądrze półleżącym przegrody (Vengeliene i wsp. 2008; Spanagel 2009), co jest związane z uczuciem euforii oraz pobudzeniem ruchowym (Little 1999). W wyższych dawkach alkohol wykazuje działanie GABA-mimetyczne (za pośrednictwem receptorów $GABA_A$) oraz hamuje aktywność receptorów NMDA, co ma związek z wystąpieniem sedacji oraz zaburzeń koordynacji ruchowej (Little 1999; Spanagel 2009). Ponadto etanol nasila aktywność receptorów glicynowych, nACh oraz $5\text{-}HT_3$, a także kanałów GIRK, a hamuje funkcję kanałów wapniowych typu L (Vengeliene i wsp. 2008; Spanagel 2009). Alkohol oddziałuje na wiele obszarów mózgu, w tym na struktury układu nagrody (m.in. pole brzuszne nakrywki, jądro półleżące przegrody, podregiony kory przedczołowej, hipokamp oraz ciało migdałowate), czyniąc je szczególnie wrażliwymi na dysfunkcje i uszkodzenia (Oscar-Berman i wsp. 1997; Vilpoux i wsp. 2009; Squeglia i wsp. 2014). Wraz z rozwojem kompulsywnego picia alkoholu układ nagrody, obejmujący projekcje dopaminergiczne z pola brzusznego nakrywki do kory przedczołowej i struktur limbicznych, ulega osłabieniu (Balfour 2002; Vengeliene i wsp. 2008).

**Indywidualna podatność, podtypy AUD i ograniczenia terapeutyczne**

Wiele osób sięga po alkohol jako formę samoleczenia (ang. *self-medication*), np. w celu złagodzenia problemów ze snem, zaburzeń lękowych (np. fobii społecznej), depresji lub stresu (Spanagel 2009; Sripada i wsp. 2011; Borrego-Ruiz 2025). Chociaż strategia ta może przynieść chwilową ulgę, z czasem pogłębia te problemy i ostatecznie może prowadzić do rozwoju AUD (Spanagel 2009).

Biorąc pod uwagę heterogeniczność AUD, w tym różnych motywów picia zaproponowano kilka jego typologii, z których typologia według Claude'a Roberta Cloningera należy do najczęściej cytowanych w literaturze (Virkkunen i Linnoila 1997). Zgodnie z modelem badawczym Cloningera (Cloninger i wsp. 1981, 1996), fenotyp typu I − uwarunkowany środowiskowo (ang. *milieu-limited*) – charakteryzuje się późniejszym początkiem, występowaniem u obu płci, utratą kontroli nad piciem, epizodami upijania się oraz osobowością o wysokim poziomie unikania szkód (ang. *high harm avoidance*). Wzorzec picia typu II – głównie dotyka mężczyzn (ang. *male-limited*) – wyróżnia się wczesnym początkiem, wysoką dziedzicznością, nadmiernym piciem, zachowaniami antyspołecznymi, agresywnymi i impulsywnymi. Typ II wiąże się również z obniżonym poziomem 5-HIAA w płynie mózgowo-rdzeniowym, co wskazuje na zmniejszoną aktywność układu 5-HT w mózgu osób z tym podtypem (Fils-Aime i wsp. 1996; Virkkunen i Linnoila 1997). Warto podkreślić, że chociaż niektóre kliniczne cechy AUD opisywane w DSM-5, takie jak wczesny początek używania alkoholu, współwystępowanie zaburzeń zachowania (np. agresji czy wandalizmu) oraz cech antyspołecznych (American Psychiatric Association 2022), w znacznym stopniu pokrywają się z charakterystyką typu II w modelu Cloningera, to jednak model ten nigdy nie został uwzględniony w klasyfikacji diagnostycznej DSM. Obecnie trwają prace Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego nad aktualizacją DSM, obejmujące m.in. udoskonalenie kryteriów diagnostycznych zaburzeń związanych z używaniem substancji psychoaktywnych (Adam 2026).

W ciągu ostatnich kilku dekad opracowano stosunkowo niewiele strategii leczenia AUD. Od czasu zatwierdzenia naltreksonu w 1994 r. oraz akamprozatu w 2004 r. przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (ang. ***F**ood and **D**rug **A**dminstration*; FDA), te dwa leki pierwszego rzutu – wraz z disulfiramem, lekiem drugiego rzutu zatwierdzonym w 1951 r. – pozostają w wielu krajach jedynymi formalnie rekomendowanymi farmakoterapiami w leczeniu AUD, a ich skuteczność jest umiarkowana (Morley i wsp. 2021). Jednym z potencjalnych ograniczeń w opracowywaniu nowych, bardziej skutecznych metod leczenia jest wykorzystywanie w badaniach przedklinicznych modeli zwierzęcych, które nie odzwierciedlają w pełni nasilenia i heterogeniczności AUD u ludzi. W konsekwencji skuteczność nowo badanych leków w takich modelach często nie przekłada się na sytuację kliniczną.

**Zaburzenie związane z używaniem tytoniu – skala problemu, mechanizmy i ograniczenia terapeutyczne**

Nikotyna obecna w produktach tytoniowych, takich jak papierosy czy bezdymne produkty np. podgrzewacze tytoniu (ang. *heat-not-burn devices*), jest drugą – obok alkoholu – jedną z najbardziej rozpowszechnionych legalnych używek, posiadającą silny potencjał uzależniający. Zgodnie z raportem WHO, wypalenie już czterech papierosów może prowadzić do rozwoju zaburzenia związanego z używaniem tytoniu (ang. *tobacco use disorder*, TUD)

(WHO 2025a), co może wynikać z nagradzających i subiektywnych właściwości nikotyny, a także z krótkotrwałego wpływu produktów tytoniowych na poprawę nastroju oraz redukcję napięcia i stresu (Crocq 2003). Zgodnie z DSM-5 (American Psychiatric Association 2022), TUD definiuje się jako problematyczny wzorzec używania tytoniu, manifestujący się występowaniem co najmniej dwóch spośród 11 kryteriów w okresie 12 miesięcy, takich jak używanie produktów tytoniowych w dużych ilościach, silna potrzeba ich używania pomimo znanych negatywnych skutków zdrowotnych oraz objawy odstawienne po zaprzestaniu ich stosowania. W zależności od liczby występujących kryteriów TUD może mieć charakter łagodny (2–3 objawy), umiarkowany (4–5 objawy) lub ciężki (≥6 objawów) (American Psychiatric Association 2022),

Globalnie używanie tytoniu odpowiada za ponad 7 milionów zgonów rocznie (WHO 2025a). Mimo że liczba osób używających tytoń w wieku 15 lat lub starszych zmniejszyła się w latach 2000–2024, w 2024 roku nadal była na wysokim poziomie i wynosiła 1.202 mld (WHO 2025b). Szacuje się, że obecnie ok. 40 mln użytkowników tytoniu stanowią nastolatki w wieku 13–15 lat (WHO 2025b). Choć globalnie wśród dorosłych i nastolatków nadal dominuje palenie papierosów, w wielu krajach rośnie częstość używania elektronicznych papiersów (e-papierosów), a wśród młodzieży jest ona wyższa niż u dorosłych (WHO 2025b). Chociaż zagrożenia zdrowotne związane z paleniem tytoniu (m.in. nowotwory płuc, choroby sercowo-naczyniowe, choroby płuc, kaszel czy duszność) są szeroko rozpowszechniane, w wielu krajach ostrzeżenia dotyczące produktów bezdymnych, w tym e-papierosów i woreczków nikotynowych, są ograniczone, co może błędnie sugerować ich mniejszą szkodliwość, a tym samym sprzyjać ich rozpowszechnianiu (American Psychiatric Association 2022; WHO 2025a).

Do czynników zwiększających ryzyko rozwoju TUD należą zarówno cechy i zaburzenia eksternalizacyjne (w tym zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) oraz zaburzenia zachowania), jak i depresja oraz zaburzenia lękowe (American Psychiatric Association 2022). Podobnie jak w przypadku AUD, u kobiet z TUD negatywny afekt (np. smutek, strach, niecierpliwość) częściej stanowi przyczynę palenia niż u mężczyzn. Odstawienie palenia prowadzi do pojawienia się objawów odstawiennych, obejmujących zarówno objawy somatyczne, takie jak bradykardia, ból głowy, zmęczenie, besenność i zaburzenia żołądkowo-jelitowe, jak i objawy afektywne, m.in. głód nikotynowy, lęk oraz obniżony nastrój (Crocq 2003; Zaniewska i wsp. 2009b).

Mechanizm działania nikotyny związany jest z pobudzeniem receptorów nACh (Mineur i Picciotto 2008). Jako że nikotyna wykazuje wysokie powinowactwo do neuronalnych receptorów $\alpha_4\beta_2$ ($K_i$ = 0.8–10 nM; (PDSP Database - UNC)), im to przypisuje się najważniejszą rolę w rozwoju uzależnienia od tej substancji. W wyniku stymulacji tych receptorów nikotyna zwiększa uwalnianie acetylocholiny a pośrednio również innych neuroprzekaźników, m.in. dopaminy, glutaminianu oraz 5-HT (Watkins i wsp. 2000). Podobnie jak w przypadku etanolu, uzależniające działanie nikotyny związane jest z zaburzeniem funkcjonowania układu nagrody.

Obecnie stosowane farmakoterapie TUD obejmują nikotynową terapię zastępczą (ang. *nicotine replacement therapy*, NRT) dostępną m.in. w postaci gum do żucia oraz plastrów transdermalnych, leki nienikotynowe (np. bupropion oraz częściowi agoniści receptorów nACh – wareniklina i cytyzyna), które zmniejszają głód nikotynowy i nagradzające efekty palenia, a także terapie skojarzone polegające na łączeniu NRT z terapią behawioralną lub z lekami

nienikotynowymi (WHO 2025a). Dużym ograniczeniem terapii antynikotynowych jest ich krótkotrwała skuteczność, wysokie ryzyko nawrotów oraz współwystępowanie innych zaburzeń psychicznych u pacjentów z TUD (Szerman i wsp. 2024). Badania koncentrujące się na dokładniejszej diagnostyce pacjentów z TUD oraz identyfikacji czynników wywołujących nawrót uzależnienia, mogą w przyszłości pomóc w opracowaniu bardziej skutecznych terapii antynikotynowych.

**Układ 5-HT – synteza, funkcje i rola w regulacji nastroju**

Układ 5-HT w mózgu odgrywa istotną rolę w rozwoju depresji, lęku oraz zaburzeń związanych z używaniem substancji psychoaktywnych (Virkkunen i Linnoila 1997; Lucki 1998; Matthes i wsp. 2010). 5-HT jest ważnym neuroprzekaźnikiem syntetyzowanym w neuronach jąder szwu pnia mózgu z tryptofanu (TRP). W pierwszym etapie syntezy, TRP jest hydroksylowany przez hydroksylazę tryptofanu typu 2 (TPH2) − enzym odkryty przez grupę Prof. Badera (Walther i wsp. 2003) − do 5-hydroksytryptofanu (5-HTP), który następnie jest dekarboksylowany przez dekarboksylazę aromatycznych aminokwasów (DDC) do 5-HT. Powstała 5-HT jest następnie pakowana do pęcherzyków synaptycznych (VMAT2) i uwalniana do szczeliny synaptycznej. Tam 5-HT może aktywować 14 podtypów receptorów, m.in. receptory $5\text{-HT}_{2C}$ lub zostać wychwycona zwrotnie przez transporter wychwytu zwrotnego 5-HT (ang. ***S**erotonin **R**euptake **T**ransporter*; SERT). W cytoplazmie 5-HT ulega degradacji do kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5-HIAA) przy udziale monoaminooksydazy (ang. *monoaminooxygenase*; MAO).

Neurony 5-HT wysyłają rozległe projekcje do licznych regionów mózgu, w tym do obszarów układu nagrody aktywowanego przez alkohol oraz nikotynę (Soiza-Reilly i Gaspar 2020). Dzięki szerokiej dystrybucji w ośrodkowym układzie nerwowym 5-HT reguluje wiele kluczowych procesów fizjologicznych w tym nastrój, motywację, agresję, sen oraz pamięć (Lucki 1998). Szerokie spektrum funkcji 5-HT jest mediowane przez 14 podtypów receptorów: $5\text{-HT}_{1(A\text{-}F)}$, $5\text{-HT}_{2(A\text{-}C)}$, $5\text{-HT}_3$, $5\text{-HT}_4$, $5\text{-HT}_5$, $5\text{-HT}_6$, oraz $5\text{-HT}_7$ (Marcinkiewcz 2015).

**Depresja a zaburzenia związane z używaniem alkoholu i tytoniu – wspólne mechanizmy**

**AUD: Dysregulacja 5-HT i depresja jako czynniki podatności na AUD i ryzyko nawrotów.** Dysregulacja układu 5-HT jest związana z AUD oraz współwystępującymi zaburzeniami psychicznymi, w tym ciężką depresją (Lucki 1998; Vengeliene i wsp. 2008; Meneses i Liy-Salmeron 2012; Belmer i wsp. 2016). Wykazano m.in., że genetyczna predyspozycja do depresji zwiększa ryzyko uzależnienia od alkoholu, co sugeruje potencjalny związek przyczynowo-skutkowy między depresją a AUD (Polimanti i wsp. 2019).Warto zaznaczyć, że współwystępująca u osób z AUD depresja wiąże się z bardziej nasilonym przebiegiem klinicznym, zwiększonym ryzykiem nawrotów oraz gorszym rokowaniem (Davis i wsp. 2008).

Dane kliniczne sugerują, że nieprawidłowości w funkcjonowaniu układu 5-HT mogą zwiększać podatność na rozwój AUD. Historia AUD w rodzinie, zarówno u pacjentów z depresją, jak i u osób uzależnionych od alkoholu, była związana z niższym poziomem 5-HIAA w płynie mózgowo-rdzeniowym (Rosenthal i wsp. 1980; Fils-Aime i wsp. 1996), co wskazuje na zmniejszony obrót 5-HT w mózgu u osób podatnych na AUD. Wykazano również, że obniżony poziom TRP w osoczu w okresie 2–3-tygodniowej abstynencji korelował z objawami depresji i agresji, jednak wyłącznie u pacjentów z wczesnym początkiem AUD (Buydens-

Branchey i wsp. 1989). Również w okresie dłuższej abstynencji (4–9 tygodni) u części pacjentów obserwowano obniżony poziom 5-HIAA w płynie mózgowo-rdzeniowym (Ballenger i wsp. 1979). Istotne jest, że skuteczność inhibitorów wychwytu zwrotnego 5-HT (ang. ***S**elective **S**erotonin **R**euptake **I**nhibitors*; SSRI), nasilających neurotransmisję 5-HT w mózgu, jest ograniczona u osób z AUD i wydaje się dotyczyć jedynie wybranych podgrup pacjentów – zwłaszcza osób z pierwotnym zaburzeniem depresyjnym oraz typem AUD o późniejszym początku (Cornelius i wsp. 1995; Kranzler i wsp. 2013; Agabio i wsp. 2018). Obserwacje te sugerują potrzebę dalszych badań nad strategiami terapeutycznymi uwzględniającymi bardziej precyzyjną stratyfikację pacjentów z AUD, opartą na ich cechach klinicznych oraz funkcjonowaniu układu 5-HT. Badania na gryzoniach wskazują, że zaburzenie poziomu 5-HT wpływa na zachowania związane z piciem alkoholu, choć kierunek tych zmian może różnić się w zależności od zastosowanej metody, czasu trwania, stopnia nasilenia oraz lokalizacji anatomicznej indukowanego niedoboru 5-HT (Wang i wsp. 1996; Johansson i wsp. 1999; Jessa i wsp. 2001; Sachs i wsp. 2014)). Co istotne, na efekty zaburzonej homeostazy 5-HT może również mieć wpływ wcześniejsza ekspozycja na alkohol, ponieważ sam etanol również wywołuje neuroadaptacje w układzie 5-HT.

**TUD: dysregulacja 5-HT i afektywne objawy odstawienia.** Dane literaturowe wskazują, że neurotransmisja 5-HT odgrywa również istotną rolę w zachowaniach związanych z paleniem tytoniu oraz głodem nikotynowym. Wykazano m.in., że deplecja TRP nasilała zachowania związane z paleniem (Hitsman i wsp. 2005), zwiększała uwagową istotność bodźców związanych z paleniem (Hitsman i wsp. 2007), a u palaczy z historią ciężkiej depresji, nasilała objawy depresji (Spring i wsp. 2007). Ponadto badania neuroobrazowania wykazały, że łączność między jądrem środkowym szwu a formacją hipokampa była osłabiona u palaczy i korelowała negatywnie z nasileniem afektywnych objawów odstawienia (Faulkner i wsp. 2018), co sugeruje, że palenie tytoniu może osłabiać działanie projekcji 5-HT z jąder szwu do formacji hipokampa, potencjalnie przyczyniając się do wystąpienia psychologicznych objawów odstawiennych.

Głód nikotynowy oraz depresja to kluczowe objawy abstynencji, które utrudniają zaprzestanie palenia i sprzyjają wystąpieniu nawrotów (Watkins i wsp. 2000; Tulloch i wsp. 2016). Z tego też względu moje badania prowadzone od 2004 roku koncentrowały się na identyfikacji neurobiologicznych mechanizmów leżących u podłoża afektywnych objawów odstawienia nikotyny, poszukiwaniu nowych strategii terapeutycznych łagodzących te objawy oraz na zrozumieniu procesów prowadzących do nawrotów uzależnienia. Przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej badania wykazały, że w okresie pierwszych 10 dni odstawienia wielokrotnych podań nikotyny u szczurów dochodzi do wydłużenia czasu bezruchu w teście wymuszonego pływania (ang. ***F**orced **S**wim **T**est*; FST), przy czym największe nasilenie tych objawów widoczne jest w 3. dniu odstawienia (Zaniewska i wsp. 2010a). Dalsze analizy zachowania zwierząt w FST pokazały, że w 3. oraz 30. dniu odstawienia nikotyny dochodzi do skrócenia czasu pływania (Zaniewska i wsp. 2015). Fenotyp prodepresyjny widoczny w FST przypomina obserwowane u ludzi poczucie bezradności (ang. *entrapment*), uznawane za jeden z kluczowych objawów depresji (Gilbert i Allan 1998; Cryan i wsp. 2003). Co więcej, biorąc pod uwagę, że czas pływania stanowi wskaźnik aktywności neurotransmisji 5-HT − ulegając wydłużeniu po podaniu SSRI oraz skróceniu po podaniu inhibitora TPH (Slattery i wsp. 2005)

– skrócony czas pływania odnotowany w okresie odstawienia nikotyny może sugerować przejściowe obniżenie neurotransmisji 5-HT w mózgu zwierząt. Wniosek ten jest zgodny z danymi literaturowymi pokazującymi spadek tkankowego poziomu 5-HT w hipokampie we wczesnym okresie odstawienia nikotyny u szczurów (Benwell i Balfour 1979). U myszy przerwanie biernych podań nikotyny również wywoływało objawy prodepresyjne (mierzone jako wydłużony czas bezruchu w FST) (Mannucci i wsp. 2006), a zmienione zachowanie zwierząt w FST uległo normalizacji po podaniu 5-HTP (Mannucci i wsp. 2006). Co więcej, towarzyszący wydłużonemu czasowi bezruchu spadek poziomu 5-HT w międzymózgowiu w okresie abstynencji nikotynowej był odwracany po podaniu SSRI, paroksetyny (Mannucci i wsp. 2006). Wyniki te wskazują, że prodepresyjne objawy odstawienia nikotyny mogą wynikać z przejściowego obniżenia neurotransmisji 5-HT i być łagodzone poprzez normalizację neurotransmisji 5-HT.

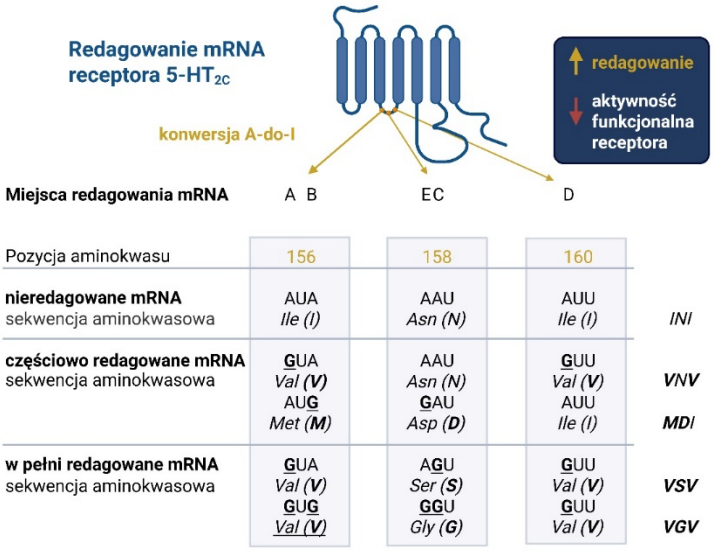
**Receptory 5-HT$_{2C}$ – rola w modulowaniu efektów alkoholu i nikotyny, lokalizacja oraz redagowanie mRNA receptora**

Spośród 14 podtypów receptorów 5-HT receptorom 5-HT$_{2C}$ przypisuje się szczególnie istotną rolę w modulowaniu efektów alkoholu oraz nikotyny (Marcinkiewcz 2015; Collins i wsp. 2018). Receptory te są zlokalizowane w strukturach układu mezolimbicznego, a ich najwyższa ekspresja w tych obszarach obejmuje pole brzuszne nakrywki, brzuszne prążkowie oraz hipokamp (Bubar i wsp. 2011; Zaniewska i wsp. 2015).

Zaburzenia równowagi w układzie 5-HT mogą mieć wpływ na proces redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ (Gurevich i wsp. 2002a; Hackler i wsp. 2006; Moya i wsp. 2011) – modyfikacji potranskrypcyjnej, polegającej na konwersji jednej lub więcej spośród pięciu sąsiadujących ze sobą reszt adenozyny – określanych jako miejsca redagowania A, B, E, C i D – do inozyny (ang. ***A**denosine-to-**I**nosine*; A-to-I), katalizowanej przez deaminazy adenozyny działające na RNA (ang. ***A**denosine **D**eaminases **A**cting on **R**NA*; ADARs) (Burns i wsp. 1997; Niswender i wsp. 1998) (Ryc. 1). Inozyna jest odczytywana przez aparat translacyjny jako guanozyna, co w przypadku konwersji w większej liczbie miejsc może prowadzić do zmiany sekwencji aminokwasowej białka. W konsekwencji może dochodzić do zastąpienia nieredagowanej sekwencji aminokwasowej Ile-Asn-Ile (INI) w pozycjach 156, 158 oraz 160 w obrębie drugiej wewnątrzkomórkowej pętli receptora 5-HT$_{2C}$ innymi sekwencjami aminokwasów i generowania nawet 24 izoform białka receptora 5-HT$_{2C}$. Poszczególne izoformy mogą różnić się częstością występowania w zależności od regionu mózgu oraz właściwościami funkcjonalnymi, w tym aktywnością konstytutywną, skutecznością agonisty, powinowactwem ligandów oraz selektywnością sprzęgania z białkiem G (Burns i wsp. 1997; Fitzgerald i wsp. 1999; Herrick-Davis i wsp. 1999; Niswender i wsp. 1999; Wang i wsp. 2000; Berg i wsp. 2001; Price i wsp. 2001; Olaghere da Silva i wsp. 2010). Dodatkowo, redagowanie RNA może wpływać na alternatywny *splicing* oraz komórkową lokalizację receptorów (Marion i wsp. 2004; Martin i wsp. 2013). Ogólnie dane literaturowe wskazują, że im bardziej nasilony jest proces redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, tym większe obniżenie aktywności funkcjonalnej tego receptora (Martin i wsp. 2013).

Badania przeprowadzone na ludziach wskazują na związek między redagowaniem mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ a depresją (Gurevich i wsp. 2002b; Lyddon i wsp. 2013), choć nie

wszystkie badania potwierdzają tą zależność (Niswender i wsp. 2001; Iwamoto i Kato 2003; Zhu i wsp. 2012). W korze przedczołowej pacjentów z depresją odnotowano przesunięcie



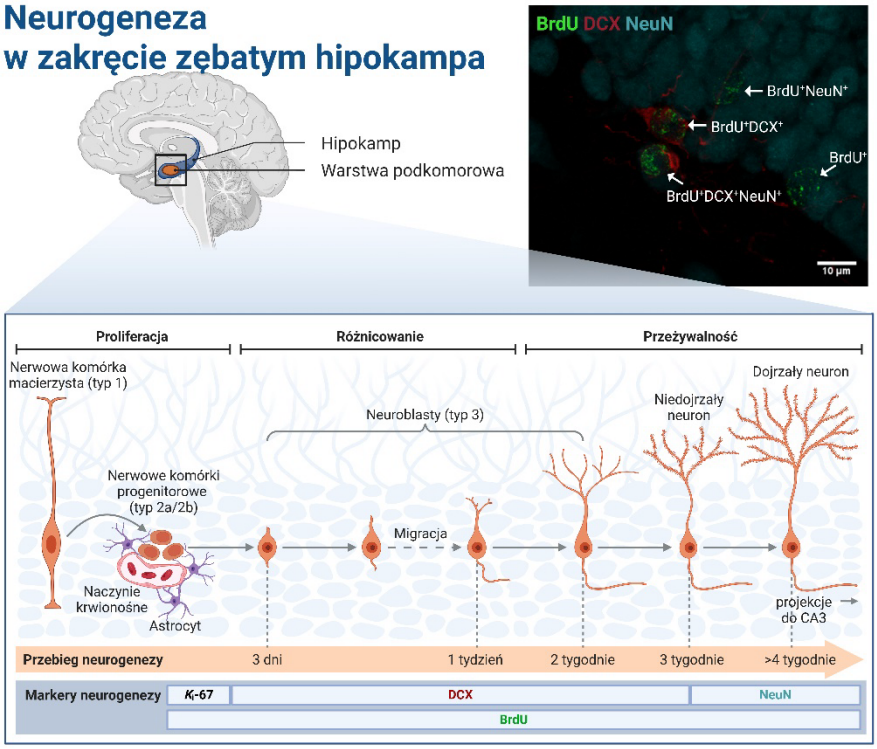

**Ryc. 1. Redagowanie mRNA receptora 5-HT$_{2C}$. Utworzono w https://BioRender.com.**

izoform receptora w kierunku wariantów o wyższej aktywności funkcjonalnej (ang. *high-affinity state*) (Lyddon i wsp. 2013). Podobnie w badaniach przedklinicznych myszy z wyłączną ekspresją nieredagowanej aktywnej funkcjonalnie izoformy INI wykazywały prodepresyjne zachowania w FST i teście zawieszenia za ogon (ang. ***T**ail **S**uspension **T**est*; TST), podczas gdy selektywna ekspresja w pełni redagowanej izoformy VGV powodowała u zwierząt pojawienie się fenotypu przeciwdepresyjnego w testach FST i TST (Mombereau i wsp. 2010; Aoki i wsp. 2016). Co wiecej, podanie fluoksetyny w szczurzym modelu depresji − wyuczonej bezradności (ang. *learned helpessness*) − zmniejszało częstość występowania izoformy INI w korze czołowej (Iwamoto i wsp. 2005). Wyniki te sugerują, że depresja może być związana z osłabieniem procesu redagowania receptora 5-HT$_{2C}$. Niemniej jednak wciąż niewiele wiadomo na temat związku między zmianami w redagowaniu tego receptora a objawami depresji pojawiającymi się w okresie odstawienia substancji uzależniających, w tym alkoholu oraz nikotyny.

**Neurogeneza wieku dorosłego**

Jedna z hipotez dotyczących powstawania depresji zakłada, że depresja rozwija się w wyniku obniżonej syntezy nowych neuronów w hipokampie, czyli w wyniku zaburzenia procesu neurogenezy (Ernst i wsp. 2006; Snyder i wsp. 2011; Braun i Jessberger 2014). Neurogeneza zachodzi u dorosłych szczurów w regionie zakrętu zębatego hipokampa, a także w opuszce węchowej (Ryc. 2). Proces ten składa się z etapu proliferacji, różnicowania/migracji, dojrzewania oraz integracji nowo powstałych komórek nerwowych w sieć neuronalną (Kuhn i wsp. 1996). Podziały komórkowe zachodzą w warstwie podziarnistej hipokampa oraz w warstwie podkomorowej komory bocznej. Jednym z najczęściej używanych markerów proliferacji jest $K_i$-67 oraz 5-bromo-2'-deoksyurydyna (BrdU). Wszystkie komórki, które są w fazie podziałów komórkowych posiadają antygen $K_i$-67 w jądrze komórkowym, który może być wykrywany za pomocą specyficznych przeciwciał. BrdU jest analogiem tymidyny, który

podawany egzogennie wbudowuje się do dzielących się komórek progenitorowych będących w fazie S. Już 24 h po podaniu BrdU widać, że niektóre komórki wyznakowane BrdU wykazują ekspresję dablokortyny (ang. ***D**oublecortin*; DCX), która jest markerem niedojrzałych neuronów, związanym z ich migracją. Ekspresja DCX utrzymuje się przez ok. 2−3 tygodnie w niedojrzałych neuronach. W kolejnym etapie komórki różnicują się w dojrzałe neurony, wykazujące ekspresję markera neuronów, NeuN (Kuhn i wsp. 1996).




**Ryc. 2. Neurogeneza w zakręcie zębatym hipokampa – przebieg, przykładowe markery oraz potrójne barwienie immunofluorescencyjne. Utworzono w https://BioRender.com. Na podstawie (Kuhn i wsp. 1996).**

Badania pokazują, że istnieją zarówno farmakologiczne (np. SSRI) jak i niefarmakologiczne narzędzia, takie jak aktywność fizyczna, które nasilają proces neurogenezy (Van Praag i wsp. 1999; Klempin i wsp. 2010; Inoue i wsp. 2015). Z kolei czynniki takie jak stres czy substancje uzależniające – choć nie w każdym modelu zwierzęcym – negatywnie wpływają na ten proces (Lee i wsp. 2006; Ahdoot-Levi i wsp. 2021). W przypadku nikotyny jej wpływ na neurogenezę może być związany z ilością nikotyny pobieranej przez zwierzęta. Wykazano, że niższe dawki nikotyny osłabiają różne etapy neurogenezy, podczas gdy wyższe dawki nasilają ten proces (Abrous i wsp. 2002; Wei i wsp. 2012; Cohen i wsp. 2015). Stosunkowo niewiele wiadomo jednak na temat wpływu afektywnych objawów odstawienia nikotyny oraz nawrotu zachowań poszukiwawczych nikotyny na neurogenezę. Badania dotyczące innych substancji uzależniających, w tym metamfetaminy, pokazują, że mająca pozytywny wpływ na neurogenezę aktywność fizyczna w okresie odstawienia ułatwia wygaszanie zachowań poszukiwawczych oraz zapobiega nawrotom wywoływanym przez bodźce środowiskowe (Sobieraj i wsp. 2016). Z kolei, osłabienie neurogenezy podczas odstawienia kokainy opóźnia proces wygaszania zachowań poszukiwawczych (Noonan i wsp.

2010). Dane te sugerują, że neurogeneza odgrywa istotną rolę nie tylko w rozwoju depresji, ale także może determinować ryzyko nawrotu uzależnienia (Mandyam i Koob 2012).

### *4.4.2. Cel naukowy prac*

Celem cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego było zbadanie afektywnych oraz neurobiologicznych mechanizmów uzależnienia od etanolu i nikotyny, ze szczególnym uwzględnieniem układu 5-HT. W tym celu, w dwóch genetycznych modelach zwierzęcych, oceniłam rolę stanów afektywnych (negatywnych i pozytywnych), związanych z zaburzoną neurotransmisją 5-HT, w rozwoju zachowań związanych z piciem alkoholu. Ponadto przeanalizowałam różnice w poziomie ekspresji *Tph2* jako potencjalnego biomarkera podatności na zwiększoną konsumpcję alkoholu. U zwierząt z fenotypem prodepresyjnym przeprowadziłam również analizę procesu redagowania mRNA receptora $5\text{-HT}_{2C}$ w czasie odstawienia alkoholu i nikotyny, a także ocenę neurogenezy w hipokampie w okresie odstawienia nikotyny oraz roli farmakologicznej stymulacji receptorów $5\text{-HT}_{2C}$ w modulowaniu tego procesu. Zbadałam również wpływ osłabienia zachowań przypominających depresję na nawrotowe zachowania związane z nikotyną i alkoholem.

### *4.4.3. ROZWÓJ UZALEŻNIENIA – poszukiwanie czynników zwiększających podatność na rozwój uzależnienia*

#### *4.4.3.1. Wpływ deplecji 5-HT na rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu u myszy $Tph2^{-/-}$*

W świetle klinicznych obserwacji pokazujących, że zaburzona funkcja układu 5-HT w mózgu może mieć istotne znaczenie w rozwoju podatności na AUD (Rosenthal i wsp. 1980; Fils-Aime i wsp. 1996) oraz współwystępujących z AUD zaburzeń psychicznych, w tym ciężkiej depresji (Lucki 1998; Meneses i Liy-Salmeron 2012; Belmer i wsp. 2016), a także z uwagi na fakt, że dotychczasowe dane przedkliniczne dotyczące wpływu obniżonego poziomu 5-HT na konsumpcję alkoholu były niespójne (Adell i Myers 1995; Sachs i wsp. 2014; Lemay i wsp. 2015; Vasudeva i wsp. 2015), w pierwszym etapie badań wchodzących w skład cyklu prac skupiłam się na określeniu wpływu deplecji 5-HT w mózgu na zachowania prodepresyjne, rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu oraz przeciwdepresyjne działanie alkoholu (**Cel 1 osiągnięcia naukowego**).

W badaniu wykorzystałam myszy z inaktywacją genu *Tph2* (*$Tph2^{-/-}$*), które są prawie całkowicie pozbawione 5-HT w mózgu (>98%) i wykazują deficyty zachowań prospołecznych, deficyt opieki matczynej, nasilone zachowania agresywne i impulsywne, a także liczne nieprawidłowości fizjologiczne, takie jak opóźniony wzrost, zaburzenia snu, niskie ciśnienie tętnicze oraz zaburzenia termoregulacji (Alenina i wsp. 2009; Mosienko i wsp. 2012; Angoa-Pérez i wsp. 2012; Beis i wsp. 2015). Dodatkowe badania fenotypowe ujawniły nadmierną reaktywność na stres oraz zwiększoną konsumpcję pokarmu u tych zwierząt (van Lingen i wsp. 2019).

W moich badaniach wykazałam, że myszy naiwne (ang. *drug-naive*) z inaktywacją genu *Tph2* charakteryzowały się skróconym czasem pływania i wydłużonym czasem wspinania, przy jednoczesnym braku zmian w czasie bezruchu *(Zaniewska i wsp. 2022). W paradygmacie picia alkoholu w warunkach wolnego wyboru, z ciągłym dostępem do rosnących stężeń etanolu (3–10%) (ang. *continuous two-bottle choice test*), deplecja centralnej 5-HT u myszy wywołała zwiększone spożycie 10% etanolu w porównaniu do myszy typu dzikiego *(Zaniewska i wsp.

2022). U naiwnych myszy *Tph2*$^{-/-}$ spożycie wody było wyższe niż u myszy typu dzikiego, natomiast ekspozycja zwierząt *Tph2*$^{-/-}$ na 10% alkohol przywracała spożycie wody do poziomu zwierząt kontrolnych. Deplecja 5-HT nie znosiła przeciwdepresyjnego działania alkoholu, który – niezależnie od genotypu zwierząt – wywołał skrócenie czasu bezruchu i wydłużenie czasu pływania w teście FST; w przypadku myszy *Tph2*$^{-/-}$ obserwowano jedynie częściową normalizację czasu pływania, tj. nie wracał on do poziomu obserwowanego u zwierząt typu dzikiego *(Zaniewska i wsp. 2022).

Pomimo powszechnie przyjętego poglądu, że zaburzony poziom 5-HT w mózgu jest związany z występowaniem depresji, wcześniejsze rozległe analizy zachowań prodepresyjnych u myszy *Tph2*$^{-/-}$ nie wykazały jednoznacznego profilu prodepresyjnego. W zależności od zastosowanego paradygmatu odnotowano zarówno nasilenie, brak zmian jak i osłabienie zachowań przypominających depresję (Savelieva i wsp. 2008; Mosienko i wsp. 2012; Angoa-Pérez i wsp. 2014; Gutknecht i wsp. 2015). Zatem na podstawie tych danych, jak również moich obserwacji pokazujących brak wpływu inaktywacji *Tph2* na czas bezruchu – wysunęłam wniosek, że obniżony poziom 5-HT w mózgu myszy *Tph2*$^{-/-}$ nie wywołuje klasycznego fenotypu prodepresyjnego (**Wniosek 1a**). Jednocześnie skrócony czas pływania oraz wydłużony czas wspinania sugerują zmianę strategii radzenia sobie w teście FST, która może odzwierciedlać zmianę w sposobie reagowania na stres, potencjalnie związaną z zaburzonym przetwarzaniem afektywnym (np. zwiększoną labilnością emocjonalną) (**Wniosek 1b**). Skrócony czas pływania w teście FST u myszy *Tph2*$^{-/-}$ potwierdza dane literaturowe sugerujące, że parametr pływania jest wskaźnikiem zmian w neurotransmisji 5-HT (Slattery i wsp. 2005). Równocześnie wydłużenie czasu wspinania sugeruje zmiany kompensacyjne w innych układach neuroprzekaźnikowych spowodowane niedoborem 5-HT w mózgu. Deplecja 5-HT w mózgu oraz towarzyszący jej zmieniony stan emocjonalny u myszy predysponują do zwiększonej konsumpcji alkoholu, ale nie zmieniają działania przeciwdepresyjnego alkoholu (**Wniosek 1c**). Częściowa normalizacja czasu pływania u myszy *Tph2*$^{-/-}$ po chronicznej ekspozycji na etanol, pomimo braku centralnej 5-HT, wskazuje na udział dodatkowych mechanizmów niezależnych od układu 5-HT modulujących te zachowania, co wymaga dalszych badań.

Moje rezultaty dotyczące zwiększonego spożycia etanolu u myszy *Tph2*$^{-/-}$ są zgodne z wcześniejszymi badaniami opartymi na genetycznych modelach niedoboru 5-HT, w których wykazano, że myszy z hipofunkcją TPH2 wywołaną polimorfizmem R439H w genie *Tph2* spożywały więcej roztworu zawierającego etanol i sacharozę oraz wykazywały zmniejszoną wrażliwość na etanol w porównaniu do zwierząt kontrolnych (Sachs i wsp. 2014). Jednak w innym badaniu te same myszy wykazywały zwiększoną motywację do picia etanolu jedynie w warunkach wyuczonej awersji smaku (Lemay i wsp. 2015). Różnice w zachowaniach związanych z piciem alkoholu pomiędzy zwierzętami z mutacją R439H a myszami *Tph2*$^{-/-}$ mogą wynikać z różnego stopnia obniżenia poziomu 5-HT w mózgu – ok. 60–80% u zwierząt z mutacją R439H (Beaulieu i wsp. 2008; Jacobsen i wsp. 2012) w porównaniu do >98% spadku obserwowanego w przypadku całkowitej inaktywacji genu *Tph2* (Alenina i wsp. 2009).

#### *4.4.3.2. Analiza zmian poziomu transkryptu Tph2 u myszy typu dzikiego pijących alkohol*

Badania postmortem osób z AUD wykazały podwyższony poziom mRNA i białka TPH2

w grzbietowym i środkowym jądrze szwu (Underwood i wsp. 2007; Bach i wsp. 2014). Z kolei, u ofiar samobójstw z AUD współwystępującym z depresją odnotowano zwiększoną liczbę komórek TPH2-pozytywnych wyłącznie w grzbietowym podjądrze grzbietowego jądra szwu (Bonkale i wsp. 2006). Co więcej, kilka polimorfizmów *TPH2* (rs1386488, rs1843809, rs1386496, rs2171363, rs6582078 i rs1352250) powiązano z konsumpcją alkoholu u młodych dorosłych bliźniaczek oraz z objawami związanymi z alkoholem, takimi jak agresja (rs4570625, rs1843809) czy lęk (rs4290270, rs1843809) (Agrawal i wsp. 2011; Plemenitaš i wsp. 2015). Funkcjonalna charakteryzacja wymienionych wariantów *TPH2* ogranicza się jedynie do polimorfizmu G-703T (rs4570625), zlokalizowanego w regionie promotora genu *TPH2*. Wykazano, że allel T tego polimorfizmu zmniejsza ekspresję genu reporterowego *in vitro* (Chen i wsp. 2008), co sugeruje funkcjonalną regulację ekspresji TPH2 przez ten wariant i jego potencjalny wpływ na poziom syntezy 5-HT w mózgu. Ponieważ dane postmortem i genetyczne wskazują, że zmiany w ekspresji TPH2 mogą stanowić istotny mechanizm związany z rozwojem AUD, drugim celem badań wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej było poszukiwanie molekularnych mechanizmów łączących funkcję układu 5-HT z konsumpcją alkoholu. W ramach tych badań przeprowadziłam analizę zmian poziomu transkryptu *Tph2* w mózgu myszy typu dzikiego (*Tph2*$^{+/+}$) wywołanych chroniczną ekspozycją na alkohol (**Cel 2a osiągnięcia naukowego**).

Na podstawie globalnej analizy ekspresji *Tph2* wykonanej za pomocą ilościowego PCR w czasie rzeczywistym (ang. *real-time PCR;* qPCR) nie wykazałam zmian w ekspresji *Tph2* w jądrach szwu, hipokampie ani w korze przedczołowej myszy spożywających alkohol w porównaniu do zwierząt pijących wodę *(Zaniewska i wsp. 2022) (**Wniosek 2a**).

Ponieważ w trakcie prowadzonego doświadczenia zaobserwowałam znaczne różnice w poziomie spożycia etanolu u myszy *Tph2*$^{+/+}$, ekspresję *Tph2* przeanalizowałam również w odniesieniu do indywidualnych różnic w konsumpcji etanolu widocznych w pierwszych dniach picia oraz w ostatnim tygodniu dostępu do etanolu (tj. w okresie stabilnego spożycia), w celu oceny, czy poziom transkryptu *Tph2* wiąże się funkcjonalnie z indywidualnymi różnicami w piciu alkoholu (**Cel 2b osiągnięcia naukowego**). Średnie spożycie etanolu dla każdego zwierzęcia w danym okresie posłużyło do podziału zwierząt względem mediany na myszy „pijące dużo etanolu" i „pijące mało etanolu". W każdym analizowanym okresie porównano średni poziom ekspresji *Tph2* pomiędzy tymi dwiema grupami.

W badaniach wykazałam, że u myszy, które po chronicznej ekspozycji na etanol rozwinęły wysoki poziom konsumpcji etanolu oraz preferencji alkoholu, poziom mRNA *Tph2* w jądrach szwu był wyższy o 19% w porównaniu do zwierząt spożywających niskie ilości alkoholu, pozostając jednak na poziomie obserwowanym w grupie kontrolnej *(Zaniewska i wsp. 2022). Obserwacje te sugerują, że kluczową zmianą dla tego regionu mózgu jest obniżona ekspresja *Tph2* u myszy o niższej konsumpcji etanolu. Z kolei, w korze przedczołowej zwierzęta spożywające wyższe ilości alkoholu wykazywały obniżony o 19% poziom ekspresji *Tph2* w porównaniu z grupą niskopijącą, jak i z myszami pijącymi wodę *(Zaniewska i wsp. 2022). W hipokampie zwierzęta „pijące dużo etanolu" nie wykazywały zmian w poziomie transkryptu *Tph2* w porównaniu do zwierząt „pijących mało alkoholu" *(Zaniewska i wsp. 2022).

Z moich obserwacji wynika, że poziom ekspresji *Tph2* w jądrach szwu oraz w korze przedczołowej wydaje się być funkcjonalnie związany z międzyosobniczą zmiennością

w poziomie spożycia alkoholu u myszy, różnicując rozwój podatności na wyższe lub niższe picie (**Wniosek 2b**).

Dane literaturowe wskazują, że myszy BALB/cJ, charakteryzujące się niską preferencją etanolu (Elmer i wsp. 1987) i posiadające polimorfizm C1473G (P447R) w genie *Tph2* (Zhang i wsp. 2004), wykazują ok. 20% niższy poziom mRNA *Tph2* oraz o 28% mniejszą liczbę neuronów TPH2-pozytywych w grzbietowych jądrach szwu, czemu towarzyszy obniżony o 15% poziom 5-HT w śródmózgowiu, hipokampie i korze mózgowej w porównaniu z myszami C57BL6/6J o wysokiej preferencji etanolu (Elmer i wsp. 1987; Bach i wsp. 2011), homozygotycznymi względem allelu 1473C o wysokiej aktywności TPH2 (Zhang i wsp. 2004). Można zatem przypuszczać, że odnotowane w moim badaniu obniżenie ekspresji *Tph2* o 19% w jądrach szwu u myszy „pijących mało etanolu" może odzwierciedlać lokalnie niższą aktywność układu 5-HT i stanowić potencjalny molekularny fenotyp związany z mniejszą skłonnością do spożywania alkoholu.

Stosunkowo niewiele jest danych literaturowych dotyczących bezpośredniego wpływu alkoholu na ekspresję *Tph2* oraz związane z nią poziomy 5-HT, szczególnie w jądrach szwu. Popova i wsp. (Popova i wsp. 2020) wykazali, że chroniczna konsumpcja 10% etanolu nie zmieniała poziomu mRNA *Tph2* u myszy, ale prowadziła do spadku białka TPH2 oraz wzrostu aktywności enzymatycznej TPH2 w jądrach szwu. Zmianom tym towarzyszył wzrost poziomu 5-HIAA oraz obrotu 5-HT, przy braku zmian w tkankowym poziomie 5-HT w śródmózgowiu obejmującym również jądra szwu. Podobnie w innych regionach mózgu odnotowano wzrost poziomu 5-HIAA (hipokamp) oraz obrotu 5-HT (hipokamp, kora czołowa) bez zmian w poziomie 5-HT (Popova i wsp. 2020). Z kolei, Kelaï i wsp. (Kelaï i wsp. 2008), stosując protokół wzrastających stężeń etanolu (3–10%), wykazali zwiększoną wrażliwość autoreceptorów $5\text{-HT}_{1A}$ w jądrze grzbietowym szwu, co wskazuje na nasilenie hamowania układu 5-HT u zwierząt pijących etanol. Wyniki moich badań są uzupełnieniem tych obserwacji pokazującym, że dalsza stratyfikacja osobników na zwierzęta „pijące dużo etanolu" oraz „pijące mało etanolu" ujawnia różnice w ekspresji *Tph2* w jądrach szwu oraz korze przedczołowej. W połączeniu z przyszłymi analizami poziomów 5-HT oraz aktywności TPH2 moje rezultaty mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia, w jaki sposób indywidualna zmienność w regulacji syntezy 5-HT różnicuje podatność na rozwój wysokiego spożycia alkoholu.

#### *4.4.3.3. Wpływ fenotypu o cechach przeciwdepresyjnych na rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu*

W związku z tym, że w poprzednich badaniach zweryfikowałam wpływ obniżonego poziomu 5-HT w mózgu oraz towarzyszących mu zmian afektywnych na konsumpcję alkoholu, celem dalszych badań było określenie wpływu pozytywnego stanu emocjonalnego – fenotypu przeciwdepresyjnego – na rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu (**Cel 3 osiągnięcia naukowego**). W badaniach wykorzystałam transgeniczny model zwierzęcy TGR(NSEhA2A), a konkretnie szczury z nadekspresją receptorów $A_{2A}$ w mózgu. Zwierzęta te zostały wygenerowane przez grupę Prof. Badera z MDC w Berlinie.

Adenozyna jest neuromodulatorem, który głównie za pośrednictwem receptorów $A_{2A}$ występujących licznie w prążkowiu, odgrywa istotną rolę w modulowaniu efektów różnych substancji uzależniających, w tym alkoholu (Filip i wsp. 2012; Nam i wsp. 2013). W prążkowiu

receptory $A_{2A}$ są zlokalizowane m.in. na neuronach GABA-ergicznych (prążkowiowo-pallidalnych), gdzie kolokalizując z receptorami dopaminowymi $D_2$ i oddziałując z nimi w sposób antagonistyczny, uczestniczą w hamującej kontroli zachowań związanych z przetwarzaniem nagrody (Fuxe i wsp. 2005, 2008; Nam i wsp. 2013). Przesłanką do wygenerowania tego modelu zwierzęcego przez naszych kolaborantów, Prof. Fuxe oraz Prof. Badera, było założenie, że zwiększenie ekspresji i sygnalizacji zależnej od receptorów $A_{2A}$ w prążkowiu doprowadzi do osłabienia funkcji receptorów $D_2$. Oczekiwano, że ponieważ receptory $D_2$ hamują aktywność neuronów GABA-ergicznych zaangażowanych w mechanizmy antynagrody, osłabienie ich funkcji powinno prowadzić do odhamowania tej ścieżki, a w konsekwencji do powstania fenotypu przeciwuzależnieniowego, charakteryzującego się zmniejszoną wrażliwością na nagradzające działanie substancji uzależniających (Borroto-Escuela i wsp. 2021).

U zwierząt TGR(NSEhA2A) nadekspresja receptorów $A_{2A}$, zachodząca głównie w prążkowiu oraz korze czołowej i przedczołowej, prowadziła do deficytów pamięci roboczej u szczurów (Giménez-Llort i wsp. 2007). W moich badaniach wykazałam, że zwierzęta naiwne TGR(NSEhA2A) charakteryzowały się skróconym czasem bezruchu i wydłużonym czasem pływania w teście FST, a zatem wykazywały fenotyp przeciwdepresyjny *(Zaniewska i wsp. 2019) przypominający efekty działania SSRI w FST. Z kolei w teście preferencji sacharozy, zarówno spożycie 1% roztworu sacharozy jak i preferencja sacharozy u zwierząt transgenicznych nie różniły się w porównaniu do zwierząt kontrolnych, co sugerowało brak objawów anhedonii u tych zwierząt *(Zaniewska i wsp. 2019). W teście podniesionego labiryntu zerowego (ang. *elevated zero maze*), nadekspresja receptorów $A_{2A}$ nie wpływała na zachowania prolękowe oceniane na podstawie czasu przebywania na ramieniu otwartym, liczby wychyleń głowy (ang. *head dips*) oraz liczby rozciągniętych postaw (typu *stretch-attend*) *(Zaniewska i wsp. 2019). W paradygmacie picia alkoholu w warunkach wolnego wyboru, z przerywanym dostępem do 20% etanolu (ang. *intermittent two-bottle choice test*) nie zaobserwowałam zmian w spożyciu alkoholu w fazie nabywania i podtrzymywania u szczurów transgenicznych w porównaniu do zwierząt typu dzikiego *(Zaniewska i wsp. 2019). Obserwacje te wskazują, że fenotyp przeciwdepresyjny wywołany nadekspresą receptorów $A_{2A}$ nie wpływa na rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu u zwierząt (**Wniosek 3**).

### *4.4.3.4. Podsumowanie*

Otrzymane wyniki pierwszego etapu badań pokazują, że fenotyp przeciwdepresyjny nie zapobiega rozwojowi zachowań związanych z konsumpcją alkoholu, natomiast zaburzenia zachowania u myszy *Tph2*$^{-/-}$ w teście FST oraz towarzyszący im obniżony poziom 5-HT w mózgu, wywołują zwiększone spożycie alkoholu. Na podstawie tych badań można stwierdzić, że centralna 5-HT odgrywa istotną rolę w regulacji zachowań przypominających strategie radzenia sobie ze stresem oraz zachowań związanych z konsumpcją alkoholu u myszy.

Nasilone zachowania agresywne oraz zwiększone spożycie wody, pokarmu i alkoholu u myszy *Tph2*$^{-/-}$ mogą sugerować fenotyp zwiększonego poszukiwania nagrody (ang. *reward-craving phenotype*) związany ze zmienioną wrażliwością układu nagrody (Volkow i wsp. 2010). Połączenie cech behawioralnych z deficytem 5-HT u myszy *Tph2*$^{-/-}$ przypomina wzorzec picia typu II według klasyfikacji Cloningera, charakteryzujący się wczesnym początkiem i związany z obniżoną funkcją układu 5-HT w mózgu (Marcinkiewcz 2015).

Co ważne, ekspresja *Tph2* − genu kodującego enzym kluczowy dla syntezy 5-HT − w jądrach szwu oraz korze przedczołowej może stanowić molekularny biomarker podatności na wyższe oraz niższe spożywanie alkoholu. Niższy poziom ekspresji *Tph2* w jądrach szwu może wiązać się z niskim spożyciem etanolu, podczas gdy obniżona ekspresja *Tph2* w korze przedczołowej może korelować z wyższym spożyciem alkoholu. Różnice w ekspresji *Tph2* w jądrach szwu i korze przedczołowej między zwierzętami wysokopijącymi i niskopijącymi mogą sugerować, że rozwój większej podatności na alkohol związany jest z reorganizacją (ang. *rewiring*) projekcji 5-HT prowadzących z jąder szwu do kory przedczołowej oraz potencjalnym osłabieniem sygnalizacji 5-HT w regionach wykonawczych mózgu. Konieczne są dalsze badania funkcjonalne, które potwierdzą te przypuszczenia.

### *4.4.4. ODSTAWIENIE I OBJAWY AFEKTYWNE – zmiany w redagowaniu mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$*

Biorąc pod uwagę opisany we wprowadzeniu (*4.4.1*) związek między osłabioną funkcją układu 5-HT a objawami afektywnymi w okresie abstynencji alkoholowej i nikotynowej, a także przesłanki wskazujące na związek między redagowaniem mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$ a depresją oraz możliwość modulacji tego procesu przez zaburzenia równowagi w układzie 5-HT, w drugim etapie badań cyklu habilitacyjnego określiłam wpływ odstawienia alkoholu i nikotyny u zwierząt z fenotypem prodepresyjnym na redagowanie mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$ w mózgu za pomocą analizy głębokiego sekwencjonowania (ang. *deep sequencing*) transkryptów tego receptora. Dla porównania oceniłam również, czy zmiany w redagowaniu są związane z obniżonym poziomem 5-HT.

#### *4.4.4.1. Wpływ deplecji centralnej 5-HT na redagowanie mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$*

W pierwszym etapie zbadałam proces redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, częstości występowania poszczególnych wariantów mRNA oraz izoform białkowych receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie oraz korze przedczołowej u myszy *Tph2*$^{-/-}$ prawie całkowicie pozbawionych 5-HT w mózgu (**Cel 4 osiągnięcia naukowego**). W hipokampie myszy *Tph2*$^{-/-}$ stwierdziłam obniżoną globalną wydajność redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, zwiększoną częstość występowania nieredagowanego transkryptu *None* (kodującego izoformę INI), oraz wariantu D (kodującego mniej redagowaną izoformę INV białka receptora), a także podwyższony poziom izoformy białkowej INV *(Zaniewska i wsp. 2023). W korze przedczołowej deplecja 5-HT zwiększyła wydajność redagowania receptora 5-HT$_{2C}$ w miejscu D oraz obniżyła częstość wariantu AB – kodującego izoformę VNI białka receptora – co korelowało ze spadkiem przewidywanej izoformy VNI *(Zaniewska i wsp. 2023).

Na podstawie tych wyników wysunęłam wniosek, że deplecja 5-HT zmieniła proces redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ zarówno w hipokampie jak i korze przedczołowej oraz że odnotowane zmiany wykazują tendencję w kierunku zwiększonej częstości występowania izoform o wyższej aktywności funkcjonalnej (**Wniosek 4**).

Co ciekawe, badania innych grup badawczych nie wykazały zmian w redagowaniu receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie w wyniku deplecji 5-HT wywołanej inaktywacją *Pet-1* − czynnika transkrypcyjnego specyficznego dla neuronów 5-HT − prowadzącą do utraty neuronów produkujących 5-HT i wywołującą mniejszy spadek poziomu 5-HT (85-90%) niż w przypadku myszy *Tph2*$^{-/-}$ (>98%) (Abbas i wsp. 2010). Z kolei, deplecja 5-HT wywołana

podaniem inhibitora TPH typu 1 i 2 para-chlorofenyloalaniny (pCPA) w korze nowej myszy – obejmującej również korę przedczołową − spowodowała spadek wydajności redagowania receptora 5-HT$_{2C}$ w miejscach E oraz C, obniżenie częstości występowania wariantów mRNA redagowanych w miejscach E oraz EC oraz wzrost częstości wariantu ABD, kodującego izoformę VNV (Gurevich i wsp. 2002a). Reasumując, zastosowanie odmiennych modeli deplecji 5-HT może istotnie wpływać na profil redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$. Deplecja 5-HT może prowadzić do przesunięcia puli izoform receptora 5-HT$_{2C}$ w kierunku wariantów o wyższej aktywności funkcjonalnej, przy czym efekt ten wydaje się zależeć od analizowanego obszaru mózgu oraz użytego modelu.

#### *4.4.4.2. Wpływ odstawienia alkoholu na redagowanie mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$*

W kolejnym etapie badań przeprowadziłam analizę zmian w redagowaniu receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie oraz korze przedczołowej w okresie odstawienia alkoholu u myszy oraz określiłam poziom ekspresji *Tph2* w wymienionych regionach mózgu za pomocą qPCR (**Cel 5 osiągnięcia naukowego**).

Do analiz molekularnych wybrałam myszy, które po 3 tygodniach picia etanolu w paradygmacie wolnego wyboru z ciągłym dostępem do 10% alkoholu w ostatnim tygodniu doświadczenia rozwinęły wysokie poziomy spożycia alkoholu (tzw. myszy „pijące dużo etanolu"). Krótkotrwałe odstawienie alkoholu (3 dni) wywołało wydłużenie czasu bezruchu i skrócenie czasu latencji w teście FST w porównaniu do zwierząt kontrolnych *(Zaniewska i wsp. 2023). Pozostałe mierzone parametry, takie jak czas pływania i wspinania, nie uległy zmianie *(Zaniewska i wsp. 2023).

Krótkotrwałe odstawienie alkoholu wywołało obniżenie (o 37%) poziomu transkryptu *Tph2* w hipokampie w porównaniu do zwierząt spożywających wodę *(Zaniewska i wsp. 2023). Analiza głębokiego sekwencjonowania w hipokampie wykazała zwiększoną globalną wydajność redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ oraz obniżoną częstość występowania wariantu D, kodującego mniej redagowaną izoformę INV receptora *(Zaniewska i wsp. 2023). Analiza częstości występowania przewidywanych izoform białkowych nie wykazała zmian w poziomie izoform receptora, w tym izoformy INV *(Zaniewska i wsp. 2023). W korze przedczołowej nie zaobserwowano żadnych zmian w ekspresji *Tph2* ani w redagowaniu mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, sugerując, że proces redagowania receptora 5-HT$_{2C}$ jest związany z poziomem ekspresji *Tph2* *(Zaniewska i wsp. 2023).

Wyniki badań behawioralnych – wydłużony czas bezruchu przy braku istotnych zmian w dwóch pozostałych parametrach testu FST – wskazują, że odstawienie alkoholu indukuje u myszy zachowania prodepresyjne. Choć obniżona ekspresja *Tph2* mogłaby sugerować zaburzoną syntezę 5-HT i jej obniżony poziom w hipokampie w okresie odstawienia alkoholu, profil redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, wskazujący na przesunięcie w kierunku izoform o obniżonej aktywności funkcjonalnej, a także brak zmian w parametrze pływania − funkcjonalnym wskaźniku aktywności układu 5-HT – nie potwierdzają tej hipotezy i sugerują odmienny mechanizm, potencjalnie związany z udziałem innych układów neuroprzekaźnikowych (**Wniosek 5a**). Przyszłe badania z użyciem mikrodializy *in vivo* umożliwią bezpośrednią ocenę udziału 5-HT oraz innych neuroprzekaźników, w tym glutaminianu (Dahchour i De Witte 1999), w remodelingu redagowania mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$.

Dane literaturowe wskazują, że ekspozycja na alkohol u myszy powoduje wzrost częstości występowania izoformy VNV – charakteryzującej się obniżoną aktywnością funkcjonalną – w jądrze półleżącym przegrody oraz grzbietowym jądrze szwu, ale nie w hipokampie (Watanabe i wsp. 2014). Wyniki te sugerują, że rozwój zachowań związanych z piciem alkoholu może zależeć od częstości występowania izoformy VNV receptora 5-HT$_{2C}$. Z kolei, nasze badania sugerują, że hipokampalna izoforma INV receptora 5-HT$_{2C}$ może odgrywać rolę w mechanizmach związanych z odstawieniem alkoholu oraz objawami prodepresyjnymi (**Wniosek 5b**). Konieczne są jednak dalsze badania, które pozwolą ocenić, czy obserwowane zmiany są specyficzne dla tego regionu mózgu, czy też występują w innych obszarach.

#### *4.4.4.1. Wpływ odstawienia nikotyny na redagowanie mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$*

W dalszej części badań, w celu identyfikacji mechanizmów leżących u podłoża prodepresyjnych objawów odstawienia nikotyny, oceniłam wydajność procesu redagowania mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$, a także poziom ekspresji tych receptorów w hipokampie oraz polu brzusznym nakrywki – regionach mózgu związanych z uzależnieniem od nikotyny i depresją (**Cel 6 osiągnięcia naukowego**).

W badaniach wykorzystane zostały szczury, którym przez pięć dni podawana była nikotyna (0.4 mg/kg), a następnie zwierzęta zostały wprowadzone w fazę odstawienia. Analiza głębokiego sekwencjonowania wykazała osłabienie wydajności redagowania mRNA receptora w miejscu E w hipokampie w 3. dniu odstawienia nikotyny, przy jednoczesnym braku zmian w częstości występowania wariantów receptora 5-HT$_{2C}$ *(Zaniewska i wsp., 2015). W polu brzusznym nakrywki zaobserwowano spadek częstości wariantu CD, odpowiadającego izoformie ISV receptora *(Zaniewska i wsp., 2015).

W swoich wcześniejszych badaniach nad mechanizmami związanymi z odstawieniem podań biernych nikotyny wykazałam, że farmakologiczna aktywacja receptorów 5-HT$_{2C}$ w 3. dniu odstawienia łagodziła objawy prodepresyjne u zwierząt (Zaniewska i wsp. 2010a). Przeciwdepresyjny efekt agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ był widoczny w dawkach związków niższych niż te, które wykazywały działanie u zwierząt naiwnych, sugerując uwrażliwienie receptorów 5-HT$_{2C}$ w okresie odstawienia nikotyny. Na poziomie komórkowym odstawienie nikotyny prowadziło do osłabienia wiązania odwrotnego agonisty [$^3$H]mesulerginy do receptorów 5-HT$_{2C}$ w brzusznej części hipokampa (33%) (Zaniewska i wsp. 2015), sugerując udział hipokampalnych receptorów 5-HT$_{2C}$ w mechanizmach adaptacyjnych związanych z afektywnymi objawami odstawienia nikotyny u szczurów.

Wyniki badań otrzymane w ramach rozprawy habilitacyjnej pokazują, że osłabienie procesu redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie w okresie odstawienia nikotyny jest zgodne ze zmniejszonym wiązaniem [$^3$H]mesulerginy do receptorów 5-HT$_{2C}$ w tym regionie mózgu. Analogicznie, w polu brzusznym nakrywki obniżenie częstości wariantu CD koreluje z 17% spadkiem wiązania radioliganda, choć efekt ten nie był znamienny statystyczne. [$^3$H]mesulergina, jako odwrotny agonista preferencyjnie oddziałujący z nieaktywną formą receptora (tzw. *low-affinity state*), znakuje wyłącznie populację receptorów nieaktywnych (Barker i wsp. 1994; Berg i wsp. 1999). Biorąc pod uwagę prawdopodobny spadek poziomu centralnej 5-HT, również w hipokampie, a także zwiększoną wrażliwość receptorów 5-HT$_{2C}$ na agonistów tych receptorów w okresie odstawienia nikotyny, obserwowany spadek wiązania

radioliganda oraz redagowania mRNA receptora jest najprawdopodobniej związany ze zmianami konformacyjnymi receptora 5-HT$_{2C}$, a nie z jego down-regulacją. Zatem zmniejszenie wiązania nieaktywnej puli receptorów, w połączeniu z osłabieniem procesu redagowania receptora 5-HT$_{2C}$ w okresie odstawienia nikotyny, może wskazywać na rearanżację puli receptorów 5-HT$_{2C}$ w kierunku populacji o zwiększonej aktywności funkcjonalnej w odpowiedzi na obniżony poziom 5-HT (**Wniosek 6**).

#### *4.4.4.4. Podsumowanie*

Uzyskane wyniki wskazują, że deplecja 5-HT w mózgu moduluje proces redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$, z tendencją do przesunięcia profilu izoform receptora w kierunku wariantów o wyższej aktywności funkcjonalnej (hipokamp – spadek wydajności redagowania oraz wzrost częstości izoformy nieredagowanej *None*; kora przedczołowa − spadek częstości wariantu AB (VNI)). Redagowanie mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ wykazuje odmienną odpowiedź na odstawienie nikotyny i alkoholu. Krótkotrwałe odstawienie wielokrotnych podań nikotyny, któremu towarzyszyły objawy prodepresyjne oraz osłabienie aktywności układu 5-HT (skrócenie czasu pływania), było związane z osłabieniem procesu redagowania receptora (hipokamp – spadek wydajności redagowania w miejscu E; pole brzuszne nakrywki – spadek częstości wariantu CD (ISV)), co sugeruje rearanżację profilu izoform w kierunku receptorów o wyższej aktywności. Z kolei, wczesne odstawienie etanolu u zwierząt o wysokiej konsumpcji etanolu, również wykazujących objawy prodepresyjne (bez istotnych zmian w czasie pływania), prowadziło do nasilenia procesu redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie, sugerując tendencję do przesunięcia profilu receptorowego w kierunku wariantów o obniżonej aktywności.

W odniesieniu do danych literaturowych pokazujących osłabienie wydajności procesu redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ oraz wzrost częstości występowania wysoko funkcjonalnych izoform receptora INI i AD w korze przedczołowej pacjentów z ciężką depresją (Lyddon i wsp. 2013), obserwowany kierunek zmian w redagowaniu u myszy *Tph2*$^{-/-}$ oraz szczurów w okresie odstawienia nikotyny jest zbliżony do profilu opisywanego w typowej depresji, podczas gdy zmiany we wzorcu redagowania mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ u myszy odstawionych od alkoholu sugerują odmienny, potencjalnie atypowy charakter tych neuroadaptacji.

### *4.4.5. NAWRÓT UZALEŻNIENIA – poszukiwanie neurobiologicznych mechanizmów zwiększających ryzyko nawrotu*

#### *4.4.5.1. Wpływ stymulacji receptorów 5-HT$_{2C}$ na objawy prodepresyjne, zachowania nawrotowe oraz zmiany w neurogenezie w okresie odstawienia nikotyny u szczurów*

Zastosowana w ramach rozprawy doktorskiej procedura wielokrotnych podań nikotyny nie była optymalnym modelem translacyjnym TUD u ludzi. Z tego względu zasadne było potwierdzenie przeciwdepresyjnego działania agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ w modelu samopodawania nikotyny, który lepiej oddaje behawioralne i neurobiologiczne aspekty uzależnienia. Ponadto wcześniejsze badania nad rolą agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ w nawrocie zachowań poszukiwawczych nikotyny dotyczyły wyłącznie jednorazowych podań ligandów. Z klinicznego punktu widzenia istotne było zbadanie wpływu długotrwałej stymulacji receptorów 5-HT$_{2C}$ w czasie odstawienia, z wykorzystaniem selektywnego agonisty tych receptorów lorkaseryny, na kluczowe czynniki sprzyjające nawrotom, tj. afektywne objawy odstawienia

oraz zachowania poszukiwawcze nikotyny, a także jej wpływu na funkcje poznawcze i zachowania eksploracyjne (**Cel 7 osiągnięcia naukowego**).

W teście jasnego/ciemnego pola (ang. ***L**ight/**D**ark **B**ox*; LDB) wykazałam, że odstawienie nikotyny nie wywołuje zachowań prolękowych. Lorkaseryna podawana w dawce 0.1 mg/kg przez okres dwóch pierwszych tygodni odstawienia była nieaktywna w teście LDB, podczas gdy wyższa dawka (0.3 mg/kg) wykazywała działanie prolękowe, co objawiało się skróceniem czasu spędzonego w jasnym kompartmencie oraz zmniejszoną ruchliwością w tej strefie *(Zaniewska i wsp. 2021). W 4. dniu odstawienia odnotowałam wzrost aktywności lokomotorycznej zwierząt w nowym środowisku, a efekt ten był hamowany po podaniu lorkaseryny (0.1 oraz 0.3 mg/kg) *(Zaniewska i wsp. 2021). W 14. dniu odstawienia u szczurów rozwinęły się objawy prodepresyjne, mierzone jako wydłużony czas bezruchu w teście FST. Lorkaseryna w dawce 0.1 mg/kg skracała wydłużony czas bezruchu, natomiast w dawce 0.3 mg/kg zmniejszała czas pływania w porównaniu do grupy kontrolnej *(Zaniewska i wsp. 2021). W 15. dniu odstawienia, obwodowe podanie nikotyny oraz wprowadzenie zwierząt do klatek eksperymentalnych kojarzonych z infuzjami nikotyny wywołało wzrost naciśnięć na dźwignię aktywną kojarzoną z nikotyną. Chroniczne podania lorkaseryny (0.1 mg/kg) zmniejszały liczbę naciśnięć na obie dźwignie − aktywną oraz nieaktywną − co sugeruje małą specyficzność działania agonisty receptorów 5-$HT_{2C}$ w stosunku do zachowań poszukiwawczych nikotyny *(Zaniewska i wsp. 2021). W teście rozpoznawania nowego obiektu (ang. ***N**ovel **O**bject **R**ecognition*; NOR) wykazałam, że w 17. dniu odstawienia nikotyny dochodzi do pogorszenia umiejętności rozróżniania nowego obiektu, co wskazuje na deficyty poznawcze u zwierząt odstawionych od nikotyny *(Zaniewska i wsp. 2021). Chroniczne podania lorkaseryny (0.3 mg/kg), zmniejszały deficyty poznawcze wywołane odstawieniem *(Zaniewska i wsp. 2021).

Na podstawie badań behawioralnych wysunęłam wniosek, że odstawienie samopodawania nikotyny wywołało zwiększoną ruchliwość w nowym środowisku, rozwój zachowań prodepresyjnych, zachowania poszukiwawcze nikotyny oraz pogorszenie umiejętności rozróżniania obiektów. Nasilona eksploracja nowego środowiska może odzwierciedlać zwiększone poszukiwanie wrażeń u ludzi (Blanchard i wsp. 2009), a wydłużony czas bezruchu może stanowić odpowiednik poczucia bezradności u ludzi. Zwiększona liczba naciśnięć na dźwignię nikotynową jest uznawana za wskaźnik głodu nikotynowego i/lub zachowań nawrotowych, natomiast zdolność rozróżniania obiektów stanowi miarę funkcji poznawczych, których deficyty mogą wynikać z odstawienia nikotyny − substancji o działaniu prokognitywnym (Valentine i Sofuoglu 2018). Lorkaseryna łagodziła nasiloną aktywność ruchową, objawy prodepresyjne, częściowo poprawiała funkcje poznawcze, a także w sposób niespecyficzny hamowała zachowania poszukiwawcze nikotyny (**Wniosek 7a**). Z klinicznego punktu widzenia niższa dawka lorkaseryny (0.1 mg/kg) wykazywała korzystniejszy profil działania w zakresie objawów afektywnych, podczas gdy wyższa dawka nie wykazywała takiego efektu, a w niektórych testach miała niekorzystny wpływ na zachowania zwierząt (np. działanie prolękowe w teście LDB), co wskazuje na wąskie okno terapeutyczne tej substancji (**Wniosek 7b**).

Działanie lorkaseryny na pobudzenie ruchowe szczurów w nowym środowisku potwierdza wcześniejsze obserwacje pokazujące hamujący wpływ agonistów receptorów 5-$HT_{2C}$ na efekty lokomotoryczne nikotyny (Grottick i wsp. 2001; Hayes i wsp. 2009; Zaniewska

i wsp. 2009a, 2010b). Również obserwacje dotyczące przeciwdepresyjnego działania niższej dawki lorkaseryny w okresie odstawienia nikotyny są zgodne z naszymi wcześniejszymi spostrzeżeniami dotyczącymi innych agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ Ro60-0175 oraz WAY163,909 badanych po podaniu jednorazowym (Zaniewska i wsp. 2010a) oraz z wynikami badań klinicznych u pacjentów z otyłością leczonych lorkaseryną (Kolotkin i wsp. 2017). Nasze wyniki wskazujące na niespecyficzne działanie niższej dawki lorkaseryny na zachowania poszukiwawcze nawrotowe są rozbieżne z obserwacjami innych grup badawczych, które wykazały hamujący wpływ lorkaseryny lub Ro 60-0175 po podaniu jednorazowym (Higgins i wsp. 2012; Fletcher i wsp. 2012, 2019). Różnice te można tłumaczyć neuroadaptacjami zachodzącymi w obrębie receptorów 5-HT$_{2C}$ w wyniku długotrwałych podań substancji lub jej wpływem na procesy inne niż motywacyjne np. impulsywność motoryczną (Higgins i wsp. 2016). Z kolei, wpływ wyższej dawki lorkaseryny na funkcje poznawcze może wiązać się z działaniem tego związku na inne niż 5-HT$_{2C}$ receptory, do których lorkaseryna ma powinowactwo, a których wrażliwość na substancję może uwydatnić się po chronicznym podaniu leku.

Biorąc pod uwagę, że w okresie odstawienia nikotyny dochodzi do rozwoju zachowań prodepresyjnych oraz zmian w ekspresji izoform receptorów 5-HT$_{2C}$ w hipokampie *(Zaniewska i wsp. 2015) oraz fakt, że osłabienie neurogenezy w tym obszarze mózgu może być związane z występowaniem depresji (Braun i Jessberger 2014) wysunęłam hipotezę, że jednym z mechanizmów przeciwdepresyjnego działania agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ w czasie odstawienia nikotyny jest ich modulujący wpływ na proces neurogenezy. Dotychczasowe badania przeprowadzone na zwierzętach naiwnych wykazały, że jednorazowe podanie selektywnego agonisty receptorów 5-HT$_{2C}$ WAY161,503 powoduje przesunięcie populacji dojrzewających neuronów w kierunku bardziej dojrzałego fenotypu, natomiast zarówno chroniczne podania tego agonisty, jak i jednorazowe lub długotrwałe podania innego preferencyjnego agonisty receptorów 5HT$_{2C}$ Ro 60-0175 nie wpływało na neurogenezę (Banasr i wsp. 2004; Klempin i wsp. 2010). Dane te wskazują na różnice w funkcjonalnej selektywności agonistów receptorów 5-HT$_{2C}$ oraz sugerują, że wybrane ligandy mogą modulować etap dojrzewania młodych neuronów w hipokampie. Na podstawie tych obserwacji, równolegle do analiz behawioralnych oceniłam wpływ chronicznych podań lorkaseryny na zmiany w procesie neurogenezy zachodzące w hipokampie w czasie odstawienia nikotyny (**Cel 8 osiągnięcia naukowego**). Z uwagi na większą przedkliniczną skuteczność działania lorkaseryny w dawce 0.1 mg/kg, ta dawka wybrana została do badań procesu neurogenezy. Bezpośrednio po zakończeniu ostatniej sesji samopodawania, we wczesnej fazie odstawienia, zwierzętom podawano BrdU, aby wyznakować dzielące się komórki w zakręcie zębatym hipokampa i śledzić ich los w mikrootoczeniu związanym z odstawieniem. Po 14 dniach odstawienia, przeprowadzono barwienia immunoenzymatyczne: na obecność komórek $K_i$-67$^+$, DCX$^+$ oraz BrdU$^+$ ($K_i$-67 − marker proliferacji, DCX − marker niedojrzałych neuronów, BrdU − marker przeżywalności młodych neuronów) (Ryc. 2). W celu określenia fenotypu komórek BrdU$^+$, służącego do oceny tempa różnicowania młodych neuronów, wykonano potrójne znakowanie immunofluorescencyjne na markery BrdU, DCX oraz NeuN.

W badaniach neurogenezy wykazałam, że w 14. dniu odstawienia nikotyny w zakręcie zębatym hipokampa dochodzi do spadku liczby młodych, niedojrzałych neuronów (DCX$^+$) oraz

obniżonej przeżywalności młodych dzielących się komórek ($BrdU^+$). Odstawienie nikotyny nie wpływało na proliferację młodych komórek ($K_i$-$67^+$) *(Zaniewska i wsp. 2021). Odstawienie nikotyny prowadziło do zmniejszenia częstości występowania subpopulacji komórek $BrdU^+/DCX^+/NeuN^+$ oraz jednoczesnego zwiększenia odsetka mniej dojrzałych komórek ($BrdU^+$ oraz $BrdU^+/DCX^+$) *(Zaniewska i wsp. 2021). Chroniczne podania lorkaseryny w czasie odstawienia zwiększały liczbę niedojrzałych/migrujących komórek neuronalnych $DCX^+$ zarówno u zwierząt kontrolnych, jak i u zwierząt w okresie odstawienia nikotyny. Agonista nie wpływał na liczbę komórek $K_i$-$67^+$ ani $BrdU^+$ oraz na tempo różnicowania młodych neuronów *(Zaniewska i wsp. 2021).

Na podstawie badań neurogenezy wysunęłam wniosek, że lorkaseryna wykazywała własne, pozytywne działanie na niedojrzałe neurony wykazujące ekspresję DCX, niezależnie od tego, czy była to grupa zwierząt odstawionych od nikotyny, czy szczurów otrzymujących rozpuszczalnik (**Wniosek 8**).

Obserwowana poprawa negatywnego afektu oraz częściowa normalizacja zaburzonego procesu neurogenezy pod wpływem lorkaseryny w tym samym punkcie czasowym może sugerować współzależność obu tych procesów. Z tego też względu celem dalszych badań było sprawdzenie, czy inne niefarmakologiczne narzędzie − aktywność fizyczna, która wywiera pozytywny wpływ na neurogenezę (Van Praag i wsp. 1999; Inoue i wsp. 2015) − spowoduje podobne zmiany w neurogenezie oraz złagodzi objawy prodepresyjne towarzyszące odstawieniu nikotyny u szczurów (**Cel 9 osiągnięcia naukowego**).

Jak wykazały badania ostatnich lat, ćwiczenia fizyczne, zwłaszcza o umiarkowanej intensywności, mogą skutecznie osłabiać objawy odstawienia nikotyny, zmniejszać głód nikotynowy oraz zwiększać szansę rzucenia palenia (Bock i wsp. 1999; Marcus i wsp. 1999; Ussher i wsp. 2001, 2003; Everson i wsp. 2008; Janse Van Rensburg i wsp. 2009; Elibero i wsp. 2011; De Jesus i Prapavessis 2018; Harrison i wsp. 2019; Kunicki i wsp. 2022). Neurobiologiczne mechanizmy leżące u podłoża korzystnych efektów biegania u palaczy pozostają jednak słabo poznane. Dane przedkliniczne pochodzące z modelu uzależnienia od nikotyny u osobników młodocianych wykazały, że aktywność fizyczna zmniejszała nabywanie samopodawania nikotyny (Sanchez i wsp. 2015). W tym samym modelu, dostęp do kołowrotków w czasie odstawienia nikotyny ułatwiał wygaszanie zachowań poszukiwawczych, a jedynie u dorastających samic bieganie zmniejszało nawrót indukowany bodźcem środowiskowym (Sanchez i wsp. 2013, 2014; Lynch i wsp. 2019). Jak dotąd brakuje jednak danych dotyczących wpływu biegania na objawy odstawienia nikotyny u dorosłych osobników.

Badania zostały przeprowadzone analogicznie jak w przypadku lorkaseryny. Po zakończeniu procedury samopodawania, zwierzęta zostały wprowadzone do fazy odstawienia, podczas której miały dostęp do kół biegowych. Po 13 dniach biegania, zbadano neurogenezę w hipokampie oraz zachowanie zwierząt w FST, aktywność lokomotoryczną oraz zachowania poszukiwawcze nikotyny.

Analiza neurogenezy w 14. dniu odstawienia wykazała, że przebywanie w klatkach z zablokowanymi kołami oraz odstawienie nikotyny osłabiały dojrzewanie młodych neuronów. Dwutygodniowa ekspozycja na kołowrotki nasilała proliferację komórek ($K_i$-$67^+$) oraz dojrzewanie młodych neuronów ($DCX^+$) w zakręcie zębatym hipokampa zarówno u zwierząt

odstawionych od nikotyny jak i zwierząt naiwnych w porównaniu do zwierząt z dostępem do zablokowanych kołowrotków *(Zaniewska i wsp. 2024). Obserwacje te sugerują, że zmiany te są wynikiem wpływu aktywności fizycznej na bazalną neurogenezę. Dobrowolne bieganie nie wpływało na przeżywalność i szybkość różnicowania młodych neuronów ani nie zmieniało liczby dojrzałych neuronów w zakręcie zębatym hipokampa. Dystans przebyty w kołowrotkach w 13. dniu ekspozycji u zwierząt w okresie odstawienia nikotyny był istotnie wyższy w porównaniu do 1. dnia biegania; całkowity dystans przebyty w ciągu 13 dni u szczurów odstawionych od nikotyny był wyższy w odniesieniu do szczurów otrzymujących sól fizjologiczną *(Zaniewska i wsp. 2024). Masa ciała zwierząt biegających była znamiennie niższa w porównaniu do zwierząt kontrolnych. W stosunku do zwierząt przebywających w klatkach z zablokowanymi kołowrotkami, długotrwała aktywność fizyczna wywoływała w 14. dniu odstawienia efekt przeciwdepresyjny (tj. w teście FST skracała czas bezruchu, pozostając bez wpływu czas pływania i wspinania) oraz zmniejszała spontaniczną aktywność lokomotoryczną zwierząt *(Zaniewska i wsp. 2024), co potwierdza, że działanie przeciwdepresyjne aktywności fizycznej nie wynikało z ogólnej nadaktywności ruchowej zwierząt. Dobrowolne bieganie nie wpływało na zachowania poszukiwawcze nikotyny badane w 15. dniu odstawienia *(Zaniewska i wsp. 2024).

Na podstawie tych obserwacji wysunęłam wniosek, że aktywność fizyczna wykazuje korzystny wpływ na hipokampalną neurogenezę na etapie proliferacji i dojrzewania nowo powstałych neuronów, a dodatkowo – u szczurów w okresie odstawienia nikotyny wywołuje działanie przeciwdepresyjne, pozostając bez wpływu na głód nikotynowy/zachowania nawrotowe (**Wniosek 9a**). U zwierząt pozbawionych dostępu do nikotyny odnotowano znamiennie wyższą aktywność fizyczną w porównaniu do zwierząt kontrolnych, co wskazuje na zwiększoną potrzebę biegania w okresie odstawienia (**Wniosek 9b**). Zjawisko to może wynikać zarówno z samego odstawienia nikotyny, jak i z deprywacji zachowań instrumentalnych (Fouyssac i wsp. 2022) i wymaga dalszych badań. Odnotowany mniejszy przyrost masy ciała u zwierząt biegających może natomiast być związany z przejściową hipofagią oraz zwiększonym spożyciem płynów indukowanym przez aktywność fizyczną w badanym szczepie szczurów (Droste i wsp. 2007).

Uzyskane wyniki badań dotyczące neurogenezy są zgodne z danymi literaturowymi szczegółowo omówionymi w **Artykule 6** *(Zaniewska i wsp. 2024) cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego pokazującymi, że aktywność fizyczna nasila proliferację, liczbę niedojrzałych neuronów oraz przeżywalność młodych neuronów zarówno u myszy jak i szczurów (np. (Van Praag i wsp. 1999; Farmer i wsp. 2004; Kronenberg i wsp. 2006; Mukuda i Sugiyama 2007; Clark i wsp. 2008; Dostes i wsp. 2016; Kodali i wsp. 2016)). Brak zmian w przeżywalności i różnicowaniu neuronów w niniejszym badaniu może wynikać z krótkiego, dwutygodniowego okresu badania neurogenezy.

Przeciwdepresyjny fenotyp obserwowany u zwierząt poddanych aktywności fizycznej jest zgodny z wcześniejszymi doniesieniami wskazującymi na przeciwdepresyjne właściwości zarówno dobrowolnego biegania w zwierzęcych modelach depresji (Bjørnebekk i wsp. 2005; Huang i wsp. 2017), jak i wymuszonego wysiłku fizycznego na bieżni u zwierząt odstawionych od biernych podań nikotyny (Motaghinejad i wsp. 2016). Podobne spostrzeżenia dotyczą osób z depresją, u których bieganie łagodzi objawy depresji (Doyne i wsp. 1987). Warto jednak zauważyć, że u palaczy z objawami depresji w okresie abstynencji nikotynowej ćwiczenia

o dużej intensywności nie łagodziły tych objawów (Patten i wsp. 2017). Rozbieżności w obserwowanych efektach mogą wynikać z różnic w intensywności ćwiczeń, która u palaczy istotnie wpływa zarówno na nastrój jak i głód nikotynowy – w tym kontekście ćwiczenia o dużej intensywności są mniej korzystne (np. (Everson i wsp. 2008)).

Jak dokładnie omówiono w **Artykule 6** *(Zaniewska i wsp. 2024) cyklu prac, brak wpływu długotrwałej aktywności fizycznej na zachowania poszukiwawcze nikotyny u zwierząt może również wynikać z czasu trwania oraz intensywności biegania. Alternatywnie obserwowany brak efektu może być związany ze zwiększoną intensywnością zachowań instrumentalnych (naciśnięć na dźwignię), będących wypadkową nie tylko głodu nikotynowego, ale również deprywacji reakcji instrumentalnej, która może nasilać zjawisko tzw. negatywnej pilności (ang. *negative urgency*) wywołanej nagłym przerwaniem możliwości wykonywania tej reakcji (Fouyssac i wsp. 2022).

#### *4.4.5.2. Wpływ fenotypu o cechach przeciwdepresyjnych na efekt deprywacji alkoholu*

Biorąc pod uwagę, że w okresie odstawienia alkoholu – podobnie jak w przypadku odstawienia nikotyny – występują objawy prodepresyjne, celem dalszych badań była ocena wpływu fenotypu przeciwdepresyjnego na nawrót picia alkoholu po okresie deprywacji (**Cel 10 osiągnięcia naukowego**).

W badaniach wykorzystane zostały szczury TGR(NSEhA2A) z fenotypem przeciwdepresyjnym, które po etapie chronicznej konsumpcji alkoholu w paradygmacie opisanym w sekcji *4.4.3.3* były trzykrotnie wprowadzane w 10-dniowy okres odstawienia i ponownie poddawane ekspozycji na etanol w celu wywołania efektu deprywacji (ang. ***A**lcohol **D**eprivation **E**ffect*, ADE). W okresie odstawienia alkoholu zbadany został wpływ nadekspresji receptorów $A_{2A}$ na zachowanie zwierząt w FST, aktywność lokomotoryczną, a także badane było spożycie alkoholu w czasie nawrotów.

W 3. dniu odstawienia alkoholu zwierzęta TGR(NSEhA2A) wykazywały skrócony czas bezruchu, wydłużony czas pływania oraz brak zmian w czasie wspinania w FST w porównaniu do zwierząt typu dzikiego; równocześnie nie zaobserwowano różnic w bazalnej aktywności lokomotorycznej pomiędzy tymi grupami *(Zaniewska i wsp. 2019). Wpływ nadekspresji receptorów $A_{2A}$ na czas bezruchu w FST był silniejszy u szczurów po chronicznej konsumpcji etanolu w porównaniu do zwierząt transgenicznych pijących wodę *(Zaniewska i wsp. 2019). Dodatkowo zwierzęta transgeniczne odstawione od alkoholu wykazywały podwyższoną bazalną aktywność lokomotoryczną, utrzymującą się we wszystkich okresach odstawienia, w porównaniu z naiwnymi zwierzętami TGR(NSEhA2A), które z kolei wykazywały hipoaktywność lokomotoryczną w odniesieniu do zwierząt typu dzikiego *(Zaniewska i wsp. 2019). U szczurów typu dzikiego pobudzenie lokomotoryczne wywołane odstawieniem alkoholu było mniej widoczne i miało charakter przejściowy *(Zaniewska i wsp. 2019). Po trzecim okresie deprywacji zwierzęta transgeniczne wykazywały eskalację spożycia alkoholu w porównaniu do bazalnych poziomów picia *(Zaniewska i wsp. 2019). Poziomy spożycia alkoholu – zwłaszcza po trzecim okresie odstawienia – były wyższe o ok. 90% u zwierząt z nadekspresją receptorów $A_{2A}$ w porównaniu ze zwierzętami typu dzikiego, choć różnice te nie były znamienne statystycznie *(Zaniewska i wsp. 2019). W teście adulteracji etanolu chininą poziom konsumpcji alkoholu u zwierząt transgenicznych zmniejszył się o 40% w porównaniu z ich bazalnym poziomem picia *(Zaniewska i wsp. 2019), co sugeruje spadek

motywacji do spożywania alkoholu u zwierząt transgenicznych w warunkach awersyjnych. Co ważne, poziom alkoholu we krwi nie różnił się pomiędzy badanymi genotypami *(Zaniewska i wsp. 2019).

Na podstawie otrzymanych wyników wysunęłam wniosek, że nadekspresja receptorów $A_{2A}$ u zwierząt wykazujących fenotyp przeciwdepresyjny, w warunkach powtarzających się cykli odstawienia etanolu i nawrotów wywołuje eskalację spożycia etanolu u szczurów (**Wniosek 10a**). Równocześnie zwiększona ekspresja receptorów $A_{2A}$ u szczurów transgenicznych w czasie odstawienia etanolu prowadzi do utrzymującego się wzrostu aktywności lokomotorycznej w porównaniu do zwierząt naiwnych (**Wniosek 10b**).

Biorąc pod uwagę, że nadekspresja receptorów $A_{2A}$ u szczurów TGR(NSEhA2A) zachodzi głównie w prążkowiu, a w znacznie mniejszym stopniu w korze czołowej i przedczołowej (Giménez-Llort i wsp. 2007), można przypuszczać, że obserwowane efekty są przede wszystkim związane z aktywnością receptorów $A_{2A}$ zlokalizowanych w prążkowiu. Wiele danych literaturowych wskazuje na zaangażowanie prążkowia w regulację różnych funkcji, w tym emocji, a także behawioralnych odpowiedzi na alkohol, takich jak głód alkoholowy (Chen i wsp. 2011). U pacjentów z AUD we wczesnym okresie abstynencji w brzusznej części prążkowia stwierdzono zmniejszoną dostępność receptorów $D_2$ (Chen i wsp. 2011). Co istotne, spadek ekspresji receptorów $D_2$ w prążkowiu odnotowano również u naiwnych zwierząt TGR(NSEhA2A) (Giménez-Llort i wsp. 2007). U tych zwierząt transgenicznych obserwowano również wzrost tkankowego poziomu dopaminy w brzusznym prążkowiu, ale nie w jego części grzbietowej ani w korze przedczołowej (Jastrzębska i wsp. 2014). Może to sugerować, że u zwierząt z nadekspresją receptorów $A_{2A}$ dochodzi do zmian w układzie dopaminergicznym w prążkowiu, które mogą być dalej modulowane przez chroniczną ekspozycję na etanol oraz jego odstawienie. W rzeczywistości w okresie odstawienia u zwierząt transgenicznych obserwowany jest utrzymujący się wzrost pobudzenia lokomotorycznego, behawioralny fenotyp związany z nasileniem neurotransmisji dopaminowej w brzusznym prążkowiu (Beninger 1983). Podobne pobudzenie motoryczne, nasilone zachowania poszukiwawcze alkoholu oraz towarzyszący im wzrost zewnątrzkomórkowego poziomu dopaminy w prążkowiu w czasie dłuższego odstawienia alkoholu opisano również w innych badaniach przedklinicznych (Hirth i wsp. 2016).

Jednym z mechanizmów często łączonym z głodem alkoholowym jest zaburzona łączność funkcjonalna pomiędzy prążkowiem, zwłaszcza jego częścią brzuszną, a korą przedczołową (Chen i wsp. 2011). Co istotne, obie te struktury są silnie unerwiane przez projekcje serotoninergiczne biegnące z jąder szwu (Vertes i Linley 2007; Soiza-Reilly i Gaspar 2020). Biorąc pod uwagę wyraźne skrócenie czasu bezruchu oraz wydłużenie czasu pływania w FST u zwierząt TGR(NSEhA2A), co odzwierciedla fenotyp przypominający działanie SSRI w tym teście (Page i wsp. 1999), można przypuszczać, że nadekspresja receptorów $A_{2A}$ w prążkowiu nasila neurotransmisję 5-HT w mózgu zwierząt transgenicznych. Co ciekawe, wcześniejsze obserwacje kliniczne wykazały, że u pacjentów z AUD po zakończeniu leczenia SSRI – sertraliną – może dochodzić do wzrostu intensywności spożycia alkoholu (Dundon i wsp. 2004). Podobny wzrost konsumpcji alkoholu odnotowano u szczurów po zaprzestaniu chronicznych podań innego SSRI – fluoksetyny – w okresie odstawienia alkoholu, a efekt ten korelowano ze zwiększoną wrażliwością neurotransmisji dopaminergicznej (Alén i wsp. 2013). W kontekście prowadzonych badań, nie jest jednak jasne, czy i w jaki sposób nadekspresja

receptorów $A_{2A}$ w prążkowiu prowadzi do nasilenia neurotransmisji 5-HT oraz w jakim rejonie mózgu ten efekt się ujawnia. Konieczne są dalsze badania umożliwiające weryfikację zaproponowanego mechanizmu.

W Artykule 2 cyklu prac szerzej omówiono inne potencjalne mechanizmy, które mogłyby tłumaczyć eskalację konsumpcji alkoholu u zwierząt z nadekspresją receptorów $A_{2A}$, w tym możliwe oddziaływania tych receptorów z receptorami $D_2$ na neuronach GABA-ergicznych prążkowiowo-pallidalnych oraz z receptorami metabotropowymi glutaminianu podtypu 5 (mGlu5) zlokalizowanymi na korowych zakończeniach glutaminianergicznych w prążkowiu. Konieczne są dalsze badania z użyciem mikrodializy *in vivo*, które pozwolą bezpośrednio oszacować zmiany w poziomie neuroprzekaźników w prążkowiu oraz zweryfikować proponowane mechanizmy.

### *4.4.5.3. Podsumowanie*

Uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku długotrwałego odstawienia samopodawania nikotyny dochodzi do rozwoju objawów prodepresyjnych oraz pogorszenia procesu neurogenezy w hipokampie, głównie na etapie dojrzewania/migracji, różnicowania oraz przeżywalności młodych neuronów. Zastosowanie zarówno agonisty receptorów 5-$HT_{2C}$, lorkaseryny, jak i aktywności fizycznej – dwóch interwencji o odmiennych mechanizmach działania – prowadzi do redukcji objawów prodepresyjnych oraz przywrócenia prawidłowego poziomu dojrzewających neuronów w hipokampie. Na tej podstawie można przypuszczać, że utrata komórek $DCX^+$ w zakręcie zębatym hipokampa odgrywa istotną rolę w rozwoju objawów depresyjnych towarzyszących odstawieniu nikotyny.

Jednym z potencjalnych mechanizmów wspólnym dla obu strategii może być modulacja receptorów 5-$HT_{2C}$. Lorkaseryna, jako selektywny agonista tych receptorów może częściowo kompensować niedobór 5-HT w hipokampie w okresie odstawienia nikotyny, osłabiając objawy prodepresyjne. Ponieważ receptory 5-$HT_{2C}$ są zlokalizowane na komórkach granularnych warstwy ziarnistej zakrętu zębatego hipokampa (Klempin i wsp. 2010), wpływ aktywacji tych receptorów na neurogenezę może być związany z mechanizmami sygnalizacji parakrynnej. Przeciwdepresyjne działanie aktywności fizycznej może być również związane z modulacją funkcji receptorów 5-$HT_{2C}$. Wykazano, że dobrowolne bieganie osłabia ekspresję receptorów 5-$HT_{2C}$, czemu towarzyszy osłabienie zachowań lękowo-depresyjnych u zwierząt (Greenwood i wsp. 2012). Chociaż obserwacje te sugerują udział receptorów 5-$HT_{2C}$ w behawioralnych efektach aktywności fizycznej, zaangażowanie tych receptorów w modulujący wpływ długotrwałego biegania na neurogenezę jest niejasne i wymaga dalszych badań.

Co istotne, zarówno lorkaseryna jak i aktywność fizyczna nie wpływały w sposób specyficzny na zachowania poszukiwawcze nikotyny, co sugeruje, że łagodzenie objawów afektywnych nie zapobiega zachowaniom nawrotowym indukowanym przez wyzwalającą dawkę nikotyny i ekspozycję na środowisko kojarzone z nikotyną.

Podobnie, poprawa stanu afektywnego w okresie odstawienia etanolu, wywołana nadekspresją receptorów $A_{2A}$ i przypuszczalnie nasiloną neurotransmisją 5-HT, nie zmniejszała konsumpcji alkoholu. Paradoksalnie taka poprawa stanu emocjonalnego, współwystępująca ze zwiększoną aktywnością lokomotoryczną wiązała się z nasileniem spożycia etanolu. Zjawisko to może być związane z dysregulacją układu dopaminergicznego, serotoninergicznego oraz glutaminianergicznego w obrębie szlaku korowo-prążkowiowego.

### *4.4.6. Podsumowanie cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego*

Podsumowując cykl prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego mogę stwierdzić, że otrzymane wyniki mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia roli układu 5-HT w rozwoju, utrzymywaniu się oraz nawrotowości AUD oraz TUD. Układ 5-HT odgrywa istotną rolę zarówno w modulowaniu efektów behawioralnych tych substancji jak i stanowi ważny element neurobiologicznej odpowiedzi mózgu na ich przewlekłe stosowanie oraz odstawienie.

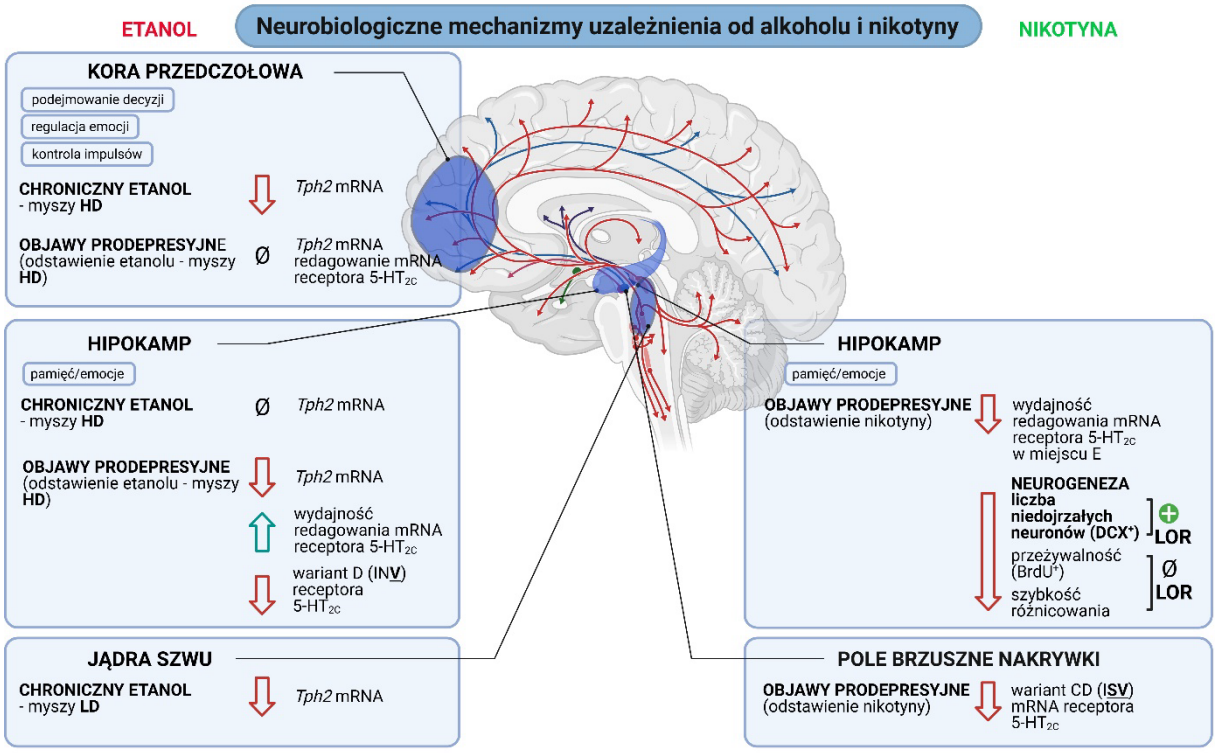
Uzyskane wyniki wskazują, że ryzyko rozwoju zachowań związanych z piciem alkoholu jest zależne od poziomu 5-HT w mózgu – niedobór 5-HT sprzyja większej konsumpcji alkoholu. Myszy *Tph2*$^{-/-}$ z obniżonym poziomem 5-HT mogą stanowić cenny model przedkliniczny podatności na fenotyp AUD typu II Cloningera oraz narzędzie do testowania nowych celów terapeutycznych. Profil behawioralny tych myszy wskazuje na zaburzoną strategię radzenia sobie ze stresem, nasilone zachowania antyspołeczne, wysoką impulsywność i agresję, które predysponują do wzmożonej konsumpcji alkoholu.

W prezentowanym cyklu prac zaobserwowałam również, że fenotyp przeciwdepresyjny nie zapobiega rozwojowi kompulsywnego picia alkoholu, co potwierdzają wyniki uzyskane u zwierząt z nadekspresją receptorów $A_{2A}$ w prążkowiu, które pomimo fenotypu przeciwdepresyjnego wykazywały podobny poziom konsumpcji etanolu jak zwierzęta kontrolne.

W swoich badaniach wykazałam również, że poziom ekspresji *Tph2* w jądrach szwu oraz korze przedczołowej wiąże się z indywidualnym poziomem konsumpcji etanolu (Ryc. 3), co sugeruje możliwość wykorzystania tego genu w przyszłości jako potencjalnego biomarkera podatności na wysoką lub niską konsumpcję alkoholu. Wyniki te podkreślają znaczenie indywidualnych różnic w działaniu układu 5-HT w stratyfikacji osobników pod względem podatności na spożywanie alkoholu.

Ponadto otrzymane wyniki wskazują, że krótkotrwałe odstawienie alkoholu i nikotyny, któremu towarzyszą objawy przypominające depresję, w odmienny sposób modulują proces redagowania mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$ (Ryc. 3). W przypadku nikotyny, objawom prodepresyjnym towarzyszą zmiany w neurotransmisji 5-HT (skrócony czas pływania w FST), co skutkuje zwiększoną aktywnością receptorów 5-HT$_{2C}$ (osłabienie procesu redagowania receptora 5-HT$_{2C}$ w hipokampie oraz polu brzusznym nakrywki). Zmiany w profilu izoform receptora 5-HT$_{2C}$ w kierunku wariantów o wyższej aktywności funkcjonalnej w odstawieniu nikotynowym przypominają zmiany obserwowane w warunkach deplecji 5-HT (osłabienie procesu redagowania receptorów 5-HT$_{2C}$ w hipokampie oraz korze przedczołowej). Z kolei, w przypadku odstawienia alkoholu, mimo obecności objawów prodepresyjnych u zwierząt, lecz bez wyraźnej komponenty serotoninergicznej, obserwowany jest odmienny kierunek zmian w redagowaniu mRNA receptora 5-HT$_{2C}$ (nasilenie procesu redagowania w hipokampie), sugerujący atypowy charakter tych neuroadaptacji i tendencję do przesunięcia profilu izoform w stronę mniej aktywnych receptorów. Konieczne są dalsze badania z wykorzystaniem mikrodializy *in vivo*, które pozwolą ocenić, czy wzorzec redagowania mRNA receptorów 5-HT$_{2C}$ koreluje ze zmianami w poziomie 5-HT w mózgu.

Dodatkowe badania przeprowadzone w okresie odstawienia nikotyny dotyczyły oceny skuteczności agonisty receptorów 5-HT$_{2C}$ w modulowaniu objawów prodepresyjnych i zachowań nawrotowych z wykorzystaniem modelu samopodawania nikotyny. Wykazałam, że w okresie dwutygodniowego okresu odstawienia nikotyny, kiedy dochodzi do rozwoju




BrdU - 5-bromo-2'-deoksyurydyna; DCX - dablokortyna; HD - myszy "pijące dużo alkoholu"; LD - myszy "pijące mało alkoholu"; LOR - agonista receptorów 5-HT$_{2C}$; Ø - brak zmian; ⇧ - wzrost; ⇩ - spadek

*Szlaki dopaminergiczne: mezokortykalny, mezolimbiczny, nigrostriatalny, tuberoinfundibularny; Szlaki serotoninowe*

**Ryc. 3. Neurobiologiczne mechanizmy uzależnienia od alkoholu i nikotyny z uwzględnieniem regulacji układu 5-HT.** Schemat przedstawia zmiany molekularne w wybranych obszarach mózgu (kora przedczołowa, hipokamp, jądra szwu i pole brzuszne nakrywki) związane z długotrwałą ekspozycją na alkohol, nikotynę oraz ich odstawienie. **Utworzono w https://BioRender.com.**

zachowań prodepresyjnych, obserwuje się w hipokampie zaburzenie wzorca dojrzewania nowych neuronów, a także ogólny spadek liczby niedojrzałych neuronów oraz przeżywalności młodych, dzielących się komórek (Ryc. 3). Równoczesna poprawa zaburzonego procesu neurogenezy oraz złagodzenie objawów prodepresyjnych za pomocą dwóch narzędzi – farmakologicznego – agonisty receptorów 5-HT$_{2C}$, lorkaseryny oraz niefarmakologicznego – aktywności fizycznej – potwierdziła zależność stanu emocjonalnego zwierząt odstawionych od nikotyny od stanu młodych, dojrzewających neuronów hipokampa (Ryc. 3).

Zarówno w przypadku alkoholu jak i nikotyny wykazałam, że zastosowanie w okresie odstawienia różnych narzędzi neurobiologicznych (alkohol: manipulacja genetyczna – nadekspresja receptorów A$_{2A}$ w prążkowiu; nikotyna: agonista receptorów 5-HT$_{2C}$ oraz aktywność fizyczna), wywołujących u zwierząt efekt przeciwdepresyjny, nie zapobiegało zachowaniom nawrotowym. W modelu picia alkoholu interwencja ta prowadziła do eskalacji jego spożycia.

Otrzymane w ramach rozprawy habilitacyjnej wyniki wskazują na odrębne neurobiologiczne 5-HT-zależne mechanizmy leżące u podłoża działania alkoholu i nikotyny, a także odmienne procesy związane z objawami prodepresyjnymi oraz zachowaniami poszukiwawczymi/nawrotowymi.

### *4.4.7. Omówienie ewentualnego wykorzystania wyników prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego*

AUD stanowi jeden z najpoważniejszych problemów zdrowotnych na świecie. Zgodnie z klasyfikacją DSM-5, obraz kliniczny AUD obejmuje m.in. wczesny początek, współwystępowanie zaburzeń zachowania (np. agresja, wandalizm) oraz cechy antyspołeczne (American Psychiatric Association 2022), które w znacznym stopniu pokrywają się z profilem typu II według klasyfikacji Cloningera, który wiąże się z bardziej nasilonym przebiegiem uzależnienia oraz osłabioną funkcją układu 5-HT w mózgu (Cloninger i wsp. 1981, 1996; Fils-Aime i wsp. 1996). Mimo wielu podobieństw, model Cloningera nie został włączony do DSM. Powrót do wcześniejszych typologii, przy uwzględnieniu czynników neurobiologicznych, takich jak działanie układu 5-HT może przyczynić się do lepszego zrozumienia heterogeniczności objawów AUD, poprawy jego diagnozy i leczenia. Obecnie stosowane farmakoterapie wykazują jedynie umiarkowaną skuteczność, dlatego potrzebne są nowe strategie terapeutyczne dopasowane do konkretnych profili klinicznych. Kluczowe znaczenie ma tutaj również rozwój modeli translacyjnych AUD, które będą lepiej odzwierciedlać zróżnicowane fenotypy AUD, w tym fenotypy zbliżone do typu II Cloningera. W tym kontekście wyniki uzyskane w ramach rozprawy habilitacyjnej wskazują, że myszy *Tph2*$^{-/-}$ mogą stanowić cenny model do badania mechanizmów związanych z niedoborem 5-HT w AUD. Zwierzęta te wykazują zwiększone spożycie alkoholu oraz cechy behawioralne, takie jak nasilona agresja, impulsywność i zaburzenia zachowań społecznych, co przypomina typ II Cloningera.

W oparciu o te obserwacje, przygotowana została nowa propozycja projektu badawczego, w której planowane jest zbadanie skuteczności leku stosowanego obecnie w leczeniu otyłości w hamowaniu picia alkoholu u myszy *Tph2*$^{-/-}$. Lek ten w ostatnich latach zwrócił uwagę naukowców, ponieważ zarówno w badaniach klinicznych jak i przedklinicznych zmniejszał motywację do konsumpcji alkoholu. Nadal jednak nie wiadomo, jakie mechanizmy leżą u podłoża tego działania oraz czy lek ten może być skuteczny u osób z obniżoną aktywnością układu 5-HT.

Wyniki otrzymane u myszy *Tph2*$^{-/-}$, a także obserwacje dotyczące zróżnicowanej ekspresji *Tph2* u zwierząt o odmiennym poziomie konsumpcji alkoholu, wskazują na potrzebę dalszych badań mających na celu identyfikację 5-HT-zależnych biomarkerów podatności na AUD. Dalsze analizy ekspresji *Tph2* oraz aktywności tego enzymu w różnych fazach konsumpcji etanolu pomogą ocenić, czy TPH2 może stanowić wskaźnik różnic indywidualnych w skłonności do picia alkoholu.

Równocześnie, biorąc pod uwagę wykazaną w prezentowanym cyklu prac rolę receptorów $A_{2A}$ w prążkowiu w nawrocie picia alkoholu, zasadne jest przeprowadzenie badań oceniających ekspresję tych receptorów u pacjentów z AUD, co może przyczynić się do określenia ich znaczenia klinicznego w AUD oraz wskazać nowy kierunek badań.

Wyniki pokazujące korzystny wpływ aktywności fizycznej na afektywne objawy odstawienia nikotyny oraz młode neurony w hipokampie wspierają koncepcję aktywności fizycznej jako obiecującej, niefarmakologicznej terapii w leczeniu TUD. Tego rodzaju interwencja mogłaby zostać wykorzystana w określonych grupach populacyjnych, takich jak młodzież, dla których – ze względu na kontrowersje związane ze stosowaniem interwencji farmakologicznych – dostęp do terapii jest ograniczony lub sprowadza się głównie do

interwencji psychospołecznych. Uwzględnienie aktywności fizycznej o zróżnicowanej intensywności i czasie trwania pozwoli w przyszłości lepiej ocenić sugerowany w moich badaniach potencjał terapeutyczny aktywności fizycznej jako wsparcia w łagodzeniu objawów odstawienia nikotyny i zapobieganiu nawrotom.

Z uwagi na łagodzenie tylko niektórych objawów abstynencji nikotynowej przez lorkaserynę (brak specyficznego wpływu na zachowania poszukiwawcze nikotyny) oraz wąskie okno terapeutyczne tej substancji, wątpliwe jest użycie tej substancji jako nowej strategii leczenia TUD. Co więcej, dalsze badania nad lorkaseryną są obecnie kwestionowane w związku z raportem FDA z 2020 roku, który ujawnił zwiększone ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych u pacjentów z otyłością leczonych lorkaseryną, co skutkowało jej wycofaniem z rynku (Sharretts i wsp. 2020).

Negatywne wyniki badań dotyczące braku działania lorkaseryny oraz aktywności fizycznej na zachowania poszukiwawcze nikotyny oraz osłabioną przeżywalność nowo powstałych komórek w hipokampie zachęcają do poszukiwania nowych narzędzi badawczych, które umożliwiłyby sprawdzenie, czy istnieje zależność między zwiększonym głodem nikotynowym a przeżywalnością młodych neuronów we wspomnianym regionie mózgu. Wyjaśnienie tych zależności umożliwi ocenę znaczenia neurogenezy dla ryzyka nawrotu uzależnienia od nikotyny.

## Bibliografia


Abbas AI, Urban DJ, Jensen NH, et al (2010) Assessing serotonin receptor mRNA editing frequency by a novel ultra high-throughput sequencing method. Nucleic Acids Res 38:. https://doi.org/10.1093/nar/gkq107

Abrous DN, Adriani W, Montaron MF, et al (2002) Nicotine Self-Administration Impairs Hippocampal Plasticity. Journal of Neuroscience 22:3656–3662. https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-09-03656.2002

Adam D (2026) The “bible for psychiatry” is getting a rewrite: your guide to the next DSM. Nature 650:282–283. https://doi.org/10.1038/d41586-026-00283-8

Adell A, Myers R (1995) Selective destruction of midbrain raphe nuclei by 5,7-DHT: is brain 5-HT involved in alcohol drinking in Sprague-Dawley rats? Brain Res 693:70–79. https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00701-Q

Agabio R, Trogu E, Pani PP (2018) Antidepressants for the treatment of people with co-occurring depression and alcohol dependence. Cochrane Database Syst Rev 4:. https://doi.org/10.1002/14651858.CD008581.PUB2

Agrawal A, Lynskey M, Todorov A, et al (2011) A candidate gene association study of alcohol consumption in young women. Alcohol Clin Exp Res 35:550–558. https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.2010.01372.X

Ahdoot-Levi H, Croitoru O, Bareli T, et al (2021) The Effect of Dehydroepiandrosterone Treatment on Neurogenesis, Astrogliosis and Long-Term Cocaine-Seeking Behavior in a Cocaine Self-Administration Model in Rats. Front Neurosci 15:. https://doi.org/10.3389/fnins.2021.773197

Alén F, Orio L, Gorriti MÁ, et al (2013) Increased alcohol consumption in rats after subchronic antidepressant treatment. International Journal of Neuropsychopharmacology 16:1809–1818. https://doi.org/10.1017/S1461145713000217

Alenina N, Kikic D, Todiras M, et al (2009) Growth retardation and altered autonomic control in mice lacking brain serotonin. Proc Natl Acad Sci U S A 106:10332–10337. https://doi.org/10.1073/pnas.0810793106

American Psychiatric Association (2022) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425787

Angoa-Pérez M, Kane M, Briggs D, et al (2012) Genetic depletion of brain 5HT reveals a common molecular pathway mediating compulsivity and impulsivity. J Neurochem 121:974–984. https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2012.07739.X

Angoa-Pérez M, Kane MJ, Briggs DI, et al (2014) Mice genetically depleted of brain serotonin do not display a depression-like behavioral phenotype. ACS Chem Neurosci 5:908–919. https://doi.org/10.1021/CN500096G,

Aoki M, Watanabe Y, Yoshimoto K, et al (2016) Involvement of serotonin 2C receptor RNA editing in accumbal neuropeptide Y expression and behavioural despair. European Journal of Neuroscience 43:1219–1228. https://doi.org/10.1111/ejn.13233

Bach H, Arango V, Huang YY, et al (2011) Neuronal tryptophan hydroxylase expression in BALB/cJ and C57Bl/6J mice. J Neurochem 118:1067–1074. https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2011.07379.X

Bach H, Arango V, Kassir SA, et al (2014) Alcoholics have more tryptophan hydroxylase 2 mRNA and protein in the dorsal and median raphe nuclei. Alcohol Clin Exp Res 38:1894–1901. https://doi.org/10.1111/acer.12414

Balfour DJK (2002) Neuroplasticity within the mesoaccumbens dopamine system and its role in tobacco dependence. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord 1:413–421. https://doi.org/10.2174/1568007023339076

Ballenger JC, Goodwin FK, Major LF, Brown GL (1979) Alcohol and Central Serotonin Metabolism in Man. Arch Gen Psychiatry 36:224–227. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1979.01780020114013
Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A (2004) Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. Neuropsychopharmacology 29:450–460. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300320
Barker EL, Westphal RS, Schmidt D, Sanders-Bush E (1994) Constitutively active 5-hydroxytryptamine2C receptors reveal novel inverse agonist activity of receptor ligands. Journal of Biological Chemistry 269:11687–11690. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)32625-X
Beaulieu JM, Zhang X, Rodriguiz RM, et al (2008) Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency. Proc Natl Acad Sci U S A 105:1333–1338. https://doi.org/10.1073/PNAS.0711496105
Beis D, Holzwarth K, Flinders M, et al (2015) Brain serotonin deficiency leads to social communication deficits in mice. Biol Lett 11:. https://doi.org/10.1098/RSBL.2015.0057
Belmer A, Patkar OL, Pitman KM, Bartlett SE (2016) Serotonergic Neuroplasticity in Alcohol Addiction. Brain Plasticity 1:177–206. https://doi.org/10.3233/bpl-150022
Beninger RJ (1983) The role of dopamine in locomotor activity and learning. Brain Res 287:173–196. https://doi.org/10.1016/0165-0173(83)90038-3
Benwell ME, Balfour DJ (1979) Effects of nicotine administration and its withdrawal on plasma corticosterone and brain 5-hydroxyindoles. Psychopharmacology (Berl) 63:7–11. https://doi.org/10.1007/bf00426913
Berg KA, Cropper JD, Niswender CM, et al (2001) RNA-editing of the 5-HT(2C) receptor alters agonist-receptor-effector coupling specificity. Br J Pharmacol 134:386–392. https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0704255
Berg KA, Stout BD, Cropper JD, et al (1999) Novel Actions of Inverse Agonists on 5-HT2C Receptor Systems. Mol Pharmacol 55:863–872. https://doi.org/10.1016/S0026-895X(24)23183-7
Bjørnebekk A, Mathé AA, Brené S (2005) The antidepressant effect of running is associated with increased hippocampal cell proliferation. Int J Neuropsychopharmacol 8:357–368. https://doi.org/10.1017/S1461145705005122
Blanchard MM, Mendelsohn D, Stamp JA (2009) The HR/LR model: Further evidence as an animal model of sensation seeking. Neurosci. Biobehav. Rev. 33:1145–1154
Bock BC, Marcus BH, King TK, et al (1999) Exercise effects on withdrawal and mood among women attempting smoking cessation. Addictive behaviors 24:399–410. https://doi.org/10.1016/S0306-4603(98)00088-4
Bonkale W, Turecki G, Austin M (2006) Increased tryptophan hydroxylase immunoreactivity in the dorsal raphe nucleus of alcohol-dependent, depressed suicide subjects is restricted to the dorsal subnucleus. Synapse 60:81–85. https://doi.org/10.1002/SYN.20278
Borrego-Ruiz A (2025) A current overview on adolescent alcohol misuse and its potential negative impacts. Alcoholism and Drug Addiction/Alkoholizm i Narkomania 37:213–240. https://doi.org/10.5114/AIN.2024.149307
Borroto-Escuela DO, Ferraro L, Beggiato S, et al (2021) The coming together of allosteric and phosphorylation mechanisms in the molecular integration of A2A heteroreceptor complexes in the dorsal and ventral striatal-pallidal GABA neurons. Pharmacological Reports 73:1096. https://doi.org/10.1007/S43440-021-00314-3
Braun SMG, Jessberger S (2014) Review: Adult neurogenesis and its role in neuropsychiatric disease, brain repair and normal brain function. Neuropathol Appl Neurobiol 40:3–12. https://doi.org/10.1111/nan.12107
Bubar MJ, Stutz SJ, Cunningham KA (2011) 5-HT(2C) receptors localize to dopamine and GABA neurons in the rat mesoaccumbens pathway. PLoS One 6:. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0020508
Burns CM, Chu H, Rueter SM, et al (1997) Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. Nature 387:303–308. https://doi.org/10.1038/387303a0
Buydens-Branchey L, Branchey MH, Noumair D, Lieber CS (1989) Age of Alcoholism Onset: II. Relationship to Susceptibility to Serotonin Precursor Availability. Arch Gen Psychiatry 46:231–236. https://doi.org/10.1001/ARCHPSYC.1989.01810030037005,
Chen G, Cuzon Carlson VC, Wang J, et al (2011) Striatal involvement in human alcoholism and alcohol consumption, and withdrawal in animal models. Alcohol Clin Exp Res 35:1739–1748. https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.2011.01520.X
Chen GL, Vallender EJ, Miller GM (2008) Functional characterization of the human TPH2 5' regulatory region: untranslated region and polymorphisms modulate gene expression in vitro. Hum Genet 122:645–657. https://doi.org/10.1007/S00439-007-0443-Y
Clark PJ, Brzezinska WJ, Thomas MW, et al (2008) Intact neurogenesis is required for benefits of exercise on spatial memory but not motor performance or contextual fear conditioning in C57BL/6J mice. Neuroscience 155:1048–1058. https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2008.06.051
Cloninger CR, Bohman M, Sigvardsson S (1981) Inheritance of Alcohol Abuse: Cross-Fostering Analysis of Adopted Men. Arch Gen Psychiatry 38:861–868. https://doi.org/10.1001/ARCHPSYC.1981.01780330019001
Cloninger CR, Sigvardsson S, Bohman M (1996) Type I and Type II Alcoholism: An Update. Alcohol Health Res World 20:18
Cohen A, Soleiman MT, Talia R, et al (2015) Extended access nicotine self-administration with periodic deprivation increases immature neurons in the hippocampus. Psychopharmacology (Berl) 232:453–463. https://doi.org/10.1007/S00213-014-3685-0
Collins GT, Gerak LR, France CP (2018) The behavioral pharmacology and therapeutic potential of lorcaserin for substance use disorders. Neuropharmacology 142:63–71
Cornelius J, Salloum I, Cornelius M, et al (1995) Preliminary report: double-blind, placebo-controlled study of fluoxetine in depressed alcoholics. Psychopharmacol Bull 31:297–303
Crocq MA (2003) Alcohol, nicotine, caffeine, and mental disorders. Dialogues Clin Neurosci 5:175–185
Cryan JF, Hoyer D, Markou A (2003) Withdrawal from chronic amphetamine induces depressive-like behavioral effects in rodents. Biol Psychiatry 54:49–58. https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01730-4

Dahchour A, De Witte P (1999) Effect of repeated ethanol withdrawal on glutamate microdialysate in the hippocampus. Alcohol Clin Exp Res 23:1698–1703. https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1999.tb04063.x
Davis L, Uezato A, Newell JM, Frazier E (2008) Major depression and comorbid substance use disorders. Curr. Opin. Psychiatry 21:14–18
De Jesus S, Prapavessis H (2018) Affect and cortisol mechanisms through which acute exercise attenuates cigarette cravings during a temporary quit attempt. Addictive behaviors 80:82–88. https://doi.org/10.1016/J.ADDBEH.2018.01.007
Dostes S, Dubreucq S, Ladevèze E, et al (2016) Running per se stimulates the dendritic arbor of newborn dentate granule cells in mouse hippocampus in a duration-dependent manner. Hippocampus 26:282–288. https://doi.org/10.1002/HIPO.22551
Doyne E, Ossip-Klein D, Bowman E, et al (1987) Running versus weight lifting in the treatment of depression. J Consult Clin Psychol 55:748–754. https://doi.org/10.1037//0022-006X.55.5.748
Droste SK, Chandramohan Y, Hill LE, et al (2007) Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. Neuroendocrinology 86:26–37. https://doi.org/10.1159/000104770
Dundon W, Lynch K, Pettinati H, Lipkin C (2004) Treatment outcomes in type A and B alcohol dependence 6 months after serotonergic pharmacotherapy. Alcohol Clin Exp Res 28:1065–1073. https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000130974.50563.04
Elibero A, Janse Van Rensburg K, Drobes DJ (2011) Acute effects of aerobic exercise and Hatha yoga on craving to smoke. Nicotine Tob Res 13:1140–1148. https://doi.org/10.1093/NTR/NTR163
Elmer G, Meisch R, George F (1987) Mouse strain differences in operant self-administration of ethanol. Behav Genet 17:439–451. https://doi.org/10.1007/BF01073111
Ernst C, Olson AK, Pinel JPJ, et al (2006) Antidepressant effects of exercise: Evidence for an adult-neurogenesis hypothesis? Journal of Psychiatry & Neuroscience 31:84
Everson ES, Daley AJ, Ussher M (2008) The effects of moderate and vigorous exercise on desire to smoke, withdrawal symptoms and mood in abstaining young adult smokers. Ment Health Phys Act 1:26–31. https://doi.org/10.1016/J.MHPA.2008.06.001
Farmer J, Zhao X, Van Praag H, et al (2004) Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male sprague-dawley rats in vivo. Neuroscience 124:71–79. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.09.029
Faulkner P, Ghahremani DG, Tyndale RF, et al (2018) Functional Connectivity of the Raphe Nuclei: Link to Tobacco Withdrawal in Smokers. Int J Neuropsychopharmacol 21:800–808. https://doi.org/10.1093/IJNP/PYY054
Filip M, Zaniewska M, Frankowska M, et al (2012) The importance of the adenosine A <inf>2A</inf> receptor-dopamine D <inf>2</inf> receptor interaction in drug addiction. Curr Med Chem 19:
Fils-Aime ML, Eckardt MJ, George DT, et al (1996) Early-onset alcoholics have lower cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid levels than late-onset alcoholics. Arch Gen Psychiatry 53:211–216. https://doi.org/10.1001/ARCHPSYC.1996.01830030029006
Fitzgerald LW, Iyer G, Conklin DS, et al (1999) Messenger RNA editing of the human serotonin 5-HT2creceptor. Neuropsychopharmacology 21:82S-90S. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00004-4
Fletcher PJ, Li Z, Silenieks LB, et al (2019) Preclinical evidence for combining the 5-HT 2C receptor agonist lorcaserin and varenicline as a treatment for nicotine dependence. Addiction Biology 24:376–387. https://doi.org/10.1111/adb.12602
Fletcher PJ, Rizos Z, Noble K, et al (2012) Effects of the 5-HT2C receptor agonist Ro60-0175 and the 5-HT2A receptor antagonist M100907 on nicotine self-administration and reinstatement. Neuropharmacology 62:2288–98. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.01.023
Fouyssac M, Peña-Oliver Y, Puaud M, et al (2022) Negative Urgency Exacerbates Relapse to Cocaine Seeking After Abstinence. Biol Psychiatry 91:1051–1060. https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2021.10.009
Fuxe K, Ferré S, Canals M, et al (2005) Adenosine A2A and dopamine D2 heteromeric receptor complexes and their function. Journal of Molecular Neuroscience 2005 26:2 26:209–220. https://doi.org/10.1385/JMN:26:2-3:209
Fuxe K, Marcellino D, Rivera A, et al (2008) Receptor–receptor interactions within receptor mosaics. Impact on neuropsychopharmacology. Brain Res Rev 58:415–452. https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESREV.2007.11.007
Gilbert P, Allan S (1998) The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: An exploration of an evolutionary view. Psychol Med 28:585–598. https://doi.org/10.1017/S0033291798006710
Giménez-Llort L, Schiffmann SN, Shmidt T, et al (2007) Working memory deficits in transgenic rats overexpressing human adenosine A2A receptors in the brain. Neurobiol Learn Mem 87:42–56. https://doi.org/10.1016/J.NLM.2006.05.004
Gottlieb M, Chien N, Long B (2024) Managing Alcohol Withdrawal Syndrome. Ann Emerg Med 84:29–39. https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2024.02.016
Greenwood BN, Strong P V., Loughridge AB, et al (2012) 5-HT2C Receptors in the Basolateral Amygdala and Dorsal Striatum Are a Novel Target for the Anxiolytic and Antidepressant Effects of Exercise. PLoS One 7:e46118. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046118
Grottick AJ, Corrigall WA, Higgins GA (2001) Activation of 5-HT(2C) receptors reduces the locomotor and rewarding effects of nicotine. Psychopharmacology (Berl) 157:292–8. https://doi.org/10.1007/s002130100801
Gurevich I, Englander MT, Adlersberg M, et al (2002a) Modulation of serotonin 2C receptor editing by sustained changes in serotonergic neurotransmission. Journal of Neuroscience 22:10529–10532. https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-24-10529.2002
Gurevich I, Tamir H, Arango V, et al (2002b) Altered editing of serotonin 2C receptor pre-mRNA in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. Neuron 34:349–356. https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00660-8
Gutknecht L, Popp S, Waider J, et al (2015) Interaction of brain 5-HT synthesis deficiency, chronic stress and sex differentially impact emotional behavior in Tph2 knockout mice. Psychopharmacology (Berl) 232:2429–2441. https://doi.org/10.1007/s00213-015-3879-0

Hackler EA, Airey DC, Shannon CC, et al (2006) 5-HT2C receptor RNA editing in the amygdala of C57BL/6J, DBA/2J, and BALB/cJ mice. Neurosci Res 55:96–104. https://doi.org/10.1016/j.neures.2006.02.005

Harrison K, Noyes N, Friedrichsen S, et al (2019) Self-reported leisure time exercise change during smoking cessation in men and women. Addictive behaviors 99:. https://doi.org/10.1016/J.ADDBEH.2019.06.014

Hayes DJ, Mosher TM, Greenshaw AJ (2009) Differential effects of 5-HT2C receptor activation by WAY 161503 on nicotine-induced place conditioning and locomotor activity in rats. Behavioural brain research 197:323–30. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.034

Herrick-Davis K, Grinde E, Niswender CM (1999) Serotonin 5-HT(2C) receptor RNA editing alters receptor basal activity: Implications for serotonergic signal transduction. J Neurochem 73:1711–1717. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1999.731711.x

Higgins GA, Silenieks LB, Altherr EB, et al (2016) Lorcaserin and CP-809101 reduce motor impulsivity and reinstatement of food seeking behavior in male rats: Implications for understanding the anti-obesity property of 5-HT2C receptor agonists. Psychopharmacology (Berl) 233:2841–2856. https://doi.org/10.1007/s00213-016-4329-3

Higgins GA, Silenieks LB, Rossmann A, et al (2012) The 5-HT2C receptor agonist lorcaserin reduces nicotine self-administration, discrimination, and reinstatement: relationship to feeding behavior and impulse control. Neuropsychopharmacology 37:1177–91. https://doi.org/10.1038/npp.2011.303

Hirth N, Meinhardt MW, Noori HR, et al (2016) Convergent evidence from alcohol-dependent humans and rats for a hyperdopaminergic state in protracted abstinence. Proc Natl Acad Sci U S A 113:3024–3029. https://doi.org/10.1073/PNAS.1506012113

Hitsman B, Spring B, Pingitore R, et al (2007) Effect of tryptophan depletion on the attentional salience of smoking cues. Psychopharmacology (Berl) 192:317–324. https://doi.org/10.1007/S00213-007-0722-2

Hitsman B, Spring B, Wolf W, et al (2005) Effects of acute tryptophan depletion on negative symptoms and smoking topography in nicotine-dependent schizophrenics and nonpsychiatric controls. Neuropsychopharmacology 30:640–648. https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300651

Huang P, Dong Z, Huang W, et al (2017) Voluntary wheel running ameliorates depression-like behaviors and brain blood oxygen level-dependent signals in chronic unpredictable mild stress mice. Behavioural brain research 330:17–24. https://doi.org/10.1016/J.BBR.2017.05.032

Inoue K, Okamoto M, Shibato J, et al (2015) Long-Term Mild, rather than Intense, Exercise Enhances Adult Hippocampal Neurogenesis and Greatly Changes the Transcriptomic Profile of the Hippocampus. PLoS One 10:. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0128720

Iwamoto K, Kato T (2003) RNA editing of serotonin 2C receptor in human postmortem brains of major mental disorders. Neurosci Lett 346:169–172. https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00608-6

Iwamoto K, Nakatani N, Bundo M, et al (2005) Altered RNA editing of serotonin 2C receptor in a rat model of depression. Neurosci Res 53:69–76. https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.06.001

Jacobsen JPR, Siesser WB, Sachs BD, et al (2012) Deficient serotonin neurotransmission and depression-like serotonin biomarker alterations in tryptophan hydroxylase 2 (Tph2) loss-of-function mice. Mol Psychiatry 17:694–704. https://doi.org/10.1038/MP.2011.50

Janse Van Rensburg K, Taylor A, Hodgson T, Benattayallah A (2009) Acute exercise modulates cigarette cravings and brain activation in response to smoking-related images: an fMRI study. Psychopharmacology (Berl) 203:589–598. https://doi.org/10.1007/S00213-008-1405-3

Jastrzębska J, Nowak E, Smaga I, et al (2014) Adenosine (A)2A receptor modulation of nicotine-induced locomotor sensitization. A pharmacological and transgenic approach. Neuropharmacology 81:318–326. https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2014.03.002

Jessa M, Krzaścik P, Kostowski W (2001) Neonatal treatment with 5,7-dihydroxytryptamine induces decrease in alcohol drinking in adult animals. Pol J Pharmacol 53:109–116

Johansson ÅK, Bergvall ÅH, Hansen S (1999) Behavioral disinhibition following basal forebrain excitotoxin lesions: Alcohol consumption, defensive aggression, impulsivity and serotonin levels. Behavioural Brain Research 102:17–29. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(98)00159-4

Kelaï S, Renoir T, Chouchana L, et al (2008) Chronic voluntary ethanol intake hypersensitizes 5-HT(1A) autoreceptors in C57BL/6J mice. J Neurochem 107:1660–1670. https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2008.05733.X

Klempin F, Babu H, De Pietri Tonelli D, et al (2010) Oppositional effects of serotonin receptors 5-HT1a, 2, and 2c in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. Front Mol Neurosci 3:. https://doi.org/10.3389/fnmol.2010.00014

Kodali M, Megahed T, Mishra V, et al (2016) Voluntary running exercise-mediated enhanced neurogenesis does not obliterate retrograde spatial memory. Journal of Neuroscience 36:8112–8122. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0766-16.2016

Kolotkin RL, Crosby RD, Wang Z (2017) Health-related quality of life in randomized controlled trials of lorcaserin for obesity management: what mediates improvement? Clin Obes 7:347–353. https://doi.org/10.1111/cob.12207

Kranzler HR, Armeli S, Tennen H, Covault J (2013) 5-HTTLPR genotype and daily negative mood moderate the effects of sertraline on drinking intensity. Addiction biology 18:1024–1031. https://doi.org/10.1111/ADB.12007

Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunk E, et al (2006) Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. Neurobiol Aging 27:1505–1513. https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2005.09.016

Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH (1996) Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. J Neurosci 16:2027–2033. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-06-02027.1996

Kunicki ZJ, Hallgren M, Uebelacker LA, et al (2022) Examining the effect of exercise on the relationship between affect and cravings among smokers engaged in cessation treatment. Addictive behaviors 125:. https://doi.org/10.1016/J.ADDBEH.2021.107156

Lee KJ, Kim SJ, Kim SW, et al (2006) Chronic mild stress decreases survival, but not proliferation, of new-born cells in adult rat hippocampus. Exp Mol Med 38:44–54. https://doi.org/10.1038/EMM.2006.6

Lemay F, Doré F, Beaulieu J (2015) Increased ethanol consumption despite taste aversion in mice with a human tryptophan hydroxylase 2 loss of function mutation. Neurosci Lett 609:194–197. https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2015.10.045
Little HJ (1999) The contribution of electrophysiology to knowledge of the acute and chronic effects of ethanol. Pharmacol Ther 84:333–353. https://doi.org/10.1016/S0163-7258(99)00040-6
Lucki I (1998) The spectrum of behaviors influenced by serotonin. Biol Psychiatry 44:151–162. https://doi.org/10.1016/S0006-3223(98)00139-5
Lyddon R, Dwork AJ, Keddache M, et al (2013) Serotonin 2c receptor RNA editing in major depression and suicide. World Journal of Biological Psychiatry 14:590–601. https://doi.org/10.3109/15622975.2011.630406
Lynch WJ, Tan L, Narmeen S, et al (2019) Exercise or saccharin during abstinence block estrus-induced increases in nicotine-seeking. Physiol Behav 203:33–41. https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2017.10.026
Mandyam CD, Koob GF (2012) The addicted brain craves new neurons: Putative role for adult-born progenitors in promoting recovery. Trends Neurosci. 35:250–260
Mannucci C, Tedesco M, Bellomo M, et al (2006) Long-term effects of nicotine on the forced swimming test in mice: An experimental model for the study of depression caused by smoke. Neurochem Int 49:481–486. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.03.010
Marcinkiewcz C (2015) Serotonergic Systems in the Pathophysiology of Ethanol Dependence: Relevance to Clinical Alcoholism. ACS Chem Neurosci 6:1026–1039. https://doi.org/10.1021/CN5003573
Marcus BH, Albrecht AE, King TK, et al (1999) The efficacy of exercise as an aid for smoking cessation in women: a randomized controlled trial. Arch Intern Med 159:1229–1234. https://doi.org/10.1001/ARCHINTE.159.11.1229
Marion S, Weiner DM, Caron MG (2004) RNA Editing Induces Variation in Desensitization and Trafficking of 5-Hydroxytryptamine 2c Receptor Isoforms. Journal of Biological Chemistry 279:2945–2954. https://doi.org/10.1074/jbc.M308742200
Martin CBP, Ramond F, Farrington DT, et al (2013) RNA splicing and editing modulation of 5-HT(2C) receptor function: relevance to anxiety and aggression in VGV mice. Mol Psychiatry 18:656–65. https://doi.org/10.1038/mp.2012.171
Matthes S, Mosienko V, Bashammakh S, et al (2010) Tryptophan Hydroxylase as Novel Target for the Treatment of Depressive Disorders. Pharmacology 85:95–109. https://doi.org/10.1159/000279322
Meneses A, Liy-Salmeron G (2012) Serotonin and emotion, learning and memory. Rev Neurosci 23:543–553. https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0060
Mineur YS, Picciotto MR (2008) Genetics of nicotinic acetylcholine receptors: Relevance to nicotine addiction. Biochem Pharmacol 75:323–333. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.06.010
Mombereau C, Kawahara Y, Gundersen BB, et al (2010) Functional relevance of serotonin 2C receptor mRNA editing in antidepressant- and anxiety-like behaviors. Neuropharmacology 59:468–473. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.06.009
Morley K, Perry C, Watt J, et al (2021) New approved and emerging pharmacological approaches to alcohol use disorder: a review of clinical studies. Expert Opin Pharmacother 22:1291–1303. https://doi.org/10.1080/14656566.2021.1892641
Mosienko V, Bert B, Beis D, et al (2012) Exaggerated aggression and decreased anxiety in mice deficient in brain serotonin. Transl Psychiatry 2:e122. https://doi.org/10.1038/tp.2012.44
Motaghinejad M, Fatima S, Karimian M, Ganji S (2016) Protective effects of forced exercise against nicotine-induced anxiety, depression and cognition impairment in rat. J Basic Clin Physiol Pharmacol 27:19–27. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2014-0128
Moya PR, Fox MA, Jensen CL, et al (2011) Altered 5-HT2C receptor agonist-induced responses and 5-HT2C receptor RNA editing in the amygdala of serotonin transporter knockout mice. BMC Pharmacol 11:. https://doi.org/10.1186/1471-2210-11-3
Mukuda T, Sugiyama H (2007) An angiotensin II receptor antagonist suppresses running-enhanced hippocampal neurogenesis in rat. Neurosci Res 58:140–144. https://doi.org/10.1016/j.neures.2007.02.005
Nam HW, Bruner RC, Choi DS (2013) Adenosine signaling in striatal circuits and alcohol use disorders. Mol Cells 36:195–202. https://doi.org/10.1007/s10059-013-0192-9
Niswender CM, Copeland SC, Herrick-Davis K, et al (1999) RNA editing of the human serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor silences constitutive activity. Journal of Biological Chemistry 274:9472–9478. https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9472
Niswender CM, Herrick-Davis K, Dilley GE, et al (2001) RNA editing of the human serotonin 5-HT2C receptor: Alterations in suicide and implications for serotonergic pharmacotherapy. Neuropsychopharmacology 24:478–491. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00223-2
Niswender CM, Sanders-Bush E, Emeson RB (1998) Identification and characterization of RNA editing events within the 5-HT2C receptor. Ann N Y Acad Sci 861:38–48. https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1998.TB10171.X
Noonan MA, Bulin SE, Fuller DC, Eisch AJ (2010) Reduction of adult hippocampal neurogenesis confers vulnerability in an animal model of cocaine addiction. Journal of Neuroscience 30:304–315. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4256-09.2010
Olaghere da Silva UB, Morabito M V., Canal CE, et al (2010) Impact of RNA editing on functions of the serotonin 2C receptor in vivo. Front Neurosci 4:. https://doi.org/10.3389/NEURO.23.001.2010
Oscar-Berman M, Shagrin B, Evert DL, Epstein C (1997) Impairments of brain and behavior: the neurological effects of alcohol. Alcohol Health Res World 21:65–75
Page ME, Detke MJ, Dalvi A, et al (1999) Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. Psychopharmacology (Berl) 147:162–167. https://doi.org/10.1007/S002130051156
Patten CA, Bronars CA, Douglas KSV, et al (2017) Supervised, Vigorous Intensity Exercise Intervention for Depressed Female Smokers: A Pilot Study. Nicotine Tob Res 19:77–86. https://doi.org/10.1093/NTR/NTW208

PDSP Database - UNC PDSP Database - UNC. https://pdspdb.unc.edu/databases/pdsp.php?recDDRadio=recDDRadio&receptorDD=&receptor=&speciesDD=&species=&sourceDDRadio=sourceDDRadio&sourcesDD=&source=&hotLigandDD=&hotLigand=&testLigandDD=&testFreeRadio=testFreeRadio&testLigand=nicotine&referenceDD=&reference=&KiGreater=&KiLess=&kiAllRadio=all&doQuery=Submit+Query. Accessed 23 Jan 2026

Plemenitaš A, Kores Plesničar B, Kastelic M, et al (2015) Genetic variability in tryptophan hydroxylase 2 gene in alcohol dependence and alcohol-related psychopathological symptoms. Neurosci Lett 604:86–90. https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2015.07.037

Polimanti R, Peterson R, Ong J, et al (2019) Evidence of causal effect of major depression on alcohol dependence: findings from the psychiatric genomics consortium. Psychol Med 49:1218–1226. https://doi.org/10.1017/S0033291719000667

Popova N, Ilchibaeva T, Antonov E, et al (2020) On the interaction between BDNF and serotonin systems: The effects of long-term ethanol consumption in mice. Alcohol 87:1–15. https://doi.org/10.1016/J.ALCOHOL.2020.04.002

Price RD, Weiner DM, Chang MSS, Sanders-Bush E (2001) RNA Editing of the Human Serotonin 5-HT2C Receptor Alters Receptor-mediated Activation of G13 Protein. Journal of Biological Chemistry 276:44663–44668. https://doi.org/10.1074/jbc.M106745200

Rosenthal NE, Davenport Y, Cowdry RW, et al (1980) Monoamine metabolites in cerebrospinal fluid of depressive subgroups. Psychiatry Res 2:113–119. https://doi.org/10.1016/0165-1781(80)90012-8

Sachs B, Salahi A, Caron M (2014) Congenital brain serotonin deficiency leads to reduced ethanol sensitivity and increased ethanol consumption in mice. Neuropharmacology 77:177–184. https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2013.09.010

Sanchez V, Lycas MD, Lynch WJ, Brunzell DH (2015) Wheel running exercise attenuates vulnerability to self-administer nicotine in rats. Drug Alcohol Depend 156:193–198. https://doi.org/10.1016/J.DRUGALCDEP.2015.09.022

Sanchez V, Moore CF, Brunzell DH, Lynch WJ (2013) Effect of wheel-running during abstinence on subsequent nicotine-seeking in rats. Psychopharmacology (Berl) 227:403–411. https://doi.org/10.1007/S00213-012-2964-X

Sanchez V, Moore CF, Brunzell DH, Lynch WJ (2014) Sex differences in the effect of wheel running on subsequent nicotine-seeking in a rat adolescent-onset self-administration model. Psychopharmacology (Berl) 231:1753–1762. https://doi.org/10.1007/S00213-013-3359-3

Savelieva K V, Zhao S, Pogorelov VM, et al (2008) Genetic disruption of both tryptophan hydroxylase genes dramatically reduces serotonin and affects behavior in models sensitive to antidepressants. PLoS One 3:e3301. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003301

Sharretts J, Galescu O, Gomatam S, et al (2020) Cancer Risk Associated with Lorcaserin — The FDA's Review of the CAMELLIA-TIMI 61 Trial. New England Journal of Medicine 383:1000–1002. https://doi.org/10.1056/nejmp2003873

Slattery DA, Desrayaud S, Cryan JF (2005) GABAB receptor antagonist-mediated antidepressant-like behavior is serotonin-dependent. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 312:290–296. https://doi.org/10.1124/jpet.104.073536

Snyder JS, Soumier A, Brewer M, et al (2011) Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. Nature 476:458–462. https://doi.org/10.1038/NATURE10287

Sobieraj JC, Kim A, Fannon MKJ, Mandyam CD (2016) Chronic wheel running-induced reduction of extinction and reinstatement of methamphetamine seeking in methamphetamine dependent rats is associated with reduced number of periaqueductal gray dopamine neurons. Brain Struct Funct 221:261–276. https://doi.org/10.1007/S00429-014-0905-7

Soiza-Reilly M, Gaspar P (2020) From B1 to B9: a guide through hindbrain serotonin neurons with additional views from multidimensional characterization. Handb Behav Neurosci 31:23–40. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00002-5

Spanagel R (2009) Alcoholism: A systems approach from molecular physiology to addictive behavior. Physiol Rev 89:649–705. https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00013.2008,

Spring B, Hitsman B, Pingitore R, et al (2007) Effect of Tryptophan Depletion on Smokers and Nonsmokers With and Without History of Major Depression. Biol Psychiatry 61:70–77. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.050

Squeglia LM, Jacobus J, Tapert SF (2014) The effect of alcohol use on human adolescent brain structures and systems. Handb Clin Neurol 125:501–510. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00028-8,

Sripada CS, Angstadt M, McNamara P, et al (2011) Effects of alcohol on brain responses to social signals of threat in humans. Neuroimage 55:371–380. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.11.062

Szerman N, Parro C, Vega P, et al (2024) Tobacco use disorder in patients with other mental disorders: a dual disorder perspective from clinical neuroscience. Front Psychiatry 15:. https://doi.org/10.3389/FPSYT.2024.1427561/PDF

Tulloch HE, Pipe AL, Clyde MJ, et al (2016) The Quit Experience and Concerns of Smokers with Psychiatric Illness. Am J Prev Med 50:709–718. https://doi.org/10.1016/j.amepre.2015.11.006

Underwood M, Mann J, Arango V (2007) Morphometry of dorsal raphe nucleus serotonergic neurons in alcoholism. Alcohol Clin Exp Res 31:837–845. https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.2007.00365.X

Ussher M, Nunziata P, Cropley M, West R (2001) Effect of a short bout of exercise on tobacco withdrawal symptoms and desire to smoke. Psychopharmacology (Berl) 158:66–72. https://doi.org/10.1007/S002130100846

Ussher M, West R, McEwen A, et al (2003) Efficacy of exercise counselling as an aid for smoking cessation: a randomized controlled trial. Addiction (Abingdon, England) 98:523–532. https://doi.org/10.1046/J.1360-0443.2003.00346.X

Valentine G, Sofuoglu M (2018) Cognitive Effects of Nicotine: Recent Progress. Curr Neuropharmacol 16:403. https://doi.org/10.2174/1570159X15666171103152136

van Lingen M, Sidorova M, Alenina N, Klempin F (2019) Lack of Brain Serotonin Affects Feeding and Differentiation of Newborn Cells in the Adult Hypothalamus. Front Cell Dev Biol 7:. https://doi.org/10.3389/FCELL.2019.00065

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. Nat Neurosci 2:266–270. https://doi.org/10.1038/6368

Vasudeva RK, Hobby AR, Kirby LG (2015) Ethanol consumption in the Sprague-Dawley rat increases sensitivity of the dorsal raphe nucleus to 5,7-dihydroxytryptamine. Behavioural Brain Research 295:35–44. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.06.013

Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, Spanagel R (2008) Neuropharmacology of alcohol addiction. Br J Pharmacol 154:299. https://doi.org/10.1038/BJP.2008.30

Vertes RP, Linley SB (2007) Comparison of projections of the dorsal and median raphe nuclei, with some functional considerations. Int Congr Ser 1304:98–120. https://doi.org/10.1016/J.ICS.2007.07.046

Vilpoux C, Warnault V, Pierrefiche O, et al (2009) Ethanol-sensitive brain regions in rat and mouse: a cartographic review, using immediate early gene expression. Alcohol Clin Exp Res 33:945–969. https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.2009.00916.X

Virkkunen M, Linnoila M (1997) Serotonin in early-onset alcoholism. Recent Dev Alcohol 13:173–189. https://doi.org/10.1007/0-306-47141-8_10

Volkow ND, Wang G-J, Fowler JS, et al (2010) Addiction: Decreased reward sensitivity and increased expectation sensitivity conspire to overwhelm the brain's control circuit. https://doi.org/10.1002/bies.201000042

Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, et al (2003) Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. Science (1979) 299:76. https://doi.org/10.1126/science.1078197

Wang J, Shum A, Lin T, Wang Y (1996) Central serotonergic lesions increase voluntary alcohol consumption in Sprague Dawley rats: moderation by long-term ethanol administration. Alcohol Clin Exp Res 20:1252–1259. https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.1996.TB01120.X

Wang Q, O'Brien PJ, Chen CX, et al (2000) Altered G protein-coupling functions of RNA editing isoform and splicing variant serotonin(2C) receptors. J Neurochem 74:1290–1300. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.741290.x

Watanabe Y, Yoshimoto K, Tatebe H, et al (2014) Enhancement of alcohol drinking in mice depends on alterations in RNA editing of serotonin 2C receptors. International Journal of Neuropsychopharmacology 17:739–751. https://doi.org/10.1017/S1461145713001545

Watkins S, Koob GF,, Shelly A (2000) Neural mechanisms underlying nicotine addiction: acute positive reinforcement and withdrawal. Nicotine & Tobacco Research 2:19–37. https://doi.org/10.1080/14622200050011277

Wei Z, Belal C, Tu W, et al (2012) Chronic nicotine administration impairs activation of cyclic AMP-response element binding protein and survival of newborn cells in the dentate gyrus. Stem Cells Dev 21:411–22. https://doi.org/10.1089/scd.2010.0326

WHO (2024) Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders. Geneva

WHO (2025a) WHO report on the global tobacco epidemic, 2025: warning about the dangers of tobacco

WHO (2025b) WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000–2024 and projections 2025–2030

Yang W, Singla R, Maheshwari O, et al (2022) Alcohol Use Disorder: Neurobiology and Therapeutics. Biomedicines 10:. https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES10051192,

Zaniewska M, Alenina N, Fröhler S, et al (2023) Ethanol deprivation and central 5-HT deficiency differentially affect the mRNA editing of the 5-HT2C receptor in the mouse brain. Pharmacol Rep 75:. https://doi.org/10.1007/S43440-023-00545-6

Zaniewska M, Alenina N, Wydra K, et al (2015) Discovering the mechanisms underlying serotonin (5-HT)2A and 5-HT2C receptor regulation following nicotine withdrawal in rats. J Neurochem 134:. https://doi.org/10.1111/jnc.13192

Zaniewska M, Brygider S, Majcher-Maślanka I, et al (2024) The impact of voluntary wheel-running exercise on hippocampal neurogenesis and behaviours in response to nicotine cessation in rats. Psychopharmacology (Berl) 241:. https://doi.org/10.1007/S00213-024-06705-7

Zaniewska M, Gawliński D, Wyczesana M, et al (2019) Increased Ethanol Consumption and Locomotion Develop upon Ethanol Deprivation in Rats Overexpressing the Adenosine (A)2A Receptor. Neuroscience 418:. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.08.030

Zaniewska M, McCreary ACAC, Filip M (2009a) Interactions of serotonin (5-HT)2 receptor-targeting ligands and nicotine: Locomotor activity studies in rats. Synapse 63:653–661. https://doi.org/10.1002/syn.20645

Zaniewska M, McCreary ACAC, Wydra K, Filip M (2010a) Effects of serotonin (5-HT)2 receptor ligands on depression-like behavior during nicotine withdrawal. Neuropharmacology 58:1140–1146. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.02.006

Zaniewska M, McCreary ACAC, Wydra K, Filip M (2010b) Differential effects of serotonin (5-HT)2 receptor-targeting ligands on locomotor responses to nicotine-repeated treatment. Synapse 64:511–519. https://doi.org/10.1002/syn.20756

Zaniewska M, Mosienko V, Bader M, Alenina N (2022) Tph2 Gene Expression Defines Ethanol Drinking Behavior in Mice. Cells 11:. https://doi.org/10.3390/CELLS11050874

Zaniewska M, Nikiforuk A, Głowacka U, et al (2021) Chronic Lorcaserin Treatment Reverses the Nicotine Withdrawal-Induced Disruptions to Behavior and Maturation in Developing Neurons in the Hippocampus of Rats. Int J Mol Sci 22:1–22. https://doi.org/10.3390/IJMS22020868

Zaniewska M, Przegaliński E, Filip M (2009b) Nicotine dependence - Human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. Pharmacological Reports 61:

Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, et al (2004) Tryptophan hydroxylase-2 controls brain synthesis. Science (1979) 305:217. https://doi.org/10.1126/science.1097540

Zhu H, Urban DJ, Blashka J, et al (2012) Quantitative analysis of focused A-To-I RNA editing sites by ultra-high-throughput sequencing in psychiatric disorders. PLoS One 7:43227. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043227

## 5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

### 5.1. Aktywność naukowa i najważniejsze osiągnięcia PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora

#### *5.1.1. Aktywność naukowa PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora*

Od początku mojej pracy badawczej w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień** koncentrowałam się na poszukiwaniu nowych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na różne układy neuroprzekaźnikowe i neuropeptydowe mózgu oraz na ocenie ich wpływu na behawioralne efekty substancji uzależniających, m.in. kokainy i nikotyny. W pierwszym roku badań analizowaliśmy działanie antagonisty receptorów kortykoliberyny typu 1 ($CRF_1$), CP 154,526, na efekty lokomotoryczne, subiektywne oraz nagradzające kokainy u szczurów. Wykazaliśmy, że antagonista receptorów $CRF_1$ osłabiał hiperaktywność lokomotoryczną, ekspresję sensytyzacji oraz nawrót zachowań poszukiwawczych wywołany dawką wyzwalającą kokainy, ale nie zmieniał efektów nagradzających ani rozróżniających kokainy. Wyniki te wskazują na istotny udział receptorów $CRF_1$ w modulacji efektów lokomotorycznych kokainy oraz w mechanizmach nawrotu zachowań poszukiwawczych indukowanych kokainą, sugerując potencjał przeciwnawrotowy badanej substancji. W ramach tych badań ukazała się publikacja:

1. Przegaliński E, Filip M, Frankowska M, **Zaniewska M,** Papla I. Effects of CP 154,526, a $CRF_1$ receptor antagonist, on the behavioral responses to cocaine in rats. *Neuropeptides* 2005, 39(5): 525-533 (IF: 2,155; MNiSW: 20 pkt).

Ocenialiśmy również potencjał przeciwuzależnieniowy 1-metylo-1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny (1MeTIQ) u szczurów. Wykazaliśmy, że MeTIQ osłabiał samopodawanie kokainy oraz zachowania poszukiwawcze indukowane dawką wyzwalającą kokainy, nie wpływa natomiast na nawrót indukowany bodźcami środowiskowymi związanymi z przyjmowaniem tej substancji. Wyniki te wskazują na potencjał terapeutyczny 1MeTIQ w hamowaniu pobierania kokainy i zapobieganiu nawrotom. W ramach tych badań ukazała się publikacja:

2. Filip M, Antkiewicz-Michaluk L, **Zaniewska M,** Frankowska M, Gołda A, Vetulani J, Przegaliński E. Effects of 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline on the behavioral effects of cocaine in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2007, 58(4): 625-639 (IF: 4,466; MNiSW: 20 pkt).

W **Zakładzie Farmakologii Uzależnień** w 2005 roku przygotowaliśmy pracę przeglądową podsumowującą aktualny stan wiedzy na temat roli układu 5-HT w uzależnieniu od kokainy. Omówione w niej zostały kliniczne oraz przedkliniczne badania pokazujące wpływ sygnalizacji 5-HT na efekty nagradzające i awersyjne kokainy, jej odstawienie oraz długotrwałe nadużywanie:

3. Filip M, Frankowska M, **Zaniewska M,** Gołda A, Przegaliński E. The serotonergic system and its role in cocaine addiction. *Pharmacol Rep.* 2005, 57(6): 685-700 (IF: 1,029; MNiSW: 10 pkt).

Od 2005 roku, w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień** i we współpracy z Zakładem Badań Układu Nerwowego, Uniwersytet Karolinska (Sztokholm, Szwecja), jako jeden z wykonawców realizowałam projekt pt. *„Znaczenie heteromerycznych kompleksów receptorów dopaminowych, adenozynowych i glutaminianergicznych w mechanizmie działania substancji uzależniających”*. W ramach tego projektu badaliśmy interakcje pomiędzy receptorami $A_{2A}$

oraz receptorami dopaminowymi w modulowaniu efektów lokomotorycznych kokainy u szczurów. Wykazaliśmy, że antagonista receptorów $A_{2A}$, MSX-3, zwiększał, a antagonista receptorów $D_2/D_3$, raklopryd, zmniejszał podstawową aktywność lokomotoryczną. MSX-3 oraz antagonista receptorów $D_3$, nafadotryd, nasilały, podczas gdy CGS 21680 (agonista receptorów $A_{2A}$), SCH 23390 (antagonista receptorów $D_{1/5}$), raklopryd oraz 7-OH-PIPAT (agonista receptorów $D_3$) osłabiały hiperaktywność lokomotoryczną wywołaną kokainą. MSX-3 nasilał, a CGS 21680 oraz raklopryd hamowały nabywanie sensytyzacji kokainowej. MSX-3 i nafadotryd nasilały, podczas gdy CGS 21680, raklopryd i 7-OH-PIPAT hamowały ekspresję sensytyzacji kokainowej. Otrzymane wyniki wskazują, że receptory $A_{2A}$ oraz $D_3$ pełnią funkcję hamującą, a receptory $D_2$ pobudzającą w regulacji lokomotorycznych odpowiedzi kokainy, co potwierdza antagonistyczną interakcję między receptorami $A_{2A}$ a $D_2$ w modulowaniu tych efektów. W ramach tych badań ukazała się praca oryginalna:

4. Filip M, Frankowska M, **Zaniewska M,** Przegaliński E, Müller CE, Agnati L, Franco R, Roberts DSC, Fuxe K. Involvement of adenosine $A_{2A}$ and dopamine receptors in the locomotor and sensitizing effects of cocaine. *Brain Res.* 2006, 1077(1): 67-80 (IF: 2,341; MNiSW: 20 pkt).

W **Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, realizowaliśmy również projekt pt. *„Rola receptorów $GABA_B$ w uzależnieniu kokainowym – aspekty behawioralne (model samopodawania i test rozróżniania) i neurochemiczne (analiza autoradiograficzna i immunohistochemiczna)”* (nr projektu 2 P05A 007 26), w którym byłam jednym z wykonawców. Celem tego projektu było określenie, w jaki sposób nasilona neurotransmisja GABA-ergiczna moduluje behawioralne efekty kokainy, takie jak hiperaktywność lokomotoryczna, sensytyzacja behawioralna, samopodawanie oraz nawrót zachowań poszukiwawczych. Badane były trzy substancje nasilające neurotransmisję GABA-ergiczną: gabapentyna (analog GABA), tiagabina (inhibitor wychwytu zwrotnego GABA) oraz wigabatryna (inhibitor transaminazy GABA i wychwytu zwrotnego GABA). Wykazaliśmy, że wszystkie badane substancje osłabiały hiperaktywność lokomotoryczną wywołaną kokainą, a wigabatryna dodatkowo hamowała nabywanie sensytyzacji kokainowej. Gabapentyna i wigabatryna osłabiały ekspresję sensytyzacji kokainowej. Ponadto, wigabatryna zmniejszała samopodawanie kokainy oraz nawrót zachowań poszukiwawczych wywołany dawką wyzwalającą kokainy. W celu analizy zmian w obrazie receptorów $GABA_B$ wykonaliśmy również badania autoradiograficzne z użyciem [$^3$H]CGP 54626 w grupie zwierząt samopobierających kokainę, w okresie odstawienia oraz nawrotu. Zaobserwowaliśmy, że samopodawanie kokainy obniżyło wiązanie [$^3$H]CGP 54626 do receptorów $GABA_B$ w strukturach limbicznych (m.in. prążkowie, ciało migdałowate). Podania bierne kokainy wywoływały spadki w brzusznym i grzbietowym prążkowiu, korze przedczołowej i przegrodzie. Po 10-dniowym okresie odstawienia obserwowaliśmy dalsze obniżenie wiązania receptorów $GABA_B$. Ponowna ekspozycja na kokainę powodowała spadki lub wzrosty w wiązaniu radioliganda w różnych regionach mózgu (m.in. jądro półleżące przegrody, kora czołowa i przedczołowa). Z kolei, ekspozycja zwierząt na bodźce środowiskowe kojarzone z kokainą spowodowała zmiany w wiązaniu radioliganda we wzgórzu i ciele migdałowatym. Wyniki te wskazują, że nasilone przekaźnictwo GABA-ergiczne ma hamujący wpływ na behawioralne efekty kokainy, a wigabatryna wykazuje najsilniejszy efekt terapeutyczny. Zmiany neuroadaptacyjne w obrębie receptorów $GABA_B$ po chronicznym pobieraniu kokainy, odstawieniu lub nawrocie sugerują istotny udział tych receptorów

w mechanizmach związanych z uzależniającym działaniem kokainy. W ramach tych badań ukazały się 4 prace oryginalne:

5. Filip M, Frankowska M, Gołda A, **Zaniewska M,** Vetulani J, Przegaliński E. Various GABA-mimetic drugs differently affect cocaine-evoked hyperlocomotion and sensitization. *Eur J Pharmacol.* 2006, 541(3): 163-170 (IF: 2,522; MNiSW: 20 pkt).
6. Filip M, Frankowska M, **Zaniewska M,** Gołda A, Przegaliński E, Vetulani J. Diverse effects of GABA-mimetic drugs on cocaine-evoked self-administration and discriminative stimulus effects in rats. *Psychopharmacology* 2007, 192(1): 17-26 (IF: 3,561; MNiSW: 24 pkt).
7. Frankowska M, Wydra K, Faron-Górecka A, **Zaniewska M,** Kuśmider M, Dziedzicka-Wasylewska M, Filip M. Alterations in $GABA_B$ receptor binding in the rat brain after reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Pharmacol Rep.* 2008, 60(6): 834-843 (IF: 2,167; MNiSW: 10 pkt).
8. Frankowska M, Wydra K, Faron-Górecka A, **Zaniewska M,** Kuśmider M, Dziedzicka-Wasylewska M, Filip M. Neuroadaptive changes in the rat brain $GABA_B$ receptors after withdrawal from cocaine self-administration. *Eur J Pharmacol.* 2008, 599(1-3): 58-64 (IF: 2,787; MNiSW: 20 pkt).

W latach 2005 – 2008, jako jeden z wykonawców projektu pt. *„Ligandy receptorów serotoninowych 5-$HT_{1B}$ jako potencjalne środki farmakoterapeutyczne w uzależnieniu od kokainy”* (nr projektu 2 P05A 012 28), oceniałam wpływ modulacji receptorów 5-$HT_{1B}$ na efekty nagradzające kokainy. Wykazaliśmy, że agonista receptorów 5-$HT_{1B}$ CP 94253 zmniejszał samopodawanie kokainy na zstępującym ramieniu krzywej dawka-odpowiedź; efekt ten był znoszony przez antagonistę receptorów 5-$HT_{1B}$ SB 216641, który sam nie wpływał na samopodawanie kokainy. Żaden z badanych związków nie wpływał na pobieranie pokarmu. Obserwacje te wskazują, że farmakologiczna stymulacja receptorów 5-$HT_{1B}$ nasila działanie wzmacniające kokainy (skutkujące mniejszym pobieraniem kokainy), przy równoczesnym braku wpływu na procesy motywacyjne związane z przyjmowaniem pokarmu.

9. Przegaliński E, Gołda A, Frankowska M, **Zaniewska M,** Filip M. Effects of serotonin 5-$HT_{1B}$ receptor ligands on the cocaine- and food-maintained self-administration in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007, 559(2-3): 165-172 (IF: 2,376; MNiSW: 20 pkt).

W **Zakładzie Farmakologii Uzależnień** i we współpracy z Zakładami Farmaceutycznymi *Abbott Healthcare Products* (Weesp, Holandia), ocenialiśmy również wpływ antagonisty receptorów kannabinoidowych $(CB)_1$/częściowego agonisty receptorów $CB_1$, rimonabantu, na samopodawanie kokainy, nawrót zachowań poszukiwawczych, sensytyzację behawioralną oraz efekty subiektywne kokainy. Wykazaliśmy, że rimonabant osłabiał nawrót zachowań poszukiwawczych wywołany zarówno kokainą jak i bodźcem kojarzonym z tą substancją, a także zmniejszał ekspresję sensytyzacji kokainowej. Antagonista receptorów $CB_1$ nie wpływał na samopodawanie kokainy ani na jej efekty subiektywne. Wyniki wskazują, że receptory $CB_1$ są zaangażowane w regulację zachowań poszukiwawczych kokainy oraz ekspresję sensytyzacji kokainowej. W ramach tych badań ukazała się praca oryginalna:

10. Filip M, Gołda A, **Zaniewska M,** McCreary AC, Nowak E, Kolasiewicz W, Przegaliński E. Involvement of cannabinoid $CB_1$ receptors in drug addiction: effects of rimonabant on behavioral responses induced by cocaine. *Pharmacol Rep.* 2006, 58(6): 806-819 (IF: 1,142; MNiSW: 10 pkt).

W latach 2004 – 2006, w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień** i we współpracy z Zakładami Farmaceutycznymi *Abbott Healthcare Products* (Weesp, Holandia), realizowałam – jako **główny wykonawca** – projekt pt. *„Rola układu endogennych kannabinoidów i ich receptorów w behawioralnych modelach uzależnienia od nikotyny”*. Oceniłam szereg ligandów układu endokannabinoidowego (eCB): rimonabant, SR 144528 (antagonista receptorów $CB_2$), CP

55,940 oraz WIN 55,212-2 (agoniści receptorów $CB_{1/2}$), anandamid (endogenny agonista receptorów CB, niekompetytywny antagonista podtypu $\alpha_7$ receptorów nACh), AM-404 (inhibitor wychwytu anandamidu oraz hydrolazy amidów kwasów tłuszczowych (FAAH)) oraz URB 597 (selektywny inhibitor FAAH), a także badany był wpływ łącznych podań AM-404+anandamid lub URB 597+anandamid. Wykazaliśmy, że żaden z badanych związków nie naśladował ani nie zmieniał efektów rozróżniających nikotyny, co wskazuje na brak udziału układu eCB w efektach subiektywnych nikotyny.

Równolegle, we współpracy z *Abbott Healthcare Products*, w latach 2004 – 2015 pełniłam funkcję **głównego wykonawcy** w projekcie pt. *„Rola układu cholinergicznego oraz serotoninergicznego w uzależnieniu nikotynowym”*. W latach 2007 – 2008, realizowałam również jako **główny wykonawca** grant promotorski (MNiSW) Prof. Małgorzaty Filip pt. *„Wpływ ligandów receptorów serotoninowych 5-$HT_{2C}$ na behawioralne i biochemiczne efekty nikotyny u szczurów”* (nr projektu N N401 2798 33).

W projekcie dotyczącym interakcji układu cholinergicznego z nikotyną oceniałam wpływ ligandów różnych podtypów receptorów nACh, w tym: DHβE (antagonista podtypu $\alpha_4\beta_2$ receptorów nACh), mekamylamina (nieselektywny antagonista receptorów nACh), MLA (antagonista podtypu $\alpha_7$ receptorów nACh) oraz 5-IA (agonista podtypu $\alpha_4\beta_2$ receptorów nACh), na efekty subiektywne nikotyny. Wykazałam, że 5-IA w pełni naśladował efekty subiektywne nikotyny, a w testach kombinacji, DHβE i mekamylamina osłabiały efekty rozróżniające nikotyny oraz naśladujące działanie 5-IA. Wyniki te wskazują, że receptory nACh zbudowane z podjednostek $\alpha_4\beta_2$ pośredniczą w ekspresji efektów subiektywnych nikotyny.

W dalszych badaniach oceniłam wpływ warenikliny − częściowego agonisty podtypu $\alpha_4\beta_2$ receptorów nACh i pełnego agonisty podtypu $\alpha_7$ receptorów nACh − na lokomotoryczne efekty nikotyny podawanej jednorazowo i wielokrotnie. Wareniklina nasilała podstawową aktywność lokomotoryczną, natomiast w kombinacji z nikotyną hamowała hiperaktywność lokomotoryczną zwierząt. Dodatkowo wareniklina osłabiała ekspresję sensytyzacji nikotynowej, ale nie wpływała na warunkową aktywność lokomotoryczną. Wielokrotne podania warenikliny w drugim okresie odstawienia nikotyny osłabiały utrzymywanie się sensytyzacji nikotynowej. Badania te potwierdziły terapeutyczny potencjał warenikliny, biorąc pod uwagę jej hamujący wpływ na lokomotoryczne i wzmacniające efekty nikotyny.

Badania dotyczące interakcji nikotyny z receptorami 5-$HT_{2A}$ i 5-$HT_{2C}$ stanowiły podstawę mojej rozprawy doktorskiej prowadzonej pod kierunkiem Prof. Małgorzaty Filip. W pierwszej części tych badań oceniłam wpływ antagonisty receptorów 5-$HT_{2A}$ M100,907, preferencyjnego agonisty receptorów 5-$HT_{2A}$ DOI, antagonisty receptorów 5-$HT_{2C}$ SB 242,084 oraz agonistów receptorów 5-$HT_{2C}$ WAY 163,909 oraz Ro 60-0175 na efekty subiektywne i lokomotoryczne nikotyny. Wykazałam, że DOI, Ro 60-0175 oraz WAY 163,909 osłabiały efekty rozróżniające nikotyny. Wpływ DOI na efekty rozróżniające był blokowany przez M100,907, a efekty Ro 60-175 oraz WAY 163,909 − przez SB 242,084. DOI i Ro 60-0175, ale nie WAY 163,909, blokowały pełne podstawienie nikotyny przez 5-IA. W testach lokomotorycznych, DOI nasilał hiperaktywność lokomotoryczną wywołaną nikotyną, a efekt ten był blokowany przez M100,907. DOI zwiększał także podstawową aktywność lokomotoryczną, co wskazuje, że jego wpływ na efekty lokomotoryczne nikotyny może wynikać z jego własnego działania pobudzającego ruchliwość. SB 242,084 nasilał, a Ro 60-

0175 oraz WAY 163,909 osłabiały hiperaktywność lokomotoryczną wywołaną nikotyną; działanie agonistów było znoszone przez SB 242,084. W teście warunkowej aktywności lokomotorycznej, w którym zwierzętom podawano wielokrotnie (przez 5 dni) nikotynę w klatkach eksperymentalnych, a następnie po 5 dniach odstawienia, podawano rozpuszczalnik i wprowadzano szczury do środowiska kontekstowego, badałam wpływ ligandów receptorów 5-$HT_{2A/2C}$ na zwiększoną aktywność lokomotoryczną mierzoną w 10. dniu doświadczenia. W tym teście M100,907, Ro 60-0175 i WAY 163,909 osłabiały, a DOI nasilał warunkową aktywność lokomotoryczną. Otrzymane wyniki wskazują, że receptory 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ pełnią hamującą rolę w efektach subiektywnych nikotyny. Receptory 5-$HT_{2A}$ uczestniczą w ekspresji warunkowej aktywności lokomotorycznej. Z kolei, farmakologiczna aktywacja receptorów 5-$HT_{2C}$ osłabia zarówno hiperaktywność lokomotoryczną jak i warunkową aktywność lokomotoryczną wywołaną nikotyną.

W ramach badań nad układem endokannabinoidowym powstała 1 praca oryginalna (**Artykuł 11**), nad układem cholinergicznym − 2 prace oryginalne (**Artykuły 11, 12, 13**), a nad układem 5-HT − 2 prace oryginalne (**Artykuły 12, 14**) oraz 1 praca przeglądowa (**Artykuł 15**), podsumowująca badania kliniczne i przedkliniczne dotyczące uzależnienia od nikotyny, aktualne strategie farmakoterapeutyczne oraz przyszłe kierunki badań.

11. **Zaniewska M,** McCreary AC, Przegaliński E, Filip M. Evaluation of the role of nicotinic acetylcholine receptor subtypes and cannabinoid system in the discriminative stimulus effects of nicotine in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006, 540(1-3): 96-106 (IF: 2,522; MNiSW: 20 pkt).
12. **Zaniewska M,** McCreary AC, Przegaliński E, Filip M. Effects of the serotonin 5-$HT_{2A}$ and 5-$HT_{2C}$ receptor ligands on the discriminative stimulus effects of nicotine in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007, 571(2-3): 156-165 (IF: 2,376; MNiSW: 20 pkt).
13. **Zaniewska M,** McCreary AC, Stefański R, Przegaliński E, Filip M. The effect of varenicline on the acute and repeated locomotor responses to nicotine in rats. *Synapse* 2008, 62(12): 935-939 (IF: 2,577; MNiSW: 20 pkt).
14. **Zaniewska M,** McCreary AC, Filip M. Interactions of serotonin $(5\text{-HT})_2$ receptor-targeting ligands and nicotine: locomotor activity studies in rats. *Synapse* 2009, 63(8): 653-661 (IF: 2,557; MNiSW: 20 pkt).
15. **Zaniewska M,** Przegaliński E, Filip M. Nicotine dependence – human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. *Pharmacol Rep.* 2009, 61(6): 957-965 (IF: 2,086; MNiSW: 20 pkt).

W ramach poszukiwań nowych strategii terapeutycznych dla uzależnienia od nikotyny badałam także rolę innych układów neuroprzekaźnikowych w modulowaniu efektów nikotyny. W tym celu zbadałam wpływ agmatyny − endogennego liganda receptorów adrenergicznych $\alpha_2$, imidazolinowych oraz glutaminianergicznych NMDA, a także inhibitora syntazy tlenku azotu – na lokomotryczne oraz subiektywne efekty nikotyny. Wykazałam, że agmatyna osłabiała warunkową aktywność lokomotoryczną, natomiast nie wpływała na hiperaktywność lokomotoryczną czy ekspresję sensytyzacji nikotynowej. Badana substancja nie naśladowała ani nie zmieniała efektów rozróżniających nikotyny. Otrzymane wyniki sugerują, że agmatyna − poprzez hamujący wpływ na ekspresję warunkowej aktywności lokomotorycznej − może wykazywać potencjał terapeutyczny w zapobieganiu nawrotom indukowanym przez bodźce środowiskowe kojarzone z przyjmowaniem tej substancji. W ramach tych badań ukazała się publikacja:

16. **Zaniewska M,** McCreary AC, Sezer G, Przegaliński E, Filip M. Effects of agmatine on nicotine-evoked behavioral responses in rats. *Pharmacol Rep.* 2008, 60(5): 645-654 (IF: 2,167; MNiSW: 10 pkt).

### *5.1.2. Najważniejsze osiągnięcia PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora*

1. **Układ eCB nie jest zaangażowany w efekty subiektywne nikotyny:** Wykazałam, że zarówno nasilenie transmisji eCB jak i blokada receptorów $CB_1$ czy $CB_2$ nie wpływa na efekty rozróżniające nikotyny.
2. **Receptory nACh podtypu $\alpha_4\beta_2$ pośredniczą w efektach subiektywnych nikotyny:** Wykazałam, że agonista podtypu $\alpha_4\beta_2$ receptorów nACh naśladuje, a blokada tych receptorów hamuje efekty rozróżniające nikotyny.
3. **Potwierdzenie potencjału terapeutycznego warenikliny:** Wykazałam, że wareniklina osłabia efekty lokomotoryczne nikotyny podanej jednorazowo oraz wielokrotnie, jak również zapobiega utrzymywaniu się sensytyzacji nikotynowej.
4. **Wykazanie roli receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ w efektach subiektywnych i lokomotorycznych nikotyny:** Wykazałam, że farmakologiczna stymulacja receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ hamuje efekty rozróżniające nikotyny. Udowodniłam też udział receptorów 5-$HT_{2A}$ w warunkowej aktywności lokomotorycznej. Pokazałam, że farmakologiczna aktywacja receptorów 5-$HT_{2C}$ znosi lokomotoryczne efekty nikotyny podanej jednorazowo i wielokrotnie.
5. **Agmatyna osłabia pobudzenie lokomotoryczne zwierząt wywołane ekspozycją na środowisko kojarzone z nikotyną:** Wykazałam, że agmatyna hamuje warunkową aktywność lokomotoryczną wywołaną nikotyną, co może sugerować potencjał terapeutyczny agmatyny w hamowaniu nawrotów wywołanych ekspozycją na bodźce środowiskowe.

### *5.1.3. Podsumowanie dorobku PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora*

Liczba publikacji w bazie JCR (**pierwszy autor**): 16 **(6)**
Sumaryczny IF: **38,831**
Łączna liczba punktów MNiSW: **284**

## 5.2. Aktywność naukowa i najważniejsze osiągnięcia PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora

### *5.2.1. Aktywność naukowa PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora*

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora opublikowałam dotąd nieopublikowane wyniki stanowiące drugą część mojej rozprawy doktorskiej. Wyniki badań dotyczące receptorów 5-$HT_{2C}$ były realizowane w ramach grantu promotorskiego Prof. Małgorzaty Filip pt. *„Wpływ ligandów receptorów serotoninowych 5-$HT_{2C}$ na behawioralne i biochemiczne efekty nikotyny u szczurów”* (nr N N401 2798 33), w którym byłam **głównym wykonawcą**. W badaniach wykorzystałam model skriningowy sensytyzacji nikotynowej zależnej od środowiska (kontekstu), w którym wielokrotne (5-dniowe) parowanie nikotyny ze środowiskiem testowym prowadzi do nasilenia aktywności lokomotorycznej w wyniku podania w 10. dniu doświadczenia wyzwalającej dawki nikotyny i umieszczenia zwierząt w środowisku kojarzonym z nikotyną. W tym modelu wykazałam, że M100,907 osłabiał, a DOI nasilał nabywanie sensytyzacji nikotynowej. M100,907, Ro 60-0175 oraz WAY 163,909 osłabiały ekspresję sensytyzacji nikotynowej. Chroniczne podania badanych związków w drugim okresie odstawienia nikotyny nie wpływały na utrzymywanie się sensytyzacji nikotynowej. W kolejnych badaniach wykazałam, że odstawienie wielokrotnych podań nikotyny wydłuża czas bezruchu zwierząt w FST. Efekt ten utrzymywał się przez 10 dni odstawienia, a

maksymalny efekt prodepresyjny obserwowany był w dniu 3. Podanie w 3. dniu odstawienia M100,907, Ro 60-175, WAY 163,909 lub SB 242,084 skracało wydłużony czas bezruchu zwierząt. SB 242,084 dodatkowo nasilał podstawową aktywność lokomotoryczną, co sugeruje, że związek ten wykazywał niespecyficzny efekt w FST. Badania autoradiograficzne po wielokrotnych podaniach nikotyny wykazały szereg zmian w obrazie receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ w mózgu szczurów. Ekspozycja na nikotynę w klatkach domowych wywołała wzrost wiązania [$^3$H]ketanseryny do receptorów 5-$HT_{2A}$ w korze przedczołowej, prążkowiu i polu brzusznym nakrywki oraz spadek wiązania [$^3$H]mesulerginy do receptorów 5-$HT_{2C}$ w korze przedczołowej. Podania nikotyny w klatce eksperymentalnej wywołały wzrost znakowania receptorów 5-$HT_{2A}$ w korze infralimbicznej i osłabienie wiązania w prążkowiu i polu brzusznym nakrywki, a także spadek wiązania radioliganda do receptorów 5-$HT_{2C}$ w korze przedczołowej. Wyniki te wskazują, że receptory 5-$HT_{2A}$ pełnią rolę permisywną w rozwoju sensytyzacji nikotynowej oraz zachowań prodepresyjnych w okresie odstawienia nikotyny. Blokada receptorów 5-$HT_{2A}$ wykazuje działanie przeciwdepresyjne w czasie odstawienia nikotyny i hamuje sensytyzację nikotynową, a stymulacja tych receptorów nasila nabywanie sensytyzacji nikotynowej. Z kolei, aktywacja receptorów 5-$HT_{2C}$ hamuje ekspresję sensytyzacji nikotynowej i wykazuje działanie przeciwdepresyjne u zwierząt odstawionych od nikotyny. Badania autoradiograficzne pokazały przeciwstawne zmiany w obrazie receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ w korze przedczołowej po podaniach nikotyny, sugerując udział receptorów 5-$HT_{2A/2C}$ w tym regionie mózgu w modulacji sensytyzacji nikotynowej. Z kolei, parowanie nikotyny z kontekstem nasiliło zmiany w wiązaniu radioligandów do receptorów 5-$HT_{2A/2C}$ w korze przedczołowej, natomiast w prążkowiu oraz polu brzusznym nakrywki odwróciło kierunek zmian w znakowaniu receptorów 5-$HT_{2A}$ w stosunku do nikotyny podanej w klatkach domowych. Rezultatem opisanych badań były trzy prace oryginalne:

1. **Zaniewska M,** McCreary AC, Wydra K, Filip M. Differential effects of serotonin (5-HT)$_2$ receptor-targeting ligands on locomotor responses to nicotine-repeated treatment. *Synapse* 2010, 64(7): 511-519 (IF: 2,925; MNiSW: 27 pkt).
2. **Zaniewska M**, McCreary AC, Wydra K, Faron-Górecka A, Filip M. Context-controlled nicotine-induced changes in the labeling of serotonin (5-HT)$_{2A}$ and 5-$HT_{2C}$ receptors in the rat brain. *Pharmacol Rep.* 2015, 67(3): 451-459 (IF: 2,251; MNiSW: 25 pkt).
3. **Zaniewska M,** McCreary AC, Wydra K, Filip M. Effects of serotonin (5-HT)$_2$ receptor ligands on depression-like behavior during nicotine withdrawal. *Neuropharmacology* 2010, 58(7): 1140-1146 (IF: 4,677; MNiSW: 32 pkt).

W artykule 4, **część I** badań – obejmująca analizę zachowań zwierząt w teście FST oraz zmian autoradiograficznych w obrazie receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ w okresie odstawienia chronicznych podań nikotyny (tj. wyniki przedstawione w publikacji na Ryc. 2–3 oraz w Tabelach 1–2), stanowiła ostatnią już część mojej rozprawy doktorskiej (**część II** badań wchodzi w skład rozprawy habilitacyjnej). Wyniki części I badań dotyczące receptorów 5-$HT_{2C}$ były realizowane w ramach grantu promotorskiego Prof. Małgorzaty Filip (nr projektu N N401 2798 33), w którym byłam **głównym wykonawcą**.

Wyniki części I badań potwierdziły, że w 3. dniu odstawienia nikotyny dochodzi do wydłużenia czasu bezruchu w FST, a dodatkowo do skrócenia czasu pływania, co wskazuje na rozwój objawów prodepresyjnych u zwierząt odstawionych od nikotyny. Trzydniowa deprywacja nikotyny wywołała spadek wiązania [$^3$H]mesulerginy do receptorów 5-$HT_{2C}$ w brzusznej części hipokampa. Ponadto odstawienie nikotyny wywołało wzrost wiązania

[$^3$H]ketanseryny do receptorów 5-HT$_{2A}$ w polu brzusznym nakrywki oraz brzusznej części hipokampa, a także spadek wiązania radioliganda w skorupie jądra półleżącego przegrody. Wykonane dodatkowo podczas **stażu podoktorskiego (stypendium programu DAAD) w MDC w Berlinie** analizy molekularne wykazały obniżenie poziomu transkryptu receptora 5-HT$_{2A}$ w hipokampie oraz polu brzusznym nakrywki (wyniki przedstawione na Ryc. 4), co może wskazywać na mechanizm kompensacyjny w odpowiedzi na zwiększoną gęstość tych receptorów w badanych obszarach mózgu w czasie odstawienia nikotyny. Otrzymane wyniki sugerują, że odstawienie nikotyny, któremu towarzyszą objawy prodepresyjne wywołuje przeciwstawne zmiany w znakowaniu receptorów 5-HT$_{2A}$ oraz 5-HT$_{2C}$ w hipokampie, sugerując zaangażowanie receptorów 5-HT$_{2A/2C}$ w tym regionie mózgu w rozwoju zachowań prodepresyjnych u szczurów. Rezultatem tych badań była praca oryginalna:

4. **ZANIEWSKA, M**, Alenina, N, Wydra, K, Fröhler, S, Kuśmider, M, McCreary, AC, Chen, W, Bader, M, Filip, M. Discovering the mechanisms underlying serotonin (5-HT)$_{2A}$ and 5-HT$_{2C}$ receptor regulation following nicotine withdrawal in rats. *J Neurochem.* 2015, 134(4): 704-716 (IF: 3,842; MNiSW: 30 pkt).

Dalsze badania nad rolą receptorów 5-HT$_{2A}$ w depresji, prowadzone w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień,** w ramach których wykonywałam analizy autoradiograficzne receptorów 5-HT$_{2A}$, wykazały, że leki i związki o działaniu przeciwdepresyjnym − mimo odmiennych mechanizmów działania − wywołują zmiany w wiązaniu [$^3$H]ketanseryny do receptorów 5-HT$_{2A}$ w mózgu szczura. Wspólnym efektem działania wielu badanych substancji było obniżenie wiązania radioliganda w skorupie jądra półleżącego przegrody, co sugeruje wspólny punkt uchwytu działania przeciwdepresyjnego ukierunkowany na ten obszar mózgu. W ramach tych badań ukazała się publikacja:

5. Gawliński D, Smaga I, **Zaniewska M,** Gawlińska K, Faron-Górecka A, Filip M. Adaptive mechanisms following antidepressant drugs: Focus on serotonin 5-HT$_{2A}$ receptors. *Pharmacol Rep.* 2019, 71(6), 994-1000 (IF: 2,754; MNiSW: 70 pkt).

Kolejnym kierunkiem badań prowadzonych **w Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, w ramach których prowadziłam analizy autoradiograficzne receptorów CB$_1$, była ocena zmian w układzie eCB w zwierzęcych modelach depresji oraz po podaniu leków i substancji o działaniu przeciwdepresyjnym. U bulbektomizowanych szczurów (OBX) z objawami depresji odnotowaliśmy przeciwstawne zmiany w poziomie anandamidu i 2-arachidonyloglicerolu (2-AG) w korze przedczołowej oraz jądrze półleżącym przegrody. W mózgu zwierząt OBX ekspresja receptorów CB$_1$ i CB$_2$ była obniżona (spadki ekspresji receptorów CB$_1$ w prążkowiu i hipokampie oraz CB$_2$ w korze przedczołowej i hipokampie). W genetycznym modelu depresji lekoopornej − u szczurów Wistar Kyoto − stwierdziliśmy zmiany w poziomie andandamidu, 2-AG i ekspresji receptorów CB$_1$ oraz CB$_2$ m.in. w korze przedczołowej, hipokampie i/lub prążkowiu. W dalszych badaniach wykazaliśmy, że leki przeciwdepresyjne − o odmiennych mechanizmach działania − modulowały ekspresję receptorów CB$_1$ i CB$_2$ w prążkowiu, korze czołowej i/lub hipokampie. Uzyskane wyniki wskazują, że układ eCB w korze przedczołowej, podregionach prążkowia oraz w hipokampie jest związany z patogenezą depresji oraz może odgrywać rolę w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. W ramach tych badań ukazały się dwie prace oryginalne:

6. Smaga I, Jastrzębska J, **Zaniewska M,** Bystrowska B, Gawliński D, Faron-Górecka A, Broniowska Ż, Miszkiel J, Filip M. Changes in the Brain Endocannabinoid System in Rat Models of Depression. *Neurotox Res.* 2017, 31(3): 421-435 (IF: 3,186; MNiSW: 25 pkt).

7. Smaga I, **Zaniewska M**, Gawliński D, Faron-Górecka A, Szafrański P, Cegła M, Filip M. Changes in the cannabinoids receptors in rats following treatment with antidepressants. *Neurotoxicology.* 2017, 63: 13-20 (IF: 3,076; MNiSW: 30 pkt).

W innych badaniach realizowanych w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień,** we współpracy z Instytutem Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, oceniony został wpływ deplecji 5-HT w okresie neonatalnym na hamowanie przedsygnałowe (ang. *prepulse inhibition, PPI*) u szczurów. PPI jest standardowym testem behawioralnym służącym do oceny obniżonej zdolności do ignorowania (filtrowania) bodźców sensorycznych; obniżenie tego mechanizmu obserwuje się w zaburzeniach obsesyjno-kompulsywnych oraz schizofrenii. W badaniach wykazano, że dokomorowe podanie 5,7-dihydroksytryptaminy (5,7-DHT) – neurotoksyny uszkadzającej neurony 5-HT – spowodowało 80–100% spadek poziomu 5-HT w hipokampie, korze przedczołowej i prążkowiu, ale nie zmieniało PPI ocenianego 3 miesiące po podaniu neurotoksyny. Efektem tych badań była publikacja:

8. Kołomańska P, Wyszogrodzka E, Rok-Bujko P, Krząścik P, Kostowski W, **Zaniewska M**, Filip M, Stefański R. Neonatal serotonin (5-HT) depletion does not disrupt prepulse inhibition of the startle response in rats. *Pharmacol Rep.* 2011, 63(5): 1077-1084 (IF: 2,445; MNiSW: 27 pkt).

W latach 2011 – 2012, podczas **stażu podoktorskiego (stypendium programu „Mobilność Plus") w MDC w Berlinie**, opracowałam protokół Western Blot do wykrywania białka receptora 5-$HT_{2A}$, obejmujący optymalizację ekstrakcji białek błonowych z komórek HEK293 transfekowanych konstruktem 5-$HT_{2A}$-EGFP. Po porównaniu różnych metod ekstrakcji wybrałam najwydajniejszą, którą następnie zastosowałam do izolacji białka z tkanki mózgowej myszy. Analiza Western Blot z użyciem różnych przeciwciał anty-5-$HT_{2A}$ wykazała specyficzność jedynie przeciwciał firmy *Immunostar* (obecność prążka ~75 kDa u myszy typu dzikiego *vs.* brak sygnału u myszy pozbawionych receptora 5-$HT_{2A}$). Dodatkowe trawienie enzymem peptydo-N-glikozydazy F (PNGaseF), usuwającym reszty cukrowe, uwidoczniło prążek o masie 50 kDa, co potwierdziło, że receptor 5-$HT_{2A}$ w mózgu myszy jest glikoproteiną podlegającą N-glikozylacji. Wyniki te zostały opublikowane na stronie *Immunostar*: https://www.immunostar.com/product/5-ht-serotonin-2a-receptor-antibody/, co umożliwiło mi nawiązanie współpracy z dr Markiem Schwendtem z Uniwersytetu na Florydzie (USA). Współpraca ta zaowocowała rozszerzeniem badań nad rolą zależnych od 5-HT mechanizmów molekularnych leżących u podłoża zaburzeń psychotycznych. Przeprowadzona przeze mnie walidacja specyficzności przeciwciał anty-5-$HT_{2A}$ firmy *Immunostar*, obejmująca trawienie białka receptora enzymem PNGaseF, została wykorzystana jako potwierdzenie specyficzności przeciwciał zastosowanych w dalszych badaniach immunohistochemicznych oraz metodzie immunoblottingu. Z użyciem zwalidowanych przeciwciał oceniono wpływ przewlekłej ekspozycji na metamfetaminę, fencyklidynę i MK-801 – substancje wywołujące deficyty poznawcze i zaburzenia bramkowania czuciowo-ruchowego – na ekspresję receptorów 5-$HT_{2A}$ i metabotropowych glutaminianu podtypu 2 ($mGlu_2$) w przyśrodkowej korze przedczołowej (mPFC), grzbietowej części hipokampa oraz korze okołokomorowej (PRh). Badania wykazały wzrost stosunku ekspresji 5-$HT_{2A}$/$mGlu_2$ w mPFC (dla wszystkich trzech substancji), PRh (dla metamfetaminy i PCP) oraz hipokampie (dla MK-801). Zmianom tym towarzyszył wzrost ekspresji białka $G\alpha_q$ oraz spadek $G\alpha_i$ w mPFC u zwierząt otrzymujących metamfetaminę. Wykazano, że interakcja między receptorami 5-$HT_{2A}$ i $mGlu_2$ może być regulowana przez tworzenie heteromerów w niektórych obszarach kory mózgowej. Otrzymane wyniki sugerują,

że przesunięcie równowagi w kierunku zwiększonej dostępności 5-$HT_{2A}$ względem $mGlu_2$ może być związane z pojawieniem się psychoz i deficytów poznawczych u osób nadużywających metamfetaminę oraz w schizofrenii. Rezultatem tych badań była publikacja:

9. Hámor PU, Širová J, Páleníček T, **Zaniewska M**, Bubeníková-Valešová V, Schwendt M. Chronic methamphetamine self-administration dysregulates 5-$HT_{2A}$ and mGlu2 receptor expression in the rat prefrontal and perirhinal cortex: Comparison to chronic phencyclidine and MK-801. *Pharmacol Biochem Behav*. 2018, 175, 89-100 (IF: 2,773; MNiSW: 25 pkt).

W kolejnych badaniach realizowanych w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, we współpracy z Zakładem Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM w Krakowie oraz Zakładem Badań Układu Nerwowego Uniwersytetu Karolinska (Sztokholm, Szwecja), zbadaliśmy farmakokinetykę kokainy oraz jej metabolitów u szczurów w czasie odstawienia samopodawania kokainy. Moim zadaniem było wykonanie dożylnych podań kokainy w badanym modelu eksperymentalnym. Po dożylnym bolusie kokainy oznaczaliśmy poziom kokainy i jej metabolitów metodą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową (LC/MS/MS) w wybranych strukturach mózgu, w narządach obwodowych i w osoczu. Analiza wykazała zależną od regionu dystrybucję kokainy w mózgu – najwyższe stężenie w prążkowiu i korze przedczołowej, najniższe w hipokampie i móżdżku. Analiza parametrów farmakokinetycznych wykazała najszybszy metabolizm kokainy w korze czołowej, hipokampie i móżdżku, najwolniejszy w prążkowiu i korze przedczołowej. Poziom metabolitów kokainy był zależny od tkanki: norkokaina występowała preferencyjnie w mózgu, a benzoiloekgonina dominowała w osoczu i tkankach na obwodzie (najwyższy poziom w nerkach). Na podstawie tych wyników opublikowana została praca:

10. Bystrowska B, Adamczyk P, Moniczewski A, **Zaniewska M,** Fuxe K, Filip M. LC/MS/MS evaluation of cocaine and its metabolites in different brain areas, peripheral organs and plasma in cocaine self-administering rats. *Pharmacol Rep.* 2012, 64(6): 1337-1349 (IF: 1,965; MNiSW: 25 pkt).

W dalszej współpracy z Zakładem Badań Układu Nerwowego Uniwersytetu Karolinska (Sztokholm, Szwecja) realizowaliśmy projekt pt. *„Rola receptorowych kompleksów heterodimerycznych ($D_2$-$A_{2A}$ i $D_2$-$CB_1$) w uzależnieniu kokainowym – aspekty behawioralne i neurochemiczne”* (nr N N4010196 35), w którym byłam wykonawcą. W pierwszym etapie projektu zastosowaliśmy technikę mikrodializy z podwójną sondą w celu jednoczesnego oznaczania zewnątrzkomórkowych stężeń dopaminy, glutaminianu i/lub GABA w skorupie jądra półleżącego przegrody oraz brzusznej części gałki bladej u szczurów samopobierających kokainę i w czasie odstawienia. Wyzwanie stanowiło precyzyjne umieszczenie sond w dwóch blisko położonych strukturach, co wymagało optymalizacji – we współpracy z dr Karoliną Wydrą – procedury implantacji sond, doboru ich parametrów technicznych oraz połączenia metody mikrodializy z modelem aktywnego samopodawania kokainy u szczurów. W tych badaniach wykazaliśmy, że szczury samopobierające kokainę miały podwyższony bazalny poziom GABA w obu badanych regionach mózgu w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano także wzrost stężenia dopaminy w skorupie jądra półleżącego przegrody u zwierząt aktywnie pobierających kokainę, w porównaniu z grupą biernie otrzymującą kokainę. W obu grupach ekspozycja na kokainę powodowała spadek zewnątrzkomórkowego poziomu GABA w jądrze półleżącym przegrody. Po 10 dniach wygaszania zachowań poszukiwawczych kokainy, bazalny poziom GABA był podwyższony, a poziom glutaminianu był obniżony w jądrze półleżącym przegrody obu grup otrzymujących kokainę. Wyniki

wskazują, że zarówno dopamina jak i GABA odgrywają kluczową rolę w motywacyjnych aspektach działania kokainy, natomiast GABA i/lub glutaminian mogą pełnić istotną rolę w czasie odstawienia. W ramach projektu opublikowano oryginalną pracę badawczą oraz 1 pracę przeglądową, podsumowującą dane literaturowe dotyczące interakcji między receptorami dopaminowymi $D_2$ a $A_{2A}$ w uzależnieniu od substancji psychoaktywnych. W artykule przeglądowym, w którym odpowiadałam za opracowanie charakterystyki funkcjonalnej receptorów $A_{2A}$ z wykorzystaniem narzędzi farmakologicznych oraz modeli genetycznych, omówiono m.in. rolę receptorów $A_{2A}$ w jądrze półleżącym przegrody w modulowaniu efektów neurochemicznych substancji psychostymulujących, mediowanych przez receptory $D_2$, oraz znaczenie tworzenia kompleksów heterodimerycznych $A_{2A}$–$D_2$ w regulacji tych procesów.

11. Wydra K, Golembiowska K, **Zaniewska M**, Kamińska K, Ferraro L, Fuxe K, Filip M. Accumbal and pallidal dopamine, glutamate and GABA overflow during cocaine self-administration and its extinction in rats. *Addict Biol.* 2013, 18(2): 307-324 (IF: 5,929; MNiSW: 45 pkt).
12. Filip M, **Zaniewska M,** Frankowska M, Wydra K, Fuxe K. The importance of the adenosine A(2A) receptor-dopamine D(2) receptor interaction in drug addiction. *Curr Med Chem.* 2012, 19(3): 317-355 (IF: 4,070; MNiSW: 40 pkt).

Dodatkowo, w dalszej współpracy z Zakładem Badań Układu Nerwowego (Uniwersytet Karolinska, Sztokholm, Szwecja) oraz Katedrą Medycyny Klinicznej i Eksperymentalnej Uniwersytetu w Ferrarze zidentyfikowaliśmy nowy mechanizm działania kokainy polegający na nasilaniu działania agonisty receptorów $D_2$–podobnych, kwinpirolu. Przy użyciu metody mikrodializy wykazaliśmy, że kokaina w niskich dawkach nasilała wywołane przez kwinpirol obniżenie zewnątrzkomórkowego glutaminianu w jądrze półleżącym przegrody. W wykonywanych przeze mnie testach behawioralnych kokaina nasilała również hiperaktywność lokomotoryczną wywołaną przez kwinpirol. W badaniach *in vitro* kokaina zwiększała skuteczność dopaminy w stymulacji wiązania GTPγS do receptorów $D_2$–podobnych w prążkowiu. Wyniki te sugerują, że kokaina może allosterycznie wzmacniać sprzężenie receptorów $D_2$ z białkiem $G_{i/o}$, co może mieć znaczenie dla neurochemicznych i behawioralnych efektów działania kokainy. Na podstawie tych badań opublikowano pracę:

13. Ferraro L, Frankowska M, Marcellino D, **Zaniewska M,** Beggiato S, Filip M, Tomasini MC, Antonelli T, Tanganelli S, Fuxe K. A novel mechanism of cocaine to enhance dopamine D(2)-like receptor mediated neurochemical and behavioral effects. An in vivo and in vitro study. *Neuropsychopharmacology* 2012, 37(8): 1856-1866 (IF: 8,678; MNiSW: 45 pkt).

W kolejnych latach, w ramach dalszej (nieformalnej) współpracy z Zakładem Badań Układu Nerwowego (Uniwersytet Karolinska, Sztokholm, Szwecja) kontynuowaliśmy projekt pt. *„Znaczenie heteromerycznych kompleksów receptorów dopaminowych, adenozynowych i glutaminianergicznych w mechanizmie działania substancji uzależniających”*, w którym byłam wykonawcą badań behawioralnych. W badaniach *ex vivo* przeprowadzonych na tkance mózgowej szczurów samopobierających kokainę wykazaliśmy, że agonista receptorów $A_{2A}$ CGS21680 obniża stan wysokiego powinowactwa receptorów $D_2$–podobnych w brzusznym prążkowiu. Odmienny efekt odnotowano w grzbietowym prążkowiu, gdzie antagonistyczna modulacja receptorów $D_2$–podobnych przez CGS21680 była zniesiona po kokainie, co sugeruje lokalną dysfunkcję heteromerycznych kompleksów $A_{2A}$–$D_2$. Zmiany te mogą być związane z rozwojem sensytyzacji, uczenia nawykowego oraz kompulsywnego poszukiwania substancji psychoaktywnej. W ramach tych badań ukazała się 1 praca oryginalna oraz 1 praca przeglądowa:

14. Pintsuk J, Borroto-Escuela DO, Pomierny B, Wydra K, **Zaniewska M,** Filip M, Fuxe K. Cocaine self-administration differentially affects allosteric $A_{2A}$-$D_2$ receptor-receptor interactions in the striatum. Relevance for cocaine use disorder. *Pharmacol Biochem Behav.* 2016, 144: 85-91 (IF: 2,748; MNiSW: 25 pkt).
15. Borroto-Escuela DO, Wydra K, Pintsuk J, Narvaez M, Corrales F, **Zaniewska M,** Agnati LF, Franco R, Tanganelli S, Ferraro L, Filip M, Fuxe K. Understanding the functional plasticity in neural networks of the basal ganglia in cocaine use disorder: a role for allosteric receptor-receptor interactions in $A_{2A}$-$_{D2}$ heteroreceptor complexes. *Neural Plast.* 2016, 4827268 (IF: 3,054; MNiSW: 30 pkt).

Badania prowadzone przeze mnie **w Zakładzie Farmakologii Uzależnień** nad mechanizmami działania substancji psychostymulujących zostały poszerzone o analizę udziału innych układów neurotransmisyjnych mózgu, w tym neurotransmisji noradrenergicznej (NE). Opracowane przeze mnie dane literaturowe dotyczące roli NE w zachowaniach związanych z uzależnieniem od substancji psychostymulujących wskazują, że układ NE pośredniczy w lokomotorycznych (hiperaktywność lokomotoryczna, sensytyzacja behawioralna) oraz motywacyjnych efektach psychostymulantów, a także w nawrocie zachowań poszukiwawczych – zwłaszcza nawrocie wywołanym stresem. Wpływ układu NE na działanie psychostymulantów w dużej mierze związany jest z jego interakcją z układem dopaminowym. W ramach przeprowadzonych analiz opublikowałana została praca przeglądowa:

16. **Zaniewska M,** Filip M, Przegaliński E. The Involvement of norepinephrine in behaviors related to psychostimulant addiction. *Current Neuropharmacol.* 2015, 13(3), 407-418 (IF: 3,753; MNiSW: 35 pkt).

Kontynuując badania w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, we współpracy z Zakładem Neurobiologii IF PAN oraz *Lundbeck Research USA*, zbadałam, czy ligandy receptorów metabotropowych glutaminianu podtypu 4 ($mGlu_4$) z grupy III modulują efekty lokomotoryczne kokainy oraz nikotyny u szczurów. Wykazałam, że zarówno ortosteryczny agonista receptorów $mGlu_4$ LSP1-2111 jak i pozytywny allosteryczny modulator $mGlu_4$ Lu AF21934 osłabiały ekspresję sensytyzacji kokainowej oraz warunkową aktywność lokomotoryczną wywołaną kokainą. Żaden z tych związków nie zmieniał efektów lokomotorycznych nikotyny. Wyniki wskazują, że aktywacja receptorów $mGlu_4$ hamuje lokomotoryczne odpowiedzi kokainy, sugerując możliwy potencjał terapeutyczny badanych związków w uzależnieniu kokainowym. Rezultatem opisanych badań była publikacja:

17. **Zaniewska M,** Przegaliński E, Filip M, Pilc A, Doller D. Inhibitory actions of mGlu4 receptor ligands on cocaine-, but not nicotine-, induced sensitizing and conditioning locomotor responses in rats. *Pharmacol Rep.* 2014, 66(2): 205-211 (IF: 1,928; MNiSW: 25 pkt).

W **Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, we współpracy z Katedrą Farmakodynamiki i Katedrą Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków Wydziału Farmaceutycznego UJ CM w Krakowie oraz *PharmaCenter Bonn* (Instytut Farmaceutyczny, Uniwersytet w Bonn), brałam udział w badaniach dotyczących oceny wpływu nowych ligandów receptora GPR18 na nastrój, ból, pobieranie pokarmu, ruchliwość, termoregulację oraz subiektywne efekty THC u gryzoni. Moim zadaniem było wykonanie analiz wpływu ligandów GPR18 na pobieranie pokarmu u myszy. Wykazaliśmy, że agonista receptora GPR18 PSB-KK-1415 ma działanie przeciwdepresyjne i przeciwlękowe. Zarówno PSB-KK-1415 jak i antagonista GPR18 PSB-CB-5 zmniejszały pobieranie pokarmu. W modelu bólu neuropatycznego PSB-KK-1415 łagodził allodynię mechaniczną, a antagonista PSB-CB-27 obniżał próg wrażliwości na zimno. W teście dyskryminacji żaden z ligandów nie naśladował THC ani nie zmieniał jego subiektywnych efektów. Wyniki tych skriningowych badań sugerują możliwość potencjalnego

wykorzystania ligandów GPR18 w modulacji nastroju, bólu i zaburzeń odżywiania. W ramach tych badań ukazała się publikacja:

18. Frankowska M, Wydra K, Suder, A, **Zaniewska M,** Gawliński D, Miszkiel J, Furgała-Wojas A, Sałat K, Filip M, Müller CE, Kieć-Kononowicz K, Kotańska M. Novel GPR18 ligands in rodent pharmacological tests: effects on mood, pain, and eating disorders. *Int J Mol Sci.* 2023, 24(10): 9046 (IF: 4,9; MNiSW: 140 pkt).

Po wielu latach badań prowadzonych w **Zakładzie Farmakologii Uzależnień**, w 2017 roku rozpoczęłam pracę w **Pracowni Farmakologii i Biostruktury Mózgu (Zakład Farmakologii, IF PAN)**, gdzie poszerzyłam moje zainteresowania badawcze w zakresie neurobiologicznych mechanizmów związanych z działaniem uzależniającym nikotyny. W latach 2017 – 2024 moja aktywność naukowa koncentrowała się na kierowaniu i realizacji projektu NCN OPUS 9 (nr projektu 2015/17/B/NZ4/02621), dotyczącego zmian w neurogenezie w hipokampie w okresie odstawienia samopodawania nikotyny oraz roli receptorów 5-$HT_{2C}$. Projekt był prowadzony przy mentorskim wsparciu Prof. dr hab. Marzeny Maćkowiak, specjalizującej się w badaniach nad neurogenezą. Znaczna część badań prowadzonych w ramach tego projektu została włączona do cyklu prac wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego. Obecnie finalizuję badania nad molekularnymi mechanizmami leżącymi u podłoża afektywnych objawów odstawienia nikotyny związanych z osłabionym dojrzewaniem oraz przeżywalnością młodych neuronów w hipokampie. Postawiłam hipotezę, że odstawienie nikotyny wpływa na integralność DNA oraz żywotność młodych, dzielących się komórek w tym regionie mózgu. Wykonane oznaczenia immunofluorescencyjne z wykorzystaniem markera γH2A.X wykazały obecność podwójnych uszkodzeń DNA w młodych dzielących się komórkach oraz w otaczających je dojrzałych neuronach zakrętu zębatego hipokampa szczurów. We współpracy z Pracownią Obrazowania Struktury i Funkcji Tkankowych Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie, opracowałam metodę automatycznej analizy uszkodzeń DNA w skrawkach hipokampa obrazowanych metodą mikroskopii konfokalnej. Wyniki tych badań są w trakcie końcowej analizy. Uzupełniające badania ekspresji genów w hipokampie wykazały zmiany w markerach naprawy dwuniciowych uszkodzeń DNA oraz apoptozy, co może tłumaczyć pogorszoną przeżywalność i osłabione dojrzewanie młodych neuronów, a na poziomie behawioralnym − rozwój afektywnych objawów odstawienia nikotyny. Dalsze analizy procesów naprawy uszkodzeń DNA w hipokampie w czasie długotrwałej abstynencji będą kluczowe dla oceny potencjalnych konsekwencji zaburzeń tych mechanizmów, w tym ryzyka mutacji i nowotworzenia, oraz ich wpływu na funkcje neuronów.

W 2024 roku rozpoczęłam pracę w **Pracowni Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych (Zakład Farmakologii, IF PAN),** kierowanej przez Prof. dr hab. Rafała Rygułę, co umożliwiło mi poszerzenie dotychczas prowadzonych przedklinicznych badań z zakresu farmakologii behawioralnej oraz neurobiologicznych mechanizmów uzależnień o badania z udziałem ludzi. We współpracy m.in. z Prof. Jonasem Kunstem z *BI Norwegian Business School* (Oslo, Norwegia) oceniliśmy związek między paleniem tytoniu a podatnością na dezinformację. W porównaniu z osobami niepalącymi, palacze wykazywali niższą trafność w rozpoznawaniu fałszywych informacji, bez różnic w umiejętności identyfikowania treści prawdziwych. Wyniki te sugerują, że palenie tytoniu może zwiększać podatność na dezinformację. Ze względu na moje doświadczenie w badaniach nad uzależnieniem od

nikotyny brałam udział w analizie i interpretacji uzyskanych wyników, współtworzeniu manuskryptu oraz identyfikacji potencjalnych mechanizmów neurobiologicznych leżących u podłoża obserwowanych efektów. Wynikiem opisanych badań była publikacja:

19. Piksa M, **Zaniewska M**, Cieslik-Starkiewicz A, Kunst J, Morzy M, Piasecki J, Rygula R. The link between tobacco smoking and susceptibility to misinformation. *Psychopharmacology (Berl)* 2025, 242(11): 2391-2400 (IF: 3,3; MNiSW: 140 pkt).

Pod koniec pracy w **Pracowni Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych**, a następnie kontynuując badania w **Zakładzie Biochemii Mózgu (IF PAN),** przygotowałam pracę przeglądową, w której opracowałam dane kliniczne i przedkliniczne dotyczące roli układu 5-HT w rozwoju, heterogeniczności objawów oraz leczeniu AUD. Opisane obserwacje wskazują, że obniżona aktywność układu 5-HT może zwiększać podatność na cięższe fenotypy AUD, a biomarkery 5-HT mogą w przyszłości wspomóc diagnozę oraz leczenie AUD. Wskazałam projekcje serotoninergiczne biegnące z jąder szwu do kory przedczołowej jako jeden z kluczowych szlaków regulujących podatność na rozwój AUD. Przedstawiłam również potencjalne działanie terapeutyczne serotoninergicznych psychodelików w AUD, które może być związane z aktywacją receptorów 5-$HT_{2A}$ w korze przedczołowej. Rezultatem tych analiz jest praca przeglądowa:

20. **Zaniewska M.** Decoding the serotonin–alcohol crosstalk: the role of central serotonergic dysregulation in alcohol use disorder. *Pharmacological Rep*. 2026, 78(4): 945-980 (IF: 4,5; MNiSW: 100 pkt).

### *5.2.2. Najważniejsze osiągnięcia PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora*

**1. Wykazanie roli receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz 5-$HT_{2C}$ w behawioralnych efektach nikotyny:** Wykazałam, że receptory 5-$HT_{2A}$ i 5-$HT_{2C}$ przeciwstawnie regulują rozwój sensytyzacji nikotynowej i zachowań prodepresyjnych w okresie odstawienia nikotyny – farmakologiczna blokada receptorów 5-$HT_{2A}$ oraz aktywacja receptorów 5-$HT_{2C}$ hamują te nikotynowe odpowiedzi. Moje badania sugerują udział receptorów 5-$HT_{2A/2C}$ kory przedczołowej w rozwoju sensytyzacji nikotynowej, a hipokampalnych receptorów w rozwoju objawów prodepresyjnych wywołanych odstawieniem nikotyny.

**2. Obniżenie gęstości receptorów 5-$HT_{2A}$ w jądrze półleżącym przegrody jako wspólny punkt uchwytu działania przeciwdepresyjnego leków:** Wykazaliśmy, że wspólną zmianą w obrazie receptorów 5-$HT_{2A}$ po podaniu leków i substancji o działaniu przeciwdepresyjnym był spadek wiązania [$^3$H]ketanseryny do receptorów 5-$HT_{2A}$ w skorupie jądra półleżącego przegrody.

**3. Dysregulacja układu eCB w depresji:** Wykazaliśmy, że dysregulacja układu eCB w korze przedczołowej, prążkowiu i hipokampie jest związana z fenotypem prodepresyjnym oraz, że leki przeciwdepresyjne modulują te szlaki, co może mieć związek z ich obrazem klinicznym.

**4. Opracowanie protokołu wykrywania białka receptora 5-$HT_{2A}$ metodą Western Blot i wykazanie specyficzności użytych przeciwciał:** Zoptymalizowałam protokół Western blot do wykrywania receptorów 5-$HT_{2A}$, obejmujący wydajną ekstrakcję białek błonowych**,** dobór i walidację przeciwciał (*Immunostar*, walidacja z wykorzystaniem tkanki od mysiego nokauta receptora 5-$HT_{2A}$) oraz weryfikację N-glikozylacji receptora (PNGase F), tworząc cenne narzędzie do dalszych badań nad rolą tych receptorów w różnych zaburzeniach neuropsychiatrycznych, m.in. depresji.

5. **Optymalizacja procedury mikrodializy z podwójną sondą mikrodializacyjną oraz połączenie metody z samopodawaniem kokainy:** Zoptymalizowałyśmy procedurę implantacji podwójnej sondy mikrodializacyjnej, by precyzyjnie i powtarzalnie oznaczać poziom dopaminy, glutaminianu i GABA w skorupie jądra półleżącego przegrody i brzusznej części gałki bladej u szczurów aktywnie pobierających substancje psychostymulujące.
6. **Wykazanie wpływu kokainy na allosteryczne interakcje pomiędzy receptorami $A_{2A}$ i $D_2$:** Wykazaliśmy, że przewlekła ekspozycja na kokainę zaburza antagonistyczne interakcje w kompleksach $A_{2A}$-$D_2$ w prążkowiu, co może być mechanizmem związanym z kompulsywnym poszukiwaniem kokainy.
7. **Rola układu NE w zachowaniach związanych z substancjami psychostymulującymi:** Podsumowałam dane literaturowe pokazujące, że układ NE moduluje lokomotoryczne i motywacyjne efekty psychostymulantów oraz nawroty zachowań poszukiwawczych, zwłaszcza wywołane stresem, co zachodzi głównie poprzez interakcję z układem dopaminowym.
8. **Rola aktywacji receptorów $mGlu_4$ w lokomotorycznych odpowiedziach kokainy:** Wykazałam, że farmakologiczna stymulacja receptorów $mGlu_4$ osłabia ekspresję sensytyzacji kokainowej i warunkową aktywność lokomotoryczną wywołaną kokainą.
9. **Opracowanie automatycznej analizy podwójnych uszkodzeń DNA w młodych komórkach hipokampa:** We współpracy z Instytutem Nenckiego PAN opracowałam metodę analizy uszkodzeń DNA w komórkach hipokampa, która umożliwi zbadanie znaczenia podwójnych uszkodzeń DNA w rozwoju objawów prodepresyjnych i towarzyszących im zaburzeń neurogenezy.
10. **Wykazanie zwiększonej podatności na fałszywą informację u palaczy tytoniu:** Wykazaliśmy, że palacze gorzej rozpoznają fałszywe informacje przy prawidłowym rozpoznawaniu treści prawdziwych, co wskazuje na większą podatność na dezinformację w tej grupie.
11. **Rola dysfunkcji układu 5-HT w AUD:** Na podstawie przeprowadzonej analizy piśmiennictwa wykazałam heterogeniczność AUD – również pod względem aktywności układu 5-HT – uzasadniając potrzebę dalszej stratyfikacji pacjentów z uwzględnieniem różnic w funkcjonowaniu układu 5-HT. Walidacja biomarkerów 5-HT mogłaby w przyszłości ułatwić identyfikację podtypów AUD, przewidywanie odpowiedzi na leczenie oraz opracowanie bardziej spersonalizowanych strategii terapeutycznych.

### *5.2.3. Podsumowanie dorobku PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora*

Liczba publikacji w bazie JCR (**pierwszy autor**): 25 **(12)**
Sumaryczny IF: **94,918**
Łączna liczba punktów MNiSW: **1601**

### 5.3. Sumaryczny dorobek naukowy (2005-2026) (dotyczy wszystkich publikacji)

Liczba publikacji w bazie JCR (pierwszy autor): **41** (**18**)
Sumaryczny IF: **133,749**
Łączna liczba punktów MNiSW: **1885**
Liczba cytowań (Web of Science Core Collection): **1152** (na dzień 11.09.2026, w tym **1077** bez autocytowań)

Indeks Hirscha (Web of Science Core Collection): **23**
Współautorstwo doniesień zjazdowych: **40** (w tym **13** wykładów i **10** posterów własnych).

## 6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

### 6.1. Działalność dydaktyczna

- **wygłoszenie wykładu eksperckiego dla studentów/doktorantów:**

05.2025 **Zaniewska M,** *Alkohol – czasami lek, czasami pułapka. Krakowska Biomedyczna Szkoła Letnia,* Auditorium Maximum UJ, Kraków

12.2010 **Zaniewska M.** *Yin i Yang nikotyny*, Wydział Farmaceutyczny UJ CM, Kraków

- **udział w kształceniu doktorantów:**

06.2024 opinia ekspercka na temat pracy przeglądowej (systematic review) *The effects of maternal exposure to anesthesia during pregnancy on the offspring neurodevelopment – a systematic review of studies in small mammal models* przygotowanej przez doktorantów Wydziału Biologii UJ w Krakowie

- **opiekun magistranta:**

03.2018 – 09.2019 opieka nad pracą magisterską inż. Sabiny Brygider, studentki II stopnia studiów stacjonarnych (magisterskich) na kierunku Biotechnologia Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie oraz stypendystki w projekcie NCN OPUS9

**Rola: promotor**

05.2016 – 10.2017 opieka nad pracą magisterską inż. Magdaleny Michalak, studentki II roku (studia II stopnia) kierunku Neurobiologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ w Krakowie

**Rola: promotor pomocniczy**

- **opiekun praktykanta:**

08.2017 opieka nad inż. Mateuszem Wątrobą, studentem II stopnia studiów stacjonarnych (magisterskich) na kierunku Biotechnologia analityczna Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

07.2017 opieka nad Sabiną Brygider, studentką I stopnia studiów stacjonarnych (inżynierskich) na kierunku Biotechnologia Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

- **opiekun stażu naukowego:**

03.2017 – 08.2017 opieka nad inż. Mateuszem Wątrobą, studentem II stopnia studiów stacjonarnych na kierunku Biotechnologia analityczna Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie – płatny staż naukowy w ramach zatrudnienia w charakterze stypendysty w grancie OPUS 9

- **opiekun wolontariusza:**

| | |
|---|---|
| 01.2026 – 03.2026 | opieka nad Jakubem Urbańcem, maturzystą VIII Liceum im. Stanisława Wyspiańskiego w Krakowie – staż naukowy w ramach wolontariatu |
| 02.2025 – 07.2025 | opieka nad Emilią Janowską, maturzystką V Liceum im. Augusta Witkowskiego w Krakowie – staż naukowy w ramach wolontariatu |
| 10.2017 | opieka nad mgr Filipem Fedakiem, studentem V roku Farmacji na Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie – staż naukowy w ramach wolontariatu |
| 08.2017 – 10.2017 | opieka nad Sabiną Brygider, studentką I stopnia studiów stacjonarnych (inżynierskich) na kierunku Biotechnologia Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie – staż naukowy w ramach wolontariatu |

### 6.2. Działalność organizacyjna

| | |
|---|---|
| 05.2025 | członek komitetu organizacyjnego *Workshop: Cognitive affective biases - from mechanisms to disease symptoms (2025)*, Tomaszowice |
| 06.2023 | przewodnicząca sesji *Serotonin and synaptic modulation* podczas międzynarodowej konferencji *Serotonin 20 Years After*, Berlin, Niemcy |
| 06.2023 | członek komitetu organizacyjnego V SSIPG IF PAN |
| 06.2022 | członek komitetu organizacyjnego IV SSIPG IF PAN |
| 05.2019 | członek komitetu organizacyjnego III SSIPG IF PAN |
| 09.2017 | członek komitetu organizacyjnego II SSIPG IF PAN |
| 09.2016 | członek komitetu organizacyjnego I Spontanicznego Spotkania Integracyjnego (I SSIPG) pracowników IF PAN |
| 06.2016 | członek komitetu organizacyjnego *2nd CEBC*, Kraków |
| 2016 – 2017 | współtworzenie strony internetowej IF PAN |

### 6.3. Działalność popularyzująca naukę

| | |
|---|---|
| 08.2019 | autor streszczenia popularnonaukowego wyników opublikowanych w czasopiśmie *Neuroscience* 2019, 418: 133-148 dla serwisu popularnonaukowego *„Po Prostu Nauka”,* UJ CM w Krakowie |
| 05.2019 | *Na tropie śladów środowiska, czyli co w mózgu iskrzy, dzieli się i świeci* – **wykład** o uzależnieniu od nikotyny, a także o zwierzęcym modelu uzależnień lekowych i wpływie aktywności fizycznej na objawy odstawienia nikotyny u szczurów; **prowadzenie warsztatów** z fenotypowania komórek proliferujących w hipokampie szczura (obrazy konfokalne z projektu NCN OPUS 9), Festiwal Nauki i Sztuki w Krakowie |
| 05.2019 | *Analiza obrazów w mikroskopie konfokalnym* – pokaz (dr Julita Wesołowska) obrazów konfokalnych przedstawiających komórki proliferujące w zakręcie zębatym hipokampa (projekt NCN OPUS 9), Festiwal Nauki i Sztuki w Krakowie |

03.2018 *Alkohol-proteza dla wielu* – **dyskusja** na temat efektów działania alkoholu u ludzi, NEUROBIOLOGICZNY AUTOBUS, Krakowski Tydzień Mózgu, Kraków

## 7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

### 7.1. Udział w zagranicznych stażach naukowych

10.2011 – 10.2012 staż podoktorski (program „Mobilność Plus"), MDC, Zakład Badań Układu Sercowo-Naczyniowego, Pracownia Biologii Molekularnej Hormonów Peptydowych, Berlin, Niemcy

07.2010 – 09.2010 staż podoktorski (stypendium programu DAAD), MDC, Zakład Badań Układu Sercowo-Naczyniowego, Pracownia Biologii Molekularnej Hormonów Peptydowych, Berlin, Niemcy

03.2003 – 06.2003 staż naukowy (program ERASMUS/ SOCRATES), Uniwersytet w Lund, Zakład Biologii Komórkowej i Molekularnej, Lund, Szwecja

### 7.2. Udział w projektach badawczych

#### *7.2.1. Kierowanie projektami badawczymi*

1. *Zmiany w neurogenezie w okresie odstawienia samopodawania nikotyny u szczurów - rola receptorów serotoninowych (5-HT)$_{2C}$* – NCN – projekt OPUS 9, nr projektu: 2015/17/B/NZ4/02621, okres realizacji: 09.03.2016 – 08.07.2022, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk.
2. *Definiowanie mechanizmu regulującego udział serotoniny w rozwoju zachowań depresyjnych i uzależnienia od alkoholu u zwierząt* – MNiSW – Program „Mobilność Plus", nr projektu: 632/MOB/2011/0, okres realizacji: 01.10.2011 – 31.10.2012, MDC w Berlinie.
3. *Signalling cascades underlying behavioural effects of nicotine in rats* – Program DAAD, nr projektu: A/10/05975 Referat 323, okres realizacji: 17.07.2010 – 16.09.2010, MDC w Berlinie.

#### *7.2.2. Udział w projektach jako wykonawca projektu*

##### *7.2.2.1. Realizacja projektów badawczych finansowanych przez NCN:*

2024 „*Translacyjne i interdyscyplinarne badania fenotypów wrażliwości na wzmocnienie jako predyktorów odpowiedzi na leki przeciwdepresyjne*", 2021/43/B/HS6/02007, wykonawca projektu

##### *7.2.2.2. Realizacja projektów badawczych finansowanych przez MNiSW:*

2010 – 2014 *„De-Me-Ter – „Depresja – mechanizmy – terapia"*, POIG.01.01.02-12-004/09, wykonawca projektu

2008 – 2011 *„Rola receptorowych kompleksów heterodimerycznych ($D_2$-$A_{2A}$ i $D_2$-$CB_1$) w uzależnieniu kokainowym – aspekty behawioralne i neurochemiczne"*, N N4010196 35, wykonawca projektu

2007 – 2008 *„Wpływ ligandów receptorów serotoninowych 5-HT$_{2C}$ na behawioralne i biochemiczne efekty nikotyny u szczurów"*, N N401 2798 33, **grant promotorski, główny wykonawca projektu**

2005 – 2008 *„Ligandy receptorów serotoninowych 5-$HT_{1B}$ jako potencjalne środki farmakoterapeutyczne w uzależnieniu od kokainy”*, 2 P05A 012 28, wykonawca projektu

2004 – 2007 *„Rola receptorów $GABA_B$ w uzależnieniu kokainowym – aspekty behawioralne (model samopodawania i test rozróżniania) i neurochemiczne (analiza autoradiograficzna i immunohistochemiczna)”,* 2 P05A 007 26, wykonawca projektu

*7.2.2.3. Realizacja projektów badawczych realizowanych w ramach współpracy międzynarodowej:*

2010 – obecnie „*Udział neurotransmisji serotoninowej w uzależnieniu od alkoholu*”, współpraca z Prof. Michaelem Baderem oraz dr Natalią Aleniną z Pracowni Biologii Molekularnej Hormonów Peptydowych, MDC, Berlin, Niemcy, **główny wykonawca projektu**

2005 – 2017 *„Znaczenie heteromerycznych kompleksów receptorów dopaminowych, adenozynowych i glutaminianergicznych w mechanizmie działania substancji uzależniających”*, współpraca z Prof. Kjellem Fuxe z Zakładu Badań Układu Nerwowego, Uniwersytet Karolinska, Sztokholm, Szwecja, wykonawca projektu

2004 – 2015 *„Rola układu cholinergicznego oraz serotoninergicznego w uzależnieniu nikotynowym”,* współpraca z Zakładami Farmaceutycznymi *Abbott Healthcare Products*, Weesp, Holandia, wykonawca projektu

2004 – 2006 *„Rola układu endogennych kannabinoidów i ich receptorów w behawioralnych modelach uzależnienia od nikotyny”,* współpraca z Zakładami Farmaceutycznymi *Abbott Healthcare Products,* Weesp, Holandia, wykonawca projektu

*7.2.2.4. Realizacja projektów badawczych realizowanych w ramach współpracy krajowej:*

02.2022 – obecnie *„Analiza obrazów uszkodzeń DNA w hipokampie zwierząt w okresie odstawienia nikotyny”* – zadanie badawcze projektu NCN OPUS 9 (nr projektu 2015/17/B/NZ4/02621), współpraca z dr Jędrzejem Szymańskim oraz Arturem Wolnym z Pracowni Obrazowania Struktury i Funkcji Tkankowych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Warszawa – **główny wykonawca projektu**

11.2021 – 12.2021 próba implementacji technologii *SensiTive Recognition of Individual DNA Ends* (STRIDE) do zbadania uszkodzeń w dwuniciowym DNA w okresie odstawienia nikotyny – współpraca z naukowcami z firmy *IntoDNA,* Kraków – **główny wykonawca projektu**

04.2018 – 12.2018 *„Wpływ dobrowolnego biegania w kole biegowym na neurogenezę w okresie odstawienia nikotyny”* – Część 5. Zadania badawczego projektu NCN OPUS 9 (nr projektu 2015/17/B/NZ4/02621), współpraca z dr Sławą Glińską oraz dr Łucją Balcerzak z Pracowni Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, **główny wykonawca projektu**

## 7.3. Udział w konferencjach naukowych o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym

### *7.3.1. Doniesienia zjazdowe – wygłoszone wykłady (PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora)*

- konferencje o zasięgu międzynarodowym:

1. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Wydra K, Przegaliński E. Serotonin (5-HT)$_2$ receptor ligands as potential pharmacotherapies for nicotine addiction – animal studies. *XXVII CINP Regional Meeting*, Bratysława, Słowacja, 11.2008, **wykład na zaproszenie w języku angielskim**

- konferencje o zasięgu krajowym:

2. **Zaniewska M,** Filip M, Frankowska M, Nowak E, Przegaliński E. Effects of the CRF$_1$ receptor antagonist, CP-154,526, on the behavioral effects of cocaine in rats. *Pharmacol Rep.* 2005, 57, 2: 301-301, *„XIV Dni Neuropsychofarmakologiczne"*, Ustroń-Jaszowiec, 05.2005, **prezentacja ustna**
3. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Wydra K, Nowak E, Przegaliński E. Interactions of serotonin (5-HT)$_{2C}$ receptor-targeting ligands and nicotine: locomotor activity and drug discrimination studies. *Pharmacol Rep.* 2006, 58, 2: 308-309, *„XV Dni Neuropsychofarmakologiczne"*, Ustroń-Jaszowiec, 05.2006, **prezentacja ustna**
4. Frankowska M, Filip M, Gołda A, **Zaniewska M,** Przegaliński E. Effects of GABA$_B$ receptor ligands on the "depressive-like" behaviour in rats withdrawn from cocaine self-administration. *Pharmacol Rep.* 2006, 58, 2: 306-307, *„XV Dni Neuropsychofarmakologiczne"*, Ustroń-Jaszowiec, 05.2006, prezentacja ustna mgr Małgorzaty Frankowskiej
5. Gołda A, Filip M, Frankowska M, **Zaniewska M,** Przegaliński E. Effects of serotonin (5-HT)$_{1B}$ receptor ligands on cocaine or "natural" (food) reinforcement and relapse in rats. *Pharmacol Rep.* 2006, 58, 2: 307-308, *„XV Dni Neuropsychofarmakologiczne"*, Ustroń-Jaszowiec, 05.2006, prezentacja ustna mgr Anny Gołdy
6. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Wydra K, Przegaliński E. Role of serotonin (5-HT)$_2$ receptors in nicotine seeking behavior and relapse in rats. *16th International Symposium of Polish Network of Molecular and Cellular Biology, Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism*, Kraków, 2007, 517-518, 06.2007, **prezentacja ustna**
7. **Zaniewska M,** Wydra K, Nowak E, McCreary AC, Przegaliński E, Filip M. Effects of serotonin (5-HT)$_2$ receptor ligands on the depressive-like effects associated with nicotine withdrawal in rats. *Pharmacol Rep.* 2008, 60: 276-278, *„XVII Dni Neuropsychofarmakologiczne"*, Ustroń-Jaszowiec, 05.2008, **prezentacja ustna**

### *7.3.2. Doniesienia zjazdowe – wygłoszone wykłady (PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora)*

- konferencje o zasięgu międzynarodowym:

8. Filip M, **Zaniewska M**, McCreary AC. 5-HT$_{2C}$ receptors and drug addiction. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2010, *23rd ECNP Congress*, Amsterdam, 08–09.2010, wykład Prof. dr hab. Małgorzaty Filip
9. **Zaniewska M**, Filip M. The serotonin (5-HT)$_{2A}$ and 5-HT$_{2C}$ receptors in nicotine dependence. *Pharmacol Rep.* 2010, 62, 10, *XVII Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego*, Krynica Górska, 09.2010, **wykład w języku polskim**
10. Wydra K, **Zaniewska M,** Dziubina A, Gołembiowska K, Filip M. Effects of self-administered cocaine in rats on accumbal and pallidal dopamine, glutamate and GABA levels. *Pharmacol Rep.* 2010, 62, 70, *XVII Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego*, Krynica Górska, 09.2010, wykład mgr inż. Karoliny Wydry
11. **Zaniewska M,** Filip M, Bader M. Bi-directional interaction between nicotine and serotonin (5-HT)$_{2C}$ receptors – behavioural and molecular aspects. *10th International Congress of the Polish Neuroscience Society*, Łodź, 09.2011, **wykład w języku angielskim**
12. Filip M, **Zaniewska M.** Therapeutic potential of 5-HT$_{2C}$ receptor ligands towards cocaine addiction. *10th International Congress of the Polish Neuroscience Society*, Łódź, 2011, 09.2011, wykład Prof. dr hab. Małgorzaty Filip

13. Filip M, **Zaniewska M,** McCreary AC. Mining the serotonin 5-$HT_{2C}$ receptors and their ligands in drug addiction. *35th National Congress of the Italian Society of Pharmacology*, Bolonia, 09.2011, wykład Prof. dr hab. Małgorzaty Filip
14. **Zaniewska M,** Przegaliński E, Filip M, Pilc A, Uberti MA, Bacolod MD, Doller D. Inhibitory actions of mGlu4 receptor ligands on cocaine- but not nicotine-induced locomotor responses in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2012, Vol. 22, Suppl. 2, P.S142, *25th ECNP Congress,* Wiedeń, 10.2012, **wykład w języku angielskim**
15. **Zaniewska M.** Preclinical studies on alcohol use disorder – the effects of adenosine $(A)_{2A}$ receptor overexpression. *AG Bader retreat 2016*, Strausberg k/Berlina, Niemcy, 03.2016, **prezentacja ustna na zaproszenie w języku angielskim**
16. **Zaniewska M,** Alenina N, Matthes S, Beis D, Mosienko V, Fröhler S, Chen W, Bader M. Defining the mechanism regulating the role of serotonin in the development of ethanol addiction in animals. *2nd Central European Biomedical Congress (CEBC),* Kraków, 06.2016, **wykład w języku angielskim**
17. **Zaniewska M.** The role of serotonin $(5\text{-HT})_{2C}$ receptor stimulation in nicotine withdrawal. *MNS Marrakech 2019 – Mediterranean Neuroscience Society,* Marrakesz, Maroko, 06.2019, **wykład w języku angielskim**
18. **Zaniewska M.** The role of serotonin $(5\text{-HT})_{2C}$ receptor in nicotine withdrawal symptoms. *ADDICTION 2022 - Enlightening the addicted brain: cells, circuits and therapies*, E-book of abstracts, p. 62, Villasimius, Włochy, 09.2022, **wykład w języku angielskim**

- konferencje o zasięgu krajowym:

19. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Faron-Górecka A, Kuśmider M, Nowak E, Wydra K, Dziedzicka-Wasylewska M, Przegaliński E. Repeated nicotine-induced changes in [$^3$H]ketanserin binding to serotonin $(5\text{-HT})_{2A}$ receptors in the rat brain. *18th International Symposium of the Polish Network of Molecular and Cellular Biology, Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism*, Kraków, 2009, 379-380, 09.2009, **prezentacja ustna**
20. Filip M, **Zaniewska M.** Serotonin $(5\text{-HT})_{2C}$ receptors and development of psychoactive substance dependence. *Studies of drug dependence in Poland – new perspectives, new challenges,* Warszawa, 2010, prezentacja ustna Prof. dr hab. Małgorzaty Filip

### *7.3.3. Doniesienia zjazdowe – prezentacja posteru (PRZED uzyskaniem stopnia naukowego doktora)*

- konferencje o zasięgu międzynarodowym:

1. **Zaniewska M,** McCreary AC, Wydra K, Nowak E, Filip M, Przegaliński E. Involvement of rimonabant, a cannabinoid $CB_1$ receptor antagonist, in the behavioral effects of cocaine. *Acta Neurobiol Exp.* 2005, 65, 3, P.1.43, *VII Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego,* Kraków, 09.2005, **prezentacja posteru**
2. Filip M, Frankowska M, Gołda A, **Zaniewska M,** Przegaliński E. GABA(B) receptor agonists and a positive modulator reduce the 'depressive-like' behavior in rats during cocaine abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006, 16, 4: 513, *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe,* Nicea, Francja, 03.2006, prezentacja posteru przez Prof. dr hab. Małgorzatę Filip
3. **Zaniewska M,** McCreary AC, Filip M, Przegaliński E. Search for the pharmacotherapy of nicotine addiction: focus on the nicotinic receptor subtypes and cannabinoid system. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006, 16, 1: 43-44, *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe,* Nicea, Francja, 03.2006, **prezentacja posteru**
4. Frankowska M, Filip M, Gołda A, **Zaniewska M,** Przegaliński E. $GABA_B$ receptor stimulation protects against the "depressive-like" effects in rats withdrawn from cocaine self-administration. *2006 NIDA-Mini Convention,* Atlanta, 2006, Abstract no: 51, 10.2006, prezentacja posteru przez mgr Małgorzatę Frankowską
5. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Przegaliński E. Influence of serotonin 5-$HT_{2A}$ and 5-$HT_{2C}$ receptor agonists and antagonists on the locomotor and discriminative stimulus effects of nicotine. *The Second Dual Congress on "Psychiatry and the Neurosciences"*, Ateny, Grecja, 2006, P73: 103-104, 12.2006, **prezentacja posteru**

6. Filip M, Gołda A, Frankowska M, **Zaniewska M,** Przegaliński E. Effects of serotonin (5-HT)$_{1B}$ receptor antagonists and agonist on the cocaine- or food-induced relapse in rats. *The Second Dual Congress on "Psychiatry and the Neurosciences",* Ateny, Grecja, 2006, P72: 103, 12.2006, prezentacja posteru przez Prof. dr hab. Małgorzatę Filip
7. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Nowak E, Przegaliński E. Effects of the serotonin 2C receptor ligands in the nicotine-evoked conditioned hyperlocomotion and sensitization. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2007, 17, 1, P.2.08: 46, *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe,* Nicea, Francja, 03.2007, **prezentacja posteru**
8. **Zaniewska M,** Filip M, McCreary AC, Wydra K, Przegaliński E. Serotonin (5-HT)$_2$ receptor ligands as potential pharmacotherapies for nicotine addiction – animal studies. *Behav Pharmacol.* 2007, 18, 1, 88, *12th Biennial Meeting of the European Behavioural Pharmacology Society,* Tübingen, Niemcy, 08–09.2007, **prezentacja posteru**
9. **Zaniewska M,** Filip M, Nowak E, McCreary AC, Cunningham KA, Przegaliński E. Beyond pharmacotherapy of nicotine dependence: preclinical evaluation of serotonin (5-HT)$_2$ receptor ligands. *2007 NIDA Mini-Convention, Frontiers in Addiction Research,* San Diego, 2007, Poster no: 26, *NIDA 2007 Mini-Convention "Frontiers in Addiction Research",* San Diego, USA, 11.2007, **prezentacja posteru**
10. Filip M, **Zaniewska M,** Wydra K, Nowak E, McCreary AC, Przegaliński E. Role of serotonin (5-HT)$_2$ receptors in the nicotine withdrawal-evoked depressive-like behavioral effects in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2008, 22, 2: 128, prezentacja posteru przez Prof. dr hab. Małgorzatę Filip

### *7.3.4. Doniesienia zjazdowe – prezentacja posteru (PO uzyskaniu stopnia naukowego doktora)*

- konferencje o zasięgu międzynarodowym:

11. **Zaniewska M**, Alenina N, Filip M, Chen W, Bader M. Discovering the mechanisms underlying nicotine withdrawal in rats from real time polymerase chain reaction (PCR) and deep sequencing data. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011, Vol. 21, Suppl. 3, S597, *24th ECNP Congress,* Paryż, Francja, 09.2011, **prezentacja posteru**
12. Wydra K, **Zaniewska M,** Suder A, Dziubina A, Kowalska K, Golembiowska K, Fuxe K, Filip M. In vivo microdialysis studies of brain dopamine, glutamate and GABA overflow during cocaine self-administration and its extinction. *Eur. Neuropsychopharmacol,* 2011, Vol. 21, Suppl. 1, S52-S53, *24th ECNP Congress,* Paryż, Francja, 09.2011, prezentacja posteru przez mgr inż. Karolinę Wydrę
13. Czyżyk J, **Zaniewska M,** Bader M, Fuxe K, Filip M. Attenuated behavioral responses to acute and chronic cocaine in adenosine 2A overexpressed transgenic rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011, Vol. 21, Suppl. 3, S597-S598, *24th ECNP Congress,* Paryż, Francja, 09.2011, prezentacja posteru przez mgr Joannę Czyżyk
14. Wydra K, Suder A, **Zaniewska M**, Dziubina A, Kamińska K, Gołembiowska K, Fuxe K, Filip M. Behavioral and neurochemical effects of dopamine (D2) and adenosine (A2A) receptor agonists on cocaine self-administration and relapse in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011, Vol. 21, Suppl. 3, S590, *24th ECNP Congress,* Paryż, Francja, 09.2011, prezentacja posteru przez mgr inż. Karolinę Wydrę
15. Gawliński D, Smaga-Maślanka I, **Zaniewska M,** Faron-Górecka A, Filip M. Effects of acute and repeated administration of escitalopram on binding of [$^3$H]CP55,940 to cannabinoid (CB)$_1$ receptors in rat brain structures. *Neuronus IBRO & IRUN Neuroscience Forum 2016*, Kraków, 04.2016, prezentacja posteru przez mgr Dawida Gawlińskiego
16. Gawliński D, **Zaniewska M,** Smaga-Maślanka I, Faron-Górecka A, Filip M. Effects of acute and repeated administration of antidepressants and drugs with antidepressant activity on [$^3$H]ketanserin binding to serotonin (5-HT)$_{2A}$ receptors in rat brain structures. *2$^{nd}$ Central European Biomedical Congress (CEBC),* Kraków, 06.2016, prezentacja posteru przez mgr Dawida Gawlińskiego
17. Gawliński D, Smaga-Maślanka I, **Zaniewska M,** Faron-Górecka A, Filip M. Effects of acute and repeated administration of tianeptine on binding of [$^3$H]CP55,940 to cannabinoid (CB)$_1$ receptors in rat brain structures. *6th International Conference Aspects of Neuroscience,* Warszawa, 11.2016, prezentacja posteru przez mgr Dawida Gawlińskiego

18. **Zaniewska M,** Gawliński D, Michalak M, Wydra K, Brygider S, Wątroba M, Suder A, Wędzony K, Filip M, Maćkowiak M. Evaluation of depression-like behavior and hippocampal neurogenesis during nicotine withdrawal. *Adult Neurogenesis 2018,* Drezno, Niemcy, 05.2018, **prezentacja posteru**
19. **Zaniewska M,** Brygider S, Głowacka U, Gawliński D, Michalak M, Wątroba M, Wydra K, Suder A, Maćkowiak M. The ability of serotonin (5-HT)$_{2C}$ receptor agonist to alleviate affective signs of nicotine withdrawal. *19th Meeting of the International Society for Serotonin Research*, Cork, Irlandia, 07.2018, **prezentacja posteru**
20. **Zaniewska M,** Brygider S, Gawliński D, Głowacka U, Glińska S, Balcerzak Ł, Wątroba M, Wędzony K, Maćkowiak M. Effects of the long-term physical activity on depression-like symptoms, drug-seeking behavior and changes in hippocampal neurogenesis during nicotine cessation. *4th Eurogenesis Meeting,* Bordeaux, Francja, 06.2019, **prezentacja posteru**

## 7.4. Rola recenzencka w międzynarodowych czasopismach naukowych

**Rola redakcyjna i ekspercka**

2026 – obecnie *Scientific Reports* (Nature Portfolio) – **członek Rady Redakcyjnej (*handling editor*)**

2025 – obecnie *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, sekcja *Motivation and Reward* – **recenzent społecznościowy (*community reviewer*)**

2022 – 2025 *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, sekcja *Motivation and Reward* – **redaktor ds. recenzji (*review editor*)**

**Recenzent naukowy (recenzje pojedynczych manuskryptów)**

**2026 –** *Scientific Reports*, *Molecular Neurobiology*
**2025 –** *Psychopharmacology*
**2024 –** *BMC Neuroscience*, Alkoholizm i Narkomania, *Brain Sciences*, *Molecular Neurobiology, Pharmacological Reports, Toxics*
**2023 –** *International Journal of Molecular Sciences, Frontiers in Synaptic Neuroscience*
**2022 –** *Pharmacological Reports*
**2017 –** *Addiction Biology*
**2015 –** *Neuroscience Letters*
**2011 –** *Regulatory Peptides*
**2010 –** *Pharmacological Reports*, *CNS Drugs*
**2009 –** *Pharmacological Reports*
**2008 –** *Synapse*
**2007 –** *Brain Research Bulletin,* Alkoholizm i Narkomania
**2006 –** *European Neuropsychopharmacology*
**2005 –** *Pharmacological Reports*

## 7.5. Członkostwo w organizacjach naukowych

2018 – obecnie *International Society for Serotonin Research (ISSR)*
2010 – 2014 Polskie Towarzystwo Farmakologiczne (PTFarm)
2007 – 2022 Polskie Towarzystwo Badań Układu Nerwowego (PTBUN)
2007 – 2022 *Federation of European Neurosciences (FENS)*
2006 – 2011 *European College of Neuropsychopharmacology (ECNP)*

PODPIS ZAUFANY
MAGDALENA
ZANIEWSKA
15.09.2026 22:17:18 GMT+0200
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

## 7.6. Nagrody i wyróżnienia

09.2011 **Nagroda konferencyjna** *ECNP Travel Award* – refundacja kosztów uczestnictwa w konferencji *24th ECNP Congress*

08.2011 **Stypendium programu „Mobilność Plus" (MNiSW)** na projekt badawczy w MDC – Berlin, Niemcy

11.2010 **Zespołowa Nagroda Naukowa Wydziału VI Nauk Medycznych PAN** za cykl prac opublikowanych w czasopismach o wysokim IF – Warszawa

07.2010 **Stypendium programu DAAD** na projekt badawczy w MDC – Berlin, Niemcy

05.2009 **Krajowe stypendium programu START (Fundacja na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych uczonych)** – Warszawa

05.2008 **Nagroda Dyrektora IF PAN** – refundacja kosztów uczestnictwa w konferencji *„XVII Dni Neuropsychofarmakologiczne"* – Ustroń-Jaszowiec

11.2007 **Nagroda konferencyjna *CPDD/NIDA*** – refundacja kosztów uczestnictwa w konferencji *NIDA 2007 Mini-Convention "Frontiers in Addiction Research"* – San Diego, USA

03.2007 **Stypendium konferencyjne *ECNP*** – refundacja kosztów uczestnictwa w warsztatach *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe* – Nicea, Francja

12.2006 **Stypendium konferencyjne Europejskiego Funduszu Społecznego** („Dofinansowanie stypendiów najlepszych absolwentów kontynuujących naukę na studiach doktoranckich w IF PAN"), *Second Dual Congress on "Psychiatry and the Neurosciences"* – Ateny, Grecja

03.2006 **Stypendium konferencyjne *ECNP*** – refundacja kosztów uczestnictwa w warsztatach *ECNP Workshop on Neuropsychopharmacology for Young Scientists in Europe* – Nicea, Francja

03 – 06.2003 **Stypendium programu ERASMUS /SOCRATES** na projekt badawczy na Uniwersytecie Lund – Lund, Szwecja

……..……..…….
(podpis wnioskodawcy)