

ANNA GUGUŁA, GRZEGORZ HESS

*Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków  
E-mail: anna.czerw@doctoral.uj.edu.pl  
grzegorz.hess@uj.edu.pl*

## JAK TRUDNE WARUNKI DORASTANIA WPLYWAJĄ NA FUNKCJONOWANIE OŚRODKÓW MÓZGOWIA KONTROLUJĄCYCH MOTYWACJĘ

### WSTĘP

Jakość opieki matczynej we wczesnym okresie postnatalnym ma szczególne, a pod wieloma względami, zasadnicze znaczenie dla dalszych losów potomstwa. Na tym etapie życia większość ssaków, w tym ludzie i gryzonie, jest bezbronna, a ich organizm, w tym układ nerwowy, podlega intensywnemu rozwojowi. Dlatego skutki wszelkiego rodzaju zaniedbań, nadużyć oraz traumatycznych doświadczeń w dzieciństwie (ang. early life stress, ELS) mogą być bardzo poważne. Problem ten dotyczy zarówno wczesnego, jak i późniejszego dzieciństwa oraz dojrzewania, jednak w przypadku ludzi okresem największej wrażliwości są pierwsze trzy lata życia, podczas których następuje dynamiczny rozwój wielu ośrodków mózgowia, w tym odpowiedzialnych za język, emocje, myślenie abstrakcyjne czy motywację (CHILD WELFARE INFORMATION GATEWAY 2015).

Trudne warunki dorastania wiążą się ze stresem zaburzającym aktywność i prawidłowy rozwój ściśle z nim związanej osi podwzgórze – przysadka – nadnercza (osi PPN), prowadząc do zmian w uwalnianiu hormonów glukokortykoidowych: kortyzolu lub kortykosteronu, które są dominującymi glukokortykoidami odpowiednio u ludzi i gryzoni (LEVINE 2000, RODRIGUES i współaut. 2011). Warto zaznaczyć, iż na pierwsze dwa tygodnie życia postnatalnego gryzoni przypada tak zwany „okres obniżonej odpowiedzi stresowej” (ang. stress hyporesponsive pe-

riod, SHRP), charakteryzujący się niską lub nawet całkowicie zniesioną aktywnością osi PPN, co przeciwdziała szkodliwym dla rozwoju mózgu wahaniom poziomu glukokortykoidów (LEVINE 2001). Okres ten jest zależny od opieki matki nad potomstwem, a jego dokładny czas występowania zależy od gatunku. Według danych literaturowych, analogiczny okres można wyróżnić także u ludzi podczas pierwszego roku życia (GUNNAR i DONZELLA 2002). Wywołane przez ELS zmiany w poziomie glukokortykoidów w organizmie mogą zatem skutkować nie tylko nieprawidłowościami w działaniu samej osi PPN (np. nadwrażliwością na działanie stresorów), ale także zaburzeniami rozwoju psychofizjologicznego i tym samym, wywierać znaczący, negatywny wpływ na działanie wielu struktur układu nerwowego w dorosłym życiu.

Konsekwencją stresu wywołanego trudnymi warunkami dorastania bardzo często są zaburzenia psychiczne, emocjonalne, społeczne oraz związane z odżywianiem, a także wzmożona podatność na uzależnienia od substancji psychoaktywnych, alkoholu czy upośledzenie procesów związanych z motywacją oraz pamięcią i uczeniem się, występujące w dorosłym życiu (HEIM i NEMEROFF 2001, SOMINSKY i SPENCER 2014, CHILD WELFARE INFORMATION GATEWAY 2015, DELAVARI 2016). Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO), dotyczących reprezentatywnej próby pochodzącej z wielu różnych krajów na całym świecie, ELS odpowiada za blisko 30%

przypadków tego typu zaburzeń (KESSLER i współaut. 2010). Ponadto, badania przeprowadzone na pacjentach poddających się leczeniu uzależnienia od alkoholu i narkotyków wykazały, że aż 84% uzależnionych, doświadczyło w dzieciństwie zaniedbań lub przemocy ze strony rodziców (COHEN i DENSEN-GERBER 1982).

W świetle tych faktów istotne jest dogłębne poznanie neurobiologicznego podłoża zmian powodowanych przez ELS. Tematyka ta była i nadal jest podejmowana przez wielu badaczy, owocując wciąż pogłębiającą się wiedzą dotyczącą neuronalnych korelatów zaniedbań w okresie rozwoju. Wśród dostępnych danych, szczególną uwagę należy zwrócić na wyniki badań mezo-kortykolimbicznego szlaku dopaminergicznego. Jest on niezwykle ważny w procesach związanych z motywacją, pamięcią i uczeniem się, emocjami oraz genezą uzależnień (TRUTTI i współaut. 2019). Wydaje się więc być zaangażowany w wiele, spośród wymienionych wyżej, zaburzeń będących skutkiem ELS, co wskazuje na udział tego szlaku w ich patofizjologii.

W niniejszym artykule podsumowane zostaną najnowsze wyniki badań dowodzące, iż ELS zaburza rozwój i funkcjonowanie szlaku mezo-kortykolimbicznego w dorosłym życiu, zarówno u ludzi, jak i gryzoni w modelach ELS (RODRIGUES i współaut. 2011, STRATHEARN 2011). W pierwszej kolejności należy jednak zarysować najczęściej stosowaną metodologię badań nad wpływem ELS na mózg oraz przyjrzeć się bliżej strukturze i funkcjonowaniu tego szlaku.

## JAK BADAĆ WPŁYW ELS NA MÓZG?

Badanie skutków ELS u ludzi, szczególnie pod kątem podłoża neuronalnego obserwowanych zmian, jest z oczywistych względów ograniczone do technik nieinwazyjnych. W badaniach klinicznych stosowane są metody takie jak: obrazowanie mózgu przy pomocy rezonansu magnetycznego (ang. magnetic resonance imaging, MRI), także w wariacie funkcjonalnym (ang. functional magnetic resonance imaging, fMRI), czy pozytronowa tomografia emisyjna (ang. positron-emission tomography, PET) (RODRIGUES i współaut. 2011, STRATHEARN 2011). Dane zebrane w ten sposób są szczególnie cenne, lecz muszą być uzupełniane doświadczeniami z udziałem zwierząt laboratoryjnych.

Historycznie, badania nad ELS z wykorzystaniem modeli zwierzęcych sięgają lat 50. XX w., kiedy to miały miejsce słynne eksperymenty Harlowa i jego współpracowników, z udziałem rebusów (makaków królewskich, *Macaca mulatta*) „wychowywanych” przez szmaciane lub druciane matki zastę-

cze, co wywierało znaczący wpływ na rozwój psychospołeczny dorastających małąp (VAN DER HORST i VAN DER VEER 2008). Choć badania te modelowały raczej warunki osierożenia i odosobnienia, niż ogólnie pojęte traumatyczne doświadczenia w dzieciństwie, rzuciły one światło na rolę opieki matczynej w prawidłowym rozwoju.

Ze względu na wysoką złożoność relacji pomiędzy matką a potomstwem oraz fakt, iż rebus jest gatunkiem społecznym, pod wieloma względami bardzo zbliżonym do człowieka, mały te w dalszym ciągu stanowią model w badaniach nad wpływem ELS na rozwój (SANCHEZ 2006). Wykorzystuje się w nich także inne gatunki naczelnych, w tym makaki czepkowe (*Macaca radiata*) czy sajmiri wiewiórcze (*Saimiri sciureus*). Przede wszystkim jednak są to badania behawioralne, którym towarzyszy analiza stężenia hormonów związanych z aktywnością osi PPN we krwi lub płynie mózgowo-rdzeniowym (SANCHEZ 2006, LYONS i współaut. 2010). Jeśli dotyczą problemu neuronalnych korelatów ELS, to w sposób nieinwazyjny, z wykorzystaniem technik obrazowania mózgu, takich jak MRI (LYONS i współaut. 2010, MURTHY i GOULD 2018).

Znacznie częściej wykonuje się badania z udziałem gryzoni, przede wszystkim szczurów (*Rattus norvegicus*) i myszy (*Mus musculus*), używanych powszechnie w neurobiologii i stanowiących dobre organizmy modelowe, także w przypadku badań mechanizmów efektów ELS (MURTHY i GOULD 2018). Niewątpliwą zaletą takiego podejścia jest możliwość eksploracji podłoża zaistniałych zmian nawet na poziomie pojedynczych neuronów. Od rozpoczęcia badań nad skutkami ELS z wykorzystaniem gryzoni, zapoczątkowanych przez Levine'a i współpracowników pod koniec lat 50. minionego wieku, do dziś, rozwinął się szereg różnych modeli eksperymentalnych (SCHMIDT i współaut. 2010, MALINOVSKAYA i współaut. 2018, MURTHY i GOULD 2018). Najbardziej ogólnie można je podzielić ze względu na okres w rozwoju, w którym następuje manipulacja. Pierwsza grupa to modele wykorzystujące stres w okresie prenatalnym - ciężarnej samicy podawane są różnego rodzaju substancje, które wpływają na rozwój płodu, w tym alkohol, narkotyki oraz wywołujący reakcję ze strony układu immunologicznego lipopolisacharyd, lub jest ona poddawana procedurom indukującym stres. Druga, obejmuje manipulacje we wczesnym okresie postnatalnym (czyli: neonatalnym), od urodzenia do odstawienia młodych od matki. Istnieją też procedury modelujące wystąpienie stresu w okresie młodzieńczym, w przypadku których interwencje mają miejsce po odłączeniu mło-

dych od matki, ale przed osiągnięciem przez nie dorosłości (MALINOVSKAYA i współaut. 2018).

Do najczęściej stosowanych w badaniu ELS należą modele wykorzystujące manipulacje w okresie neonatalnym, a wśród nich można wyróżnić wczesną deprivację (ang. early deprivation, ED) oraz separację od matki (ang. maternal separation, MS). ED polega na odizolowaniu osesków od matki i rodzeństwa, przez przeniesienie ich do indywidualnych pojemników, podczas gdy samica pozostaje w gnieździe. W przypadku MS, to matka zabierana jest z gniazda i umieszczana w osobnej klatce. W tym czasie młode najczęściej przebywają w gnieździe (ZIMMERBERG i SAGESER 2011). MS jest częściej stosowana i uznawana za nieco mniej dotkliwy model (MURTHY i GOULD 2018, MALINOVSKAYA i współaut. 2018). Inną, niedawno opracowaną metodą upośledzenia opieki matczynej u gryzoni jest model ograniczonego dostępu do ściółki i/lub materiału gniazdowego (ang. limited bedding/nesting model, LB-LN). Wszystkie opisane podejścia charakteryzuje reakcja stresowa, zarówno po stronie młodych, jak i matki. W przypadku każdego z nich doniesienia literaturowe wskazują na zdolność do wywołania efektów ELS w dorosłym życiu, podobnych do tych obserwowanych u ludzi, jednak ich skuteczność i dokładna specyfika następstw jest zależna od wielu czynników różnicujących te modele i ich warianty (MURTHY i GOULD 2018).

Przede wszystkim, co udowodniono także w przypadku ludzi cierpiących na zaburzenia lękowe i depresyjne, ogromne znaczenie ma podłoże genetyczne, a więc wykorzystany w danym badaniu gatunek i szczep zwierząt, które mogą znacząco różnić się podatnością na stres. Przykładowo, do najbardziej odpornych na stres należą myszy C57Bl/6, co czyni je mało trafnym kandydatem do badań nad ELS, w przeciwieństwie do podatnych na działanie stresu myszy Balb/c. Po drugie, zapadalność na różnego typu zaburzenia psychiczne, emocjonalne czy odżywiania, jest u ludzi zróżnicowana pod względem płci. Nic więc dziwnego, że jest ona istotna także u zwierząt w procedurach modelujących stres (MURTHY i GOULD 2018). Ponadto, bardzo ważnym czynnikiem jest moment wystąpienia i czas trwania stresora, którym w przypadku MS jest nieobecność matki w gnieździe. Stosowane są warianty MS, w których oseski pozostają same w gnieździe przez 1-6 lub nawet 8 godzin dziennie (typowym wyborem są 3 godziny), najczęściej w ciągu pierwszych dwóch tygodni życia (pomiędzy PND 1-14, ang. postnatal days, co pokrywa się z czasem trwania okresu SHRP), kilkakrotnie lub każdego dnia. Niektórzy badacze,

jako odmianę procedury MS, wykorzystują 24-godzinny epizod nieobecności samicy (SCHMIDT i współaut. 2010, MALINOVSKAYA i współaut. 2018).

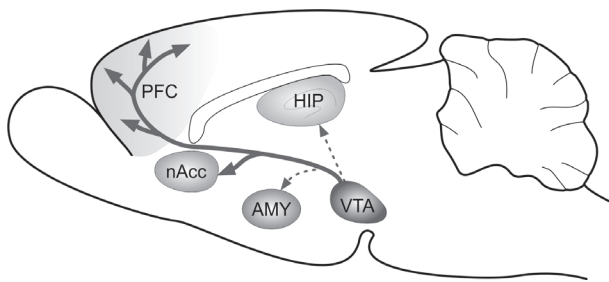
Badania, mające na celu odnalezienie neuronalnych korelatów ELS, przeprowadzane są najczęściej po osiągnięciu dorosłości przez zwierzęta modelowe, nierzadko jednak dotyczą one zwierząt młodocianych lub biorą pod uwagę wybrane stadia dalszego rozwoju (MALINOVSKAYA i współaut. 2018). Oprócz samych korelatów ELS, bada się także jego wpływ na podatność na stres w późniejszym życiu, pod kątem funkcjonowania wybranych struktur mózgu (MURTHY i GOULD 2018).

Obok metod, które znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, jak analiza stężenia hormonów we krwi i techniki stosowane do wykrywania określonych białek, wśród których wymienić można Western blotting czy ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay, test immunoenzymatyczny), oraz różnorodne metody barwienia tkanek, w doświadczeniach prowadzonych na gryzoniach badacze dysponują szerokim wachlarzem metod neurobiologicznych. Umożliwiają one badania funkcjonowania mózgu *in vivo* (np. rejestrację neuronalnej aktywności elektrofizjologicznej przy pomocy macierzy wieloelektrodowych czy manipulacje optogenetyczne u zwierząt poddanych znieczuleniu ogólnemu lub podczas wykonywania różnego rodzaju testów behawioralnych), a także na izolowanych skrawkach mózgu *ex vivo*, jak np. whole-cell patch-clamp, umożliwiający rejestrację aktywności pojedynczych neuronów lub MEA (ang. multi-electrode array), dzięki której można zarejestrować zewnątrzkomórkową aktywność elektrofizjologiczną wielu neuronów jednocześnie. Metody neurobiologiczne obejmują także różnorodne techniki obrazowania tkanki mózgowej i analizę otrzymanych obrazów mikroskopowych, przy czym często poprzedzają je manipulacje genetyczne u zwierząt, znakowanie połączeń neuronalnych lub barwienia, w tym immunohistochemiczne (wykorzystujące przeciwciała do znakowania konkretnych białek w tkance) (CARTER i SHIEH 2015). Daje to możliwość zbadania wpływu danego czynnika, np. ELS, nie tylko na funkcjonowanie struktury lub pojedynczych komórek, ale też na ich morfologię, liczebność i skład neurochemiczny. Morfologia neuronów jest ściśle związana z ich funkcjonowaniem i zmienia się pod wpływem różnych czynników, w tym stresu. W eksperymentach neurobiologicznych często bada się aspekty takie jak struktura drzewka dendrytycznego neuronu i gęstość kolców dendrytycznych, stanowiących część postsynaptyczną większości synaps pobudzających w mózgu (a więc miej-

sce występowania receptorów dla głównego pobudzającego neuroprzekaźnika, glutamianu), bezpośrednio związaną z siłą synaptyczną komórki (SEGAL 2005, MCEWEN i MORRISON 2013). Dzięki możliwości połączenia wielu różnych technik otrzymać można dużo pełniejszy obraz badanego zagadnienia, np. wpływu ELS na wybrane struktury mózgowia.

### BRZUSZNE POLE NAKRYWKI I SZLAK MEZOKORTYKOLIMBICZNY W KONTROLI MOTYWACJI

Dopaminergiczny szlak mezokortykolimbiczny (Ryc. 1) ma swój początek w polu brzusznej nakrywki (ang. ventral tegmental area, VTA), położonym w śródmózgowiu i obejmującym grupę komórek dopaminergicznych A10. VTA jest strukturą pod wieloma względami heterogenną. Podczas gdy średnio około 65% jej populacji stanowią neurony dopaminergiczne, około 30% produkuje kwas gamma-aminomasłowy (ang. gamma-aminobutyric acid, GABA), główny neuroprzekaźnik hamujący w układzie nerwowym, a około 5% glutamian (TRUTTI i współaut. 2019). Co ciekawe, niektóre komórki wykazują koekspresję różnych neurotransmiterów, np. oprócz dopaminy, wydzielają także glutamian. Komórki VTA charakteryzuje także odmienny profil ekspresji rozmaitych peptydów, białek i receptorów (MORALES i MARGOLIS 2017). Ponadto, neurony te wykazują zróżnicowaną budowę w zależności od miejsca położenia w VTA (PHILLIPSON 1979). Róż-



Ryc. 1. Schemat przedstawiający dopaminergiczny szlak mezokortykolimbiczny i związane z nim struktury, na przykładzie mózgu szczura (przekrój strzałkowy). Ciemnoszara linia ciąga reprezentuje dopaminergiczne połączenia wychodzące z VTA, stanowiące szlak mezokortykolimbiczny, linią przerywaną zaznaczono powiązane z nim połączenia ze strukturami układu limbicznego. Skróty: AMY – ang. amygdala, ciało migdałowe; HIP – ang. hippocampus, hipokamp; nAcc – ang. nucleus accumbens, jądro półleżące; PFC – ang. prefrontal cortex, kora przedczołowa; VTA – ang. ventral tegmental area, pole brzuszne nakrywki

nią się też między sobą aktywnością elektrofizjologiczną (MORALES i MARGOLIS 2017, TRUTTI i współaut. 2019).

Aktywność ta jest jednym z czynników, na podstawie których w eksperymentach elektrofizjologicznych można odróżnić neurony dopaminergiczne VTA od niedopaminergicznych (głównie GABAergicznych); pierwsze z nich charakteryzują m.in. potencjały czynnościowe o dużo dłuższym czasie trwania (zakresy wartości cechujących oba rodzaje komórek w przypadku tego parametru nie pokrywają się) (CHIENG i współaut. 2011, MORALES i MARGOLIS 2017). Innym, bardzo powszechnym sposobem rozróżnienia neuronów dopaminergicznych jest przeprowadzenie immunohistochemicznego barwienia tkanki z wykorzystaniem przeciwciał rozpoznających hydroksylazę tyrozynową (ang. tyrosine hydroxylase, TH), enzym znajdujący się w komórkach biorących udział w syntezie dopaminy. Warto jednak zaznaczyć, że poziom TH w niektórych komórkach dopaminergicznych może być z różnych przyczyn zbyt niski, aby możliwa była jego detekcja przy pomocy tego rodzaju barwienia (MORALES i MARGOLIS 2017). Na poziom ten wpływa między innymi stres (RODRIGUES i współaut. 2011). Opisane powyżej sposoby identyfikacji neuronów dopaminergicznych na podstawie właściwości elektrofizjologicznych oraz barwień, pomimo wysokiej wiarygodności, świadczą o charakterze tych komórek jedynie w sposób pośredni, dlatego w literaturze często określane są jako „domniemane komórki dopaminergiczne” (ang. putative dopamine neurons) (MORALES i MARGOLIS 2017).

Główne połączenia wychodzące z VTA tworzą aksony komórek dopaminergicznych, stanowiące szlak mezokortykolimbiczny, który podzielić można na część mezolimbiczną i mezokortykalaną (Ryc. 1). Pierwsza z nich obejmuje połączenia z układem limbicznym, przede wszystkim ze średnimi neuronami kolczystymi (ang. medium spiny neurons, komórki GABAergiczne, bogate w kolce dendrytyczne) jądra półleżącego (ang. nucleus accumbens, nAcc), położonego w brzusznej części prążkowiec (ang. ventral striatum) (MORALES i MARGOLIS 2017, TRUTTI i współaut. 2019). Obok nich, często wymienia się też neurony ciała migdałowego (ang. amygdala). Druga część unerwia korę przedczołową (ang. prefrontal cortex, PFC) (BJORKLUND i DUNNET 2007, TRUTTI i współaut. 2019). Połączenia z tymi obszarami mają kluczowe znaczenie w regulacji procesów motywacyjnych, a ich rola kojarzona jest z odczuwaniem przyjemności (ale też uzależnieniami), przetwarzaniem emocji (także zachowań lękowych) oraz informacji poznawczych. Wśród innych struktur otrzymujących unerwie-

nie dopaminergiczne z VTA wymienić można m.in. hipokamp czy niektóre jądra pnia mózgu. Należy zaznaczyć, że część z tych struktur (w tym nAcc) unerwiana jest także przez niedopaminergiczne komórki VTA. Ponadto, z nAcc, PFC, wielu jąder pnia mózgu oraz innych obszarów, takich jak zaangażowane w kontrolę wzbudzenia organizmu i odżywiania boczne podwzgórze, biegną także połączenia zwrotne do VTA, również nie pozostające bez znaczenia dla procesów kontroli motywacji (MORALES i MARGOLIS 2017).

Warto dodać, że wzór i charakter aktywności neuronów dopaminergicznych VTA związany jest z odmiennymi aspektami motywacji. Od dawna wiadomo, że dla komórek tych charakterystyczne są dwa wzorce aktywności. „Toniczny” związany jest z podstawowym, w miarę stabilnym poziomem uwalniania dopaminy w obrębie struktur docelowych. Wzorzec „fazowy” polega na nagłym, gwałtownym wzroście lub spadku aktywności neuronów dopaminergicznych, skutkującym znacznymi zmianami w poziomie wydzielanej dopaminy, do czego dochodzi w odpowiedzi na różnego rodzaju bodźce (zmysłowe oraz związane z nagrodą), co implikuje ich rolę w procesach motywacyjnych. Dopamina jest silnym modulatorem plastyczności synaptycznej, stanowiącej podłoże uczenia się. Starsze teorie wiążą aktywność fazową przede wszystkim z promowaniem i wzmacnianiem zachowań nagradzających, przynoszących korzyści. Wiele badań dowodzi, że stymulacja wydzielania dopaminy, także ta wywołana działaniem narkotyków, rzeczywiście ma charakter wzmacniający, a większość neuronów dopaminergicznych reaguje fazowym wzrostem aktywności na wystąpienie nieoczekiwanych bodźców nagradzających (np. jedzenia), podczas gdy bodźce awersyjne oddziałują na nie w sposób hamujący. Przez zmiany w aktywności, związane ze wzrostem lub spadkiem wydzielania dopaminy, neurony te wykazują zdolność do kodowania preferencji (np. nagród większych, bardziej prawdopodobnych, czy mniej odległych w czasie). Jednak, co bardzo ciekawe, także bodźce niezwiązane z nagrodą, w tym awersyjne, i nieoczekiwane sygnały ostrzegawcze (wzrokowe lub słuchowe), powodują fazowy wzrost aktywności części komórek dopaminergicznych w VTA. Najnowsze teorie proponują podział tych neuronów na odrębne populacje kodujące dwa różne aspekty motywacji: komórki pobudzane przez korzystne, nagradzające zdarzenia i hamowane przez zdarzenia awersyjne kodują według nich wartość motywacyjną (pozytywną lub negatywną), natomiast neurony odpowiadające pobudzeniem na oba rodzaje bodźców - istotność motywacyjną. Jedne i

drugie reagują przy tym na wspomniane sygnały ostrzegawcze, które potencjalnie mogą mieć duże znaczenie (BROMBERG-MARTIN i współaut. 2010).

W świetle tych doniesień nie jest zaskakujące, iż neurony dopaminergiczne VTA, tworzące szlak mezokortykolimbiczny, są wrażliwe na stres, zarówno ostry, jak i chroniczny. Chociaż w zależności od specyfiki stresorów (np. rodzaju i czasu trwania), ich dokładne efekty mogą być różne, mogą one zakłócać działanie tego szlaku, przyczyniając się tym samym do rozwinięcia się zaburzeń psychofizjologicznych, takich jak depresja czy uzależnienia (HOLLY i MICZEK 2016).

### WPLYW ELS NA SZLAK MEZOKORTYKOLIMBICZNY

Szczególne znaczenie w patofizjologii zaburzeń związanych z nieprawidłowościami w funkcjonowaniu dopaminergicznego układu mezokortykolimbicznego może mieć działanie stresu i związanego z nim podwyższonego poziomu hormonów glukokortykoidowych w okresie rozwoju organizmu, a przede wszystkim na jego wczesnych etapach. Wykazano, że stres może mieć wpływ na liczne aspekty dotyczące funkcji komórek dopaminergicznych: (i) od regulacji ich losów podczas rozwoju szlaków dopaminergicznych, przez oddziaływanie na procesy proliferacji (namnażania się) i apoptozy (programowanej śmierci komórek), odgrywające ważną rolę w rozwoju układu nerwowego, (ii) przez wpływ na metabolizm dopaminy (np. enzymy odpowiedzialne za jej produkcję i degradację), (iii) czy morfologię i funkcjonowanie neuronów, (iv) aż po modyfikację w ekspresji receptorów dla dopaminy i transmisji synaptycznej (RODRIGUES i współaut. 2011).

Uznaje się, że rozwój szlaków dopaminergicznych, w tym mezokortykolimbicznego, ulega zakończeniu w ciągu pierwszych kilku tygodni życia, zarówno u gryzoni, jak i ludzi, z wyjątkiem związanej z nim PFC, która podlega rozwojowi aż do wczesnej dorosłości. W przypadku szczurów rozwój ten podzielony jest na dwa etapy, obejmujące ostatnie tygodnie życia embrionalnego oraz cztery pierwsze tygodnie życia postnatalnego (BURKE 2003, RODRIGUES i współaut. 2011). Szlak mezokortykolimbiczny jest więc wtedy szczególnie wrażliwy na działanie różnych czynników, w tym stresu. Ingerencje mające miejsce w tym czasie, np. typowy wariant procedury MS w okresie PND 1-14, mogą mieć zatem potencjalnie duży wpływ na ten proces i tym samym dobrze modelować działanie ELS.

Chociaż związek ELS ze spotęgowaną skłonnością do uzależnień i zwiększoną za-

padalnością na szereg zaburzeń, których geneza jest ściśle związana z działaniem układu mezo-kortykolimbicznego (np. depresja, ADHD, a nawet schizofrenia), jest szeroko udokumentowany, danych z badań dotyczących wpływu ELS na funkcjonowanie tego szlaku u ludzi jest niewiele (RODRIGUES i współaut. 2011, STRATHEARN 2011). W literaturze najczęściej przytaczane są wyniki dwóch takich badań. W pierwszym, wykorzystującym PET, wykazano, że niska ocena jakości opieki rodzicielskiej w dzieciństwie jest skorelowana z podwyższonym poziomem kortyzolu i wydzielania dopaminy w brzuszonym prążkowi. Według drugiego, opartego na fMRI, ELS jest związany z pogorszeniem odpowiedzi funkcjonalnej mózgu na bodźce nagradzające. Udowodniono również, że ELS może wpływać na metabolizm dopaminy u ludzi (RODRIGUES i współaut. 2011).

W przeciwieństwie do badań na ludziach, istnieje wiele doniesień na temat charakteru oddziaływań ELS na rozwój i funkcjonowanie VTA i szlaku dopaminergicznego u zwierząt. Część z nich dotyczy wpływu działania stresu doświadczonego w okresie prenatalnym. Przykładowo, podania glukokortykoidów ciężarnym samicom szczurów zaburzają procesy apoptozy i proliferacji komórek dopaminergicznym VTA u potomstwa i skutkuje spadkiem unerwienia dopaminergicznego nAcc w późniejszym życiu. Towaryszą mu także zmiany w gęstości i morfologii kolców dendrytycznych, co może się wiązać ze zmianami w transmisji synaptycznej. Ponadto, potomstwo stresowanych samic wykazuje podwyższony bazowy poziom dopaminy w nAcc i jego większy wzrost pod wpływem amfetaminy lub kokainy (RODRIGUES i współaut. 2011).

Z kolei długotrwała MS i dorastanie w izolacji społecznej zaburza u szczurów aktywność białek związanych z transportem dopaminy w komórce, a także jej uwalnianie pod wpływem ostrego stresu w dorosłości. Dodatkowo, obserwuje się u nich zwiększoną wrażliwość na psychostymulanty, w tym kokainę (STRATHEARN 2011). Do innych opisanych skutków MS należy wzrost uwalniania dopaminy w nAcc pod wpływem podania amfetaminy, zwiększenie spożycie etanolu i kokainy oraz zmiany w występowaniu poszczególnych typów receptorów dopaminergicznym w nAcc (RODRIGUES i współaut. 2011). Udowodniono ponadto, iż MS powoduje podobne zaburzenia dotyczące receptorów dopaminergicznym w PFC, a także wzrost poziomu TH oraz modyfikacje w morfologii neuronów w PFC i nAcc (ROMANO-LOPEZ i współaut. 2016).

W serii eksperymentów opartych na procedurze MS (PND 1-14) zbadano jej wpływ

na dojrzewanie szlaku mezo-kortykolimbicznego u samców i samic szczurów. Testy wykonano w trzech punktach czasowych w rozwoju zwierząt: we wczesnym okresie postnatalnym, zaraz po zakończeniu procedury MS, u zwierząt młodocianym oraz dorosłym. Podczas rozwoju zaobserwowano wahania w liczebności neuronów VTA wykazujących ekspresję TH, spowodowane prawdopodobnie zmianami w poziomie i wykrywalności tego enzymu pod wpływem stresu, zróżnicowane w zależności od płci i wieku (CHOCYK i współaut. 2011a). MS skutkowała także zaburzeniami w populacji komórek glejowych (astrocytów i mikrogleju), odgrywających ważną rolę w rozwoju i regulujących przeżywalność komórek dopaminergicznym VTA (CHOCYK i współaut. 2011b). Odkryto ponadto jej wpływ na białka adhezyjne, również zaangażowane w ochronne działanie komórek glejowych w VTA i mające związek z transmisją synaptyczną. Zmiany w ich ekspresji były różne w zależności nie tylko od płci, ale też badanej struktury związanej ze szlakiem mezo-kortykolimbicznym (VTA, nAcc i PFC) (CHOCYK i współaut. 2010).

Poza tym, w innych badaniach z wykorzystaniem gryzoni, podjęto próbę wyjaśnienia znaczenia różnic indywidualnych w podatności na uzależnienia. Co ciekawe, zaobserwowano, że skłonność do przyjmowania narkotyków może być przewidziana na podstawie odpowiedzi na stres neuronów dopaminergicznym szlaku mezo-kortykolimbicznego. Zwierzęta charakteryzujące się większą wrażliwością tych komórek na stres były bardziej podatne na uzależnienia (RODRIGUES i współaut. 2011).

Przykłady te dotyczą głównie dopaminergicznym komórek VTA i ich połączeń z nAcc i PFC, jednak w literaturze można także odnaleźć dane dokumentujące wpływ ELS na inne struktury powiązane ze szlakiem mezo-kortykolimbicznym, jak ciało migdałowate czy hipokamp.

## PODSUMOWANIE

Z powyższych danych wynika, że ELS może oddziaływać na układ mezo-kortykolimbiczny na wielu poziomach, zmieniając jego strukturę i funkcjonowanie oraz zwiększając wrażliwość w rozwoju i dorosłym życiu, co zaburza prawidłowe neuronalne mechanizmy leżące u podstaw szeroko pojętych procesów motywacyjnych. ELS wydaje się mieć znaczący wpływ na rozwój zaburzeń psychicznych i zachowań związanych z uzależnieniami, co widać zarówno na przykładzie ludzi, jak i zwierząt poddanych procedurom modelowym (RODRIGUES i współaut. 2011). Choć większość przytoczonych eksperymentów

przeprowadzono na modelach zwierzęcych, ich wyniki wydają się dobrze uzupełniać dane z badań klinicznych, także doniesień dotyczących nie tyle układu dopaminergicznego, co samych skutków ELS u ludzi (HEIM i NEMEROFF 2001, SOMINSKY i SPENCER 2014, DELAVARI 2016). Szlaki neuronalne odpowiedzialne za obserwowane zmiany wykazują ponadto wysoką wrażliwość na działanie stresu i hormonów glukokortykoidowych (RODRIGUES i współaut. 2011).

Stopniowo dowiadujemy się coraz więcej na temat neurobiologicznego podłoża zaburzeń związanych z dopaminergicznym szlakiem meзокortykolimbicznym, obserwowanych u osób, które doświadczyły ELS i zmierzamy w kierunku opracowania nowszych i skuteczniejszych metod terapii. Jednak bardzo wiele aspektów tego zagadnienia w dalszym ciągu wymaga nowych badań, na przykład dotyczących określenia dokładnych mechanizmów wpływu ELS na konkretne populacje neuronów VTA (zebrane do tej pory dane nie biorą pod uwagę heterogenności w budowie i funkcjonowaniu tej struktury), czy też potencjalnym różnicom międzypłciowym.

#### Streszczenie

Stres związany z traumatycznymi doświadczeniami oraz zaniedbaniem w okresie wczesnego dzieciństwa (ang. early life stress, ELS) zaburza rozwój i funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, skutkując podwyższonym poziomem glukokortykoidów i zwiększoną wrażliwością na stres. Efektem ELS są zmiany strukturalne i funkcjonalne w wielu obszarach ośrodkowego układu nerwowego, przyczyniające się do rozwoju zaburzeń psychicznych, w tym depresji, oraz zwiększenia podatności na uzależnienia. Podłoże wymienionych zaburzeń związane jest w dużej mierze z dopaminergicznym szlakiem meзокortykolimbicznym, mającym swój początek w brzuszonym polu nakrywki i odgrywającym ważną rolę w kontroli procesów motywacyjnych. Niniejszy artykuł podsumowuje aktualną wiedzę na temat wpływu ELS na szlak meзокortykolimbiczny; przedstawia także metody i modele zwierzęce wykorzystywane w badaniu skutków ELS oraz zbiera podstawowe informacje dotyczące struktury i funkcjonowania szlaku meзокortykolimbicznego w kontekście procesów motywacyjnych.

#### LITERATURA

- BJORKLUND A., DUNNET S. B., 2007. *Dopamine neuron systems in the brain: an update*. Trends Neurosci. 30, 194-202.
- BROMBERG-MARTIN E. S., MATSUMOTO M., HIKOSAKA O., 2010. *Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting*. Neuron 68, 5, 815-834.
- BURKE R. E., 2003. *Postnatal developmental programmed cell death in dopamine neurons*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 991, 69-79.
- CARTER M., SHIEH J., 2015. *Guide to Research Techniques in Neuroscience. 2nd Edition*. Elsevier, London.
- CHIENG B., AZRIEL Y., MOHAMMADI S., CHRISTIE M. J., 2011. *Distinct cellular properties of identified dopaminergic and GABAergic neurons in the mouse ventral tegmental area*. J. Physiol. 589, 3775-3787.
- CHILD WELFARE INFORMATION GATEWAY, 2015. *Understanding the effects of maltreatment on brain development*. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, Children's Bureau.
- CHOCYK A., DUDYS D., PRZYBOROWSKA A., MAĆKOWIAK M., WĘDZONY K., 2010. *Impact of maternal separation on neural cell adhesion molecules expression in dopaminergic brain regions of juvenile, adolescent and adult rats*. Pharmacol. Rep. 62, 1218-1224.
- CHOCYK A., PRZYBOROWSKA A., DUDYS D., MAJCHER I., MAĆKOWIAK M., WĘDZONY K., 2011a. *The impact of maternal separation on the number of tyrosine hydroxylase-expressing midbrain neurons during different stages of ontogenesis*. Neuroscience 182, 43-61.
- CHOCYK A., DUDYS D., PRZYBOROWSKA A., MAJCHER I., MAĆKOWIAK M., WĘDZONY K., 2011b. *Maternal separation affects the number, proliferation and apoptosis of glia cells in the substantia nigra and ventral tegmental area of juvenile rats*. Neuroscience 173, 1-18.
- COHEN F. S., DENSEN-GERBER J., 1982. *A study of the relationship between child abuse and drug addiction in 178 patients*. Child Abuse. Negl. 6, 383-387.
- DELAVARI F., SHEIBANI V., ESMAEILI-MAHANI S., NAKHAEI N., 2016. *Maternal separation and the risk of drug abuse in later life*. Addict Health 8, 107-114.
- GUNNAR M. R., DONZELLA B., 2002. *Social regulation of the cortisol levels in early human development*. Psychoneuroendocrinology 27, 199-220.
- HEIM C., NEMEROFF C. B., 2001. *The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies*. Biol. Psychiatry 49, 1023-1039.
- HOLLY E. N., MICZEK K. A., 2016. *Ventral tegmental area dopamine revisited: effects of acute and repeated stress*. Psychopharmacology 233, 163-86.
- KESSLER R. C., MCLAUGHLIN K. A., GREEN J. G., GRUBER M. J., SAMPSON N. A., ZASLAVSKY A. M., AGUILAR-GAXIOLA S., ALHAMZAWI A. O., ALONSO J., ANGERMEYER M., BENJET C., BROMET E., CHATTERJI S., DE GIROLAMO G. i współaut., 2010. *Childhood adversities and adult psychopathology in the WHO World Mental Health Surveys*. Brit. J. Psychiatry 197, 378-385.
- LEVINE S., 2000. *Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis*. Eur. J. Pharmacol. 405, 149-160.
- LEVINE S., 2001. *Primary social relationships influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat*. Physiol. Behav. 73, 255-260.
- LYONS D. M., PARKER K. J., SCHATZBERG A. F., 2010. *Animal models of early life stress: implications for understanding resilience*. Devel. Psychobiol. 52, 402-410.
- MALINOVSKAYA N. A., MORGUN A. V., LOPATINA O. L., PANINA Y. A., VOLKOVA V. V., GASYMLY E. L., TARANUSHENKO T. E., SALMINA A. B., 2018. *Early life stress: consequences for the development of the brain*. Neurosci. Behav. Physiol. 48, 233-250.
- MCEWEN B. S., MORRISON J. H., 2013. *The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course*. Neuron 79, 16-29.

- MORALES M., MARGOLIS E. B., 2017. *Ventral tegmental area: cellular heterogeneity, connectivity and behaviour*. *Nat. Rev. Neurosci.* 18, 73-85.
- MURTHY S., GOULD E., 2018. *Early life stress in rodents: animal models of illness or resilience?* *Front. Behav. Neurosci.* 12, 157
- PHILLIPSON O. T., 1979. *A Golgi study of the ventral tegmental area of tsai and interfascicular nucleus in the rat*. *J. Comp. Neur.* 187, 99-116.
- RODRIGUES A., LEAO P., CARVALHO M., ALMEIDA O. F. X., SOUSA N., 2011. *Potential programming of dopaminergic circuits by early life stress*. *Psychopharmacology* 214, 107-120.
- ROMANO-LOPEZ A., MENDEZ-DIAZ M., GARCIA F. G., REGALADO-SANTIAGO C., RUIZ-CONTRERAS A. E., PROSPERO-GARCIA O., 2016. *Maternal separation and early stress cause long-lasting effects on dopaminergic and endocannabinergic systems and alters dendritic morphology in the nucleus accumbens and frontal cortex in rats*. *Wiley Periodicals, Inc. Develop. Neurobiol.* 76, 819-831.
- SANCHEZ M. M., 2006. *The impact of early adverse care on HPA axis development: nonhuman primate models*. *Horm. Behav.* 50, 623-631.
- SCHMIDT M. V., WANG X., MELJER O. C., 2010. *Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression?* *Psychopharmacology* 214, 131-140.
- SEGAL M., 2005. *Dendritic spines and long-term plasticity*. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 277-284.
- SOMINSKY L., SPENCER S. J., 2014. *Eating behavior and stress: a pathway to obesity*. *Front. Psychology* 5, 434.
- STRATHEARN L., 2011. *Maternal neglect: oxytocin, dopamine and the neurobiology of attachment*. *J. Neuroendocrinol.* 23, 1054-1065.
- TRUTTI A. C., MULDER M. J., HOMMEL B., FROSTMANN B. U., 2019. *Functional neuroanatomical review of the ventral tegmental area*. *NeuroImage* 191, 258-268
- VAN DER HORST F. C. P., VAN DER VEER R., 2008. *Loneliness in infancy: Harry Harlow, John Bowlby and issues of separation*. *Integr. Psych. Behav.* 42, 325-335.
- ZIMMERBERG B., SAGESER K. A., 2011. *Comparison of two rodent models of maternal separation on juvenile social behavior*. *Front. Psychiatry* 2, 10.

**KOSMOS Vol. 69, 1, 211-218, 2020**

ANNA GUGUŁA, GRZEGORZ HESS

*Department of Neurophysiology and Chronobiology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University in Krakow, 9 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków, E-mail: anna.czerw@doctoral.uj.edu.pl; grzegorz.hess@uj.edu.pl*

#### HOW DOES EARLY LIFE STRESS INFLUENCE THE FUNCTION OF BRAIN PATHWAYS CONTROLLING MOTIVATION

##### Summary

Early life stress (ELS) impairs the development of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in both humans and experimental animals, causing elevation in glucocorticoids' level and increased sensitivity to stress, which contributes to pathological anatomical and functional changes in many different structures of the central nervous system in adulthood. These alternations raise susceptibility to psychophysiological disorders, including addiction and depression, both linked to the dopaminergic mesocorticolimbic pathway, originating in the ventral tegmental area and playing a crucial role in motivated behaviour. The current review focuses on the impact of ELS on this circuit, especially on the potential underlying neuronal mechanisms. A wide range of methods and animal models used to study ELS, as well as basic information concerning the composition and functioning of the pathway in a motivational context are also described.

Key words: dopamine, early life stress, mesocorticolimbic pathway, motivation, ventral tegmental area