

KOFEINA I AMFETAMINY – ŁĄCZYĆ CZY NIE ŁĄCZYĆ?

Anna Górska (Kraków)

Amfetaminy, czyli D-amfetamina, metamfetamina (MET) oraz 3,4-metylenodioksymetametamina (MDMA, ekstaza), substancje psychoaktywne o silnym potencjale uzależniającym są często używane rekreacyjnie jako dopalacze. O ile jednak amfetamina (Dexadrine, Adderall) stosowana jest terapeutycznie w takich schorzeniach układu nerwowego jak ADHD lub narkolepsja, to jej dwie pochodne metylowe MDMA i MET wykazują działanie neurotoksyczne.

MET po raz pierwszy została zsyntetyzowana w 1893 roku z efedryny przez Nagayoshi Nagaia. Na szeroką skalę była stosowana przez żołnierzy w czasie II wojny światowej w celu zwiększenia koncentracji i zniesienia uczucia zmęczenia. Także w latach 50. XX w. znalazła zastosowanie w leczeniu otyłości, jednak szybko wykazano jej własności uzależniające i wycofano ją z użycia.

3,4-metylenodioksymetametamina (MDMA) potocznie znana jako *ekstazy* została po raz pierwszy

zsyntetyzowana i opatentowana w 1912 przez niemiecką formę Merck KgaA. Jednak dopiero w 1930 r. prof. Gordon Alles opisał jej wpływ na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). Zainteresowanie MDMA gwałtownie wzrosło w latach 70. XX w. wraz z pojawieniem się imprez „rave”. Użytkownicy MDMA wskazują na odmienny sposób działania *ekstazy* na samopoczucie w zależności od otoczenia w jakim się ją przyjmuje. Przyjmowana na imprezie dodaje energii, wyostrza zmysły, a rytmiczna muzyka pozwala wejść w trans. Stosowanie w spokojnym otoczeniu, w wyniku „zalania” mózgu serotoniną powoduje pojawienie się uczucia relaksu, potrzeby bliskości, zmiany percepcji, a także eliminuje uczucie lęku. Mimo to, MDMA była legalnie stosowana w psychoterapii, gdzie wykorzystywano jej pozytywny efekt na zachowanie. Stwierdzono jej skuteczność w leczeniu traumy, poprawy relacji międzyludzkich, zaburzeń lękowych, co szczególnie było korzystne

w przypadku pacjentów cierpiących na zespół stresu pourazowego (PTSD). Jednak w 1985 roku MDMA została zdelegalizowana, gdyż wykazano jej właściwości odurzające. Mimo to, do dnia dzisiejszego posiada zarówno swoich przeciwników i zwolenników wśród użytkowników, ale i terapeutów, którzy nadal prowadzą terapie z jej użyciem.

Przyjęcie MET i MDMA powoduje euforię, rozluźnia, daje wrażenie psychicznej lekkości, dodaje energii, całkowicie znosi uczucie głodu i potrzebę snu. Wielokrotne przyjęcie tych substancji prowadzi do psychoz, depresji, agresji, a także upośledzenia pamięci i wystąpienia epizodów lękowych.

Efekty stymulujące i nagradzające MET i MDMA są spowodowane aktywacją mezolimbicznych neuronów dopaminowych w polu brzusznej nakrywki (ang. *ventral tegmental area*, VTA), które mają swoje zakończenia w jądrze półleżącym przegrody (łac. *nucleus accumbens septi*, NAS). MET i MDMA wpływają na układy neuroprzekaźników: katecholaminy – dopamina (DA), noradrenalina (NA) oraz indolamina – serotonina (5-HT) powodując ich gwałtowny wyrzut oraz unieczynnienie systemów wychwytu i rozkładu. Toksyczne efekty MDMA i MET na mózg zostały udowodnione badaniami na gryzoniach i naczelnych, a na ludziach poprzez zastosowanie tomografii pozytonowej (PET). Farmakologiczny mechanizm działania amfetamin polega na gwałtownym wzroście zewnątrz- i wewnątrzkomórkowego poziomu DA, zewnątrzkomórkowego poziomu glutamianu (Glu) i wystąpieniu hipertermii, co prowadzi do powstania stresu oksydacyjnego, ekscytotoksyczności i zaburzenia funkcji mitochondriów. Toksyczne efekty wywołane nadużyciem MDMA i MET skierowane są głównie przeciwko neuronom dopaminowym i serotoninowym. U myszy pod wpływem MDMA ulegają degeneracji zakończenia neuronów DA w prądkowiu (STR) i ciała tych komórek w substancji czarnej (SN) oraz neurony 5-HT. U szczurów toksyczne działanie MDMA jest skierowane głównie w stosunku do neuronów 5-HT, ale obserwuje się też degenerację neuronów DA. Główną rolę w tworzeniu nadmiaru wolnych rodników oraz związków chinonowych, a także w wystąpieniu efektów behawioralnych, takich jak zachowania stereotypowe, pobudzenie motoryczne przypisuje się gwałtownemu wyrzutowi DA oraz zahamowaniu aktywności monoaminoooksydazy (MAO) pod wpływem obu pochodnych amfetaminy. Mimo iż MDMA jest toksyczna głównie w stosunku do neuronów 5-HT i długotrwałe przyjmowanie prowadzi do zmniejszenia puli 5-HT i jej metabolitu kwasu 5-hydroksyindolowego (5-HIAA) oraz obniżeniu aktywności hydroksylazy tryptofanowej w mózgu, to

jej toksyczne działanie na neurony 5-HT wywołane jest głównie przez produkcję wolnych rodników pochodzących z autooksydacji DA.

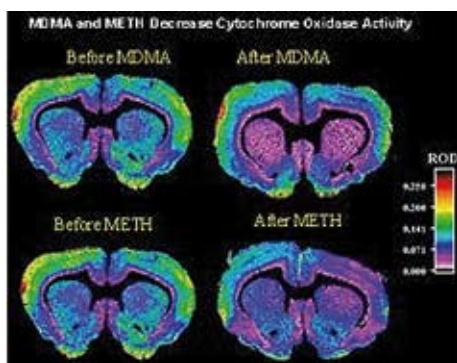
Stres oksydacyjny pod wpływem amfetamin – MET i MDMA

W wyniku przyłączenia do transportera dopaminowego (DAT) zlokalizowanego na błonie neuronalnej, amfetaminy wnikają do wnętrza neuronów dopaminowych, a następnie hamując aktywność pęcherzykowego transportera dla monoamin (VMAT2) powodują wyrzut DA z pęcherzyków do cytozolu. Myszy z obniżoną aktywnością VMAT2 do poziomu 5–10% wykazywały większą wrażliwość na toksyczne działanie MET, wyrażone spadkiem aktywności hydroksylazy tyrozynowej (TH) i DAT jako markerów neuronów dopaminowych i ich zakończeń, które prowadziły do zaostrzenia stresu oksydacyjnego oraz aktywacji astrocytów. Dodatkowo, w wyniku zaburzenia szlaku syntezy DA następuje gwałtowny wzrost produkcji jej prekursora, L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny (L-DOPA). DA jest bardzo reaktywną cząsteczką, która na drodze rozkładu enzymatycznego z udziałem monoaminoooksydazy (MAO-A) ulega przekształceniu do kwasu 3,4-dihydroksyfenylo-octowego (DOPAC) z wytworzeniem nadtlenu wodoru (H_2O_2). Zaburzenie prawidłowego metabolizmu DA przez MAO prowadzi do nadprodukcji H_2O_2 i w obecności jonów Fe^{2+} do reakcji Fentona, w wyniku której dochodzi do tworzenia rodnika hydroksylowego (OH). Powstające reaktywne formy tlenu zaburzają funkcje mitochondrialnego łańcucha oddechowego i wyciek z mitochondriów anionorodnika ponadtlenukowego. Wysokie stężenie DA w cytozolu powoduje jej gwałtowną autooksydację do silnie toksycznej dla neuronów 6-hydroksydopaminy (6-OHDA) oraz produkcji wolnych rodników i związków chinonowych.

W mechanizmie toksycznego działania MDMA stwierdzono ważną rolę DA. MDMA, podobnie jak MET, zwiększa stężenie DA w cytozolu w wyniku zahamowania aktywności MAO, co w konsekwencji prowadzi do powstania związków chinonowych i wolnych rodników. MDMA, ze względu na większe niż MET powinowactwo do transportera wychwytu zwrotnego serotoniny (SERT) wnika do neuronów serotoninowych i powoduje wyrzut 5-HT do szczeliny synaptycznej. Ponadto MDMA blokując transporter pęcherzykowy zwiększa cytozolową pulę 5-HT. Uwolnienie 5-HT stymuluje receptory 5-HT_{2A} zlokalizowane na postsynaptycznych neuronach dopaminowych powodując przyspieszenie syntezy i wyrzut DA do przestrzeni synaptycznej. Z kolei blokada DAT

przez MDMA uniemożliwia wychwyty zwrotny DA z przestrzeni synaptycznej pochodzącej z neuronów dopaminowych. Toksyczne efekty MDMA względem neuronów serotoniny są głównie spowodowane wychwytem DA przez SERT do ich wnętrza i rozkładem DA za pomocą MAO-B do metabolitów kwasowych i H_2O_2 w neuronach serotoniny. Eksperymenty z wykorzystaniem fluoksetyny – inhibitora wychwyty 5-HT oraz selegiliny – inhibitora MAO-B potwierdziły rolę prawidłowego funkcjonowania systemów wychwyty i rozkładu nadmiaru 5-HT jako konieczne do zahamowania toksycznych efektów MDMA (Ryc. 2).

MDMA i MET powodując stres oksydacyjny jako efekt nagromadzenia dużej ilości wolnych rodników i niewystarczającej efektywności systemów antyoksydacyjnych, prowadzą do zaburzenia funkcji mitochondriów i skierowania komórki na szlaki apoptozy. Stwierdzono zależny od dawki MDMA poziom komórek ulegających apoptozie w prądkowiu szczura (Ryc. 1).

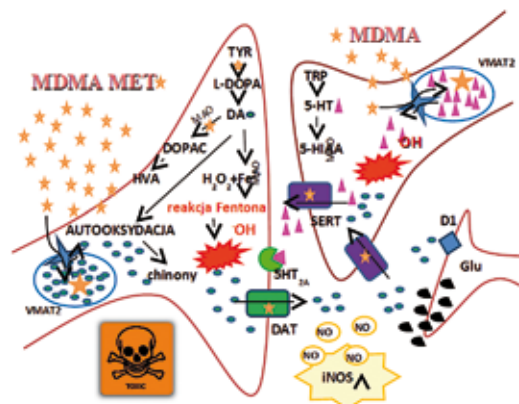


Ryc. 1. Hamowanie aktywności oksydazy cytochromowej przez MDMA i MET (B. K. Yamamoto, www.utoledo.edu).

Produkcja reaktywnych form azotu i wywołanie ekscytotoksyczności pod wpływem MET i MDMA

Wyrzut DA do przestrzeni synaptycznej aktywuje neurony glutaminianergiczne *via* receptor dopaminowy D1 powodując napływ jonów wapnia (Ca^{2+}) i tą drogą generując dodatkowe ilości wolnych rodników wewnątrz tych neuronów. Wzrost poziomu Ca^{2+} spowodowany aktywacją glicynowych receptorów NMDA przez uwolnienie Glu wpływa na zainicjowanie aktywności syntazy tlenku azotu (NOS), depolaryzację błony mitochondriów i gwałtowne obniżenie poziomu ATP w komórkach. W wyniku reakcji pomiędzy wytworzonym tlenkiem azotu (NO) a anionorodnikiem ponadtlenkowym dochodzi do produkcji nadtlenoazotynu ($ONOO^-$), który poza hamowaniem II i III kompleksu mitochondrialnego powoduje nitroylację reszt tyrozynowych. Wzrost wewnątrz-

komórkowego poziomu Ca^{2+} , produkcja wolnych rodników i rodników generowanych przez NO (RNS, ang. *reactive nitrogen species*), a także wyrzut dużych ilości Glu prowadzą do ekscytotoksyczności i inicjują wejście komórki na szlak apoptozy. W toku badań stwierdzono związek pomiędzy DA i Glu a neurotoksycznym mechanizmem działania amfetamin (Ryc. 2).



Ryc. 2. Mechanizm neurotoksycznego działania MDMA i MET na neurony dopaminowe i serotoniny w mózgu.

Neuroprotektoryjny mechanizm działania kofeiny

Kofeina (KOF) jest słabiej działającym stymulantem niż amfetaminy. Już w latach 90. XX w. określono ją jako modelowy „drug of abuse” i zwrócono uwagę na możliwość jej nadużywania i uzależnienia. Mimo to, KOF jest najpopularniejszą i najczęściej spożywaną substancją należącą do grupy metyloksantyn. KOF w wyniku pobudzenia OUN znosi uczucie zmęczenia fizycznego i psychicznego oraz usprawnia myślenie. Poprzez pobudzenie ośrodków wegetatywnych przyspiesza przemianę materii, zmniejsza napięcie mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Wysokie dawki KOF wywołują efekt depresyjny na zachowanie, zaburzają zdolności myślenia i uczenia się, a także działają anksjogenicznie i dysforycznie. Działanie KOF na organizm ludzki zależy od dawki. Niskie dawki (do 200 mg) powodują przyjemne uczucie pobudzenia, natomiast wysokie powodują niepokój, bezsenność i podniecenie.

W badaniach prowadzonych na szczurach udowodniono jej właściwości prokognitywne, a także antyoksydacyjne. Mechanizm działania KOF opiera się głównie na blokowaniu aktywności receptorów adenozynowych A_1 i A_{2A} , co powoduje wystąpienie psychostymulujących efektów. Adenozyna jest związkami endogennymi, modulującymi aktywność mózgowych układów neuroprzekaźnikowych, takich jak dopaminowy, noradrenergiczny, serotoniny, glutaminianergiczny i GABA-ergiczny. Bierze udział w regulacji snu i czuwania, pamięci i uczeniu się.

Wykazano także jej rolę w osłabianiu objawów chorób neurodegeneracyjnych (choroba Parkinsona Alzheimera, Huntingtona), depresji, epilepsji oraz zaburzeń lękowych. Uważa się, że regulacja aktywności receptorów adenyzykowych może być nową terapią leczenia wielu schorzeń układu nerwowego.

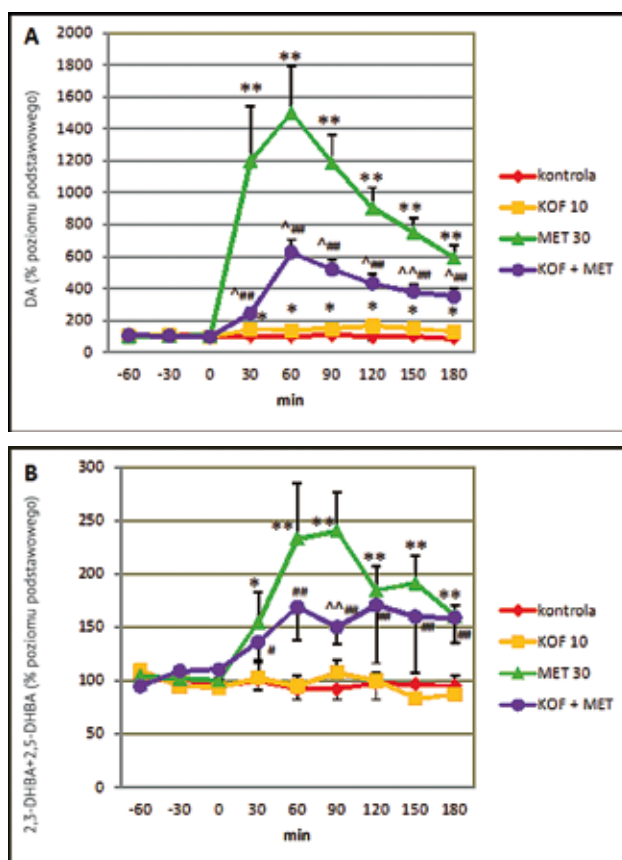
W ostatnich latach wśród użytkowników *ekstazy* wzrosła popularność stosowania jej z dodatkowym stymulantem jakim jest KOF w celu przedłużenia i zaostżenia euforyzujących efektów MDMA. Jed-



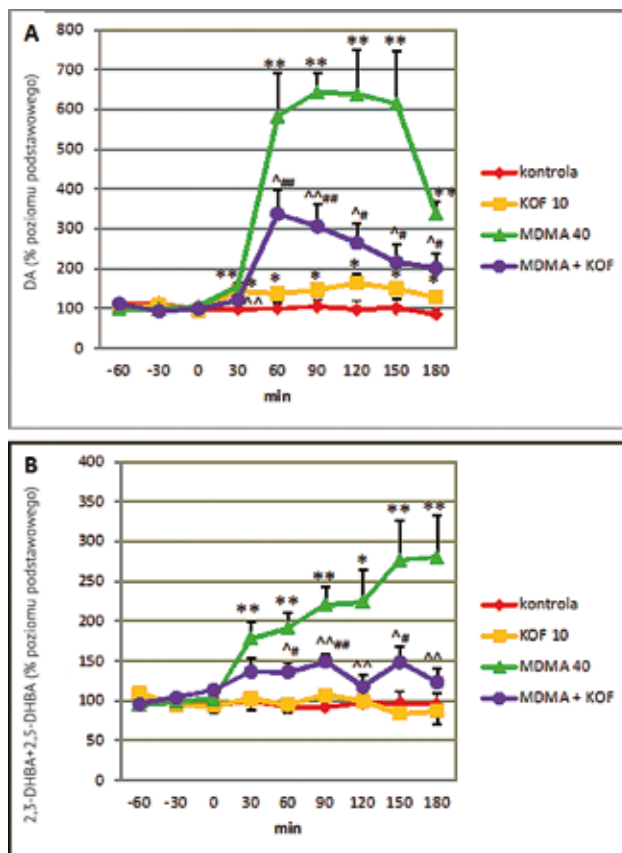
Ryc. 3. Mikrodializa prążkowiec myszy.

nakże KOF, nawet w formie „energy drinka”, który zawiera podobną ilość KOF jak filiżanka kawy (80 mg/250 ml), niebezpiecznie podnosi ciśnienie krwi i temperaturę ciała, co może prowadzić do wystąpienia drgawek, śpiączki, a nawet śmierci. Potwierdzono to badaniami na szczurach, u których wykazano wzrost temperatury ciała po przyjęciu MDMA o 1–2 °C, a w połączeniu z KOF spowodowało jej dodatkowy wzrost o 2,5 °C.

W Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie badałam efekty dwóch pochodnych amfetaminy, MDMA i MET oraz KOF na stres oksydacyjny w mózgu myszy wywołany przez te substancje. W badaniach tych mierzyłam poziom rodnika hydroksylowego, którego źródłem wydaje się być DA uwalniania w dużych ilościach z neuronów dopaminowych w prążkowiec myszy. Doświadczenia te przeprowadzono w modelu mikrodializy *in vivo*. Implantowano stereotaktycznie do prążkowiec pionową kaniulę mikrodializacyjną. Po 24 godzinach od operacji monitorowano poziom DA uwalnianej do przestrzeni synaptycznej u swobodnie poruszającej się myszy (Ryc. 3).



Ryc. 4. Wpływ MET (30 mg/kg) i KOF (10 mg/kg) na poziom DA (A) i produkcję rodnika hydroksylowego (B) w prążkowiec myszy.



Ryc. 5. Wpływ MDMA (40 mg/kg) i KOF (10 mg/kg) na poziom DA (A) i produkcję rodnika hydroksylowego (B) w prążkowiec myszy.

Stwierdzono duży wyrzut DA po dootrzewnowym podaniu MET (Ryc. 4A) i MDMA (Ryc. 5A). W tym samym czasie mierzono także poziom produkcji rodnika hydroksylowego pochodzącego z procesów autooksydacji i metabolizmu DA (Ryc. 4B i 5B).

KOF nie wpływała na poziom DA oraz produkcję rodnika hydroksylowego. Jej łączne podanie z amfetaminami obniżało poziom uwalnianej DA, a także w znaczący sposób hamowało produkcję rodnika hydroksylowego (Ryc. 4B i 5B).

Nasze badania wykazały znaczącą rolę DA w generowaniu wolnych rodników pod wpływem MDMA i MET. W badaniach tych stwierdziliśmy ponadto, że KOF ma własności „zmiatacza” wolnych rodników i te jej własności mogą mieć istotną rolę w neuroprotekcyjnym mechanizmie substancji z grup metyloksantyn, które znalazły zastosowanie w terapii takich chorób neurodegeneracyjnych jak choroba Parkinsona, Alzheimerera czy Huntingtona.

■ Anna Górska, studentka UJ. E-mail: anna.maria.gorska@gmail.com.
