

**SEMMELWEIS EGYETEM  
SZENTÁGOTHAJ JÁNOS IDEGTUDOMÁNYI  
DOKTORI ISKOLA**

*Doktori (PhD) tézisek*

**AZ MDMA HATÁSAI A VIGILANCIÁRA ÉS  
NEURONKÁROSÍTÓ HATÁSÁNAK FARMAKOLÓGIAI  
KÖVETKEZMÉNYEI**

**-Balogh Brigitta-**

Témavezető: Dr. Bagdy György, az MTA doktora, egyetemi magántanár

*Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet  
Budapest, 2008*

## **BEVEZETÉS**

Az ecstasy népszerűsége ma is töretlenül növekszik az egész világon. Tablettái hatóanyagként túlnyomó többségében a hallucinogén és szimpatomimetikus hatásokkal egyaránt rendelkező amfetaminszármazékot, az MDMA-t (3,4-metilén-dioxi-metamfetamin) tartalmazzák. A főként éjszakai szórakozóhelyeken használt kábítószer széles körű elterjedéséhez stimuláns és pszichoaktív hatásai, valamint könnyű alkalmazhatósága és egyszerű előállíthatósága is hozzájárult.

Az MDMA akut hatásai körülbelül 24 órán át tartanak, ezt követően hosszútávú, neurotoxikus hatásai 12 hónapig, sőt tovább is fennmaradhatnak a kísérleti állatokban. Akut viselkedési hatásainak egyedülálló kombinációja annak köszönhető, hogy erőteljesen fokozza a dopamin, szerotonin, noradrenalin és acetilkolin felszabadulását a preszinaptikus idegvégződésekből. A monoamin transzporterekhez kapcsolódva gátolja a monoaminok visszavételét is, s emellett a – monoaminok lebontásáért felelős - monoamin-oxidáz enzimek (MAO<sub>A</sub> és MAO<sub>B</sub>) működésének gátlásával is növeli extracelluláris koncentrációjukat. Akutan hipertermiát és szerotonin viselkedési szindrómát okoz, amelyet a következők jellemeznek: megnövekedett lokomotoros aktivitás, tremor, ataxia, head-weaving (fej fordítása egyik oldalról a másikra), hátsó végtag abductioja, piloerectio (szőrszálak felborzolódása), nyálfolyás, székletürítés. Növeli az állatok szívfrekvenciáját és artériás vérnyomását is. Akut hatásai az ecstasy-fogyasztókon is a kísérleti állatokon megfigyeltékhez hasonlóak.

Az MDMA elsődleges célpontjai a szerotonerg neuronok, amelyeknek tartós károsodása sokszorosán bizonyított számos állatfajban. Tartósan csökkenti a SERT-ek (szerotonin transzporter) denzitását, továbbá az 5-HT-nak és metabolitjának, az 5-hidroxi-indolecetsavnak a szöveti koncentrációját számos agyterületen a legtöbb emlősfajban. Csökkenti az 5-HT-szintézis sebességmeghatározó enzimének, a triptofán-hidroxiláznak az aktivitását is,

valamint az immunhisztokémiai vizsgálatok is az idegsejtek morfológiai károsodásáról számolnak be.

Akut és hosszútávú neurotoxikus hatásaira az egyes patkányfajok érzékenysége eltérő. A legérzékenyebbek a Dark Agouti patkányok, amelyekben egyetlen, 10-15 mg/kg-os dózisa legalább 30-50%-os csökkenést okoz a szöveti 5-HT-szintekben. Ezek a patkányok (főként a nőstények, de kisebb mértékben a hímek is) CYP2D1 izoenzimük csökkent működése miatt lassabban metabolizálják az MDMA-t. Bennünk, embereknél is különböző sebességgel történik az MDMA lebontása. Az európaiak 5-10%-ában az MDMA lebontásában résztvevő, nagy genetikai polimorfizmust mutató CYP2D6 enzim csökkent működésű, ezért az MDMA igen magas vérkoncentrációt érhet el bennünk és különösen nagy veszélyt jelentenek számukra toxikus hatásai. A Dark Agouti patkányfaj ezen, lassú metabolizáló emberek állatmodelljének tekinthető.

Az 5-HT fontos szerepet játszik számos élettani folyamat, többek között a táplálkozás, hőszabályozás, fájdalom, szexuális funkciók, endokrin rendszer, tanulás, memória, alvás, cirkadián ritmus és a motoros aktivitás szabályozásában. Az MDMA-t követő szerotonerg neuronkárosodás ebből adódóan számos funkcionális következménnyel járhat az állatokban. A humán vizsgálatok eredményei alapján egyre inkább úgy tűnik, hogy az MDMA embereknél is a szerotonerg neuronok tartós károsodását okozza. Emellett számos klinikai vizsgálat számol be pszichiátriai betegségekre jellemző tünetek és pszichobiológiai zavarok gyakoribb előfordulásáról az ecstasy-fogyasztókban.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

Tekintélyes és szerteágazó szakirodalommal rendelkezünk az MDMA neurotoxikus hatásaival kapcsolatban, ennek ellenére kevés az irodalomban fellelhető, az MDMA rövid- és hosszútávú alvás-ébrenléti hatásaival foglalkozó vizsgálat. Nem rendelkezünk információval arról sem, hogy miben különböznek az MDMA-val előkezelt állatokon az újabb MDMA dózis és a szelektíven szerotonin-visszavételt gátló citalopram akut alvás-ébrenléti hatásai. Kísérleteinkben a lassú metabolizálók állatmodelljéül szolgáló Dark Agouti patkányokon tanulmányoztuk az MDMA akut, szubakut és hosszútávú motoros aktivitás- és alváshatásait. Az állatok kezelése során a kábítószer-élvezők által egyszerre elfogyasztott tabletták hatóanyagtartalmának megfelelő MDMA-dózist alkalmaztuk.

A következőkre kerestük a választ:

- 1) Milyen akut változásokat idéz elő az MDMA 15 mg/kg-os dózisa a lassú metabolizáló Dark Agouti patkányok motoros aktivitásában és alvásparamétereiben?
- 2) Milyen szubakut és hosszútávú változások figyelhetők meg a kezelés hatására ezekben a paraméterekben?
- 3) Miben térnek el az általunk alkalmazott MDMA dózis akut hatásai az azonos dózisú MDMA-val 3 héttel korábban előkezelt állatokon?
- 4) Megváltoztatja-e a 3 héttel korábban alkalmazott MDMA előkezelés a 2,5 mg/kg dózisú citalopram kezelés akut alváshatásait?

## **MÓDSZEREK**

A vizsgálatokat hím, Dark Agouti patkányokon (Harlan, Olac Ltd, Egyesült Királyság) végeztük. Az állatok a laborba érkezésükkor 4-5 hetesek voltak, súlyuk 50-80 g között volt. A műtétek elvégzése előtt négyesével, majd azt követően egyesével, üvegketrecekben tartott állatok a szabványos tápot és a vizet mindvégig szabadon fogyaszthatták. A helyiségek állandó hőmérsékletét ( $21 \pm 1$  °C) és 12 órás világos/sötét periodicitását (a világítás kezdete: 09:00) biztosítottuk.

A bal frontális és a bal parietális kéreg fölé egy-egy EEG-elektrodát ültettünk be epidurálisan, a hátsó nyaki izmokba EMG-elektrodákat varrtunk be és a jeleket kábel segítségével elvezettük. A motoros aktivitás méréséhez az EEG- és EMG-jeleket elvezető kábelre mágnesset szereltünk fel, ami az állat mozgásának köszönhetően áramot indukált egy elektromágneses tekercsben. Az alváskiértékelés - SleepSign for Animal (Kissei Comtec America, Inc., Egyesült Államok) alváselemző program segítségével és vizuális kiértékeléssel - az irodalomban meghatározott kritériumoknak megfelelően történt.

Az adatokat több szempontos variancia analízissel és faktoriális variancia analízissel dolgoztuk fel. A post-hoc összehasonlításhoz a Tukey HSD tesztet használtuk. A motoros aktivitás és az alvásparaméterek cirkadián ritmusának vizsgálatához az amplitúdó, akrofázis és mesor értékeket ( $\pm$ konfidencia határokat) cosinor analízissel számítottuk ki.

Az alkalmazott MDMA-dózis neuronkárosító hatását a [ $^3$ H]-paroxetin kötés autoradiográfiás mérésével igazoltuk. A módszer segítségével kimutattuk az occipitális cortexben, a substantia nigra pars reticulata, pars compacta és a striatum területén a SERT-hez kötött, tríciummal jelölt paroxetin mennyiségét és összehasonlítottuk a 3 héttel korábban MDMA-val, illetve fiziológiás sóoldattal kezelt állatok eredményeit. Az adatok statisztikai elemzését Student's t-teszt segítségével végeztük.

# **EREDMÉNYEK**

## **1. Az MDMA akut hatásai: első 24 óra**

Az MDMA akut monoamin- és acetilkolinfelszabadító hatása következtében erőteljesen fokozta az állatok motoros aktivitását és ébrenlétét, s gátolta az alvást az első 5-11 órában. Ennek megfelelően nagymértékben megnövelte az állatok alváslatenciáját (a világos fázis kezdetétől az alvás kezdetéig eltelt idő). Érdekes módon a REM (paradox alvás) alvás gátlása jóval tovább tartott, mint az NREM-1 (felszínes alvás) és az NREM-2 (mélyalvás) fázisoké. 10-12 órával a kezelést követően ellentétes szubakut hatásokat figyeltünk meg (a motoros aktivitás és az ébrenléti fázisban töltött idő csökkent, az alvásfázisok időtartamai nőttek). Az időtartamok cosinor analízisével is kimutattuk a paraméterek cirkadián ritmusának nagyarányú változásait a kezelés napján.

## **2. Az MDMA hatásai a kezelést követő napokban**

A kezelést követő 3. napon a motoros aktivitás csökkent, főként a sötét (aktív) fázis ideje alatt, a csökkenés a mesor (az időtartamok értékeinek átlagára utaló mutató) értékének csökkenésében is megmutatkozott. Még az 5. napon is tartott a motoros aktivitás csökkenése, ugyanakkor nőtt az ébrenlét (a passzív ébrenlét növekedése miatt) és csökkent a REM-alvás időtartama. Az utóbbi változások oka feltehetően egy második, kisebb mértékű 5-HT-felszabadítás lehetett. Ugyanezen a napon az MDMA-val kezelt állatok cirkadián ritmusa jelentősen eltért a kontrollokétól: a motoros aktivitás, az ébrenlét és a REM-alvás időtartamok amplitúdói csökkentek, az időtartamok minimum-maximum különbségei kisebbek lettek.

### **3. Az MDMA krónikus hatásai**

Az MDMA-val kezelt állatoknál a motoros aktivitás cirkadián ritmusának zavarát mutattuk ki (a mesor értéke nőtt és a fázisváltás környékén nagyarányú motoros aktivitás-fokozódás figyelhető meg) a kezelés utáni 14. és 28. napon. Az MDMA kezelés neuronkárosító hatása következtében tartósan megváltoztatja a cirkadián ritmus pacemakerének, a nucleus suprachiasmaticusnak a működését patkányokban, feltehetően ez okozta a cirkadián ritmus hosszútávú változását a vizsgálatunkban. A motoros agyterületeken nem volt jelentős különbség a [<sup>3</sup>H]-paroxetin-kötés mértékében az MDMA-val kezelt állatok és a kontrollok eredményeit összehasonlítva, az occipitális cortexben viszont igen, amely utóbbi az alkalmazott MDMA-dózis neurotoxikus hatását igazolja. A REM-alvás időtartama nőtt a világos (nyugalmi) fázis első óráiban 3 héttel a kezelés után. Az 5-HT gátolja a REM-alvást kiváltó kolinerg, ún. REM-on neuronokat, tehát nem kizárt, hogy a neuronkárosodás következtében csökkent 5-HT-neurotranszmisszió csökkenése okozta ez utóbbi változást.

### **4. Az MDMA akut hatásai (első 24 óra) a droggal előkezelt állatokon**

Az MDMA akut motoros aktivitás és alvás-ébrenléti hatásai rövidebb ideig tartottak a droggal előkezelt állatokban, mint a nem előkezeltekben. Az akut MDMA kezelést követően az alvás latencia kisebb és a REM mesor értéke nagyobb volt az MDMA-val előkezelt állatoknál, mint a fiziológiás sóoldattal előkezeltéknél. A REM mesor értékeinek különbsége adódhat abból, hogy az előkezelt állatokon az MDMA rövidebb ideig gátolta a REM-alvást. Másrészt nem kizárt, hogy ehhez az előkezelt állatokban az MDMA krónikus hatásainak vizsgálatánál is észlelt, a REM-alvás időtartamát növelő hatása is hozzájárult.

## **5. A citalopram akut hatásai az alvásra**

A citalopram kezelést követően a REM-alvás időtartamának csökkenését tapasztaltuk. A hatás jó néhány órán keresztül fennállt, mert a REM 24 órára számított mesor értéke is szignifikánsan csökkent volt. Ezenkívül a citaloprammal kezelt állatok több időt töltöttek passzív ébrenléti fázisban. Feltehetően mindkét változás a szerotonin-visszavétel gátlásának következtében megemelkedett szinaptikus 5-HT-koncentrációval magyarázható.

## **6. A citalopram akut hatásai az alvásra az MDMA-val előkezelt patkányokon**

A citalopram rövidebb időre változtatta meg a REM-alvás időtartamát az MDMA-val előkezelt állatokon, mint a nem előkezeltéken és nem fokozta a passzív ébrenlést az előkezelt állatokon. Feltételezhetjük, hogy mindez annak köszönhető, hogy az axonkárosodás következtében kevésbé növelte meg a szinaptikus 5-HT-koncentrációt az MDMA-val előkezelt állatokban.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

Eredményeinkből az alábbi következtetések vonhatók le:

- Megállapítható, hogy egyetlen dózis MDMA hosszútávon befolyásolta - az azt lassan metabolizáló - DA patkányok motoros aktivitását és alvásparamétereit.
- Egyetlen dózis MDMA tartós, az újabb MDMA kezelés és a citalopram akut hatásainak csökkenésével kimutatható változásokat eredményezett a DA patkányok szerotonerg rendszerének működésében.



- Mindezek felhívják a figyelmet a humán ecstasy-fogyasztás potenciális veszélyeire.

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet mindazoknak, akik segítségükkel, személyes támogatásukkal, ösztönzésükkel hozzájárultak e munka elkészültéhez. Elsőként szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Bagdy Györgynek, aki szakmai irányításával támogatott, értékes tanácsaival segítette munkámat. Köszönöm Dr. Tímár Júliának a dolgozatom házi bírálatát, áldozatkész segítségét, javaslatait, melyekkel rendkívül sokat segített a dolgozatom jobbá tételében. A kísérleti módszerek elsajátításában nyújtott nélkülözhetetlen segítségükért és értékes tanácsaikért köszönettel tartozom Dr. Kántor Sándornak, Dr. Graf Mártonnak, Dr. Jakus Ritának, Dr. Anheuer Egonné Zsuzsának és Nagy Rezsőné Nórának. Köszönöm segítségét Dr. Módosné Ányok Editnek, aki sok-sok adminisztrációs és kémiai problémát segített megoldani. Köszönettel tartozom munkatársaimnak: Molnár Eszternek, Kirilly Eszternek, Kitka Tamásnak, Gyöngyösi Norbertnek, Dr. Juhász Gabriellának, Andó Rómeó Dénesnek és Benkő Anitának és a többi munkatársamnak is. Köszönöm odaadó segítségét és tanácsait Dr. Paul A. T. Kelly-nek, akinek edinburgh-i laboratóriumában 9 hónapot töltöttem, köszönettel tartozom edinburgh-i munkatársaimnak, Dr. Henry J. Olverman-nak, Dr. Linda Ferrington-nak és Neil Dawson-nak is segítségükért. Külön köszönet illeti Sidló Zsuzsannát értekezésemmel kapcsolatos, rendkívül értékes szakmai és stilisztikai tanácsaiért. Köszönöm férjemnek, Dr. Tamás Péternek kutatómunkám alatt és értekezésem megírása közben nyújtott hasznos tanácsait, biztatását, támogatását. Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet

mondani szüleimnek, kisfiamnak, férjem édesanyjának, testvéremnek és családjának kitartó türelmükért és támogatásukért a kutatómunkám hosszú éveit alatt.

## **AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KÖZVETLENÜL KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK ÉS KIVONATOK**

### **Közlemények**

1. **Balogh B**, Molnár E, Jakus R, Quate L, Olverman HJ, Kelly PA, Kántor S, Bagdy G (2004). Effects of a single dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on circadian patterns, motor activity and sleep in drug-naive rats and rats previously exposed to MDMA. *Psychopharmacology (Berl)* 173: 296-309.  
IF= 3,146
2. Eszter Kirilly, Eszter Molnar, **Brigitta Balogh**, Sandor Kantor, Stefan R. Hansson, Miklos Palkovits, Gyorgy Bagdy: Decrease in REM latency and changes in sleep quality parallel serotonergic damage after MDMA: a longitudinal study over 180 days. *Int J Neuropsychopharmacology*. EPub: 2008 Feb 8;:1-15. IF= 5,184

### **Kivonatok**

1. **B. Balogh**, E. Molnar, L. Quate, H. J. Olverman, P. A. T. Kelly, S. Kantor, G. Bagdy: Acute and long-term consequences of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine administration to rats on motor activity, local cerebral glucose utilization and [<sup>3</sup>H]paroxetine binding. *FENS Abstracts*, 2, A132.2, 2004.

2. **B. Balogh**, R. Jakus, E. Molnar, S. Kantor, G. Juhasz, G. Bagdy: Sleep and vigilance effects of 3,4-ethylenedioxymethamphetamine in rats in a 28 days long, 24-hour continuous monitoring study. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 18, suppl.1. pp. 150, 2004.
3. **B. Balogh**, R. Jakus, S. Kantor, M. Graf, A. Benko, G. Bagdy: Effects of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine on motor activity, sleep and circadian patterns in drug-naive rats and rats previously exposed to MDMA. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 18, suppl.1. pp. 104, 2004.
4. N. Gyöngyösi, **B. Balogh**, S. Kántor, G. Bagdy: Effects of the 5-HT1B receptor agonist CP94253 in rats treated with MDMA (Ecstasy) 6 months earlier. *Clinical Neuroscience* 58, 1, 2005. B.88.

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KÖZVETLENÜL NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK ÉS KIVONATOK

### Közlemények

1. Rita Jakus, Marton Graf, Romeo D. Ando, **Brigitta Balogh**, Istvan Gacsalyi, Gyorgy Levay, Sandor Kantor, Gyorgy Bagdy: Effect of two non-competitive AMPA receptor antagonists GYKI 52466 and GYKI 53405 on spike-wave discharges, vigilance and behavior in a genetic rat model of absence epilepsy. *Brain Research*, 1008/2: 236-244, 2004. IF= 2,389
2. Sandor Kantor, Rita Jakus, **Brigitta Balogh**, Anita Benko, Gyorgy Bagdy: Increased wakefulness, motor activity and decreased theta activity

after selective blockade of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor by the subtype-selective antagonist SB-215505. Br J Pharmacol, 142(8):1332-42, 2004. IF= 3,325

### **Kivonatok**

1. R. Jakus, M. Graf, R.D. Ando, **B. Balogh**, I. Gacsalyi, G. Levay, S. Kantor and G. Bagdy: Effects of AMPA receptor antagonists GYKI 52466 and GYKI 53405 on spike-wave discharges, vigilance and behaviour in a genetic rat epilepsy model. Fundamental and Clinical Pharmacology 18, suppl.1. pp. 48, 2004.
2. R. Jakus, M. Graf, G. Juhasz, **B. Balogh**, G. Levay, K. Gerber, and G. Bagdy: Activation of 5-HT<sub>2C</sub> receptors inhibit, and 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors activate the generation of spike-wave discharges in a genetic rat epilepsy model. Fundamental and Clinical Pharmacology 18, suppl.1. pp. 41, 2004.
3. S. Kantor, R. Jakus, **B. Balogh**, A. Benko, G. Bagdy: Increased wakefulness, motor activity and decreased theta activity after selective blockade of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor by the subtype-selective antagonist SB-215505. Journal of Sleep Research 13, suppl. 1., P. 382, 2004.