

EWA JOANNA GODZIŃSKA, AGNIESZKA WAGNER-ZIEMKA

*Pracownia Etologii, Zakład Neurofizjologii**Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN**Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

ROLA OPIOIDÓW W ZACHOWANIU SIĘ OWADÓW

WPROWADZENIE

Receptory w znaczeniu farmakologicznym są to wysoce wybiórcze struktury znajdujące się na powierzchni komórki lub w jej wnętrzu, które po reakcji z określoną grupą związków zmieniają jakiś krytyczny biochemiczny proces komórkowy, co prowadzi ostatecznie do uogólnionej odpowiedzi całej komórki (VETULANI 1994). Specyficzne związki łączące się z określonym typem receptorów określa się mianem ligandów tych receptorów. Niektóre ligandy łącząc się z receptorami uczynniają je; są to tak zwani agoniści tych receptorów. Ligandy, które łącząc się z receptorami utrudniają ich przejście w stan aktywny (blokuja je) są to natomiast tak zwani antagoniści tych receptorów. Istnieją też ligandy wykazujące mieszane właściwości agonistyczno-antagonistyczne (VETULANI 1994, GUMUŁKA 1994).

Nazwą „opioidy” określa się w terminologii polskiej wszystkie związki wykazujące powinowactwo do receptorów opioidowych (GUMUŁKA 1994). Wyróżnia się wśród nich opioidy egzogenne (pochodzenia roślinnego lub syntetyczne) oraz opioidy endogenne (wytwarzane przez organizmy zwierzęce). Lecznicze zastosowanie opium znane było już w starożytności, lecz główny składnik aktywny opium, alkaloid fenatrenowy — morfinę, wyizolowano dopiero na początku XIX wieku (GUMUŁKA 1994). W roku 1975 HUGHES i współpracownicy wyizolowali z mózgu świni met- i leu-enkefalinę, dwa peptydy opioidowe o właściwościach farmakologicznych podobnych do morfiny. Od tej pory wyizolowano i zbadano szereg dalszych endogennych peptydów opioidowych. Należą one do trzech głównych systemów. Najwcześniej odkryto peptydy powstające w wyniku przemian potranslacyjnych z prohormonu proenkefaliny. Najbardziej znane peptydy z tej grupy to dwa pentapeptydy leu- i met-enkefalina. Różnią się one jedynie jednym aminokwasem: w leu-enkefalinie jest nim leucyna, w met-enkefalinie jest nim metionina. Z prohormonu proopiomelanokortyny powstają między innymi α - i β -endorfina, peptydy znacznie dłuższe niż enkefaliny. Z prohormonu prodynorfiny powstaje między innymi dynorfina oraz α - i β -neoendorfina (JESSEL i KELLY 1991, MOLINA i ABUMRAD 1994, PRZEWŁOCKA 1994).

Ostatnio wykryto, że w organizmach zwierząt występują nie tylko endogenne peptydy opioidowe, lecz także endogenne alkaloidy opioidowe, między innymi morfina, kodeina i tebaina (MOLINA i ABUMRAD 1994, MAKMAN 1994, STEFANO i SCHARRER 1994). Stąd też w wielu pracach anglojęzycznych zarówno endogenne, jak i egzogenne alkaloidy opioidowe określa się obecnie jako „opiaty”, natomiast termin „opioidy” jest używany przede wszystkim w odniesieniu do peptydów opioidowych (MOLINA i ABUMRAD 1994, MAKMAN 1994, STEFANO i SCHARRER 1994, OTTAVIANI i współaut. 1995).

Powinowactwo do receptorów opioidowych wykazują również różne syntetyczne związki, na przykład pochodne piperydyny czy benzomorfanu. Klasycznym antagonistą receptorów opioidowych jest nalokson, pochodna oksymorfanu (GUMUŁKA 1994).

Wyróżnia się trzy główne typy receptorów opioidowych: μ , δ i κ . Postulowane jest także istnienie dalszych dwóch typów, ϵ i σ (PRZEWŁOCKA 1994, STEFANO i SCHARRER 1994). Liczne dane wskazują też na istnienie podtypów receptorów opioidowych, między innymi κ_1 , κ_2 , κ_3 , μ_1 , μ_2 , μ_3 , δ_1 i δ_2 (PRZEWŁOCKA 1994, STEFANO i SCHARRER 1994). Interesujące właściwości ma zwłaszcza receptor μ_3 ; jak się wydaje, przyłączają się do niego jedynie alkaloidy opioidowe. Dotychczas poznane peptydy opioidowe nie wykazują doń powinowactwa (MAKMAN 1994, STEFANO i SCHARRER 1994). Podtypy receptorów opioidowych są obecnie przedmiotem licznych dyskusji i kontrowersji (PRZEWŁOCKA 1994).

Opioidy uczestniczą w regulacji całego spektrum procesów fizjologicznych i zachowań. Najlepiej poznaną funkcją tych związków jest ich działanie analgestyczne (przeciwbólowe) lub, mówiąc ogólniej, działanie antynocycepcyjne (KAVALIERS 1988, 1989, JESSELL i KELLY 1991, MANSOUR i współaut. 1995). Nocycepcja jest to odbiór przez ośrodkowy układ nerwowy sygnałów wywołanych przez pobudzenie wyspecjalizowanych receptorów czuciowych (nocyceptorów) przez bodźce mechaniczne, termiczne bądź chemiczne dostarczające informacji o uszkodzeniu tkanki (JESSELL i KELLY 1991). Nocycepcja jest pojęciem szerszym niż ból: nie wszystkie bodźce odbierane przez nocyceptory są źródłem subiektywnych wrażeń bólowych. Wielu autorów uważa, że w przypadku zwierząt, a w szczególności bezkręgowców, bezpieczniej jest mówić o nocycepcji i działaniu antynocycepcyjnym różnych związków, niż o bólu i działaniu przeciwbólowym (analgestycznym), gdyż definicje bólu odwołują się do odczuć subiektywnych, niezwykle trudnych do badania u zwierząt (EISEMANN i współaut. 1984, KAVALIERS 1988). Ligandy receptorów opioidowych mogą też wywierać działanie wzmagające nocycepcję i odczuwanie bólu (działanie hyperalgestyczne). Takie działanie może mieć na przykład nalokson (KAVALIERS 1989).

Opioidy odgrywają też ważną rolę w mechanizmach awersji oraz w funkcjonowaniu tak zwanego układu nagrody (SHIPPENBERG i BALS-KUBIK 1991, SHIPPENBERG 1993). Układ nagrody jest to system struktur centralnego układu nerwowego odpowiedzialny za stany emocjonalne o pozytywnym charakterze (SADOWSKI i CHMURZYŃSKI 1989), określane też jako stany hedonistyczne (KUPFERMANN 1991, D'AMATO i PAVONE 1993). Najnowsze badania sugerują, że nadużywanie narkotyków opioidowych wynika przede wszystkim z ich niezwykle silnie pobudzającego wpływu na układ nagrody i, co za tym idzie, z ich zdolności do wywoływania szczególnie intensywnych stanów hedonistycznych (euforii) (SHIP-

PENBERG i BALS-KUBIK 1991, SHIPPENBERG 1993). Układ nagrody uczestniczy też w mechanizmie warunkowania instrumentalnego, stanowiącego jedną z najważniejszych form uczenia się asocjacyjnego. Warunkowanie instrumentalne polega na wzroście prawdopodobieństwa wystąpienia reakcji, które prowadzą do uzyskiwania wzmocnienia dodatniego (są nagradzane), lub na spadku prawdopodobieństwa wystąpienia reakcji, które prowadzą do uzyskiwania wzmocnienia ujemnego (są karane). Jak się obecnie uważa, uzyskiwanie wzmocnienia dodatniego i ujemnego wiąże się zaś przede wszystkim ze zmianami aktywności układu nagrody (SHIPPENBERG i BALS-KUBIK, 1991, SHIPPENBERG 1993).

Opioidy uczestniczą też w regulacji wielu innych ważnych funkcji organizmów zwierzęcych. Należy tu wymienić między innymi aktywność lokomotoryczną, zachowania pokarmowe i metabolizm, funkcjonowanie układu immunologicznego, wydzielanie hormonów, reakcje na stres (zwłaszcza o przewlekłym charakterze), wytwarzanie się więzi międzysobniczych i społecznych, procesy uczenia się i pamięci oraz procesy poznawcze (KAVALIERS i HIRST 1987, D'AMATO i PAVONE 1993, COWAN 1993, MCGAUGH i współaut. 1993, MAKMAN 1994, MOLINA i ABUMRAD 1994, PRZEWŁOCKA 1994, MANSOUR i współaut. 1995).

W regulacji tych procesów biorą udział różne typy receptorów opioidowych. Analgetyczne i antynocyceptyjne działanie opioidów wiąże się z uaktywnieniem receptorów μ , δ i κ w szlakach bólowych układu nerwowego (JESSEL i KELLY 1991, MANSOUR i współaut. 1995). Efekty hedonistyczne i funkcjonowanie układu nagrody są związane z uaktywnieniem receptorów μ i δ , zaś stany awersyjne są związane z blokowaniem tych receptorów lub z uaktywnieniem receptorów κ . Uaktywnienie receptorów μ i δ wywiera też wpływ pobudzający na aktywność lokomotoryczną, zaś uaktywnienie receptorów κ wywiera na nią wpływ hamujący (SHIPPENBERG i BALS-KUBIK 1991, SHIPPENBERG 1993, PRZEWŁOCKA 1994, MANSOUR i współaut. 1995). Receptory κ uczestniczą też w regulacji pobierania pokarmu, i to zarówno u bezkręgowców, jak i u kręgowców (KAVALIERS i współaut. 1985, 1987, KAVALIERS i HIRST 1987, MOLINA i ABUMRAD 1994), zaś receptory δ odgrywają, jak się wydaje, istotną rolę w integracyjnych funkcjach układu nerwowego (integracja wzorców ruchowych, percepcja bodźców węchowych oraz procesy poznawcze), a także w funkcjonowaniu układu immunologicznego (MOLINA i ABUMRAD 1994, STEFANO i współaut. 1992).

WYSTĘPOWANIE OPIOIDÓW U BEZKRĘGOWCÓW

Początkowo uważano, że bezkręgowce w ogóle nie posiadają systemu opioidowego (PERT i współaut. 1974, SIMANTOV i współaut. 1976). Późniejsze badania wykazały jednak, że opioidy występują już nawet u pierwotniaków (JOSEFSSON i JOHANSON 1979, LEROITH i współaut. 1982, ZIPSER i współaut. 1988). Z powodu ograniczeń związanych z objętością tego artykułu nie możemy jednak omówić w nim szczegółowo bardzo już obszernej literatury dotyczącej występowania i roli opioidów u bezkręgowców, a w szczególności u owadów.

U owadów występowanie opioidów lub ich rolę w regulacji procesów fizjologicznych badano już u stosunkowo dużej liczby gatunków należących do różnych grup systematycznych. Zebrano już liczne dane świadczące o tym, że endogenne

opioidy uczestniczą w regulacji rozrodu owadów, zwłaszcza cyklu reprodukcyjnego samic (STEFANO i SCHARRER 1981, CHAPMAN i współaut. 1984, SCHARRER i współaut. 1988, DUVE i współaut. 1991), a także w funkcjonowaniu układu pokarmowego tych zwierząt (ANDRIES i TRAMU 1985, STEFANO i współaut. 1982, SCHARRER i współaut. 1988, DUVE i THORPE 1990) oraz w ich procesach odpornościowych (STEFANO i współaut. 1992, SONETTI i współaut. 1994, OTTAVIANI i współaut. 1995). Liczne przesłanki wskazują też na istotną rolę opioidów w regulacji rytmu pracy serca owadów (DUVE i THORPE 1990) oraz w funkcjach integracyjnych mózgu (zwłaszcza w analizie informacji uzyskanej dzięki odbiorowi bodźców wzrokowych oraz przypuszczalnie także bodźców chemicznych) (RÉMY i DUBOIS 1981, DUVE i THORPE 1988, 1989).

ROLA OPIOIDÓW W ZACHOWANIU SIĘ OWADÓW

WSTĘPNE DOŚWIADCZENIA FORELA NAD REAKCJAMI MRÓWEK NA MORFINE

Badania nad rolą opioidów w zachowaniu się owadów zostały zapoczątkowane już w zeszłym stuleciu. WHEELER (1911) omawia krótko doświadczenie Forela, w którym podawano mrówkom morfinę zmieszaną z miodem. Doświadczenie to wykazało, że mrówki mogą wykryć obecność morfiny w pożywieniu (ale dopiero wtedy, gdy miód zawierający ten związek zetknie się z ich narządami gębowymi) i że może być ona dla nich bodźcem awersyjnym. Po tych pilotowych obserwacjach badania nad wpływem opioidów na zachowanie się owadów wznowiono dopiero kilkanaście lat temu i jak dotąd prace poświęcone temu zagadnieniu są wciąż jeszcze bardzo nieliczne.

WPŁYW OPIOIDÓW NA ZACHOWANIA KARACZANA *PERIPLANETA AMERICANA* ZWIĄZANE Z PIELĘGNACJĄ CIAŁA

HENTSCHEL i PENZLIN (1982) badali u karaczanów (*Periplaneta americana*) wpływ przebicia powłok ciała oraz met-enkefalin, morfiny i naloksonu (podanych w postaci zastrzyku do jamy odwłoka) na zachowania związane z pielęgnacją ciała. Badano przede wszystkim dorosłe samce oraz (w testach z met-enkefaliną) dorosłe samice. Badane owady umieszczano indywidualnie w cylindrycznych pojemnikach. Obserwowano czyszczenie czułków, głowy, nóg i odwłoka, mające u karaczanów postać złożonych, stereotypowych wzorców ruchowych. Podobnie jak u wielu innych gatunków zwierząt, zachowania te nie zawsze mają u karaczanów bezpośredni związek z potrzebą oczyszczenia ciała: mogą występować również jako tak zwane zachowania przerzutowe (TINBERGEN i VAN IERSEL 1947, HEYMER 1977), to znaczy pojawiać się w sytuacjach, gdy zwierzę jest silnie wzbudzone.

Zachowania związane z pielęgnacją ciała były stymulowane u *P. americana* już przez samo przebicie powłok odwłoka podczas zastrzyku. Zdaniem autorów, mogło to przebiegać dwiema drogami. Zachowania te mogły się pojawiać jako zachowania przerzutowe w związku z tym, że zastrzyk powodował u karaczanów wzrost ogólnego wzbudzenia (wyrażającego się, między innymi, w bieganiu owadów po dnie i bokach pojemnika). Z drugiej strony jednak, karaczany czyściły zranioną stronę odwłoka częściej niż jego stronę nie zranioną, co, zdaniem

autorów, sugeruje, że miejsce zranione było źródłem bodźców umożliwiających jego odróżnienie od strony nie zranionej, być może odbieranych nawet jako bodźce bólowe. Bodźce te mogły więc wyzwać zachowania czyszczące.

Nalokson (około 17–34 $\mu\text{g/g}$ ciężaru ciała zwierzęcia) istotnie podwyższał częstość zachowań związanych z pielęgnacją ciała. Morfina (podawana trzykrotnie w odstępach godzinnych w dawce około 170 $\mu\text{g/g}$) powodowała natomiast istotne obniżenie częstości kompletnych sekwencji ruchów czyszczących i zarazem podwyższenie częstości sekwencji niepełnych lub przerwanych. Podobnie jak u zwierząt, którym jedynie przekłuto odwłok, także i u owadów, które otrzymały morfinę szczególnie często obserwowano czyszczenie zranionej strony odwłoka. Rosnące dawki morfiny prowadziły też z reguły do stereotypii ruchowych (typowego sztywnego chodu z licznymi obrotami i zwrotami w tył).

Morfina i nalokson wywierały działanie wzajemnie antagonistyczne. Nalokson (około 17 $\mu\text{g/g}$) podany w godzinę po podaniu morfiny (około 254 $\mu\text{g/g}$) prowadził u karaczanów do normalizacji zachowań związanych z pielęgnacją ciała zaburzonych w wyniku podania morfiny, podwyższając częstość kompletnych sekwencji zachowań i redukując częstość sekwencji niekompletnych lub przerwanych. Morfina podana w godzinę po podaniu naloksonu obniżała częstość zachowań związanych z pielęgnacją ciała podwyższoną pod wpływem naloksonu. Met-enkefalina (około 17 $\mu\text{g/g}$) obniżała częstość zachowań czyszczących, i to zarówno u samców, jak i u samic *P. americana*.

W dyskusji autorzy podkreślają, że wpływ ligandów opioidowych na zachowania związane z pielęgnacją ciała u *P. americana* mógł przebiegać dwoma torami. Morfina i met-enkefalina mogły wpływać na obniżenie ogólnego wzbudzenia wywołanego zastrzykiem (co prowadziło do zmniejszenia częstości zachowań przerzutowych, w tej liczbie zachowań związanych z pielęgnacją ciała). Fakt, że karaczany częściej czyściły zranioną stronę odwłoka sugeruje jednak, że przynajmniej część zachowań związanych z pielęgnacją ciała mogła mieć u tych owadów charakter reakcji nocycepcyjnych. Zmniejszenie częstości tych zachowań po podaniu morfiny i met-enkefaliny mogło więc wynikać z właściwości antynocycepcyjnych tych opioidów.

WPLYW RÓŻNYCH LIGANDÓW OPIOIDOWYCH NA AKTYWNOŚĆ LOKOMOTORYCZNĄ KARACZANA *LEUCOPHAEA MADERAE*

FORD i współpracownicy (1986) badali wpływ różnych ligandów opioidowych (podawanych w postaci zastrzyku bezpośredniego w grzbietową część głowy) na aktywność lokomotoryczną dorosłych karaczanów z gatunku *Leucophaea maderae*. Badano wpływ różnych dawek morfiny, met-enkefaliny, DAMA i DALA (syntetycznych analogów, odpowiednio, met- i leu-enkefaliny), dynorfiny A, cyklazocyny (niepeptydowego opioidu z grupy benzomorfanów), a także naloksonu podawanego oddzielnie lub jednocześnie z morfiną bądź z DAMA. Badane osobniki umieszczano następnie na okres 15 minut w specjalnych kamerach, w których ich aktywność lokomotoryczna była monitorowana automatycznie za pośrednictwem komputera.

Badania te wykazały, że podanie morfiny oraz DAMA wywoływało znaczne obniżenie się aktywności ruchowej *L. maderae*. Wpływ działania DAMA był nawet silniejszy niż wpływ działania morfiny. Efekty działania morfiny i DAMA rosły

wraz ze wzrostem dawki. Co zaskakujące, podanie różnych dawek met-enkefalin nie miało jednak żadnego wpływu na aktywność ruchową *L. maderae*, a podanie DALA, dynorfiny A oraz cyklazocyny spowodowało u *L. maderae* nie obniżenie, lecz istotne podwyższenie aktywności lokomotorycznej. Niektóre osobniki po podaniu DALA biegały w kółko przez 24 godziny.

Równoczesne podanie naloksonu znosiło zarówno hamujący wpływ morfiny i DAMA, jak i pobudzający wpływ DALA, dynorfiny A i cyklazocyny na aktywność lokomotoryczną *L. maderae*. Dawki naloksonu konieczne do zniesienia wpływu tych opioidów były jednak stosunkowo wysokie (50 μM /zwierzę). Sam nalokson podany w takiej dawce wywierał słaby wpływ pobudzający na aktywność lokomotoryczną *L. maderae*. Efekt ten nie był istotny statystycznie; zdaniem autorów, sugeruje on jednak, że u *L. maderae* endogenne opioidy wywierają hamujący wpływ o charakterze tonicznym na aktywność lokomotoryczną.

Odkrycie, że różne ligandy opioidowe mogą wywierać przeciwstawny wpływ na aktywność ruchową *L. maderae* dowodzi, że w układzie nerwowym tych zwierząt istnieją różne systemy opioidowe modulujące różne funkcje. Szczególnie istotną rolę w regulacji aktywności lokomotorycznej *L. maderae* wydają się odgrywać receptory κ , gdyż dynorfina A i cyklazocyna, agoniści receptorów κ , wywierały szczególnie silny wpływ pobudzający na aktywność tych owadów.

FORD i współautorzy (1986) podają również, że u osobników będących pod wpływem opioidów obserwowano zahamowanie pobierania pokarmu, które mogło się utrzymywać przez okres do jednego dnia po zastrzyku. Autorzy ci nie podają jednak żadnych innych szczegółów dotyczących wpływu opioidów na zachowania pokarmowe *L. maderae*.

WPLYW OPIOIDÓW NA ZACHOWANIE POKARMOWE I AKTYWNOŚĆ LOKOMOTORYCZNĄ KARACZANA *PERIPLANETA AMERICANA*

KAVALIERS i współpracownicy (1987) zbadali wpływ dwóch agonistów opioidowych: U-50,488H (wysoko selektywnego agonisty receptorów κ) i morfiny (agonisty receptorów μ) oraz antagonisty opioidowego naloksonu na zachowanie pokarmowe i aktywność lokomotoryczną dorosłych karaczanów z gatunku *Periplaneta americana*.

W badaniach zachowania pokarmowego owady umieszczano pojedynczo w szalkach Petriego wraz z pokarmem (sproszkowanymi granulkami dla myszy) i z wodą. W 48 godzin później dno każdej z szalek pokryto odważoną ilością pokarmu. Owadom z grup doświadczalnych podano (w postaci zastrzyku do jamy odwłoka) badane związki opioidowe, zaś owady z grupy kontrolnej otrzymały zastrzyki roztworu soli fizjologicznej. Następnie przez trzy godziny co godzinę mierzono ilość pokarmu spożytego przez każdego owada.

W pierwszej godzinie po podaniu U-50,488H spożycie pokarmu przez *P. americana* było zredukowane, lecz podczas następnych dwóch godzin zaobserwowano bardzo znaczny wzrost ilości spożytego pokarmu. Pobudzający efekt U-50,488H na spożywanie pokarmu wykazywał silny wzrost wraz ze wzrostem zastosowanej dawki (w przedziale 0,1–10 $\mu\text{g/g}$). Nalokson (1 $\mu\text{g/g}$) podany na 15 minut przed podaniem U-50,488H istotnie redukował pobudzający wpływ 10 $\mu\text{g/g}$ U-50,488H na spożywanie pokarmu, ale go całkowicie nie znosił. Podanie identycznej dawki samego naloksonu silnie redukowało wzmożone

pobieranie pokarmu u karaczanów, które pozbawiono dostępu do pokarmu podczas 24 godzin poprzedzających test, lecz nie wywierało żadnego efektu na pobieranie pokarmu przez karaczany, które przez cały czas miały do niego dostęp. Morfina (w dawkach 1–20 $\mu\text{g/g}$) nie wywierała żadnego istotnego wpływu na pobieranie pokarmu przez *P. americana*.

Wpływ ligandów opioidowych na aktywność lokomotoryczną *P. americana* badano w sposób odmienny niż w poprzednio omawianej pracy FORDA i współautorów (1986). Tym razem monitorowano aktywność owadów jedynie podczas okresów jednonominutowych i to po znacznie dłuższym czasie od chwili wykonania zastrzyku (od 30 do 180 minut). Stosunkowo niskie dawki morfiny (1–10 $\mu\text{g/g}$) wywierały wpływ pobudzający na aktywność lokomotoryczną *P. americana*, widoczny zwłaszcza po upływie 30–60 minut od chwili wykonania zastrzyku. Morfina w dawce 20 $\mu\text{g/g}$ nie wywierała natomiast żadnego istotnego wpływu na aktywność lokomotoryczną tych owadów. U-50,488H (w dawce 10 $\mu\text{g/g}$) wywierał natomiast wpływ hamujący na poziom aktywności lokomotorycznej karaczanów (mierzony 30 minut po zastrzyku). Nalokson (1 $\mu\text{g/g}$) podany równocześnie z morfiną (10 $\mu\text{g/g}$) istotnie redukował pobudzający efekt morfiny na aktywność lokomotoryczną owadów, ale go nie znosił. Sam nalokson nie wywierał żadnego istotnego wpływu na aktywność lokomotoryczną *P. americana*.

Dane KAVALIERSA i współautorów (1987) dowodzą więc, że opioidy uczestniczą w modulacji zachowania pokarmowego *P. americana* i sugerują silnie, że modulacja ta jest związana z uaktywnianiem receptorów κ , gdyż zachowania te były silnie pobudzane przez U-50,488H (wysoce selektywnego agonistę receptorów μ), zaś nie były pobudzane przez morfinę (agonistę receptorów μ). Niskie dawki morfiny pobudzały natomiast aktywność lokomotoryczną *P. americana*. Dalsze pilotowe obserwacje zachowania karaczanów będących pod wpływem morfiny w różnych sytuacjach (obecność lub brak pokarmu) pozwoliły KAVALIERSOWI i współpracownikom (1987) na wysunięcie hipotezy, że pobudzający wpływ morfiny na aktywność lokomotoryczną tych owadów wynika z pobudzającego wpływu tego związku na zachowania związane z poszukiwaniem pokarmu. Zgodnie z tą hipotezą, receptory μ uczestniczą u *P. americana* w regulacji zachowań związanych z poszukiwaniem pokarmu, zaś receptory κ — w regulacji zachowań związanych z jego spożywaniem. Taką właśnie prawidłowość odnaleziono u innych gatunków zwierząt, w tym zwłaszcza u ślimaka *Limax maximus* (KAVALIERS i współaut. 1985). U *P. americana* nie można jednak na razie uznać jej istnienia za w pełni udowodnione.

Badania KAVALIERSA i współpracowników (1987) nad wpływem różnych ligandów opioidowych na aktywność lokomotoryczną *P. americana* dały wyniki odmienne niż wcześniejsze badania FORDA i współpracowników (1986) nad wpływem opioidów na aktywność lokomotoryczną innego karaczana, *L. maderae*. Dotyczy to zwłaszcza wpływu morfiny (u *L. maderae* hamowała aktywność lokomotoryczną, u *P. americana* w małych dawkach pobudzała tę aktywność, w nieco większych dawkach nie wywierała na nią żadnego wpływu) oraz agonistów receptorów κ (u *L. maderae* cyklazocyna silnie pobudzała aktywność ruchową, u *P. americana* U-50,488H aktywność tę hamował). Badania te różniły się jednak istotnie pod względem zastosowanej metodyki: inna była metoda monitorowania aktywności lokomotorycznej oraz czas od chwili podania zastrzyku do chwili

badania jego efektów. Nieporównywalne są też stosowane w tych dwóch pracach dawki. FORD i współpracownicy (1986) określają stosowane dawki jako ilość mikromoli/zwierzę (nie podając informacji o wadze zwierzęcia), zaś KAVALIERS i współpracownicy (1987) określają je jako g/kg ciężaru ciała zwierzęcia¹. Rozstrzygnięcie tych kontrowersji mogą przynieść jedynie dalsze badania nad tym zagadnieniem. Należałoby w nich również zwrócić baczniejszą uwagę na charakter aktywności zwierzęcia. Cenną wskazówką wydaje się tu być sugestia KAVALIERSA i współautorów (1987), że morfina może stymulować nie tyle ogólną aktywność lokomotoryczną karaczanów, co konkretny jej typ — zachowania związane z poszukiwaniem pokarmu.

Prace FORDA i współautorów (1986) oraz KAVALIERSA i współautorów (1987) dały wyniki rozbieżne również jeśli chodzi o wpływ opioidów na zachowanie pokarmowe karaczanów (u *L. maderae* opioidy hamowały pobieranie pokarmu przez 24 godziny po zastrzyku, u *P. americana* U-50,488H silnie pobudzało pobieranie pokarmu, zaś wpływ hamujący na zachowanie pokarmowe wywierał jedynie nalokson podany zwierzętom wykazującym wzmożoną skłonność do pobierania pokarmu w wyniku podania U-50,488H lub w wyniku pozbawienia dostępu do pokarmu przez poprzednie 24 godziny). Obserwacje FORDA i współpracowników miały jednak charakter pilotowy i — przeciwieństwie do danych Kavaliersa i współpracowników — nie zostały poparte danymi ilościowymi.

WPLYW OPIOIDÓW NA PROCESY WARUNKOWANIA ZACHODZĄCE NA POZIOMIE TUŁOWIOWYCH ZWOJÓW NERWOWYCH W POZBAWIONYCH GŁÓW PREPARATACH KARACZANA *PERIPLANETA AMERICANA*

HORRIDGE (1962) opracował interesującą (choć drastyczną) metodę badania u owadów mechanizmów uczenia się unikania bodźców awersyjnych. W doświadczeniach tych owad (karaczan lub szarańcza) był pozbawiany głowy, a następnie drażniono jedną z jego nóg prądem elektrycznym. Zgięcie nogi przerywało obwód elektryczny, co z kolei albo przerywało już działający bodziec awersyjny (= następowała ucieczka przed tym bodźcem), albo też nie dopuszczało do jego zadziałania (= możliwe było unikanie tego bodźca). Uczenie się reakcji ucieczki przed bodźcem awersyjnym oraz uczenie się unikania takiego bodźca to dwie najczęściej badane kategorie warunkowania instrumentalnego opartego o wzmocnienie negatywne (SADOWSKI i CHMURZYŃSKI 1989). Badania zapoczątkowane przez HORRIDGE'A (1962) wykazały, między innymi, że uczenie się zginania nogi pozwalającego na unikanie drażnienia prądem elektrycznym nie wymaga obecności mózgu: może ono zachodzić na poziomie tułowiowego zwoju nerwowego kontrolującego ruchy tej kończyny (QUINN 1984).

WEISS i PENZLIN (1987) zastosowali metodę wprowadzoną przez HORRIDGE'A (1962) w celu zbadania wpływu morfiny i naloksonu na procesy warunkowania zachodzące na poziomie tułowiowego zwoju nerwowego u karaczanów z gatunku *Periplaneta americana*. Karaczanowi odcinano głowę i pięć kończyn, zaś do jedynej pozostałej kończyny przymocowywano elektrodę. Trening polegał na podawaniu impulsów prostokątnych o czasie trwania 3 ms, amplitudzie 25 V i stałej częstotliwości 4 Hz. Jeżeli noga nie była zgięta, elektroda zanurzała się

¹ Dla ujednolicenia wszędzie, gdzie tylko było to możliwe, podajemy stosowane dawki jako $\mu\text{g/g}$ ciężaru ciała zwierzęcia.

na głębokość 2–3 mm w roztworze soli fizjologicznej, co zamykało obwód elektryczny używany do drażnienia owada prądem elektrycznym. Zgięcie nogi powodowało wynurzenie się elektrody z roztworu, co albo przerywało już rozpoczęte drażnienie, albo w ogóle do niego nie dopuszczało. Każdy owad był poddawany takiemu treningowi podczas 15 minut. Następnie dla każdego owada analizowano trzy podstawowe wskaźniki: łączny czas, w którym otrzymywał drażnienie prądem elektrycznym, częstość otrzymywania drażnienia oraz średni czas trwania każdorazowego drażnienia. Spadek łącznego czasu drażnienia oraz średniego czasu każdorazowego drażnienia uznawano za dowód na uczenie się reakcji ucieczki przed bodźcem awersyjnym; spadek częstości otrzymywania drażnienia uznawano za dowód na uczenie się unikania takiego bodźca. Na piętnaście minut przed rozpoczęciem treningu podawano karaczanowi (w postaci zastrzyku do jamy tułowej) morfinę, nalokson lub obydwie te związki jednocześnie. Osobniki z grup kontrolnych otrzymywały zastrzyki roztworu soli fizjologicznej.

Morfina (56 $\mu\text{g/g}$) powodowała istotny spadek łącznego czasu, w którym zwierzę otrzymywało drażnienie, lecz jej podanie nie wpływało w sposób istotny na pozostałe dwa wskaźniki charakteryzujące reakcje karaczana podczas treningu. Nalokson (54 $\mu\text{g/g}$) powodował jeszcze wyraźniejszy spadek łącznego czasu, w którym zwierzę otrzymywało drażnienie, wynikający z silnego skrócenia czasu trwania każdorazowego drażnienia. Występowało więc uczenie się reakcji ucieczki. Niższe dawki morfiny (0,56 $\mu\text{g/g}$) i naloksonu (0,54 $\mu\text{g/g}$) nie powodowały żadnych wykrywalnych efektów.

Jednoczesne podanie morfiny i naloksonu powodowało jeszcze silniejsze efekty niż podanie każdego z tych związków oddzielnie. Charakter tych efektów zależał od zastosowanych dawek tych związków. Bardzo małe dawki morfiny i naloksonu (odpowiednio: 0,0056 oraz 0,0054 $\mu\text{g/g}$) powodowały istotny spadek średniego czasu trwania każdorazowego drażnienia. Równoczesne podanie 0,56 $\mu\text{g/g}$ morfiny i 0,54 $\mu\text{g/g}$ naloksonu powodowało zarówno spadek średniego czasu trwania każdorazowego drażnienia, jak i spadek częstości drażnienia. Wreszcie, równoczesne podanie 56 $\mu\text{g/g}$ morfiny i 54 $\mu\text{g/g}$ naloksonu powodowało spadek częstości drażnienia. Spadek częstości drażnienia uznano za dowód na uczenie się unikania kontaktu z bodźcem awersyjnym.

Całość danych uzyskanych w tym doświadczeniu dowodzi, że zarówno morfina, jak i nalokson mogą wywierać wpływ ułatwiający na uczenie się reakcji zginania nogi, umożliwiającej ucieczkę przed bodźcem awersyjnym bądź unikanie kontaktu z takim bodźcem, zachodzące na poziomie zwojów tułowiowych w pozbawionych głowy preparatach *P. americana*. Gdy morfina i nalokson podawane są jednocześnie, wpływ taki obserwuje się przy znacznie mniejszej dawce każdego z tych związków. Godny uwagi jest też fakt, że uczenie się unikania bodźca awersyjnego występowało jedynie przy jednoczesnym podawaniu naloksonu i morfiny. Podobieństwo efektów działania morfiny i naloksonu oraz synergistyczne (wzajemnie wspomagające) działanie tych dwóch związków było dla autorów zaskoczeniem, gdyż z reguły związki te wywierają działania przeciwstawne. Autorzy zwracają również uwagę na fakt, że dawki morfiny i naloksonu, konieczne dla wywołania istotnego wpływu na uczenie się zginania nogi, były znacznie (10–50 razy) wyższe niż dawki wywołujące podobne efekty u kręgow-

ców. Natomiast przy łącznym stosowaniu morfiny i naloksonu istotne efekty przynosiło już stosowanie dawek 10–1000 niższych niż w przypadku kręgowców.

Autorzy są zdania, że wpływ morfiny i naloksonu na uczenie się unikania drażnienia prądem elektrycznym zachodzące w zwojach tułowiowych *P. americana* nie ma związku z możliwymi efektami analgestycznymi/hyperalgestycznymi tych związków. Ponieważ nalokson wywoływał istotne skrócenie średniego czasu stymulacji, przypuszczają raczej, że może tu wchodzić w grę zwiększenie reaktywności na drażnienie prądem elektrycznym wynikające z procesów torowania zachodzących na poziomie zwoju tułowiowego.

WPLYW OPIOIDÓW NA REAKCJĘ ŻĄDLENIA WYZWALANĄ PRZEZ DRAŻNIENIE PRĄDEM ELEKTRYCZNYM U PSZCZOŁY MIODNEJ (*APIS MELLIFERA*)

W jednej z pierwszych prac poświęconych wpływowi opioidów na nocycetynowe reakcje obronne owadów NÚÑEZ i współautorzy (1983) zbadali wpływ różnych ligandów opioidowych na reakcję żądlenia wyzwalaną w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym u robotnic-zbieraczek pszczoły miodnej (*Apis mellifera*). BALDERRAMA i współautorzy (1990) włączyli następnie wyniki tych badań do obszerniejszej publikacji poświęconej reakcjom obronnym pszczoły miodnej.

Pszczołę chwymano podczas żerowania i bezpośrednio potem umieszczano ją w aparacie umożliwiającym drażnienie unieruchomionego owada prądem elektrycznym. Pszczółom z grup eksperymentalnych podawano w postaci zastrzyku do jamy tułowia różne dawki morfiny, naloksonu, morfiny podanej łącznie z naloksonem oraz różnych peptydów opioidowych: met-enkefalinę, leu-enkefalinę, kytorfinę (dipeptydu opisanego przez TAKAGI i współpracowników, 1979, i uważanego za związek wyzwalający wydzielanie met-enkefalinę) oraz DAMA. Osobniki z grup kontrolnych otrzymywały zastrzyki wody destylowanej i soli fizjologicznej. Po 15 minutach od chwili wykonania zastrzyku badano reakcję pszczoły na drażnienie prądem elektrycznym podając jej w jednodominutowych odstępach serię 3 bodźców, z których każdy składał się z ciągu dwufazowych impulsów o czasie trwania 1 ms i amplitudzie 8 V dostarczanych przez 2 sekundy z częstotliwością 100 Hz. Reakcję pszczoły obserwowano pod binokulem; notowano występowanie lub brak tak zwanej pełnej reakcji żądlenia, to znaczy reakcji, przy której pochwą żądla była otwarta, zaś jego sztylet całkowicie wysunięty przez cały czas podawania bodźca.

Morfina wywoływała u pszczoł istotny, rosnący wraz ze wzrostem dawki spadek częstości pojawiania się pełnej reakcji żądlenia w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym. Częstość pojawiania się reakcji żądlenia malała liniowo wraz ze wzrostem dawki morfiny (w zakresie od około 300 µg/g do około 1252 µg/g). Dawka powodująca 50% spadek częstości reakcji żądlenia (określona przez autorów jako tzw. D₅₀) była stosunkowo duża i wynosiła około 900 µg/g.

Nalokson podany łącznie z D₅₀ morfiny redukował efekty jej działania w sposób silnie zależny od zastosowanej dawki, lecz nie wykazujący jednoznacznej tendencji do narastania wraz ze wzrostem dawki. Podanie 1,1 µg/g naloksonu istotnie redukowało efekt działania D₅₀ morfiny, zaś 5,5 µg/g naloksonu w pełni ten efekt blokowało. Jednakże po przekroczeniu tej dawki zdolność naloksonu

do przeciwdziałania efektom morfiny wykazywała tendencję malejącą, zaś dawki naloksonu przekraczające 21 $\mu\text{g/g}$ nie wykazywały już w ogóle takiej zdolności.

NUÑEZ i współautorzy (1983) podkreślają, że dawka morfiny konieczna dla uzyskania u pszczoły 50% spadku częstości reakcji żądlenia w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym jest bardzo wysoka. U kręgowców analogiczne efekty wywołują dawki wielokrotnie niższe (0,3–10 $\mu\text{g/g}$). Co ciekawe, dawki naloksonu potrzebne do zantagonizowania u pszczoły efektów działania D50 morfiny są natomiast zbliżone do dawek wywołujących analogiczne efekty u kręgowców. Zdaniem autorów, istnieje kilka możliwych wyjaśnień tego zjawiska: (1) morfina (ale nie nalokson) może ulegać w organizmie pszczoły szybszej degradacji niż to ma miejsce w organizmach kręgowców, (2) w organizmie pszczoły istnieją silniejsze bariery ograniczające przenikanie morfiny, (3) odmienne są właściwości receptorów opioidowych pszczoły i kręgowców.

Podanie met- i leu-enkefalin, kytorfiny oraz DAMA nie wywierało żadnego wpływu na częstość reakcji żądlenia w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym. Było to dla autorów zaskoczeniem i mogło, ich zdaniem, wynikać między innymi z tego, że związki te podawano w postaci zastrzyku do jamy tułowia, a nie wprost do mózgu.

WPLYW OPIOIDÓW NA REAKCJĘ ODSTRASZAJĄCĄ WYZWALANĄ PRZEZ DRAŻNIENIE PRĄDEM ELEKTRYCZNYM U MODLISZKI *STAGMATOPTERA BIOCELLATA*

ZABALA i współpracownicy (1984a, b) zbadali następnie wpływ morfiny i naloksonu na tak zwaną reakcję odstraszącą modliszki *Stagmatoptera biocellata* (Mantodea). Ta charakterystyczna złożona reakcja jest wyzwalana przede wszystkim w odpowiedzi na bodźce wzrokowe sygnalizujące zbliżanie się wroga naturalnego (na przykład sylwetki ptaków). Stanowi ona sekwencję następujących elementów: skierowanie czułków ku tyłowi, szerokie otwarcie narządów gębowych odsłaniające jaskrawo ubarwione żuwaczki, uniesienie przedplecza, zgięcie i rozłożenie na boki przedniej pary nóg, co powoduje uwidocznienie czarnych plamek znajdujących się na udach, uniesienie stwardniałych skrzydeł przedniej pary i rozpostarcie drugiej pary skrzydeł, skrócenie na bok i wykrzywienie odwłoka uwidaczniające znajdujące się na nim barwne prążki, strydulacja (wydawanie dźwięków przez pocieranie odwłokiem o brzegi skrzydeł) i, wreszcie, kołysanie się z boku na bok.

ZABALA i współautorzy (1984a) wykazali, że reakcja odstraszącą modliszki może się pojawić nie tylko w odpowiedzi na bodźce wzrokowe sygnalizujące zbliżanie się wroga naturalnego, lecz również w odpowiedzi na bodźce awersyjne związane z drażnieniem prądem elektrycznym. Następnie zbadali wpływ na próg tej reakcji różnych dawek morfiny i naloksonu po upływie różnego czasu od chwili ich podania. W doświadczeniach badano dorosłe samice *S. biocellata*. Modliszka była unieruchomiona w specjalnym urządzeniu, które umożliwiało automatyczną rejestrację pojawiania się reakcji odstraszącej w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym. Amplituda progowa bodźca (definiowana jako amplituda, która w odpowiedzi na trzy kolejne bodźce wyzwalala trzy pełne reakcje odstraszące) była ustalana indywidualnie dla każdej badanej modliszki po 24 godzinach od chwili jej umieszczenia w aparacie doświadczalnym. Reakcję odstraszącą uznawano za pełną, jeżeli odwłok owada był skrócony pod okre-

ślonym kątem podczas całego pięciosekundowego czasu podawania bodźca. Każdy bodziec stanowił pięciosekundowy ciąg dwufazowych impulsów o czasie trwania 1 ms dostarczanych z częstotliwością 100 Hz. Odstęp pomiędzy bodźcami wynosił 4 minuty. Stosowano amplitudy bodźca w granicach 4–16 V.

Po ustaleniu, jaka jest dla każdej modliszki amplituda progowa bodźca wyzwalającego reakcję odstraszącą, badane owady otrzymywały w postaci zastrzyku morfinę, nalokson lub oba te związki jednocześnie. Osobniki z grup kontrolnych otrzymywały zastrzyki wody destylowanej lub soli fizjologicznej. Każdą modliszkę testowano podając jej bodziec o amplitudzie progowej po upływie jednej, dwóch oraz czterech godzin od chwili wykonania zastrzyku. Jeżeli bodziec taki nie wyzwolił pełnej reakcji odstraszącej, zwiększano jego amplitudę aż do osiągnięcia przez zwierzę kryterium (trzy pełne reakcje odstrasżające w trzech kolejnych testach), ale nie więcej niż o 100%.

Morfina (w dawkach 300–400 $\mu\text{g/g}$) powodowała istotny wzrost amplitudy progowej bodźca wyzwalającego reakcję odstraszącą. Wpływ tego związku zależał silnie zarówno od zastosowanej dawki, jak i od czasu, jaki upłynął od chwili jego podania. Po dwóch godzinach od chwili podania 350 $\mu\text{g/g}$ morfiny powodowało wzrost amplitudy progowej bodźca o 50%; dawkę tę uznano za tak zwaną AD_{50} . Podobnie jak w przypadku omówionych już badań NUÑEZA i współautorów (1983), jest to dawka o wiele wyższa niż dawki wywołujące podobne efekty u kręgowców. Kilka możliwych wyjaśnień tego zjawiska zaproponowali już NUÑEZ i współautorzy (1983). ZABALA i współautorzy (1984a) wysunęli dwa dodatkowe przypuszczenia: ich zdaniem konieczność stosowania u owadów tak wysokich dawek morfiny może wynikać z bardziej powolnej dyfuzji tego związku w otwartym systemie krążenia owadów, a także ze zmiennocieplności tych zwierząt.

Nalokson podany łącznie z 350 $\mu\text{g/g}$ (AD_{50}) morfiny przeciwdziałał hamującemu wpływowi morfiny na pojawianie się reakcji odstraszącej w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym. Zdolność naloksonu do przeciwdziałania efektem morfiny rosła w zależności od dawki, ale jedynie w zakresie 16–32 $\mu\text{g/g}$; 48 $\mu\text{g/g}$ naloksonu nie powodowało już blokady działania 350 $\mu\text{g/g}$ morfiny.

Wpływ samego naloksonu na amplitudę progową bodźca awersyjnego konieczną dla wywołania u modliszki *S. biocellata* reakcji odstraszącej był również jakościowo różny w zależności od dawki. W mniejszych dawkach (16 $\mu\text{g/g}$) związek ten nie wywierał istotnego wpływu na pojawianie się reakcji odstraszącej w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym, lecz w dawce 32–64 $\mu\text{g/g}$ powodował wzrost amplitudy progowej bodźca podobny do wzrostu wywołanego przez morfinę.

W kolejnej pracy poświęconej reakcji odstraszącej modliszki *S. biocellata*, ZABALA i współpracownicy (1984b) zastosowali identyczną metodykę, jak w pracy poprzedniej. Celem tej pracy było przede wszystkim zbadanie wpływu, jaki na próg tej reakcji wywiera aminokwas arginina, gdyż przypuszczano, że może być on zbliżony do wpływu morfiny. Dla porównania zbadano więc również ponownie wpływ, jaki na próg reakcji odstraszącej wywiera 350 $\mu\text{g/g}$ (AD_{50}) morfiny, 350 $\mu\text{g/g}$ morfiny podanej jednocześnie z 32 $\mu\text{g/g}$ naloksonu oraz 32 $\mu\text{g/g}$ samego naloksonu. Wyniki tych doświadczeń niemal całkowicie potwierdziły wcześniejsze dane ZABALI i współpracowników (1984a). Także i tym razem

350 $\mu\text{g/g}$ morfiny powodowało wzrost amplitudy progowej bodźca o 50% po dwóch godzinach od chwili jej podania, zaś nalokson (32 $\mu\text{g/g}$) podany jednocześnie z 350 $\mu\text{g/g}$ morfiny redukował istotnie wpływ tego związku. Sam nalokson (32 $\mu\text{g/g}$) nie wywierał istotnego wpływu na próg reakcji odstraszałającej (w poprzednim doświadczeniu efekty działania tej dawki naloksonu były nieco silniejsze — w godzinę po podaniu podnosił on próg reakcji odstraszałającej o 50%).

DZIAŁANIE ANTYNOCYCEPCYJNE MORFINY, TOLERANCJA TEGO ZWIĄZKU I PRZYPUSZCZALNE
UZALEŻNIENIE OD NIEGO U ŚWIERSZCZY Z RODZAJU *PTERONEMOBIUS*

ZABALA i GÓMEZ (1991) badali antynocycepcyjne działanie morfiny, tolerancję tego związku i możliwość wystąpienia uzależnienia od niego u postaci dojrzałych świerszczy z nie zidentyfikowanego gatunku należącego do rodzaju *Pteronemobius*. W doświadczeniu tym zastosowano aparat składający się z dwóch części: komory, w której podwyższano temperaturę oraz z komory nie ogrzewanej. Świerszcz był wprowadzany do ogrzewanej komory za pomocą specjalnego tłoka, a następnie mierzono latencję jego reakcji ucieczki z tej komory (czyli czas od chwili wprowadzenia świerszcza do komory do chwili, w którym jego głowa przekroczyła linię dzielącą dwie połowy aparatu). W wyniku pilotowych testów uznano temperaturę 54°C za optymalną temperaturę do badania reakcji ucieczki świerszcza z ogrzanej części aparatu. Każdy z badanych świerszczy był wpierw dziewięciokrotnie wprowadzany do komory ogrzanej do temperatury 54°C, co miało mu zapewnić maksymalną adaptację do wysokiej temperatury. Po upływie 24 godzin osobnikom z grup eksperymentalnych podawano (w postaci zastrzyku do jamy odwłoka) różne dawki morfiny, naloksonu lub mieszaninę morfiny i naloksonu. Osobniki z grupy kontrolnej otrzymywały roztwór soli fizjologicznej. Następnie każdego świerszcza wprowadzano siedmiokrotnie w 30 minutowych odstępach do ogrzanej komory, mierząc każdorazowo latencję jego reakcji ucieczki.

Podanie morfiny w dawkach 350–690 $\mu\text{g/g}$ powodowało istotne wydłużenie latencji reakcji ucieczki z ogrzanej komory. Efekt ten zależał zarówno od dawki, jak i od czasu, który upłynął od momentu podania tego związku. Maksymalny efekt działania morfiny występował po 90 minutach. Całość uzyskanych danych pozwoliła autorom na dokonanie estymacji dawki morfiny, która po czasie 90 minut powodowałaby wydłużenie latencji reakcji ucieczki o 50% (D_{50}): wynosi ona około 500 $\mu\text{g/g}$. Jest to wielkość podobnego rzędu jak D_{50} morfiny powodująca 50% obniżenie częstości reakcji żądlenia w odpowiedzi na drażnienie prądem elektrycznym u pszczoły miodnej (NUÑEZ i współaut. 1983), czy AD_{50} morfiny podnosząca o 50% amplitudę progową bodźca awersyjnego wyzwalającego reakcję odstraszałającą modliszki (ZABALA i współaut. 1984a, b). Należy jednak pamiętać, że wszystkie te wielkości określane jako D_{50} czy AD_{50} nie są w pełni porównywalne, gdyż uznanie każdej z nich za D_{50} oparte było o odmienne, a ponadto w dużej mierze arbitralne kryteria.

Dawka 64 $\mu\text{g/g}$ naloksonu podana łącznie z D_{50} morfiny całkowicie blokowała wpływ morfiny na latencję reakcji ucieczki z ogrzanej komory. Sam nalokson podany w dawkach 32–64 $\mu\text{g/g}$ nie wywierał żadnego wpływu na latencję reakcji ucieczki z ogrzanej komory. 128 $\mu\text{g/g}$ naloksonu powodowało natomiast

istotny wzrost tej latencji; również i w tym doświadczeniu wyższe dawki naloksonu wywierały więc działanie analogiczne do działania morfiny.

ZABALA i GÓMEZ (1991) uważają, że wydłużenie latencji reakcji ucieczki z ogrzanej komory pod wpływem morfiny i wyższych dawek naloksonu wynika z antynocycepcyjnego czy wręcz analgestycznego działania tych związków. Od momentu, w którym D'AMOUR i SMITH (1941) opracowali tak zwany „test gorącej płytki”, reakcje na bodźce termiczne stanowią typowe modele badania nocycepcji i bólu, a także antynocycepcyjnych oraz analgestycznych efektów działania różnych związków, i to zarówno u kręgowców, jak i u bezkręgowców (KAVALIERS 1989).

ZABALA i GÓMEZ (1991) stwierdzili również u świerszczy z rodzaju *Pteronemobius* wystąpienie tolerancji na morfinę. W grupie 20 świerszczy, którym podawano codziennie 520 µg/g morfiny przez cztery kolejne dni, efekt działania tego związku malał z dnia na dzień. Czwartego dnia długość latencji reakcji ucieczki z ogrzanej komory spadła u nich do poziomu charakterystycznego dla świerszczy z grupy kontrolnej, którym podawano roztwór soli fizjologicznej. Z danych literaturowych wiadomo, że tolerancja na morfinę pojawia się po podobnym lub nieco dłuższym czasie także u innych bezkręgowców — ślimaków *Helix aspersa* (BURROWES i współaut. 1983, NDUBUKA i współaut. 1986) i *Cepaea nemoralis* (KAVALIERS i HIRST 1983, 1984, 1986).

Piątego dnia świerszcze z grupy eksperymentalnej przestały otrzymywać morfinę i podjęto próbę wykrycia u nich uzależnienia od tego związku, badając ich reaktywność na różne bodźce. Bodźce świetlne (błyski białego światła) nie wywoływały żadnych reakcji ani u świerszczy z grupy eksperymentalnej, ani u osobników z grupy kontrolnej. Również bodźce dotykowe (dotknięcie patyczkiem owiniętym watą) powodowały odchodzenie osobnika równie często w obu badanych grupach. Świerszcze z grupy eksperymentalnej wykazywały jednak wzmogoną reaktywność na bodźce dźwiękowo-wibracyjne. Gdy szklane pojemniki zawierające świerszcze uderzano jeden o drugi, wszystkie bez wyjątku osobniki z grupy eksperymentalnej zareagowały na to wykonywaniem skoków. W grupie kontrolnej takich skoków nie zaobserwowano ani razu. ZABALA i GÓMEZ (1991) uznali tę hiperreaktywność świerszczy z grupy eksperymentalnej na bodźce dźwiękowo-wibracyjne za dowód na pojawienie się u nich uzależnienia od morfiny. Ostateczne wykazanie, że u owadów może wystąpić uzależnienie od morfiny wymaga jednak dalszych, bardziej szczegółowych badań.

UWAGI KOŃCOWE

Prace badawcze dotyczące roli opioidów w zachowaniu się owadów są wciąż jeszcze bardzo nieliczne. Pozwoliły one już jednak na wykazanie, że opioidy mogą wywierać istotny wpływ na reakcje nocycepcyjne, aktywność lokomotoryczną oraz zachowania pokarmowe tych zwierząt, a także na procesy uczenia się zachodzące na poziomie pojedynczych zwojów tułowiowych. Opisano też u owadów zjawisko tolerancji na morfinę i uzyskano wstępne dane sugerujące, że u tych zwierząt może się wytworzyć uzależnienie od tego związku. Interesujący jest też fakt, że nalokson może nie tylko antagonizować działanie agonistów

opiodowych (przede wszystkim morfiny), lecz — zwłaszcza w wyższych dawkach — może sam wywierać działanie podobne jak morfina.

Nasza wiedza na temat roli opioidów w zachowaniu się owadów ma jednak wciąż jeszcze charakter niezwykle fragmentaryczny. Każda nowa praca poświęcona temu zagadnieniu może się w istotny sposób przyczynić do jej poszerzenia. Badania nad występowaniem i rolą opioidów u bezkręgowców rzucają niezwykle istotne światło na ewolucję systemów opiodowych; mogą też dostarczać cennych wskazówek odnośnie dalszych badań nad systemami opiodowymi u innych grup zwierząt, w tym także u ssaków.

THE ROLE OF OPIOIDS IN INSECT BEHAVIOUR

Summary

Opioids play an important role in the regulation of many aspects of physiology and behaviour in both invertebrates and vertebrates. The presence of opioids in various tissues and/or their role in controlling various physiological and behavioural processes has already been investigated in numerous insect species. Results of this research suggest, among others, that opioids play an important role in the regulation of insect reproduction (in particular, in the control of the reproductive cycle of the female), in the functioning of the digestive apparatus, in the regulation of the rhythm of the heart and in immunological processes. Most probably opioids also participate in the integrative functions of the central nervous system of insects (vision, olfaction, integration of multimodal sensory functions).

So far, the role of opioids in insect behaviour was investigated in relatively few studies. In the majority of the cases, the subjects of these experiments were cockroaches (*Periplaneta americana* and *Leucophaea maderae*). In *P. americana*, various opioid agonists and antagonists were found to influence grooming behaviour, locomotory activity, feeding behaviour, and learning processes occurring within an isolated thoracic ganglion controlling the movements of a single leg. In *L. maderae*, morphine and DAMA caused a decrease in locomotory activity, but DALA, cyclazocine and dynorphin stimulated locomotion. Morphine and naloxone were found to influence the frequency of the defensive stinging response released by noxious stimuli (electric shocks) in the honeybee (*Apis mellifera*), and the threshold of the defensive deimatic response released by electric shocks in the praying mantis (*Stagmatoptera biocellata*). Morphine and naloxone also influenced the latency of the escape reaction from a heated box in crickets of an unidentified species of the genus *Pteronemobius*. After having received morphine injections during four successive days, *Pteronemobius* crickets developed morphine tolerance. They also showed hyperreactivity to sound and vibrational stimuli, which was interpreted in terms of morphine addiction. The research on opioids in invertebrates provides information on the evolution of opioid systems. It may even provide important insights applicable also to other animals, including mammals.

LITERATURA

- ANDRIËS J. C., TRAMU G., 1985a. *Distribution patterns of mammalian-like peptide immunoreactive cells in the midgut of Aeshna cyanea (Insecta, Odonata)*. *Experientia* 41, 500–503.
- BALDERRAMA N., DIAZ H., SEQUEDA A., NUÑEZ J., MALDONADO H., 1990. *Behavioral and pharmacological analysis of the stinging response in Africanized and Italian bees*. [W:] KESNER R. P., OLTON D. S. (red.) *Neurobiology of comparative cognition*. Lawrence Erlbaum, Hillsdale, New Jersey, 121–128.
- BURROWES W. R., ASSANAH P., STEFANO G. B., 1983. *Behavioral effects of opiates on the land snail Helix aspersa*. *Life Sci.* 33, 381–384.
- CHAPMAN A., GONZALEZ G., BURROWES W. R., ASSANAH P., IANNONE B., LEUNG M. K., STEFANO G. B., 1984. *Alterations in high affinity binding characteristics and levels of opioids in invertebrate ganglia during ageing: evidence for an opioid compensatory mechanism*. *Cell Mol. Neurobiol.* 4, 143–155.

- COWAN A. 1993. *Effects of opioids on the spontaneous behavior of animals*. [W:] HERZ A. (red.) *Opioids. Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 104/II. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 393-428.
- D'AMATO F. R., PAVONE F. 1993. *Endogenous opioids: a proximate reward mechanism for kin selection?* *Behav. Neural Biol.* 60, 79-83.
- D'AMOUR F. E., SMITH D. C. 1941. *A method for determining loss of pain sensation*. *J. Pharm. Exp. Theor.* 72, 74-76.
- DUVE H., THORPE A. 1988. *Mapping of enkephalin-related peptides in the nervous system of the blowfly, Calliphora vomitoria, and their co-localization with cholecystokinin (CCK)- and pancreatic polypeptide (PP)-like peptides*. *Cell Tissue Res.* 251, 399-415.
- DUVE H., THORPE A. 1989. *Distribution and functional significance of Met-enkephalin-Arg⁶-Phe⁷- and Met-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸-like peptides in the blowfly Calliphora vomitoria. I. Immunocytochemical mapping of neuronal pathways in the brain*. *Cell Tissue Res.* 258, 147-161.
- DUVE H., THORPE A. 1990. *Distribution and functional significance of Met-enkephalin-Arg⁶-Phe⁷- and Met-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸-like peptides in the blowfly Calliphora vomitoria. II. Immunocytochemical mapping of neuronal pathways in the retrocerebral complex and thoracic ganglion*. *Cell Tissue Res.* 259, 147-157.
- DUVE H., THORPE A., TOBE S. S. 1991. *Immunocytochemical mapping of neuronal pathways from brain to corpora cardiaca/corpora allata in the cockroach Diploptera punctata with antisera against Met-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸*. *Cell Tissue Res.* 263, 285-291.
- EISEMANN C. H., JORENSEN W. K., MERRITT D. J., RICE M. J., CRIBB B. W., WEBB P. D., ZALUCKI M. P. 1984. *Do insects feel pain? - A biological view*. *Experientia* 40, 164-167.
- FORD R., JACKSON D. M., TETRAULT L., TORRES J. C., ASSANAH P., HARPER J., LEUNG M. K., STEFANO G. B. 1986. *A behavioral role for enkephalins in regulating locomotor activity in the insect Leucophaea maderae: evidence for high affinity kappa-like opioid binding sites*. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 61-66.
- GUMULKA W. S. 1994. *Narkotyczne leki przeciwbólowe*. [W:] *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii i farmakologii klinicznej*. W. KOSTOWSKI, P. KUBIKOWSKI (red.). Wyd. IV. Warszawa. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 670-692.
- HEYMER A. 1977. *Ethologisches Wörterbuch. Ethological Dictionary. Vocabulaire Ethologique*. Berlin and Hamburg. Paul Parey, 240 str.
- HENTSCHEL E., PENZLIN H. 1982. *Beeinflussung des Putzverhaltens bei Periplaneta americana (L.) durch Wundsetzung. Naloxon-, Morphin- und Met-Enkephalingaben*. *Zool. Jb. Physiol.* 86, 361-370.
- HORRIDGE G. A. 1962. *Learning of leg position by headless insects*. *Nature*. 193, 697-698.
- HUGHES J., SMITH T. W., KOSTERLITZ H. W., FOTHERGILL L. A., MORGAN B. A., MORRIS H. R. 1975. *Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity*. *Nature* 258, 577-579.
- JESSELL T. M., KELLY D. D. 1991. *Pain and analgesia*. [W:] *Principles of neural science*. E. R. KANDEL, J. H. SCHWARTZ, T. M. JESSELL (red.). Elsevier, New York, 385-399.
- JOSEFSSON J.-O., JOHANSSON P. 1979. *Naloxone-reversible effect of opioids on pinocytosis in Amoeba proteus*. *Nature* 282, 78-80.
- KAVALIERS M. 1988. *Evolutionary and comparative aspects of nociception*. *Brain Res. Bull.* 21, 923-931.
- KAVALIERS M. 1989. *Evolutionary aspects of the neuromodulation of nociceptive behaviors*. *Amer. Zool.* 29, 1345-1353.
- KAVALIERS M., HIRST M. 1983. *Tolerance to the morphine-influenced thermal response in the terrestrial snail, Cepaea nemoralis*. *Neuropharmacology* 22, 1321-1326.
- KAVALIERS M., HIRST M. 1984. *The presence of an opioid system mediating behavioral thermoregulation in the terrestrial snail, Cepaea nemoralis*. *Neuropharmacology* 23, 1285-1289.
- KAVALIERS M., HIRST M. 1986. *Environmental specificity of tolerance to morphine-induced analgesia in a terrestrial snail: generalization of the behavioral model of tolerance*. *Pharm. Biochem. Behav.* 25, 1201-1206.
- KAVALIERS M., HIRST M. 1987. *Slugs and snails and opiate tales: opioids and feeding behavior in invertebrates*. *Fed. Proc.* 46, 168-172.
- KAVALIERS M., GUGLICK M. A., HIRST M. 1987. *Opioid involvement in the control of feeding in an insect, the American cockroach*. *Life Sci.* 40, 665-672.
- KAVALIERS M., HIRST M., TESKEY G. C. 1985. *Opioid systems and feeding in the slug, Limax maximus: similarities to and implications for mammalian feeding*. *Brain Res. Bull.* 14, 681-685.

- KUPFERMANN I., 1991. *Learning and memory*. [W:] *Principles of neural science*. E. R. KANDEL, J. H. SCHWARTZ, T. M. JESSELL (red.), Elsevier, New York, 997-1008.
- LEROITH D., LIOTTA A. S., ROTH J., SHILOAH J., LEWIS M. E., PERT C. B., KRIEGER D. T., 1982. *Corticotropin and β -endorphin-like materials are native to unicellular organisms*. Proc. Natl. Acad. Sci. 79, 2086-2090.
- MAKMAN M. H., 1994. *Morphine receptors in immunocytes and neurons*. Adv. Neuroimmunol. 4, 69-82.
- MANSOUR A., FOX C. A., AKIL H., WATSON S. J., 1995. *Opioid-receptor m-RNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications*. TINS. 18, 22-29.
- MCGAUGH J. L., INTROINI COLLISON I. B., CASTELLANO, C., 1993. *Involvement of opioid peptides in learning and memory*. [W:] HERZ A. (red.) *Opioids. Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 104/II. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 429-447.
- MOLINA P. E., ABUMRAD N. N. 1994. *Metabolic effects of opiates and opioid peptides*. Adv. Neuroimmunol., 4, 105-116.
- NDUBUKA C., BROWN D., PRATT S., BRAHAM E., LEUNG M. K., STEFANO G. B., 1986. *Opiates stimulate food consumption in land snail *Helix aspersa**. [W:] *Progress in opioid research. Proceedings of the 1986 International Narcotics Research Conference*. HOLADAY J. W., LAW P.-Y., HERZ A. (red.) NIDA Research Monographs, Rockville, 493-496.
- NUÑEZ J., MALDONADO H., MIRALTO A., BALDERRAMA N., 1983. *The stinging response of the honeybee: effects of morphine, naloxone and some opioid peptides*. Pharm. Biochem. Beh. 19, 921-924.
- OTTAVIANI E., FRANCHINI A., SONETTI D., STEFANO G. B., 1995. *Antagonizing effect of morphine on the mobility and phagocytic activity of invertebrate immunocytes*. Eur. J. Pharmacol. 276, 35-39.
- PERT C. B., APOSHIAN D., SNYDER S. H., 1974. *Phylogenetic distribution of opiate receptor binding*. Brain Res. 75, 356-361.
- PRZEWŁOCKA B. 1994. *Funkcjonalne aspekty zmian ekspresji genów opioidowych*. [W:] *Problemy neuropsychofarmakologii*. B. PRZEWŁOCKA, W. LASON (red.), Instytut Farmakologii PAN, Kraków, 203-224.
- QUINN W. G., 1984. *Work in invertebrates on the mechanisms underlying learning*. [W:] MARLER P., TERRACE H. S. (red.) *The biology of learning. Dahlem Konferenzen 1984*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 197-246.
- RÉMY C., DUBOIS M. P., 1981. *Immunohistological evidence of methionine enkephalin-like material in the brain of the migratory locust*. Cell Tissue Res. 218, 271-278.
- SADOWSKI B., CHMURZYŃSKI J. A., 1989. *Biologiczne mechanizmy zachowania*. PWN, Warszawa, 614.
- SCHARRER B., STEFANO G. B., LEUNG M. K. 1988. *Opioid mechanisms in insects, with special attention to *Leucophaea maderae**. Cell Mol. Neurobiol. 8, 269-284.
- SHIPPENBERG T. S. 1993. *Motivational effects of opioids*. [W:] HERZ A. (red.) *Opioids. Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 104/II. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 633-650.
- SHIPPENBERG T. S., BALS-KUBIK R., 1991. *Motivational effects of opioids: neurochemical and neuroanatomical substrates*. [W:] ALMEIDA O. F. X., SHIPPENBERG T. S. (red.) *Neurobiology of opioids*. Springer-Verlag, Berlin, 331-350.
- SIMANTOV R., GOODMAN R., APOSHIAN D., SNYDER H., 1976. *Phylogenetic distribution of a morphine-like peptide „enkephalin”*. Brain Res., 111, 204-211.
- SONETTI D., OTTAVIANI E., BIANCHI F., RODRIGUEZ M., STEFANO M. L., SCHARRER B., STEFANO G. B., 1994. *Microglia in invertebrate ganglia*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 9180-9184.
- STEFANO G. B., SCHARRER B., 1981. *High affinity binding of an enkephalin analog in the cerebral ganglion of the insect *Leucophaea maderae* (Blattaria)*. Brain Res. 225, 107-114.
- STEFANO G. B., SCHARRER B., 1994. *Endogenous morphine and related opiates, a new class of chemical messengers*. Adv. Neuroimmunol. 4, 57-67.
- STEFANO G. B., SCHARRER B., ASSANAH P. 1982. *Demonstration, characterization and localization of opioid binding sites in the midgut of the insect *Leucophaea maderae* (Blattaria)*. Brain Res., 253, 205-212.
- STEFANO G. B., MELCHIORRI P., NEGRI L., HUGHES T. K., SCHARRER B. 1992. *[D-Ala²]Deltorphin I binding and pharmacological evidence for a special subtype of opioid receptor on human and invertebrate immune cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 9316-9320.
- TOKAGI H., UEDA H., AMANO H., 1979. *A novel analgesic dipeptide from bovine brain is a possible Met-enkephalin relaser*. Nature 282, 410-412.
- TINBERGEN N., IERSEL VAN, J. J. A., 1947. *Displacement reaction in the three-spined stickleback*.

- VETULANI J., 1994. *Receptory a leki*. [W:] *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii i farmakologii klinicznej*. W. KOSTOWSKI, P. KUBIKOWSKI (red.), Wyd. IV. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 76-84.
- WEISS A., PENZLIN H., 1987. *Effect of morphine and naloxone on shock avoidance learning in headless cockroaches (Periplaneta americana L.)*. *Physiol. Behav.* 39, 445-45.
- WHEELER W. M., 1911. *Ants. Their structure, development and behavior*. Columbia University Press, New York, 663 str.
- ZABALA N. A., MIRALTO A., MALDONADO H., NUÑEZ J. A., JAFFE K., CALDERON de L. C., 1984a. *Opiate receptor in praying mantis: effect of morphine and naloxone*. *Pharm. Biochem. Behav.* 20, 683-687.
- ZABALA N. A., JAFFE K., MALDONADO H., 1984b. *Arginine has a morphine-like action in insects*. *Experientia* 40, 733-734.
- ZABALA N. A., GÓMEZ M. A., 1991. *Morphine analgesia, tolerance and addiction in the cricket Pteronemobius sp. (Orthoptera, Insecta)*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40, 887-891.
- ZIPSER B., RUFF M. R., O'NEILL J. B., SMITH C. C., HIGGINS W. J., PERT C. B., 1988. *The opiate receptor: a single 110 kDa recognition molecule appears to be conserved in Tetrahymena, leech, and rat*. *Brain Res.* 463, 296-304.