

# Mulige nevroutviklingsforstyrrelser av opioider – studier *in vivo* og i nevronkulturer

Ana Sulovic



Seksjon for farmasøytisk biovitenskap  
Farmasøytisk institutt  
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

April 2018

Veiledere:

Professor Ragnhild Elisabeth Paulsen  
Førsteamanuensis Jannike Mørch Andersen  
Postdoktor Mussie Ghezu Hadera

# Sammendrag

Opioider brukes som smertestillende legemidler. De siste årene er det oppstått en «opioid-krise», med en eksponentiell økning i bruk og misbruk av opioider, særlig i USA.

Opioidavhengighet behandles med buprenorfin eller metadon (substitusjonsbehandling).

Nesten 30% av pasientene i substitusjonsbehandling er kvinner i fertil alder. Kunnskapen om hvordan slik behandling påvirker foster er mangelfull og til dels motstridende, siden barn og gravide av etiske hensyn sjeldent inkluderes i kliniske studier. I slike tilfeller er sikkerhetsstudier i dyremodeller av stor nytte.

Rotte er en veletablert dyremodell, lenge brukt i både sikkerhetsstudier generelt og i sikkerhetsstudier knyttet til opioider. I denne oppgaven ble effekten av langvarig opioid-eksponering av fosteret studert i avkom fra rotter som var implantert med en osmotisk pumpe som sikret jevn blodkonsentrasjon av enten metadon eller buprenorfin gjennom hele graviditeten. Kyllingembryoet er foreslått som en modell til *in vivo* utviklingsstudier av sentralnervesystemet. Videre blir lillehjernen omtalt som et godt valg, siden den gjennomgår alle stadier i nevronal utvikling i løpet av en kort periode. Effekten av kortvarig eksponering for opioider ble undersøkt i kyllingembryoer, ved å injisere enten metadon eller morfin i egg.

Denne oppgaven viser at morfin tas opp i hjernen til kyllingembryo etter *in ovo* injeksjon med en karakteristisk profil med to toppe, og C<sub>max</sub> 360 min etter injeksjon. Morfin var tilstede i hjernen opp til 48 timer etter injeksjon. Westernblot-analyser viste at opioidreseptoren MOR er uttrykt i dyremodellene på tidspunktene og i hjernestrukturene som er analysert. Tidskurver for proliferasjonsmarkøren PCNA, og differensieringsmarkørerene Pax6 og NR2B ble etablert i lillehjerner fra ueksponerte unge rotter. Videre ble det studert proteinuttrykk av disse markørene og proteiner knyttet til opioidenes virkningsmekanismer, MOR og pCamKII, i lillehjerne fra 7 dager gamle eksponerte rotter, samt i lillehjerne og forhjerne fra eksponerte kyllingembryo ett døgn etter siste injeksjon. Primære nevronale kulturer av kyllingforhjerne ble benyttet for å studere promotoraktivitet for Pax6 og MMP9. Det ble ikke vist noen signifikante endringer i markørene etter eksponeringer på disse tidlige tidspunktene.

Både rotte- og kyllingmodellen er egnet til undersøkelser av hjernens utvikling og effekten av eksponering for opioider. Siden mange adferdsforstyrrelser knyttet til bruk av opioider vises senere i barndom eller ungdomsalder, er en mulig vei videre å lete etter molekylære mekanismer bak dem på et senere tidspunkt i dyremodellene.