

PSILOZIBINAREN ADMINISTRAZIO AKUTUAREN ERAGINEN
EBALUAZIOA GARUN-KORTEXEAN SEROTONINA,
NORADRENALINA ETA DOPAMINA MAILAK NEURTUZ:
GARUN-MIKRODIALISIAREN BIDEZ BURUTUTAKO
IKERLANA ESNA DAUDEN SAGUETAN

Nerea Martínez Álvarez



AURKIBIDEA

1. SARRERA	1
1.1. Psilozibina	3
2. HELBURUAK	4
3. GARAPENA	5
3.1. Materialak eta metodoak	5
3.1.1. Garun-mikrodialisirako zunden muntaia	5
3.1.2. Kirurgia estereotaxikoa	6
3.1.3. <i>In vivo</i> garun-mikrodialisia	7
3.1.4. Laginen analisia	8
3.1.5. Emaizen analisi estatistikoa	9
3.2. Emaitzak	10
3.2.1. NA, DA eta 5-HT kontzentrazio basalak	10
3.2.1.1. NA maila basalak.....	10
3.2.1.2. DA maila basalak.....	10
3.2.1.3. 5-HT maila basalak.....	10
3.2.2. Psilozibinak PFCko monoamina maila extrazelularretan duen efektua	11
3.2.2.1. Psilozibinak NA maila extrazelularretan duen eragina	11
3.2.2.2. Psilozibinak DA maila extrazelularretan duen eragina	12
3.2.2.3. Psilozibinak 5-HT maila extrazelularretan duen eragina	13
3.3. Eztabaida	15
4. ONDORIOAK	18

LABURPENA

Depresioa prebalentzia altua aurkezten duen gaixotasun mental larria da. Gaitz honek garrantzi sozial handia duen arren, bere oinarri etiopatogenikoari buruzko informazio gutxi daukagu gaur egun. Horrez gain, gaixotasun honen tratamendurako farmakoen eraginkotasuna mugatua da oraindik, eta, horregatik, ekintza mekanismo ezberdinen bitartez jarduten duten antidepresibo berriak ikertzea berebizikoa da.

Psilozibina jatorri naturaleko alkaloida haluzinatzailea da, eta erabilgarritasun terapeutikoa aurkeztu du depresio errefraktarioa pairatzen duten pazienteetan. Hala ere, honen farmakologia, gainerako psikodelikoen kasuan bezala, nahiko ezezaguna da.

Lan honetan, psilozibinaren ekintza mekanismo akutua aztertu zen. Horretarako, esna zeuden sagueran, garun-mikrodialisia *in vivo* teknika erabiliz, kortex prefrontalean monoamina maila extrazelularretan psilozibinak duen eragina ebaluatu zen.

Eragin antidepresiboa eta eragin haluzinatzailea sortzeko nahikoa den dosia erabili zen, 1 mg/kg hain zuzen. Dosi honekin, ez ziren monoaminen kontzentrazioan aldaketa esanguratsurik ikusi eta horrek, beraz, psilozibinaren eraginen ekintza mekanismo akuetak, egungo antidepresiboetan ez bezala, monoaminen kontzentrazioan aldaketarik eragiten ez duela pentsarazten gaitu.

Laburdurak: dopamina (DA), noradrenalina (NA), serotonina (5-HT), hesi hematoentzefalikoa (HHE), kortex prefrontala (PFC), *nucleus accumbens* (NAc), eremu tegmental bentrala (VTA), likido zefalorakideoa (LZR), gatz-seruma (SS), *ultra high performance liquid chromatography* (UHPLC).

1. SARRERA

Depresioa prebalentzia handiko gaixotasun mental larria da. Azken hamarkadan, gaixotasun horren intzidentzia etengabe hazi da (1), eta, gaur egun, gaixotasun mental ohikoena da (2).

2019. urtean, mundu-mailan, 280 milioi pertsona inguruk depresioa pairatu zuetela kalkulatzen da; hau da, biztanleria osoaren %3,8a (3). Horietatik, %60 inguru, 170 milioi hain zuzen, emakumezkoak ziren (4) eta gainerakoak gizonak. Espainia mailan, urte horretan bertan 2,6 milioi paziente baino gehiagok depresioa pairatu zuten (biztanleria osoaren %6,04) (5), kasu horretan, %65 (1,7 milioi) emakumeak zirelarik (6).

2019az geroztik, SARS-CoV-2 birusak eragindako pandemiaren ondorioz, depresioaren prebalentziak %27,6ko igoera globala izan duela estimatzen da. Emakumeak igoera nabariena eduki dutenak izan dira, %29,8ko igoerarekin, gizonezkoena %24koa izanik (7).

Mundu mailan depresioa desgaitasun kausa nagusia kontsideratzen da (8), pazienteen eguneroko bizitza nabari oztopa baidezake familia-, lan-, zein sozializazio-arloan, ohiko gaitasun eta energiarekin jardutea ekidinez (9). Depresioa ez da beraz gogo-aldartearen ohiko gorabeherekin nahastu behar, ezta eguneroko bizitzan ager daitezkeen arazoei emandako iraupen laburreko erantzun emozionalekin ere. Izan ere, aipatutako eragozpenez gain, depresioak eragindako gertakari larriek pazienteak bere buruaz-beste egitera eraman dezakete.

Mundu mailan urtero 700.000 pertsona baino gehiago suizidatzen direla estimatzen da eta, 15-29 adin tartean, buruaz-beste egitea laugarren heriotz kausa da (8). Espainian, adin tarte horretan, heriotz ez naturalen lehenengo kausa da suizidioa. 2019. urtean, Espainia mailan 3.671 pertsonak (2.771 gizon eta 900 emakume, hain zuzen) bere buruaz-beste egin zuten (aurreko urtean baino %3,7 heriotz gehiago) (10). 2020. urtean, berriz, 3.941 heriotzen kausa izan zen suizidioa (2.930 gizon eta 1.011 emakume), hau da, 2019arekiko %7,4ko igoera (11).

Depresioaren diagnosiari dagokionez, gehien jarraitzen diren irizpideak Gaixotasun Mentalen Diagnosirako eta Estatistikarako Eskuliburuak (DMS-V) ezarritakoak dira. Bederatzi zeinu eta sintoma aipatzen dira bertan, eta horietatik gutxienez bost bi astez espresatu behar ditu pazienteak diagnostia egin dadin. Gainera, espresatutako zeinu eta sintoma horiek aurreko norbanakoaren funtzionamenduarekiko aldaketa bat suposatuta behar dute, eta, gutxienez, adierazpenetako bat gogo aldarte deprimitua edo interes edo plazer falta izan behar da (12).

Depresioak prebalentzia altua eta ondorio larriak dituen arren, horren mekanismo patologikoa ezezaguna da gaur egun. Gainera, gaixotasunaren agerpenean inplikaturako garun-aldeei eta faktore genetiko zein ingurumeneko eragileei buruzko informazioa eskasa da oraindik (13).

Hala ere, azken hiru hamarkadetan aurrerapauso handiak eman dira depresioaren teoria biologikoetan (14). Gaur egun ezaguna da faktore anitz daudela depresioaren garapenean inplikaturik, eta ez dela zirkuitu neuroanatomiko bakar baten disfuntzioan oinarritzen. Emotibitate, sari eta eiekuzio funtzioetan inplikaturiko zenbait garun gune ere identifikatu dira. Horietatik gehien ikasi direnak kortex prefrontala (PFC), hipokanpoa, amigdala eta *nucleus accumbens* (NAc) izan dira (13).

Depresioaren tratamenduari dagokionez, tratamendu farmakologikoa depresio larrian edo terapia ez-farmakologikoari erresistentzia kasuetan baino ez da lehen aukera (15), eta antidepresibo egokiena hautatzeko faktore hauek hartu behar dira kontuan: efektu desiragaitzen profila, tolerabilitatea, segurtasuna, ezaugarri farmakologikoak, aurreko tratamenduekin lortutako erantzuna (aurretik tratamendurik balego), kostea eta pazienteen preferentziak (16).

Serotoninaren birkaptazioaren inhibitzaileak (ISRS) dira orokorrean lehen aukera terapeutikoa, horiek baitira ebidentzia handiena eta arrisku/onura oreka faboragarriena dutenak. Serotonina eta noradrenalinaren birkaptazioaren inhibitzaile mixtoek eta beste antidepresibo berriek ez dute ISRSak baino eraginkortasun edo segurtasun hobea frogatu eta, horregatik, ISRSekiko intolerantzia edo porroten aurrean baino ez da gomendatzen euren erabilera. Antidepresibo triziklikoak, ordea, eragiten dituzten eragin desiragaitz larriak direla eta, depresio larri edo/eta erresistenteetan baino ez daude indikatuta (15). Farmako horiek guztiek, eragin akutu eta amankomun gisa, monoaminen kontzentrazioa handitzen dute, ekintza mekanismo ezberdinez baliatuz.

Hainbat aukera terapeutiko dauden arren, muga handiak dituzte. Muga hauen artean, aipagarrienak hurrengoak dira: antidepresibo gehienek 2-4 asteetako latentzia-denbora aurkeztea eraginkortasuna lortzeko (17), zenbait pazienteetan eraginkorrak ez izatea (depresio nagusia duten pazienteen %37ak ez dio tratamendu antidepresiboari erantzuten 6-12 aste igarota, eta %53ak ez du remisioa lortzen), eta eragin desiragaitzak maiztasun handiz agertzea (farmakologikoki trataturiko pazienteen %63ak gutxienez efektu desiragaitz bat pairatzen du) (15).

Hori dela eta, ekintza mekanismo ezberdinen bidez eragiten duten farmako antidepresibo berriak garatzea ezinbestekoa da. Azken urteotan, zenbait farmako proposatu dira helburu horrekin, eta horien artean, ketamina eta esketamina izan dira inpaktu handiena izan dutenak. Ketamina, hasiera batean, anestesiko disoziatibo moduan erabili bazen ere, dosi subanestesikoetan depresioaren hobekuntza azkarra eta mantendua eragiteko gai dela ere ikusi da (18).

Terapia farmakologiko berrien behar horrek, ekintza mekanismo ezberdinen ikerketarekin batera, psikiatria arloan iraganean oso erabiliak izan diren substantziengan interesa berri du, substantzia psikodelikoengan hain zuzen.

Psikodelikoak, 1940an azido lisergikoa (LSD) lehen aldiz sintetizatu zenetik, oso ikasiak izan dira psikiatria arloan, batez ere LSDa, psilozibina, eta meskalina. Hala ere, 1967an UN Drogei buruzko konbentzioan Kontrolpeko Substantzien Legearen I. Sailkapenean (*Schedule I, Controlled Substance Act*) sartu zirenetik, klinikan ezin preskribatzeak horiekin egindako ikerlanen kopurua nabari jaitsi du. Hala ere, 40 urte igarota, berpiztu da psikodelikoen gaineko interesa (19, 20).

2006tik aurrera, desoreka psikiatriko ez psikotikoetan hainbat aleatorizatutako entsegu kliniko kontrolatu egin dira substantzia horiekin (batez ere psilozibinarekin). Depresioa ez da salbuespena, eta literatura modernoan psilozibinaren eraginkortasuna hainbat entseguetan ebaluatu da depresioaren tratamenduan. Entsegu horietan, oro har, emaitza faboragarriak lortu dira bai eraginkortasunean [21-24] bai eraginaren mantenimenduan (22).

Adibide moduan, Carhart-Harris-en ikertaldeak 2016. urtean burututako entsegu klinikoak aipa dezakegu. Kontrolik gabeko entsegu ireki horretan, tratamenduari erresistentea zitzaien depresio nagusia, moderatu/larria, unipolarra, pairatzen zuten pazienteetan, aho-bidez emandako psilozibinaren administrazioak zeukan efektua determinatu zen.

Parte hartu zuten pazienteetan, tratamendua jaso eta aste betera zein hiru hilabetetara, sintoma depresiboen murrizketa ematen zela behatu zen. Horrez gain, antsietatean eta anhedonian ere hobekuntza nabari eta mantendua sumatu zen (21) eta, gainera, egindako entseguaren jarraipenean, efektu antidepressiboa tratamendu osteko 6 hilabeteetan mantentzen zela ikusi zen (22).

1.1. Psilozibina

Psilozibina jatorri naturaleko alkaloidetako triptaminiko haluzinatzailea da. Hainbat onddo familiatan aurki daiteke, baina *Psilocybe* generoko onddoak dira potenteenak.

Farmakozinetikari dagokionez, ezaguna da psilozibinak, behin irentsita, gibelean lehen pausuko metabolismoa jasaten duela; bertan azkar desfosforilatuz. Desfosforilazio horren ondorioz, psilozina izeneko metabolito aktiboa sortzen da (**1. Irudia**). Psilozina efektu psikoaktiboaren eragile nagusia dela uste da; izan ere, hori da zirkulazio sistemikora igaro eta, hesi hematoentzefalikoa (HHE) zeharkatuz, nerbio sistema zentralera heltzen dena.



1.Irudia. *Psilocybe semilanceata* (Copyright © 2012 Alan Rockefeller) onddoa eta psilozibinaren psilozina sortzeko desfosforilazio erreakzioa.

Psilozibinak, beraz, berezko aktibitate farmakologikoa eduki dezakeen arren, batez ere psilozinaren profarmako gisa jokatzeko duela ikusi da (25).

Farmakodinamiari dagokionez, droga psikodeliko gehienek itua 5-HT_{2A} hartzaileak dira, gehienak baitira hartzaile serotonergiko horien agonistak. Beste hainbat hartzaile serotonergikoekin elkarrengaitzeko gai ere badira, 5-HT_{1A} eta 5-HT_{2B} esaterako, non agonista osoak edo partzialak diren. Hala ere, euren efektu psikodelikoa 5-HT_{2A} hartzaileek bideratzen dutela uste da (26).

Psilozinak, antzeko efektu psikoaktiboak dituzten gainerako drogek bezala, hartzaile serotonergikoekiko dauka afinitate handiena, 5-HT_{1D,2A,2B,2C,5,6,7} hartzaileekiko zehatz mehatz. 5-HT_{1A,1B} hartzaileekiko afinitate ertaina ere badauka eta, horiei ez ezik, H₁ hartzaile histaminergikoekin, D₃ dopaminergikoekin eta $\alpha_{2A,2B}$ adrenergikoekin ere lotu daiteke. Horrez gain, sodioaren menpeko diren serotonina garraiatzaileak inhibitzeko gai da. Hori dela eta, serotoninaren (5-HT) askapena estimulatzen bada, guneko sinaptikoan 5-HTaren kontzentrazioak handitzea eragigo luke (25).

Gainerako psikodelikoen kasuan bezala, psilozibinaren farmakologia oso konplexua da, eta nahiko ezezaguna oraindik. Gainera, depresioan eragin faboragarriak dituela frogatu duen arren, horiek sortzeko baliatzen duen ekintza mekanismoa ezezaguna da gaur egun.

2. HELBURUAK

Proiektu honen helburu orokorra psilozibinaren eragin akutuen ekintza mekanismoa aztertzea da.

Momenturarte, depresioaren tratamenduan erabilitako farmako eraginkor gehienek sistema monoaminergikoan nolabaiteko eragina dutenez (17), lan honetan psilozibinaren administrazio

akutuak noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) eta dopamina (DA) mailetan duen inpaktua aztertuko da. Horretarako, esna dauden saguen PFCan, *in vivo* garun- mikrodialisi teknika erabiliko da.

3. GARAPENA

3.1. Materialak eta metodoak

Garun-mikrodialisia *in vivo* lagintze teknika bioanalitiko da. Teknika horrek garunean ematen diren aldaketa kimikoen monitorizazio jarraitua baimentzen du, substantzia endogenoak konpartimendu extrazelularretik laginduz (27).

Kasu honetan, beraz, esna dauden saguen PFCan psilozibinaren administrazio akutuak NA, 5-HT eta DA mailetan duen inpaktua ebaluatu nahi zenez, aukera aproposa zen garun-mikrodialisia.

Ikerlan hau burutzeko, Euskal Herriko Unibertsitateko (UPV/EHU) albaitegian jasotako 26 C57BL/6 sagu ar erabili ziren. Animalien zaintza eta experimentazio protokoloak Europar Batasunak (2010/63/EU) eta estatuko gobernuak (E.D. 53/2013) ikerkuntzarako animalien maneirako ezarritako jarraibideak bete zituzten eta Euskal Herriko Unibertsitateko Animaliekin egiten den Esperimentaziorako Etika Batzordea (AEEB) onetsi zituen (CEEA: M20_2020_014). Gainera, horrek barne hartzen duen Russel eta Burch-ek (1959) proposatutako 3R (*Replacement, Reduction & Refinement*) metodologia aplikatu zen.

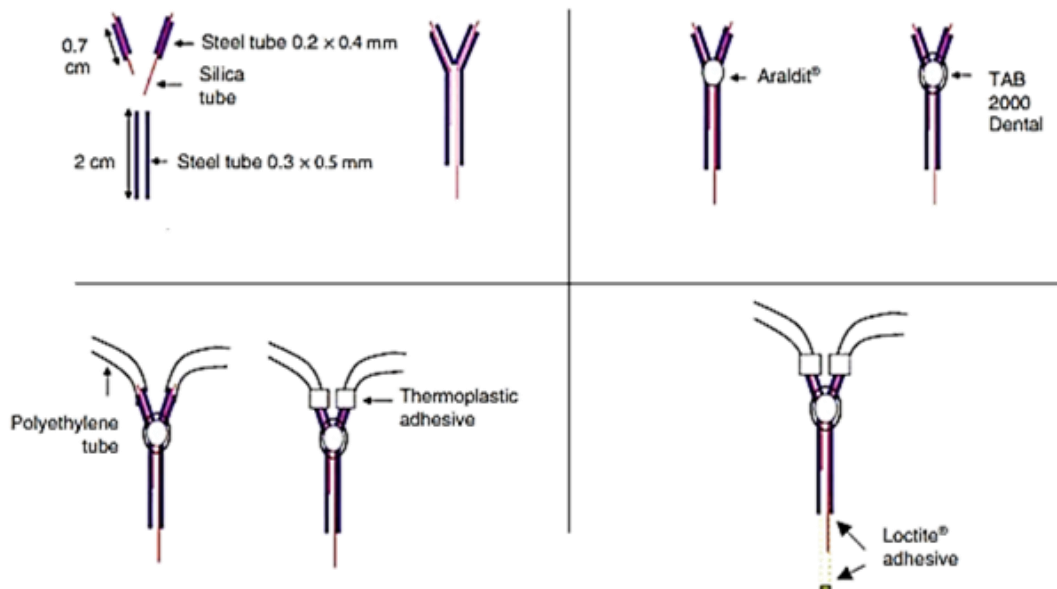
Sagu horiei, kirurgia estereotaxikoaren bidez, PFCan UPV/EHU eskuz egindako garun mikrodialisirako zunda zentrokideak inplantatu zitzaizkien. Mugimendu askea baimentzen zuen mikrodialisi ekipoa erabili zen laginen bilketarako eta zehaztapen handiko kromatografia likidoa (UHPLC), detektagailu elektrokimikoari lotua, laginen analisirako. Lortutako emaitzak, bide bakarreko eta bi bidetako ANOVA analisi estatistikoaren bidez aztertu ziren.

3.1.1. Garun-mikrodialisirako zunden muntaia

Mikrodialisi zunden oinarrizko egitura bi silika harizpi zentrokide dira, puntan mintz erdiiragazkor bat dutenak (27). Zunden muntaian lehenengo pausua silika harizpiak altzairu herdoilgaitzez osaturiko tutuen barnean babestea da, "Y" itxura duen egitura osatuz. **(2.irudia)**. Silika harizpi batek "IN" atala osatuko du (perfusiorako atala) eta besteak, berriz, "OUT" atala (laginak jasotzeko atala). Silikak eta altzairuzko tutuak antolatzerakoan, kontuan hartu behar dugu "OUT" atala osatzen duen silikaren 2 mm agerian utzi behar direla (hauxe

baita saguen PFCraino barneratzeko beharrezkoa den luzeera). Ondoren, “IN” eta “OUT” atalei polietilenoazko hodiak gehitzen zaizkie. Hodiok altzairu herdoilgaitzera fixatzeko, urtze puntu baxuko pegamentu termikoa erabiltzen da.

Amaitzeko, diseziorako mikroskopiaoz lagunduta, behekaldean ikusgai utzi ditugun “OUT” silikaren 2mm-ak inguratuz, mikrodialisirako cuprophan® mintza ezarri behar da (27, 28).



2. Irudia: Mikrodialisirako zunda zentrokideen muntaia pausuz pausu azaltzen duen eskema grafikoa. Ortega et al.-etik lortutako moldatutako irudia (27).

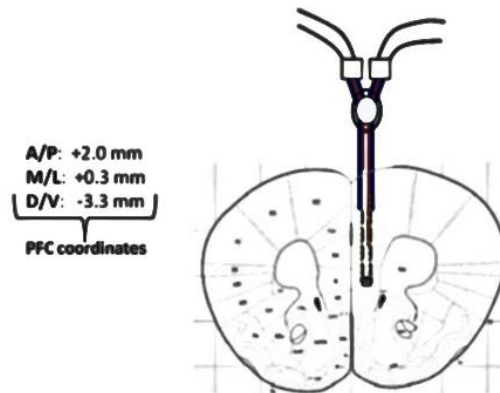
3.1.2. Kirurgia estereotaxikoa

Mikrodialisirako zunden inplantaziorako, kirurgia aurretik, saguei inhalazio bidezko isoflurano %4-ko dosia administratu zitzaieen lokartzeko, indukzio ganbera erabiliz. Behin anestesiatur, Kopf® euskarri estereotaxikoan (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, E.E.U.U.) kokatu ziren. Animaliak lokartuta mantentzeko, anestesia maskararen bidez, %1,5 isoflurano dosia administratu zitzaieen (29).

Bisturiaz lagunduta (antiseptiko moduan 96° alkohola erabiliz) gazezurra agerian uzteko ebakidura sagitala egin zen (begien atzetik belarrietaraino), Lambda eta Bregma puntuak lokalizatu ziren, eta, horien arteko altuera diferentzia kontuan hartuz, buruaren posizioa ajustatu zitzaieen (28).

Atlas estereotaxikoaz baliatuz, zunda kokatu zen saguen PFCan, aurrez ezarriak izan ziren hiru dimentsioetako koordinatu estereotaxiko egokiak erabiliz (**3. Irudia**):

- Aurretik atzerako kooordenatua (A/P): Bregmatik +2,0 mm.
- Koordenatu medial laterala (M/L): Bregmatik +0,3 mm.
- Koordenatu dortsobentrala (D/V): Garezuretik -3,3 mm.



3. Irudia: Saguen PFCan zundak ezartzeko hiru dimentsioetako koordenatu estereotaxikoak. Pérez del Palomarretik hartutako irudia (29).

Koordenatu horiek jarraituz inplantatu ziren zundak. Fixatzen laguntzeko, torloju burubiribil bat ezarri zen, zundaren inplantazio tokitik hurbil. Horrez gain, plastikozko “oskola”-z eta zementu dentalaz estali ziren, egiturari zurruntasuna emateko (29).

3.1.3. *In vivo* garun-mikrodialisia

In vivo garun-mikrodialisia egiten hasi aurretik, animaliei kirurgia estereotaxikotik errekuperatzen utzi zitzaien 20-24 orduz. *In vivo* garun-mikrodialisian, fluxu jarraia erabiliz, aztertu nahi ziren analitorik gabeko likido zefalorakideo (LZR) artifiziaia perfunditu zitzaien animaliei. LZR artifiziaia, kirurgia estereotaxikoaz baliatuz, ezarritako zundaren “IN” ataletik “OUT” ataleraino pasarazi zen. Bidean, PFCan barneratutako zundaren ataletik igarotzen zen. Bertan, Fick-en difusioaren legeak jarraituz, silika inguratzen zuen mintz erdiiragazkorrean zehar difusio pasiboz difunditzen ziren pisu molekular baxuko substantziak (guk neurtu nahi genituen monoaminak barne) (27).

Gure kasuan, LZRa 1,25 $\mu\text{L}/\text{min}$ -ko lan fluxuan perfunditu zen (0,25 $\mu\text{L}/\text{min}$ -ko atsedean fluxua erabili zelarik). LZR artifiziaia prestatzeko 148 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,2 mM CaCl_2 eta 0,85 mM MgCl_2 disoluzioa erabili zen, eta pH 7,4an doitu zen, 1 mM K_2HPO_4 erabiliz (29).

Bi ordutako egonkortze denbora (1,25 $\mu\text{L}/\text{min}$ -ko fluxuan) itxaron zen laginak biltzen hasi aurretik. Bi ordu horiek igarota, 12,5 minuturo laginak jaso ziren, eta 15,6 μL dializatu bildu

ziren. Laginen bilketarako kontserbatzaile moduan 0,1 N HCl 5 μ L zeukaten mikrobialak erabili ziren (bolumen totala=20,6 μ L).

Esperimentuaren diseinuari dagokionez, saguak lau taldetan banatu ziren, jaso behar zuten tratamenduaren arabera: kontrol taldea, psilozibina taldea, MDL11939 (5-HT_{2A} hartzaileen antagonista) taldea eta blokeo taldea (psilozibina + MDL11939). Sagu guztiek bi ziztada intraperitoneal jaso zituzten (guztiek manipulazio eta estres maila bera paira zezaten): lehenengoa 87,5. minutuan eta bigarrena 125. minutuan. Taldearen arabera jasotako tratamendua hau izan zen:

- Kontrol taldea: gatz-seruma (SS), bi ziztada (5 mL/kg bakoitza).
- Psilozibina taldea: psilozibina (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta SS (5 mL/kg) bigarrean.
- MDL11939 taldea: MDL11939 (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta SS (10 mL/kg) bigarrean.
- Blokeo taldea: MDL11939 (1 mg/kg) lehenengo ziztadan eta psilozibina (1 mg/kg) bigarrean.

Farmakoen administrazioa burutu aurretik 8 lagin jaso ziren. Lagin horiekin, sagu bakoitzaren monoaminen kontzentrazio basalak zehaztu ziren.

3.1.4. Laginen analisisia

Laginen analisirako, ALEXYS™ UHPLC ekipoa erabili zen. Horrek, analitoen analisi kualitatiboa (analitoak euren erretentzio denboraren arabera banatuz) zein kuantitatiboa (detekzio elektrokimikoa erabiliz analitoen kontzentrazioa determinatzeko) baimentzen du.

Kromatografia burutzerakoan, ezinbestekoa da bai fase mugikorraren bai fase geldikorraren hautaketa egokia egitea. Kromatografia likidoan, fase geldikorra zutabe kromatografikoa (C18 zutabea kasu honetan) da, eta mugikorra, berriz, fluxu jarraian sisteman zehar pasarazten den likidoa, konposaketa ezaguna duena (27).

Gure kasuan, 2 L fase mugikor prestatu ziren aldi bakoitzean: 0,0744g EDTA, 13,72 mL %85 azido fosforiko, 42,04 g azido zitriko, 100mL %5 azetonitrilo, 300 mg sodio oktil sulfato erabiliz, eta pHa %50 NaOH erabiliz 6an doitu zen. Erabilitako lan fluxua 0,75 μ L/min izan zen.

UHPLC ekipoa 8 μ L ziztatzen ditu sisteman injekzio bakoitzean, eta bakoitzeko kromatograma bat lortzen da. Kromatograma horietan, monoamina bakoitza tontor moduan agertuko da dagokion denboran (t_{NA} =1,6 min, t_{DA} =4,2 min eta t_{5-HT} = 9,1 min egoera

experimental honetan). Tontor horrek daukan azalera, analitoaren kontzentrazioaren adierazle izango da.

Laginen analisia egin baino lehen, LZR artifiziale (bai kontserbatzailearekin bai kontserbatzailerik gabe) ziztatu zen, kontaminaziorik gertatu ez zela ziurtatzeko. Horrez gain, kurben azalera eta analitoen kontzentrazioa erlazionatzen zituen zuzena eraikitzeke, kontzentrazio ezaguneko patroik disoluzioak analizatu ziren; 5-HT, NA eta DA analitoen kontzentrazio ezaguneko 8 patroik, hain zuzen. Analizatutako kontzentrazioak hauek izan ziren: 0,05 nM, 0,1 nM, 0,25 nM, 0,5 nM, 1 nM, 2,5 nM, 5 nM eta 10 nM. Patroiak LZR artifizialearekin prestatu ziren, eta, gainera, %14,2 kontserbatzaile gehitu zitzairen.

Bi aldiz ziztatu ziren patroiak (hasieran eta buekaeran LZRa hutsa ziztatuz, kontaminaziorik gabe mantentzen zela ziurtatzeko) lortutako balioak kontrastatzeko, eta ekipoak ziztada bolumen bera mantentzen zuela ziurtatzeko.

Bukatzeko, laginen analisia burutu zen, analisien zehaztapen denbora 18 minutukoa izan zelarik.

3.1.5. Emaizten analisi estatistikoa

Aztergai genituen monoaminen (NA, DA, 5HT) erreferentziazko balioak ezartzeko, sagu bakoitzetik garun-mikrodialisian lortutako lehenengo zortzi laginen batezbestekoa kalkulatu zen, eta batezbesteko horri %100 balio basala eman zitzaion. Neurtutako monoaminak balio basalekiko kalkulaturako batezbesteko portzentaje \pm S.E.M. moduan adierazi ziren.

Emaizten analisi estatistikoa Graphpad Prism IX (GraphPad Software, San Diego, CA, EEUU) programaren bidez burutu zen.

Erabilitako saguen arteko diferentzia esanguratsurik zegoen aztertzeke, saguen balio basalak (nM-etan adierazita) bide bakarreke ANOVA erabiliz konparatu ziren.

Taldeen arteko ezberdintasunak aztertzeke, berriz, kurba azpiko azalera (AUC) kalkulatu ziren, portzentajetan normalizatutako balioak erabiliz, eta bi bideetako ANOVA burutu zen. Kurba azpiko azaleren kalkulurako azken lau basalak baino ez ziren kontuan hartu. Aldagaiak psilozibina (jaso ala ez) eta MDL11939 (jaso ala ez) izan ziren. Emaiztak F gisa adierazi ziren: F_i (tratamenduen arteko interakzioa), F_{psilo} (psilozibinaren eragina) eta F_{MDL} (MDL11939aren eragina).

Horrez gain, jasotako tratamenduek denboran zehar zeukaten eragina aztertzeke bi bideetako ANOVA hiru aldiz gehiago burutu zen, monoamina bakoitzeko bana. Kasu horretan, ANOVA bakoitzaren aldagaiak, hauek izan ziren hurrenez hurren: psilozibina (jaso edo ez) eta

denbora, MDL (jaso edo ez) eta denbora, eta MDL psilozibinarekin edo psilozibina gabe eta denbora izan ziren. Emaizak kasu horretan ere F moduan adierazi ziren: F_i (tratamenduaren eta denboraren arteko interakzioa), F_t (tratamenduaren eragina) eta F_{denb} (denboraren eragina).

Lortutako emaitzen artean ezberdintasuna esanguratsua zen ala ez determinatzeko ezarritako p balioa $p < 0,05$ izan zen.

3.2. Emaizak

3.2.1. NA, DA eta 5-HT kontzentrazio basalak

Erabilitako animalien artean ezberdintasun esanguratsurik ez zegoela ziurtatzeko, administrazioaren aurretik lortutako lagin basalen NA, DA eta 5-HT mailak neurtu ziren, eta talde esperimentalak euren artean konparatu ziren bide bakarreko ANOVA erabiliz (**4. Irudia**).

3.2.1.1. NA maila basalak

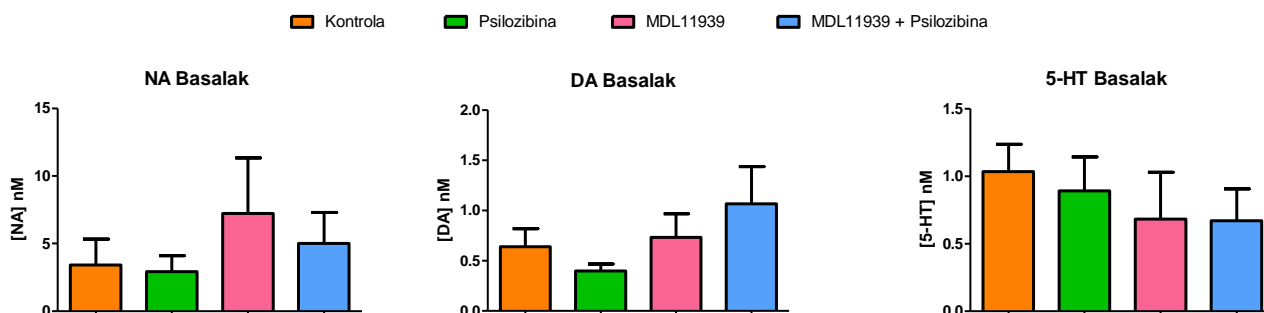
NA maila basalak konparatzean, ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik topatu psilozibinarekin tratatutako taldearen ($2,928 \pm 1,164$ nM; $n=5$), MDLrekin tratatutako taldearen ($7,237 \pm 4,108$ nM; $n=4$), MDL eta psilozibinarekin tratatutako taldearen ($5,003 \pm 2,296$ nM; $n=7$) eta kontrol taldearen ($3,414 \pm 1,912$ nM; $n=9$) artean ($F[3,24]=0,532$; $p=0,665$).

3.2.1.2. DA maila basalak

DA mailak neurtu eta lortutako emaitzak konparatzean ere, ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik ikusi psilozibinarekin tratatutako taldearen ($0,397 \pm 0,071$ nM; $n=5$), MDLrekin tratatutako taldearen ($0,733 \pm 0,236$ nM; $n=4$), MDL eta psilozibinarekin tratatutako taldearen ($1,068 \pm 0,369$ nM; $n=7$) eta kontrol taldearen ($0,639 \pm 0,181$ nM; $n=7$) artean ($F[3,22] = 1,137$; $p = 0.359$).

3.2.1.3. 5-HT maila basalak

5-HTren maila basalen kasuan ere ez zen estatistikoki esanguratsua zen ezberdintasunik topatu psilozibinarekin tratatutako taldea ($0,892 \pm 0,251$ nM; $n=4$), MDLrekin tratatutako taldea ($0,682 \pm 0,345$ nM; $n=3$), MDL eta psilozibinarekin tratatutako taldea ($0,671 \pm 0,236$ nM; $n=5$) eta kontrol taldea ($1,035 \pm 0,201$ nM; $n=5$) konparatzean ($F[3,16] = 0,533$; $p = 0,668$).



4. Irudia: PFC-an kontrol, psilozibina, MDL11939 eta MDL11939 + psilozibina taldeetan neurtutako NA, DA eta 5-HT kontzentrazio extrazelular basalak (nM), hurrenez hurren. Emaitzak batazbesteko \pm SEM moduan adierazi dira eta $p < 0,05$ esanguratasun baliotzat hartu da.

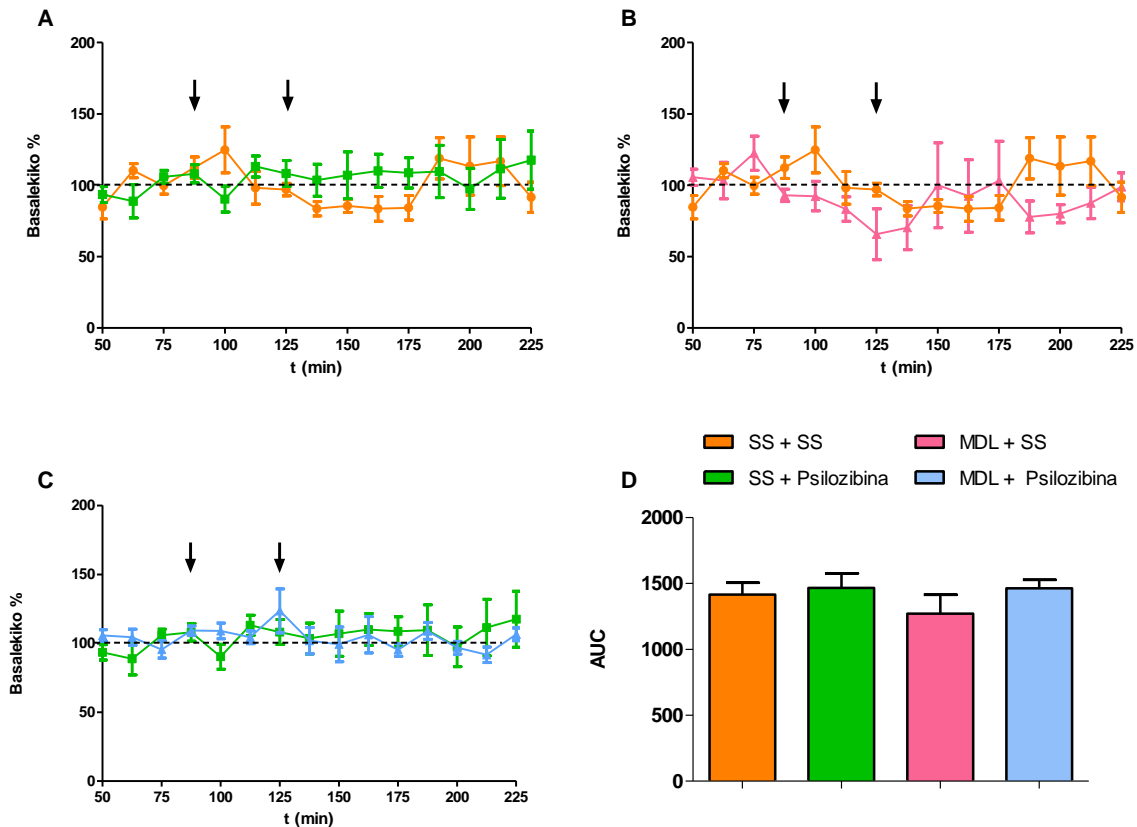
3.2.2. Psilozibinak PFCko monoamina maila extrazelularretan duen efektua.

Intraperitonealki administratutako 1 mg/kg psilozibinak duen eragina aztertzeko, PFCan garun-mikrodialisiaren bidez monoamina maila extrazelularrak neurtu ziren, farmakoa eman aurretik eta ondoren. Tratamenduek denboran zehar aldaketarik eragiten zuten azertu zen (taldeak binaka konparatuz: kontrola eta psilozibina jaso zuena, kontrola eta MDL11939 jaso zuena, eta psilozibina eta MDL+psilozibina jaso zuena). Horrez gain, lau talde experimentaletan monoamina bakoitzarentzat denboran zehar lortutako bailoak konparatu ziren jasotako tratamenduen (psilozibina edo/eta MLD11939) eragina aztertzeko.

3.2.2.1. Psilozibinak NA maila extrazelularretan duen eragina

Tratamenduak eta denborak NA maila extrazelularretan zeukaten eragina aztertzean, kontrol taldearen eta psilozibina jaso zuen taldearen artean ez zen ezberdintasun esanguratsurik antzeman ($F_i[14, 182]=1,067$; $p=0,392$; $F_i[1,182]=0,949$; $p=0,332$; $F_{denb}[14, 182]=0,648$; $p=0,821$), ezta MDL11939 jaso zuen taldea eta kontrol taldea ($F_i[14, 166]=1,183$; $p=0,2947$; $F_i[1, 166]=2,592$; $p=0,11$; $F_{denb}[14, 166]=0,877$; $p=0,585$) edo MDL11939 eta MDL11939+psilozibina jaso zuten taldeak ($F_i[14, 166]=0,578$; $p=0,879$; $F_i[1, 166]=0,055$; $p=0,815$; $F_{denb}[14, 166]=0,542$; $p=0,9041$) konparatzean ere. Era berean, lau talde experimentalak konparatzean, jasotako tratamenduak (psilozibina 1 mg/kg zein MDL11939 1 mg/kg, intraperitonealki administratuta) ez zuen estatistikoki esanguratsua zen aldaketarik eragin NA maila extrazelularretan ($F_i[1, 22]= 0,477$; $p= 0,498$; $F_{Psilo}[1, 22] = 1,439$; $p= 0,245$; $F_{MDL}[1, 22]= 0,509$; $p= 0,484$) (**5. Irudia**).

NA

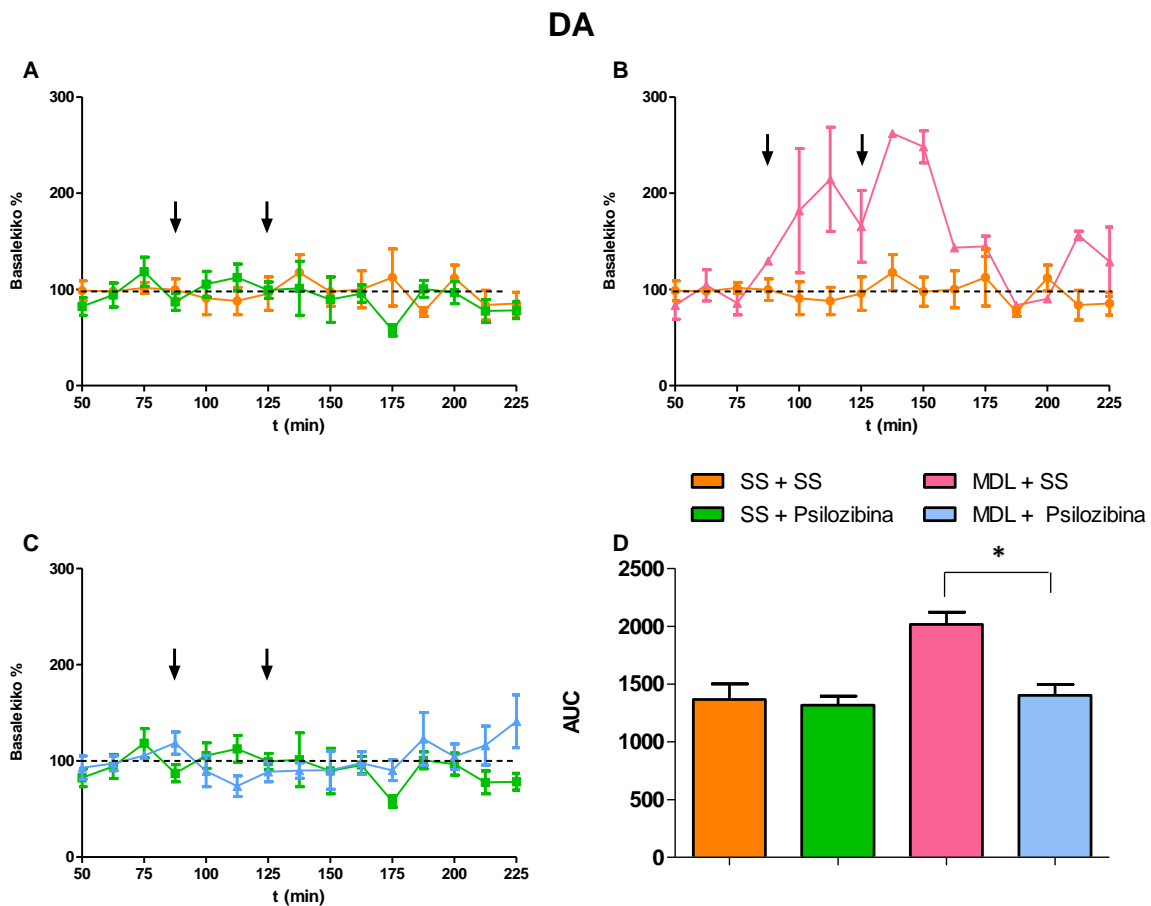


5. Irudia. Psilozibina 1 mg/kg administrazio intraperitoealaren eragina PFCan neurtutako NA maila extrazelularretan. Puntuak denboran zeharreko ehuneko batzbesteko balio \pm SEM moduan daude adierazita. Konparatutako taldeak hurrengoak izan ziren: SS bi ziztada eta SS+Psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak **(A)**, SS bi ziztada eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) jaso zutenak **(B)** eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) eta MDL11939 (1mg/kg) + psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak **(C)**. Barra-grafikoak lau talde experimentalen AUCen batzbesteko balioak \pm SEM adierazten ditu **(D)**.

3.2.2.2. Psilozibinak DA maila extrazelularretan duen eragina

Neurtutako DA maila extrazelularretan, ez ezberdintasun esanguratsurik antzeman kontrol taldean eta psilozibina jaso zuen taldean tratamenduak eta denborak zuten eragina aztertzean ($F_{i[14, 179]}=0,796$; $p=0,672$; $F_{i[1, 179]}=0,546$; $p=0,461$; $F_{denb[14, 179]}=0,670$; $p=0,801$), ezta MDL11939 eta MDL11939+psilozibina jaso zutenak konparatzean ($F_{i[14, 162]}=1,428$; $p=0,148$; $F_{i[1, 162]}=2,137$; $p=0,146$; $F_{denb[14, 162]}=0,788$; $p=0,680$) ere. MDL11939 jaso zuen taldea eta kontrol taldea konparatzean, ordea, ezberdintasun esanguratsuak aurkitu ziren, bai tratamenduak denboran zehar duen eragina alderatzean eta baita horien arteko elkarreraginean ere ($F_{i[14, 149]}=3,637$ $p<0.0001$; $F_{i[1, 149]}=43,29$; $p<0.0001$; $F_{denb[14, 149]}=4,140$; $p<0.0001$). Izan ere, MDL11939 jaso zuen taldean administrazioa eta gero DA mailen igoera ikusi zen ($E_{max}=262,260 \pm 0,000$). Lau talde experimentalak konparatzean,

gainera, tratamenduak eragindako aldaketa estatistikoki esanguratsuak ikusi ziren, bai tratamendu bakoitza aztertzean eta baita horien arteko elkarreraginean ere ($F_{i[1, 21]}=5,869$; $p=0,026$; $F_{Psilo}[1, 21]=8,176$; $p=0,010$; $F_{MDL}[1, 21]=9,986$; $p=0,005$) (**6. Irudia**).

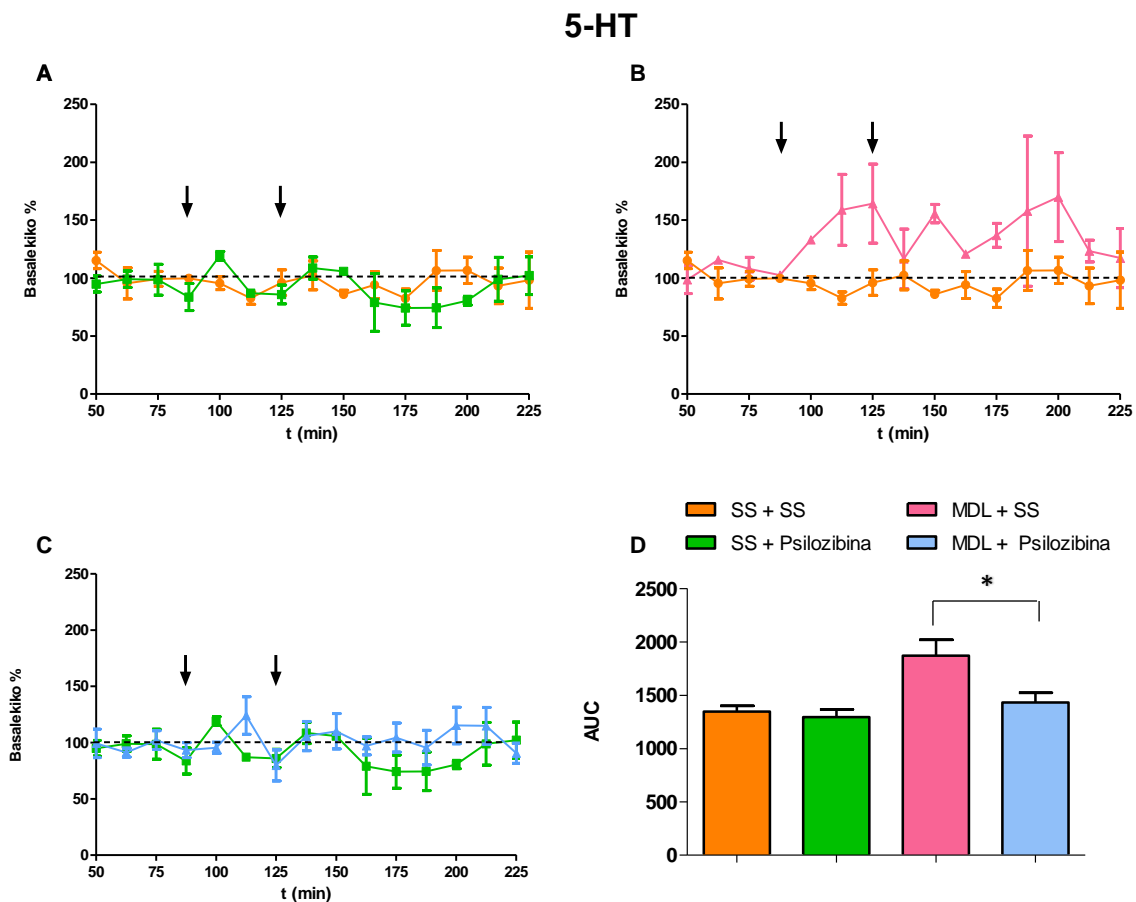


6. Irudia. Psilozibina 1 mg/kg administrazio intraperitonealaren eragina PFCan neurtutako DA maila extrazelularretan. Puntuak denboran zeharreko ehuneko batzbesteko balio \pm SEM moduan daude adierazita. Konparatutako taldeak hurrengoak izan ziren: SS bi ziztada eta SS+Psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak (**A**), SS bi ziztada eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) jaso zutenak (**B**) eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) eta MDL11939 (1mg/kg) + psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak (**C**). Barra-grafikoak lau talde experimentalen AUCen batzbesteko balioak \pm SEM adierazten ditu (* $p < 0.05$) (**D**).

3.2.2.3. Psilozibinak 5-HT maila extrazelularretan duen eragina

5-HT maila extrazelularretan ere, DA eta NA mailen kasuan bezala, tratamenduak denboran zehar zuen eragina aztertzean, ez zen ezberdintasunik antzeman kontrol taldearen eta psilozibina jaso zuen taldearen artean ($F_{i[14, 144]}=0,735$; $p=0,736$; $F_{i[1, 144]}=0,758$; $p=0,386$; $F_{denb[14, 144]}=0,766$; $p=0,704$), ezta MDL11939 eta MDL11939+psilozibina jaso zutenen

artean ere ($F_i[14, 144]=0,821$; $p=0,645$; $F_t[1, 144]=3,358$; $p=0,070$; $F_{denb}[14, 144]=0,763$; $p=0,706$). MDL11939 jaso zuen taldea eta kontrol taldea konparatzean, aldiz, estatistikoki esanguratsua zen 5-HT mailen igoera ikusi zen MDL11939 jaso zuen taldean ($E_{max}=169,893 \pm 38.371$) ($F_i[14, 131]= 1,300$; $p= 0,220$; $F_t[1, 131] = 30,83$; $p < 0.0001$; $F_{denb}[14, 131]= 0,875$; $p= 0,588$). Gainera, DA kasuan bezala, estatistikoki esanguratsuak ziren aldaketak ikusi ziren lau talde experimentalak konparatzean, bai tratamendu bakoitza aztertzean eta baita horien arteko elkarreraginean ere ($F_i[1, 18]= 4,576$; $p= 0,049$; $F_{Psilo}[1, 18] =7,481$; $p=0,015$; $F_{MDL}[1, 18]=13,430$; $p=0,002$) (**7. Irudia**).



7. Irudia. Psilozibina 1 mg/kg administrazio intraperitoealaren eragina PFCan neurtutako 5-HT maila extrazelularretan. Puntuak denboran zeharreko ehuneko batzbesteko balio \pm SEM moduan daude adierazita. Konparatutako taldeak hurrengoak izan ziren: SS bi ziztada eta SS+Psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak (**A**), SS bi ziztada eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) jaso zutenak (**B**) eta SS+MDL11939 (1 mg/kg) eta MDL11939 (1mg/kg) + psilozibina (1 mg/kg) jaso zutenak (**C**). Barra-grafikoak lau talde experimentalen AUCen batzbesteko balioak \pm SEM adierazten ditu (* $p < 0.05$) (**D**).

3.3. Eztabaida

Ikerlan honetan psilozibinaren administrazio akutuak PFCko monoamina maila extrazelularretan duen eragina aztertu zen. Horretarako, psilozibina 1 mg/kg administratu zitzaien intraperitonealki C57BL/6J sagu arrei. Horrez gain, psilozibinaren eragin akutuen mekanikoa aztertzeko helburuarekin planteatu zenez, psilozibinak lotzen dituen 5-HT_{2A} hartzailen esku-hartze posiblea aztertu zen antagonista (MDL11939 1 mg/kg) administratuta.

Psilozibina eragin haluzinatzaile potentea duen substantzia psikodelikoa da. Gizakietan, dosi baxuetan, ezaguna da eragin psikologiko sakonak eta pertzepzioan alterazio nabariak eragiten dituela (30), eta, gainera, paziente deprimituetan sintoma depresiboen hobekuntza sortzeko gai dela frogatu da, berriki, hainbat entsegu klinikoetan (21).

Animalia erduei buruz ari garenean, karraskariei buruz hain zuzen, eragin psikologiko horiek azterzea gizakietan baino zailagoa izan ohi da. Hala ere, hainbat portaera froga diseinatu dira eragin haluzinatzaile eta antidepresiboak animalietan ikertzeko. Karraskarietan zenbait substantziekin agertzen den *head-twitch response* (HTR) horien adibide da. HTR buruaren alde batetik besterako mugimendu rotazionala da, 5-HT_{2A} hartzailen aktibazioaren indikatzaile kontsideratzen dena, eta substantzia batek gizakian eragin haluzinogenoa izango duen auresateko froga erabilgarria dena (31, 32).

Eragin antidepresiboen ikerketari dagokionez, beste hainbat portaera froga aukera daitezke. Froga horien artean, behartutako igeriketa edo buztanetik zintzilikatzea topa ditzakegu, eragin antidepresiboak behatzeko entsegu simple hoberenak kontsideratu ohi direnak (33).

Lan honetan, aurretik aipatutako frogen emaitzetaz baliatuz, animalietan nolabaiteko eragin antidepresiboa (atzeratua bada ere) eta haluzinatzailea indultzeko nahikoa zen dosia hautatu zen, 1 mg/kg-ko psilozibina dosia, hain zuzen ere.

2010ean Halberstadt et al.-ek C57BL/6J sagu arretan egindako entseguetan, 0,6 mg/kg-ko dosia HTR indultzeko nahikoa zela frogatu zuten. HTR entseguekin batera, eta eragin antidepresiboak aztertzeko, psilozibina dosi ezberdina jaso zuten saguei hainbat portaera froga egin zitzaizkien. Ebaluatutako kasu horietan, ez zen estatistikoki esanguratsua zen portaera aldaketa akaturik antzeman, psilozibina 1,2 mg/kg baino dosi baxuagotan administratu ostean (34).

Sakashita et al.-ek 2015ean egindako entseguetan ere aurreko emaitza horiekin bat zetozen emaitzak lortu zituzten. Wistar arratoi arrak erabili ziren kasu honetan, eta 1, 5 eta 10 mg/kg psilozibina intraperitonealki administratu zitzaizkien. 1 mg/kg-ko dosiak ez zuen portaeran aldaketa nabaririk eragin, baina 5 eta 10 mg/kg-ko dosiek, berriz, aktibitate motorra,

exploratzaila eta usaintzea murriztu zituzten. 10 mg/kg-ko dosiarekin, gainera, HTR ebaluatu zen eta nabari handitzen zela ikusi zuten (30).

Hibicke et al.-ek 2020an burututako entseguek aurreko biak baino sakonago aztertu zituen eragin antidepresiboak. Depresio eredu diren Wistar-Kyoto (WKY) arratoi arretan burutu ziren portaera frogak, 1 mg/kg psilozibina dosia administratuz. Dosia eman eta 7 egunetara aldaketa nabaririk antzematen ez zela determinatu zuten; emaitzok Halberstadt et al.-ek eta Sakashita et al.-ek lortutako emaitzekin bat datoz gainera. Administrazio osteko 28. egunean eta 35. egunean egindako frogetan, aldiz, aldaketak behatu zituzten, hau da, eragin antidepresibo atzeratua behatu zuten (35).

Gure baldintzapean, Halberstadt et al.-ek, Sakashita et al.-ek eta Hibicke et al.-ek haluzinogeno eta antidepresibo moduan definitzen zituzten dosiak administratzean, ez zen aldaketa estatistikoki esanguratsurik eman, PFCan monoamina (DA, NA eta 5-HT) maila extrazelularrak determinatzean. Izan ere, guk ikusitako eragin nabarmen bakarra MDL11939 5-HT_{2A} antagonista administratzean eman zen. MDLak PFCaren monoamina mailetan aldaketak eragin ditzakeela literaturan teorizatu da aurretik ere (36). Gure kasuan, aldiz, MDL11939+Psilozibina taldean MDL11939 administratu ostean ez zen inolako aldaketarik ikusi. Emaitza horiek, eragin ezari baino, talde horretan erabilitako animalia kopuru baxuari egotzi ahal zaizkio. Hala ere, ez zen animalia gehiago erabili hori egiaztatzeke lanaren helburua psilozibinaren balizko eragina aztertzea zelako, eta MDLren eragina aski ezaguna delako.

Psilozibinak 1 mg/kg-ko dosian, beraz, egungo antidepresibo genienek ez bezala, ez ditu era akutuan PFCan monoamina mailak areagotzen. Dena den, lehen aipatu moduan, 1 mg/kg dosian badu eragin antidepresiboa, eta, beraz, eragin hori lortzeko monoaminen bidezkoa ez den beste bide bat pizten duela pentsarazten gaituzte lortutako emaitzek. Hori horrela, dosi honekin nahikoa da HTR indutzeko, eta, beraz, 1 mg/kg psilozibinak, PFCan NA, DA eta 5-HT mailetan aldaketarik eragiten ez badu ere, 5-HT_{2A} hartzaileekin zerikusia duen eragin akuturen bat eduki badauka.

Herian et al.-ek, 2019an burututako garun-mikrodialisi entseguetan, 25I-NBOMe substantzia haluzinatzailearen dosi ezberdinek (5-HT_{2A/C} eta 5-HT_{1A} hartzaileen agonista dena) zelulaz kanpoko DA, 5-HT eta glutamato (GLU) mailetan eragindako aldaketak aztertu zituzten Wistar-Han arratoi arren PFCan. Horrez gain, garun mikrodialisiarekin batera HTR ere ebaluatu zuten. Kasu horretan 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg eta 10 mg/kg dosiak administratu ziren. Hala, 3 mg/kg-ko dosia izan zen DA eta 5-HT mailetan aldaketa nabariena eragin zuena, eta 0,3 mg/kg-ko dosiak, berriz, aldaketa txiki bat baino ez zuen eragin DAN. Hala ere, aldi berean analizatutako HTR nabariagoa izan zen 1 eta 10 mg/kg-ko dosiekin 0,3 edo 3 mg/kg-ko

dosiekin baino. Hori ikusita, agerikoa da HTRak, eta DA eta 5-HT mailetan emandako igoerak ez dutela erlazio zuzenik.

Herian et al.-ek euren ikerlanean 25I-NBOMe-aren eragin haluzinogenoa GLU PFCan askatzearekin erlazonatuta egon zitekeela proposatu zuten, GLU askapen handiena lortzen zuten dosiek HTR gehiago lortzen zutenak ere bazirelako (1 eta 10 mg/kg hain zuzen) (37). Hori Muschamp et al.-ek 2015ean burututako entseguetan lortutako emaitzekin bat dator. Izan ere, entsegu horietan ezagunak diren zenbait haluzinogeno (LSD eta DOM) administratu zitzaizkien Fischer 344 arratoi arrei, eta, garun-mikrodialisi entseguen bidez, arratoien PFCan GLU igotzen zela ikusi zuten. Gainera, GLUren igoera 5-HT_{2A} hartzaileekin erlazonatu zuten (hartzaile horien antagonistekin LSDaren eraginak desagertzen zirelako) (38).

Psilozibinak 1 mg/kg-ko dosian saguetan HTR indultzeko gai dela kontuan izanda, antzekoak diren substantziek PFCan GLU maila extrazelularretan aldaketak eragiteko gai direla ikusita, eta psilozibina 5-HT_{2A} hartzaileen agonista dela jakinda, psilozibina dosi horren administrazio akutuaren osteko GLU mailak extrazelularrak determinatzea interesgarria litzateke.

Psilozibinak monoamina mailetan dituen eraginekin jarraituz, guk erabilitako dosiak baino dosi altuagoekin burututako zenbait entsegu ere badaude. Sakashita et al.-ek, esaterako, lehen aipatutako portaera frogak ez ezik, psilozibinaren administrazio akutuak zelulaz kanpoko DA eta 5-HT mailetan zuen eragina ere ebaluatu zuten. Garun-mikrodialisia erabili zen ikerlan horretan, eta NAc, eremu tegmental bentrlean (VTA) eta PFCan determinatu zituzten monoamina mailak. NAc-an baino ez zen 1 mg/kg-ko dosiaren eragina aztertu eta, 5 eta 10 mg/kg-ko dosiek ez bezala, 1 mg/kg administratzeak ez zuen DA mailetan igoera nabaririk eragin. Gainera erabilitako dosiek ez zioten 5-HT mailei modu esanguratsuan eragin NAc-an. 10mg/kg-ko dosiarekin VTAn ez ziren aldaketarik ikusi, baina PFCan, aldiz, DA mailak murriztu eta 5-HT mailak handitzen zituela determinatu zuten (30). Guk lortutako emaitzak Sakashita et al.-ek arratoien NAc-an dosi berarekin lortutako emaitzekin bat datoz, beraz. Gainera, PFCan dosi altuagoekin DA eta 5-HT mailetan aldaketa esanguratsuak ematen direla jakinarazten digu Sakashita et al.-en lanak.

Aipatutako DA mailen murrizketa 5-HT_{2C} hartzaileen agonismoaren ondorio izan daitekeela teorizatu da literaturan, 5-HT_{1A} eta 5-HT_{2A} hartzaileen parte hartzerik egon gabe. Izan ere, Alexek eta Pehekek burututako ikerlanean 5-HT_{2C} hartzaileen agonistek PFCera DA askapena murrizten zutela ikusi zuten. Antagonistek, berriz, DA mailak handitzen zituztela adierazi zuten (39).

Hala ere, orokorrean, PFCan monoamina mailen aldaketa 5-HT_{2A} hartzaileen agonismoari atxiki ohi zaio. Frånberg et al.-ek 2012an DOI substantzia haluzinatzaileekin egindako entseguetan, garun-mikrodialisiaren bidez neurtutako DA, NA eta 5-HT maila extrazelularren

igoera 5HT_{2A} hartzaileen antagonista selektiboak administratuz guztiz blokeatzen zela ikusi zuten. Gainera, 5-HT_{2A} hartzaileez gain, beste hartzaile batzuen inplikazioari buruz teorizatu zen (40). Izan ere, 5-HT_{2A}-k 5-HT_{1A} hartzailearekin nolabaiteko elkarreagina izan zezakeela deskribatu zuten 2001ean Ichikawa et al. ek argitaratutako ikerlanean (41). Hori dela eta, Frånberg et al.-ek aztertzen zuten substantzia, hots asenapina (5-HT_{1A} agonista partziala dena), zuzenean 5-HT_{1A}-ren bidez edo horrek 5-HT_{2A}-rekin batera jokatzuz monoamina maila kortikalen igoera eragin zezakeela teorizatu zuten (40).

Guk lortutako emaitzak ikusita, 0,6 mg/kg-ko dosia HTR (5-HT_{2A} hartzaileen bidez bideratutako efektua) induzitzeko gai dela frogatuta eta psilozibina 5-HT_{2A} hartzaileekiko ($K_i = 25$ nM) 5-HT_{1A} hartzaileekiko ($K_i = 567,4$ nM) eta beharbada 5-HT_{2C} hartzaileekiko ($K_i = 97,3$ nM) baino afinitate altuagoa daukala jakinda (25), pentsa genezake psilozibinak, 1 mg/kg-ko dosian, 5-HT_{2A} hartzaileetan eragiteko gai dela, baina ez afinitate baxuagoa agertzen duten hartzaileetan.

4. ONDORIOAK

Psilozibinak, 1 mg/kg-ko dosian, ez du modu akutuan PFCan monoamina mailetan aldaketa esanguratsurik eragiten. Hala ere, dosi horretan eragin antidepresibo atzeratuak baditu, eta, beraz, horiek sortzeko psilozibinak ez du zertan monoaminen aldaketa akaturik eragin beharrik (gaur egun eskuragarri dauden antidepresibo gehienak ez bezala). Honek, mekanismo antidepresiboa sortzeko bidea pizten duela pentsarazten gaitu, denbora behar duen arren, eragin atzeratua duten egungo antidepresiboen aldean laburragoa dena. 1 mg/kg-ko dosian eragin haluzinatzailea antzematen da gainera. Hori, 5-HT_{2A} hartzaileen aktibazioak eragindako GLU mailen aldaketaren ondorioz izan liteke, eta beraz horiek neurtzea interesgarria litzateke.

Psilozibina PFCan monoaminen aldaketa eragiteko gai da dosi altuagoetan. Aldaketa hori eragin antidepresibo edo haluzinatzaileen eragile zuzena ez bada ere, psilozibinaren eragin neurokimiko akutuetan parte har dezaketen hartzaileei buruzko ideia bat ematen liezaguke, eta interesgarria izan daiteke 5-HT_{1A} eta 5-HT_{2C} hartzaileen partehartzea aztertzeko.

5. BIBLIOGRAFIA

(1) Global Health Data Exchange [Internet]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2022[2022ko otsailaren 27an kontsultatuta]. Eskuragarri: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d1e3cf597bd87387fdae2a35f9f94a8e>

- (2) Erkizia-Santamaria I, Ortega JE, Horrillo I. Terapia antidepresiboaren azken pausoak: oraina eta geroa. Osagaiz osas-zientzien aldizkaria [Internet]. 2020 [2022ko otsailaren 16an kontsultatuta];4(2). Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.26876/osagaiz.2.2020.311>
- (3) Global Health Data Exchange [Internet]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2022 [2022ko otsailaren 27an kontsultatuta]. Eskuragarri: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/5f06569d2df7c5199efc4a5140a8655c>
- (4) Global Health Data Exchange [Internet]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2022 [2022ko otsailaren 27an kontsultatuta]. Eskuragarri: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/5eb162a1514b4895b9148b92ff2d8503>
- (5) Global Health Data Exchange [Internet]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2022 [2022ko otsailaren 27an kontsultatuta]. Eskuragarri: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d4dbd508e638f52fdf2cceeaa335388a1>
- (6) Global Health Data Exchange [Internet]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation; 2022 [2022ko otsailaren 27an kontsultatuta]. Eskuragarri: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/797c9c873ae5ffd01b016ab3e3689a93>
- (7) Santomauro D, Mantilla Herrera AM, Shadid J, Zheng P, Ashbaugh C, Pigott DM, Abbafati C, et al. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. Lancet [Internet]. 2021 [2022ko otsailaren 16an kontsultatuta]; 398 (10312): 1700-1712. Eskuragarri: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8500697/pdf/main.pdf>
- (8) World Health Organization [Internet]. Geneva: World Health Organization, c2020; 2021 [2022ko otsailaren 17an kontsultatuta]. Depresión; [3 pantaila gutxi gorabehera]. Eskuragarri: [Depresión \(who.int\)](https://www.who.int)
- (9) Osasun eskola [Internet]. Gipuzkoa: Gipuzkoako Osasun Mentaleko Sarea; 2019 [2022ko otsailaren 17an kontsultatuta]. Depresioa; [2 pantaila gutxi gorabehera]. Eskuragarri: <https://www.osakidetza.euskadi.eus/osasun-mentala-gaixotasunak/-/depresioa/>
- (10) Infocop online [Internet]. Madrid: Colegio oficial de la psicología de Madrid; 2020 [2021eko otsailaren 17an kontsultatuta]. El Suicidio debe dejar de ser una pandemia silenciosa- Comunicado del COP Madrid; [2 pantaila gutxi gorabehera]. Eskuragarri: https://www.infocop.es/view_article.asp?id=18389
- (11) Instituto Nacional de Estadística [Internet]. Madrid: INE; 2020. Defunciones por suicidio; [2021eko otsailaren 17an kontsultatuta]; [pantaila 1 gutxi gorabehera]. Eskuragarri: <https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?tpx=49948>

- (12) American Psychiatric Association. Guía de consulta de los Criterios Diagnósticos del DSM-5™ [Internet]. Washington DC: American Psychiatric Association Publishing; 2014 [2021eko otsailaren 19an kontsultatuta]. 103-127. Eskuragarri: [dsm-v-guia-consulta-manual-diagnostico-estadistico-trastornos-mentales.pdf \(eafit.edu.co\)](https://www.eafit.edu.co/dsm-v-guia-consulta-manual-diagnostico-estadistico-trastornos-mentales.pdf)
- (13) Sequeira A, Fornaguera J. Neurobiología de la depresión. Rev Mex de Neuroci [Internet]. 2009 [2021eko otsailaren 19an kontsultatuta]; 10(6): 462-478. Eskuragarri: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2009/rmn096j.pdf>
- (14) Vazquez FL, Muñoz RF, Becoña E. Depresión: diagnóstico, modelos teóricos y tratamiento a finales del siglo XX. Psicol. conduct. [Internet]. 2000 [2021eko otsailaren 19an kontsultatuta]; 8 (3): 417-444. Eskuragarri: https://www.behavioralpsycho.com/wp-content/uploads/2020/04/02.Vazquez_8-3oa-1.pdf
- (15) Osakidetza. Tratamiento de la depresión en la atención primaria: cuando y con qué. EAE: INFAC [Internet]; 2017 [2021eko otsailaren 19an kontsultatuta] : 25 (1). Eskuragarri: [INFAC-Vol-25-n-1_antidepresivos.pdf \(euskadi.eus\)](https://www.euskadi.eus/infac-vol-25-n-1-antidepresivos.pdf)
- (16) Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre el Manejo de la Depresión en el Adulto Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Guía de Práctica Clínica sobre el Manejo de la Depresión en el Adulto [Internet]. En: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia, avalia-t. Conselleria de Sanidade. Galicia; 2014 [2022ko martxoaren 2an kontsultatuta]: 65-120. Eskuragarri: [GPC 534 Depresion Adulto Avaliat compl.pdf \(guiasalud.es\)](https://www.guiasalud.es/gpc-534-depresion-adulto-avaliat-compl.pdf)
- (17) Benedí J, Romero C. Antidepresivos. Farm prof [Internet]. 2005 [2022ko martxoaren 10ean kontsultatuta]; 19 (10): 76–81. Eskuragarri: [Antidepresivos | Farmacia Profesional \(elsevier.es\)](https://www.elsevier.es/antidepresivos-farmacologia-profesional)
- (18) Alshammari TK. The ketamine antidepressant story: New insights. Molecules [Internet]. 2020 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 25 (23): 5777. Eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33297563/>
- (19) Sessa B. Shaping the renaissance of psychedelic research. Lancet [Internet]. 2012 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 380 (9838): 200–201. Eskuragarri: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S014067361260600X?token=AAB5DA3752796496635C134F7527466B8C2183B6C4F2E7E9B4EB2DF0341B1D201D46D2CED5969B4C3DE6E6DAA8C65592&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220328150332>
- (20) Rucker JJH, Iliff J, Nutt DJ. Psychiatry & the psychedelic drugs. Past, present & future. Neuropharmacology [Internet]. 2018 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 142: 200–218.

Eskuragarri:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002839081730638X?via%3Dihub>

(21) Carhart-Harris RL, Bolstridge M, Rucker J, et al . Psilocibin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *Lancet Psychiatry* [Internet]. 2016 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 3 (7): 619-627. Eskuragarri: [10.1016/S2215-0366\(16\)30065-7](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30065-7)

(22) Carhart-Harris RL, Bolstridge M, Day CMJ et al . Psilocibin with psychological support for treatment-resistant depression: six-month follow-up. *Psychopharmacology* [Internet]. 2016 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 235 (2): 399-408. Eskuragarri: [10.1007/s00213-017-4771-x](https://doi.org/10.1007/s00213-017-4771-x)

(23) Griffiths RR, Johnson MW, Carducci MA, Umbricht A, Richards WA, Richards BD, et al. Psilocibin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. *J Psychopharmacol* [Internet]. 2016 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 30 (12): 1181–1197. Eskuragarri: [Psilozibin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27092111/)

(24) Ross S, Bossis A, Guss J, Agin-Liebes G, Malone T, Cohen B, et al. Rapid and sustained symptom reduction following psilocibin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial. *J Psychopharmacol* [Internet]. 2016 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 30 (12): 1165–1180. Eskuragarri: [Rapid and sustained symptom reduction following psilozibin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27092111/)

(25) Geiger HA, Wurst MG, Daniels RN. DARK classics in chemical neuroscience: Psilocibin. *ACS Chem Neurosci* [Internet]. 2018 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 9 (10): 2438–2447. Eskuragarri: <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00186>

(26) Nutt D. Psychedelic drugs-a new era in psychiatry? *Dialogues Clin Neurosci* [Internet]. 2019 [2022ko martxoaren 11n kontsultatuta]; 21 (2): 139–147. Eskuragarri: <https://doi.org/10.31887/DCNS.2019.21.2/dnutt>

(27) Ortega JE, Perez-Palomar B, Meana JJ, Callado LF. In Vivo Brain Microdialysis of Monoamines. En: Lujan R, Ciruela F. *Receptor and Ion Channel Detection in the Brain*. New York: Humana; 2021. 489-512.

- (28) Udako Euskal Unibertsitatea. Mikrodialisia. Buesa I, Mendiguren A, Bidaurreazaga. Neurozientzien laborategiko eskuliburua. Bilbao: CUATROAS; 2009. 229-235.
- (29) Pérez del Palomar B. Characterization of an animal model of cognitive impairment associated with schizophrenia. Effects of α 2-adrenoceptor compounds [doktore-tesia]. Leioa: Euskal Herriko Unibertsitatea; 2019. 153 –160.
- (30) Sakashita Y, Abe K, Katagiri N, Kambe T, Saitoh T, Utsunomiya I, et al. Effect of psilocin on extracellular dopamine and serotonin levels in the mesoaccumbens and mesocortical pathway in awake rats. Biol Pharm Bull [Internet]. 2015 [2022ko maiatzaren 2an kontsultatuta]; 38 (1): 134–138. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.b14-00315>
- (31) Corne SJ, Pickering RW. A possible correlation between drug-induced hallucinations in man and a behavioural response in mice. Psychopharmacology [Internet]. 1967 [2022ko maiatzaren 2an kontsultatuta]; 11 (1): 65–78. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00401509>
- (32) Halberstadt AL, Geyer MA. Characterization of the head-twitch response induced by hallucinogens in mice: detection of the behavior based on the dynamics of head movement: Detection of the behavior based on the dynamics of head movement. Psychopharmacology [Internet]. 2013 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 227 (4): 727–739. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-013-3006-z>
- (33) Castagné V, Moser P, Porsolt RD. Behavioral assessment of antidepressant activity in rodents [Internet]. En: Buccafusco JJ. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2. Ed. Georgia: CRC Press/Taylor & Francis; 2009 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]. Eskuragarri: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5222/?report=reader>
- (34) Halberstadt AL, Koedood L, Powell SB, Geyer MA. Differential contributions of serotonin receptors to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens in mice. J Psychopharmacol [Internet]. 2011 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 25 (11): 1548–1561. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1177/0269881110388326>
- (35) Hibicke M, Landry AN, Kramer HM, Talman ZK, Nichols CD. Psychedelics, but not ketamine, produce persistent antidepressant-like effects in a rodent experimental system for the study of depression. ACS Chem Neurosci [Internet]. 2020 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 11 (6): 864–871. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1021/acchemneuro.9b00493>

- (36) Ortega JE. Nuevas estrategias de potenciación antidepressiva basadas en la interacción entre los sistemas noadrenérgico y serotoninérgico centrales. Estudio mediante microdialisis cerebral in vivo [doktore-tesia]. Espainia: Euskal Herriko Unibertsitatea; 2007. 57.
- (37) Herian M, Wojtas A, Kamińska K, Świt P, Wach A, Gołmbiowska K. Hallucinogen-like action of the novel designer drug 25I-NBOMe and its effect on cortical neurotransmitters in rats. *Neurotox Res* [Internet]. 2019 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 36 (1): 91–100. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1007/s12640-019-00033-x>
- (38) Muschamp JW, Regina MJ, Hull EM, Winter JC, Rabin RA. Lysergic acid diethylamide and [-]-2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine increase extracellular glutamate in rat prefrontal cortex. *Brain Res* [Internet]. 2004 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 1023 (1): 134–140. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2004.07.044>
- (39) Alex KD, Pehek EA. Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2007 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 113 (2): 296–320. Eskuragari: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.08.004>
- (40) Frånberg O, Marcus MM, Svensson TH. Involvement of 5-HT_{2A} receptor and α ₂-adrenoceptor blockade in the asenapine-induced elevation of prefrontal cortical monoamine outflow. *Synapse* [Internet]. 2012 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 66 (7): 650–660. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1002/syn.21551>
- (41) Ichikawa J, Ishii H, Bonaccorso S, Fowler WL, O’Laughlin IA, Meltzer HY. 5-HT_{2A} and D₂ receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT_{1A} receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release: Atypical antipsychotics and 5-HT_{1A} activation. *J Neurochem* [Internet]. 2001 [2022ko maiatzaren 2 kontsultatuta]; 76 (5): 1521–1531. Eskuragarri: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00154.x>