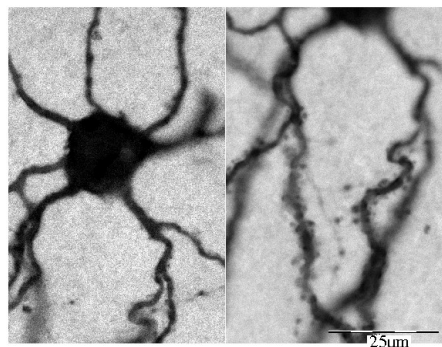
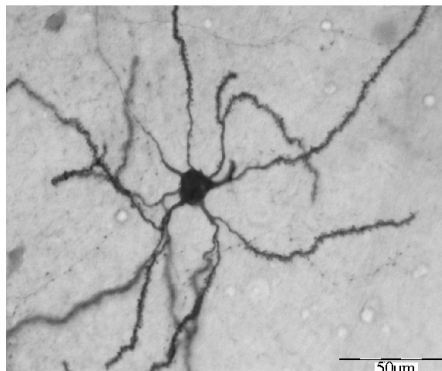


# Szinaptikus moduláció, $\gamma$ -hidroxivajsav hatása a nucleus accumbens es a ventrális tegmentális area sejtjeiben.

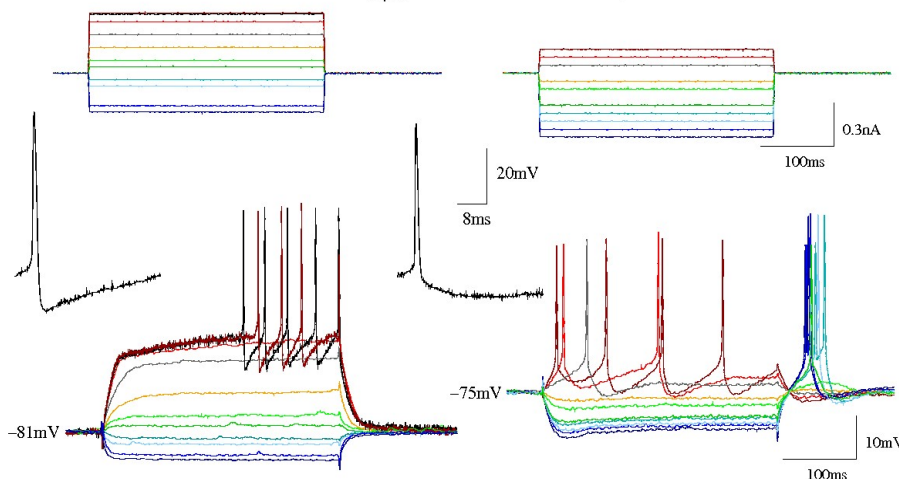
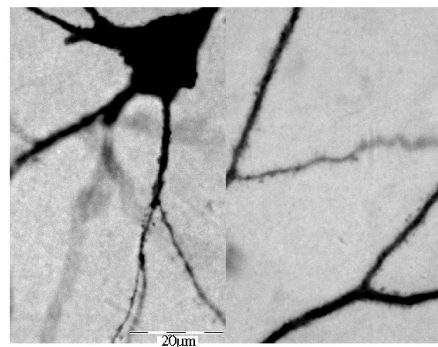
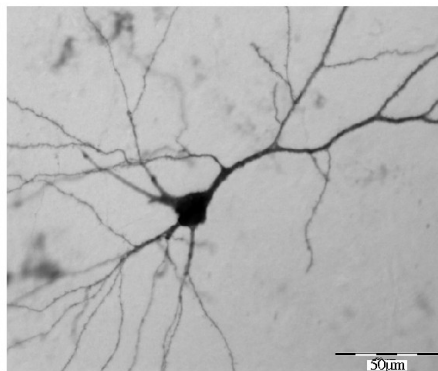
## I. Nucleus accumbens sejtjeinek karakterizálása:

Nucleus accumbens (NA) sejtjeit karakterizáltuk elektrofiziológiai és morfológiai sajátosságaik alapján. Az elektrofiziológiai kísérletekhez biocitinnel feltöltött éles-elektrodákat használtunk, így módunkban állt az elektrofiziológiai és anatómiai eredmények korreláltatása. A sejtek morfológiai és elektrofiziológiai sajátosságai alapján elkülönítettünk fősejteket ('medium spiny' neuronok) és cholinerg interneuronokat.

### Projekciós neuron



### Interneuron



### 1. ábra

#### Nucleus accumbens sejt típusai.

A projekciós GABAerg sejtek alkotják a NA neuronjainak 95%-t. Erősen tuskés sejtek. Nyugalmi állapotban erősen hiperpolarizált membránpotenciál, depolarizáló áramlépések adásakor előtűnő ún. inward rectifikáció és az akciós potenciálokat követő rövid utóhiperpolarizáció a jellemzőjük. A második legjelentősebb csoport a cholinerg interneuronok csoportja. Ezek kevésbé tuskés sejtek, nyugalmi állapotban depolarizáltabbak, rendelkeznek alacsony küszöbű  $Ca^{2+}$  ionárammal, és akciós potenciáljukat hosszan tartó utóhiperpolarizáció követi.

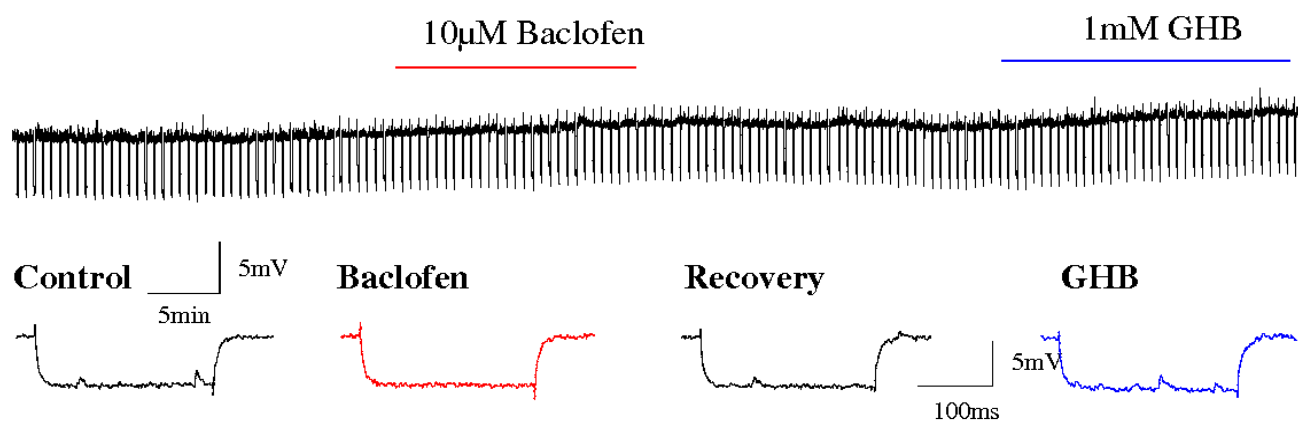
## II. GHB és baclofen hatása az NA neuronjainak pre- és posztoszínaptikus receptoraira.

1) Összehasonlítottuk a GHB (0.3-20 mM) hatását a GABA-B receptor agonista baclofen (1-20  $\mu$ M) posztoszínaptikus hatásával.

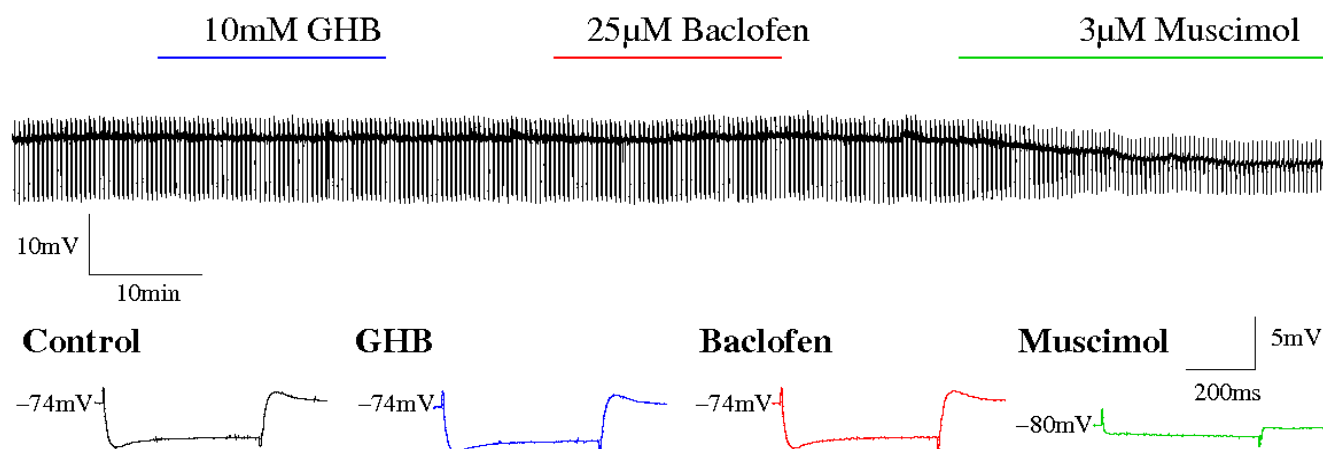
Megállapítottuk, hogy egyik anyag sem vált ki posztoszínaptikus választ egyik neuron típuson sem. Valószínűleg, az NA sejteiben a striátum sejtejéhez hasonlóan nincsenek posztoszínaptikus GABA-B receptorok, és a jelen kísérlet szerint posztoszínaptikus GHB receptorok sem.

2. ábra

### A Projekciós neuron



### B Cholinerg interneuron



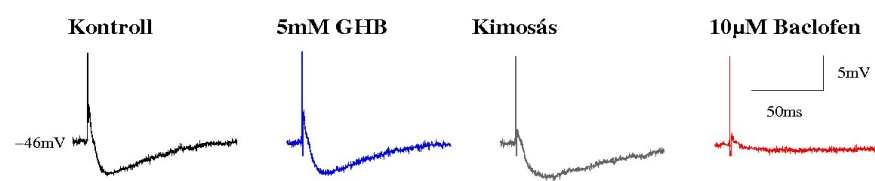
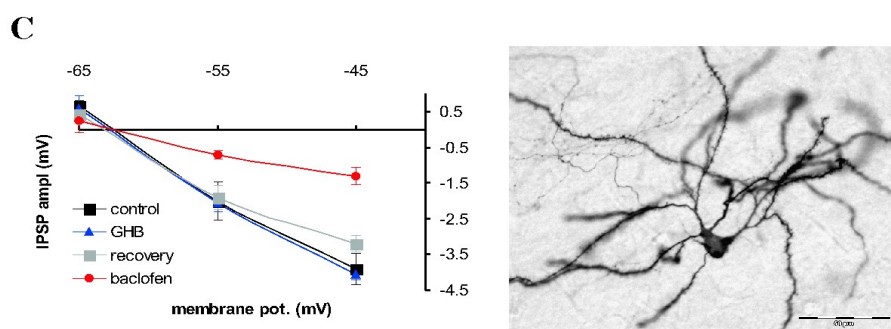
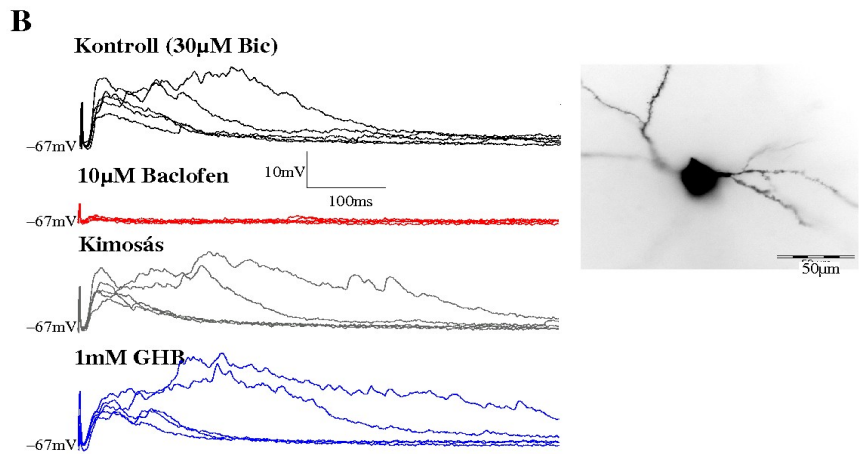
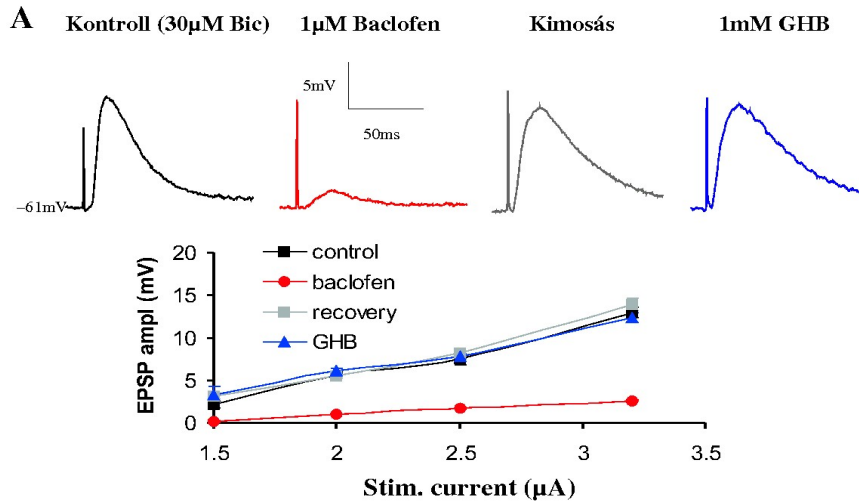
### Baclofen és GHB posztoszínaptikus hatása az NA projekciós neuronjaira és cholinerg interneuronjaira.

Se a GABA-B receptor agonista baclofen, se a GHB nem befolyásolta a sejtek nyugalmi membránpotenciálját vagy bemeneti ellenállását, ellentétben a GABA-A receptor agonista muscimollal, amely jól látható hiperpolarizációt és ellenállás csökkenést váltott ki.

2) Összehasonlítottuk a GHB és baclofen hatását a gátló és serkentő posztszinaptikus potenciálokra (EPSP, IPSP).

Megállapítottuk, hogy a baclofen csökkenti mind az EPSP-k mind az IPSP-k amplitúdóját, míg a GHB-nak nincs hatása se az EPSP-kre se az IPSP-kre. A GHB receptor specifikus hatásokat is vizsgáltuk a

GABA-B receptorok blokkolása után. A GABA-B receptor blokkoló CGP-55845 jelenlétében sem tapasztaltuk a preszinaptikus GHB receptorok jelenlétét a terminálisokon.



**3. ábra**  
**Baclofen és GHB pre-szinaptikus hatásai.**

A) Baclofen (piros) csökkentette a projekciós neuronokban kiváltott EPSP-k amplitúdóját, míg a GHB (kék) hatástalannak bizonyult.

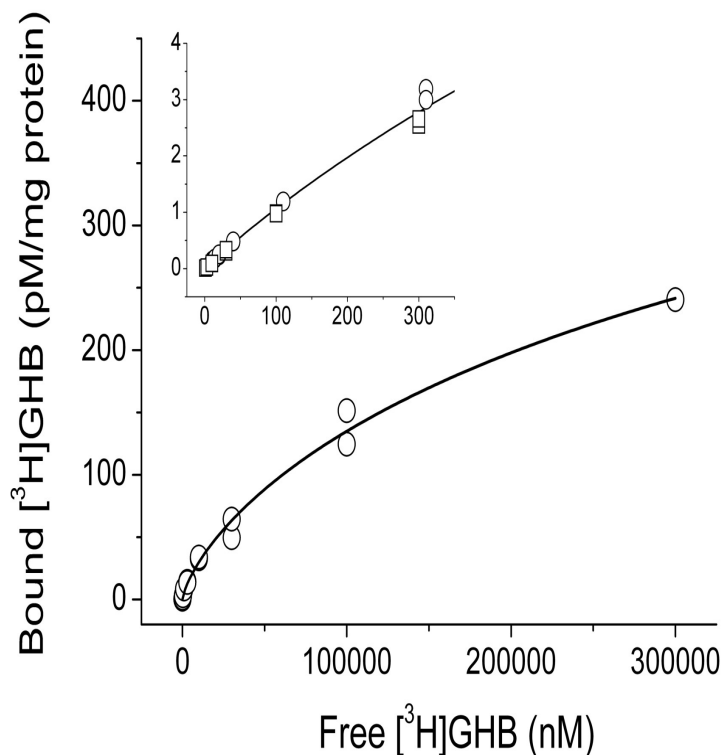
B) Ha a GABA-A áramokat gátoltuk a prefrontális kérgi input jelenlétében, úgynevezett komplex EPSP-ket válthatunk ki a cholinerg interneuronokban. Baclofen (piros) csökkentette a komplex EPSP amplitúdóját, és időtartalmát, míg a GHB (kék) hatástalannak bizonyult.

C) A projekciós neuronokban a baclofen (piros) csökkentette az IPSP-k amplitúdóját. A GHB (kék) hatástalannak bizonyult.

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a GHB nem hat az NA neuronok nyugalmi membrán áramaira vagy szinaptikus válaszára. Az NA sejtein, hasonlóan a többi striatális területhez, nincsenek posztszinaptikus GABA-B receptorok, és preszinaptikus GABA-B receptoraik is egy olyan alosztályba tartoznak, amelyeket a GHB nem képes aktiválni. In vitro kísérleteinkben a GABA-receptoroktól független GHB receptorok jelenlétét sem sikerült kimutatnunk, se poszt- se preszinaptikusan.

### III. GHB kötőhely karakterizálása patkány valamint humán NA és globus pallidus szinaptikus membránfrakcióban.

1) A GHB kötőhely jellemzése patkány előagyból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban. A GHB kötőhely további karakterizálását patkány szinaptikus membránfrakcióban végeztük el, [<sup>3</sup>H]GHB kötődés vizsgálatával. A specifikus kötődési adatok nem-lineáris regressziós analízisével meghatároztuk a GHB kötődés jellemzőit. Az 1 nM - 1 μM GHB koncentráció tartományban egyetlen GHB kötőhelyet tudtunk kimutatni, ez a kötőhely  $K_d = 1 \mu\text{M}$  és  $B_{\text{max}} = 14 \text{ pmol/mg}$  fehérje (N=4) értékekkel jellemezhető. Ezen a közepes-affinitású kötőhelyen túlmenően, a leszorítási adatok egy kis-affinitású kötőhely jelenlétét is kimutatták. Ez a kötőhely  $K_d \sim 0,2 \text{ mM}$  és  $B_{\text{max}} \sim 300 \text{ pmol/mg}$  fehérje paraméterekkel jellemezhető.

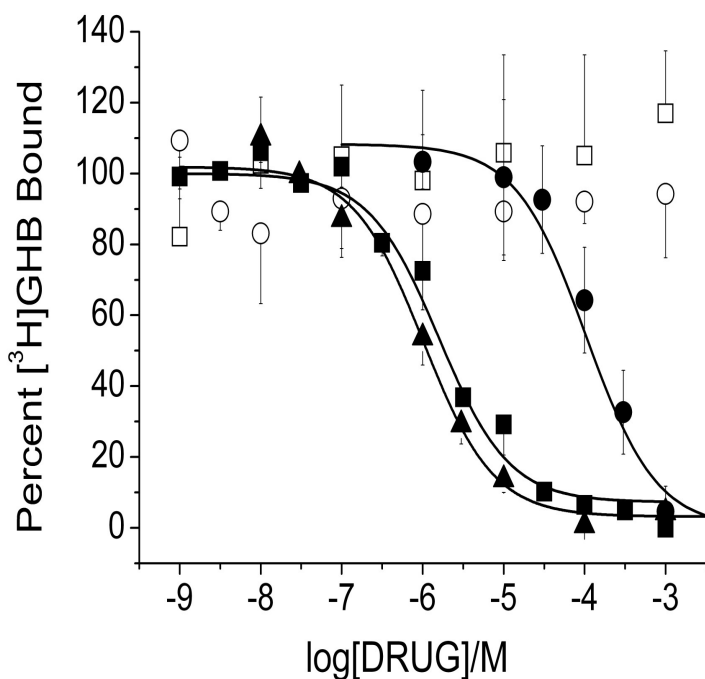


#### 4. ábra

##### A specifikus [<sup>3</sup>H]GHB kötődés telítődése.

A specifikus [<sup>3</sup>H]GHB kötődést patkány előagyból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban végeztük. A betét ábra mutatja a kindulási (□, 'hot only') és a csökkenő fajlagos aktivitású (○, 'hot and cold') [<sup>3</sup>H]GHB-val végzett kísérletek eredményeit.

[<sup>3</sup>H]GHB kötődést a GHB receptor specifikus NCS-382 és a GHB illetve a GABA metabolit szukcinát gátolta. Az NCS-382-vel végzett leszorítási kísérletek nem utaltak NCS-382-t nem kötő, valamint NCS-382-t nagy affinitással kötő GHB receptorok jelenlétére. A GABA-B receptor specifikus anyagok a GABA-B agonista baclofen és a GABA-B antagonistá CGP-55845 a [<sup>3</sup>H]GHB kötődését nem befolyásolták.



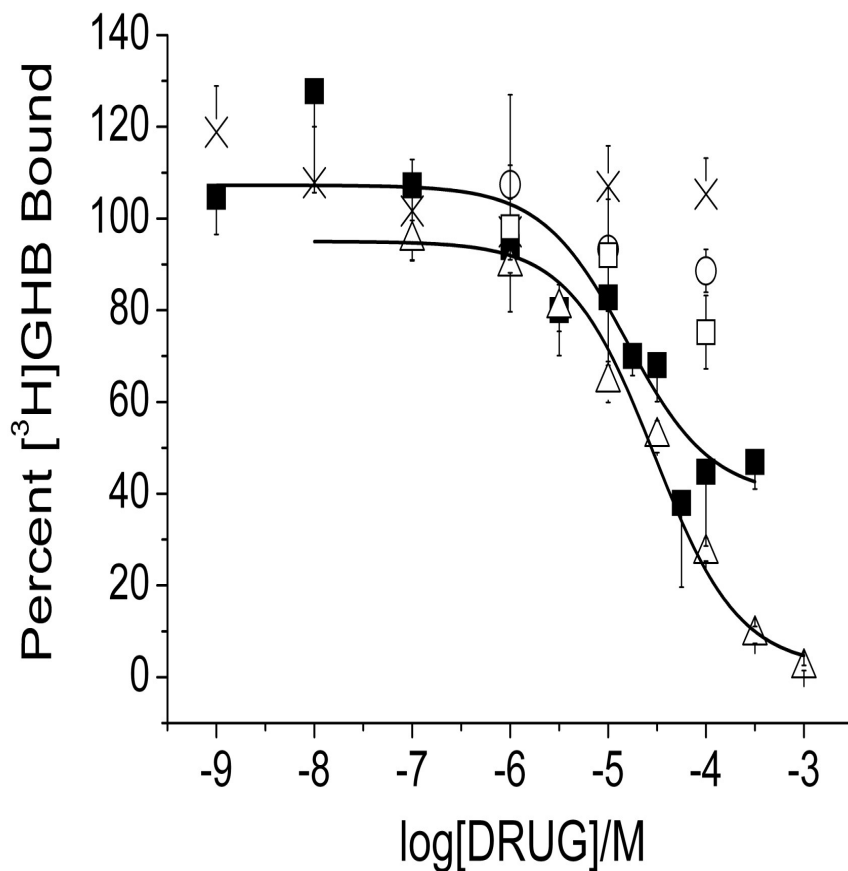
5. ábra

**[<sup>3</sup>H]GHB kötődés farmakológiai karakterizálása.**

[<sup>3</sup>H]GHB leszorítása növekvő koncentrációban adott GHB, és GABA receptor specifikus anyagokkal patkány előagyból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban.

Szimbólumok: GHB (■), szukcinát (●), NCS-382 (▲), (R)-baclofen (○) and CGP 55845 (□).

A GHB kötődés azon sajátossága, hogy savas kémhatású közeg (pH=6.5) biztosítja hozzá az ideális feltételt és azok az új adatok amelyek a gap junction blokkolók nem gap junction-okon kifejtett egyéb hatásait tárták fel (Gareri és mtsai., 2004. Eur J Pharmacol 484:49-56., Rouach és mtsai., 2003. J. Physiol 553:729-745., és Wu és mtsai 2005. Soc Neurosci Abstr 244.12.) felvetették annak lehetőségét, hogy a gap junction blokkolóknak és a GHB-nak egymással átfedő kötőhelyei léteznek. Ezért megvizsgáltuk a kinin,  $\alpha$ -glycyrrhetic sav ( $\alpha$ -GRA),  $\beta$ -glycyrrhetic sav ( $\beta$ -GRA) és a carbenoxolon (CBX) hemiszukcinát növekvő koncentrációinak hatását [<sup>3</sup>H]GHB kötődésre. A kinin kivételével mindegyik gap junction blokkoló gátolta a [<sup>3</sup>H]GHB kötődést, leghatékonyabb a CBX hemiszukcinát volt. A hemiszukcinát jelenléte (és a szukcinátnak az előbbieken kimutatott affinitása a GHB kötőhelyhez) felvetette annak lehetőségét, hogy a szukcinát észterek (pl. a CBX hemiszukcinát) általában képesek a [<sup>3</sup>H]GHB-t leszorítani kötőhelyéről, ezért megvizsgáltunk egy másik szukcinát észter, az etil-hemiszukcinát kötődését is. A szukcinát, CBX hemiszukcinát és az etil-hemiszukcinát [<sup>3</sup>H]GHB kötődésgátló hatását összevetetve megállapíthattuk, hogy hemiszukcinát észterek (a CBX hemiszukcinát, etil-hemiszukcinát) hatékonyabbak mint a szukcinát.



**6. ábra**

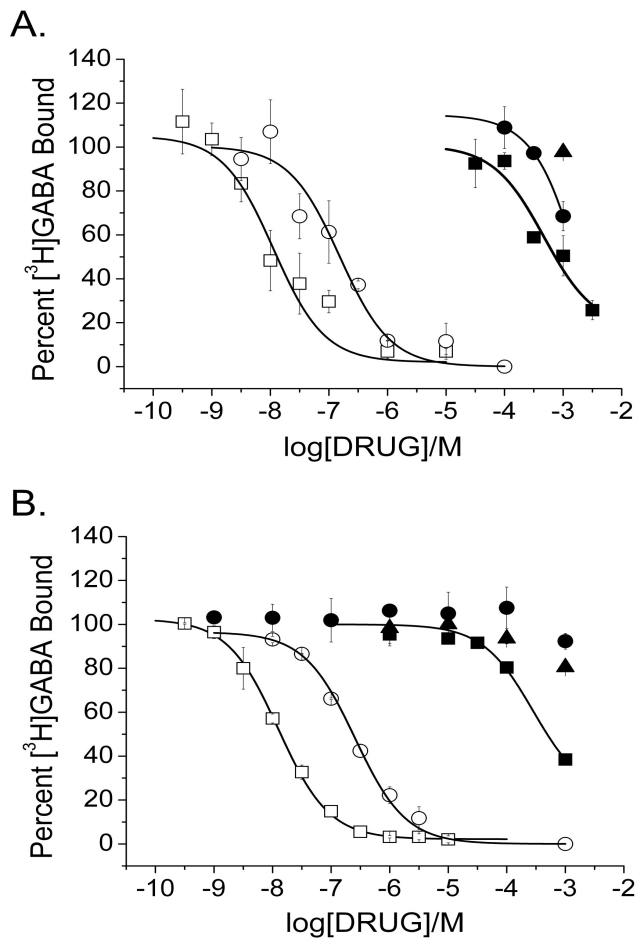
**Gap junction blokkolók és szukcinát észterek hatása a [<sup>3</sup>H]GHB kötődésre.**

A gap junction blokkolók és szukcinát észterek növekvő koncentrációjának hatását a [<sup>3</sup>H]GHB kötődésre patkány előagyból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban vizsgáltuk.

Szimbólumok: etilhemiszukcinát (Δ), CBX hemiszukcinát (■), α-GRA (○), β-GRA (□) és kinin (×).

2) GABA-B kötőhelyek karakterizálása tisztított tisztított szinaptikus membránfrakcióban és zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó (P2) membránfrakcióban.

A GABA-B kötőhelyeket izoguvacin jelenlétében [<sup>3</sup>H]GABA kötődéssel vizsgáltuk. GHB receptor ligandok (GHB és NCS-382) szukcinát illetve GABA-B receptor ligandumok (baclofen és CGP-55845) hatását vizsgáltuk a [<sup>3</sup>H]GABA kötődésre tisztított szinaptikus membránfrakcióban és a zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó P2 membránfrakcióban. A szukcinát kivételével a többi vegyület, hasonló mértékben szorította le a [<sup>3</sup>H]GABA-t a két preparátumban. Míg a baclofen, CGP-55845 és GHB lezorította a [<sup>3</sup>H]GABA-t kötőhelyéről, addig a GHB receptor specifikus NCS-382 hatástalannak bizonyult. A szukcinát hatékonyabban szorította le a [<sup>3</sup>H]GABA-t a tisztított szinaptikus membránfrakcióban levő kötőhelyeiről, mint az extraszinaptikus membránt is tartalmazó membránfrakcióban levőkről.



**7. ábra**

**Specifikus  $[^3\text{H}]\text{GABA}$  kötődés összehasonlítása tisztított szinaptikus membránfrakcióban és zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó (P2) membránfrakcióban.**

**A)** patkány előagyból készült zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó (P2) membránfrakció

**B):** patkány előagyból készült tisztított szinaptikus membránfrakció

Üres szimbólumok: GABA-B receptor agonista (*R*)-baclofen (○) és antagonistája CGP 55845 (□). Teli szimbólumok: GHB (■), GHB receptor antagonistája NCS-382 (▲) és GHB prekursor szukcinát (●).

3)  $[^3\text{H}]\text{GHB}$  kötődés farmakológiai karakterizálása humán NA és globus pallidus (GP) szövetmintákból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban

A bazális ganglium két elsősorban GABAerg projekciós neuronokat tartalmazó magjának, a NA-nek és a GP-nak GHB és GABA-B kötőhelyeit hasonlítottuk össze. Az NA GHB és GABA-B kötőhelyeinek illetve a gap junction blokkolók kötőhelyeinek farmakológiai jellemzése különösen fontos amiatt hogy a NA a függőség kialakulásában részt vevő egyik kulcs agyterület, ahol a függőség kialakulásával kapcsolatban strukturális változások is történnek.

A patkány előagyban  $[^3\text{H}]\text{GHB}$  kötődést befolyásoló ligandumok (GHB, NCS-382, szukcinát és CBX hemiszukcinát) illetve GABA-B receptor ligandumok hatását vizsgáltuk fagyasztott humán NA és GP mintákból nyert tisztított szinaptikus membránfrakcióban. GHB, NCS-382 szukcinát, CBX semiszukcinát mindkét humán struktúrában gátolta a  $[^3\text{H}]\text{GHB}$  kötődést. A GABA-B ligandumok (baclofen és CGP-55845) hatástalanok voltak a NA-ben, és kis mértékben gátolták a  $[^3\text{H}]\text{GHB}$  kötődést a GP-ban.

## 1. Táblázat

### [<sup>3</sup>H]GHB kötődés farmakológiai karakterizálása humán NA és GP szövetmintákból készített tisztított szinaptikus membránfrakcióban

Az adatok 2-4 mintából származó 3-8 meghatározás átlagát mutatják. \*: p<0.05 az NA és GP adatainak összehasonlításakor.

Anyag	Koncentráció	Specifikus [ <sup>3</sup> H]GHB kötődés gátlása (%)	
		NA	GP
GHB	1 μM	38 ± 2	38 ± 3
	10 μM	80 ± 2	82 ± 1
	100 μM	99 ± 8	109 ± 16
	1 mM	105 ± 12	101 ± 11
NCS-382	100 μM	93 ± 12	105 ± 6
	1 mM	105 ± 5	101 ± 6
Baclofen	100 μM	9 ± 18	1 ± 13
	1 mM	-17 ± 9*	22 ± 5*
CGP 55845	100 μM	0 ± 12	-2 ± 18
	1 mM	1 ± 14*	22 ± 6*
Szukcinát	10 μM	12 ± 1*	33 ± 8*
	100 μM	54 ± 15	59 ± 1
	1 mM	91 ± 1	92 ± 1
CBX hemiszukcinát	3 μM	30 ± 19	25 ± 5
	10 μM	36 ± 2	28 ± 3
	100 μM	55 ± 22	60 ± 1

4) [<sup>3</sup>H]GABA kötődés farmakológiai karakterizálása izoguvacin jelenlétében (GABA-B kötőhelyek kimutatása) humán NA és globus pallidus (GP) szövetmintákból készített zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó membrán frakcióban.

GHB-t, NCS-382-t, baclofent, CGP-55845-t, szukcinátot és CBX hemiszukcinátot vizsgáltuk a várhatóan maximális hatást kiváltó koncentrációban (1mM és/vagy 100 μM). Baclofen és CGP-55845 kismértékű hatása a [<sup>3</sup>H]GABA kötődésre kis-affinitású GABA-B receptorok jelenlétére utal mind a NA-ben mind a GP-ban. A NA-ben egy a korábbiakban leírt GHB receptortól eltérő kötőhelyet is találtunk, amelyhez a GHB és az NCS-382 kis-affinitással kötődik, a szukcinát és a CBX hemiszukcinát viszont nem. A GP-ban GHB receptor ligandumok nem kötődtek a GABA-B



kötőhelyhez, vagyis a GP-ban egy olyan GABA-B receptor altípus található, amelyikhez a GHB nem kötődik.

## 2. Táblázat

### <sup>3</sup>H]GABA kötődés farmakológiai karakterizálása humán NA és GP szövetmintákból készített zömében extraszinaptikus membránt tartalmazó membránfrakcióban

Az adatok 2-4 mintából 3-7 meghatározás átlagát mutatják. \*: p<0.05 az NA és GP adatainak összehasonlításakor.

Anyag	Koncentráció	Specifikus [ <sup>3</sup> H]GABA kötődés gátlása (%)	
		NA	GP
GHB	100 µM	33 ± 13*	5 ± 8*
	1 mM	37 ± 9*	0 ± 8*
NCS-382	100 µM	30 ± 13*	2 ± 10*
	1 mM	32 ± 12*	-3 ± 7*
Baclofen	100 µM	26 ± 15	33 ± 13
	1 mM	56 ± 3	65 ± 10
CGP 55845	100 µM	14 ± 8	15 ± 5
	1 mM	33 ± 20	40 ± 13
Szukcinát	100 µM	1 ± 6*	15 ± 5*
	1 mM	-3 ± 3*	21 ± 9*
CBX hemiszukcinát	100 µM	9 ± 11	4 ± 5

[<sup>3</sup>H]GHB és [<sup>3</sup>H]GABA kötődési eredményeinket összefoglalva megállapítottuk, hogy egy közepes (mikromólos K<sub>d</sub> értékkel rendelkező) és egy kis-affinitású (100 mikromólos K<sub>d</sub> értékkel rendelkező) GHB kötőhely különíthető el patkány előagyban. A kis-affinitású kötőhely azonos egy GABA-B receptor altípussal. Kutatásaink során egy új típusú GHB receptor jelenlétét is kimutattuk a NA-ben, és találtunk egy újabb agyterületet a *globus pallidus*-t ahol a GABA-B receptoroknak egy olyan altípusa található, amelyik nem aktiválható GHB-vel. Az NA új típusú GHB receptora ideális célpontja lehet olyan gyógyszereknek amelyek a GHB függőség kialakulását gátolják.

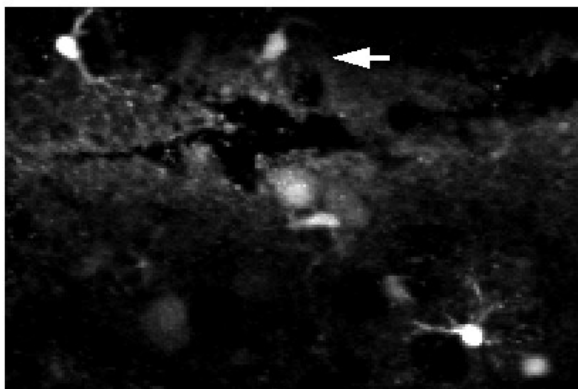
Eredményeinkből készített kézirat (Tünde Molnár, Erzsébet Kútiné Fekete, Julianna Kardos\*, Edit Simon-Trompler, Miklós Palkovits, and Zsuzsa Emri: Metabolic GHB Precursor Succinate Binds to  $\gamma$ -Hydroxybutyrate Receptors: Characterization of Human Basal Ganglia Areas *Nucleus Accumbens* and *Globus Pallidus*) bírálata folyik jelenleg a J. Neuroscience Research újságnál.

#### IV. GHB hatás vizsgálata az NA sejtek intracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ ion koncentrációjára.

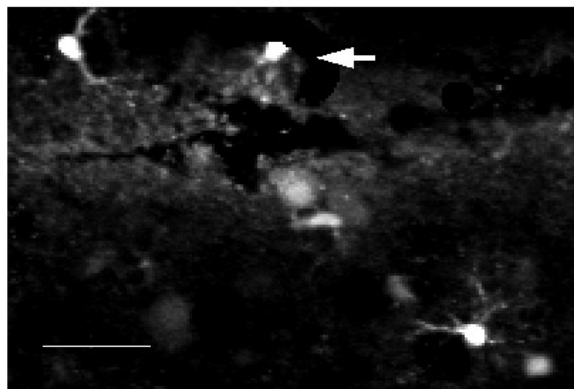
1) GHB hatása az NA sejtek intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion koncentrációjára.

Kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy a membrán-permeábilis  $\text{Ca}^{2+}$  ion-érzékeny festékekkel feltöltött NA sejtekben hogyan változik az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint GHB és GABA-B receptor ligandumok hatására. GHB adagolása transziens  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint-változást idézett elő. Baclofen hatására nem láttunk  $\text{Ca}^{2+}$  ion transzienseket.

Kontroll

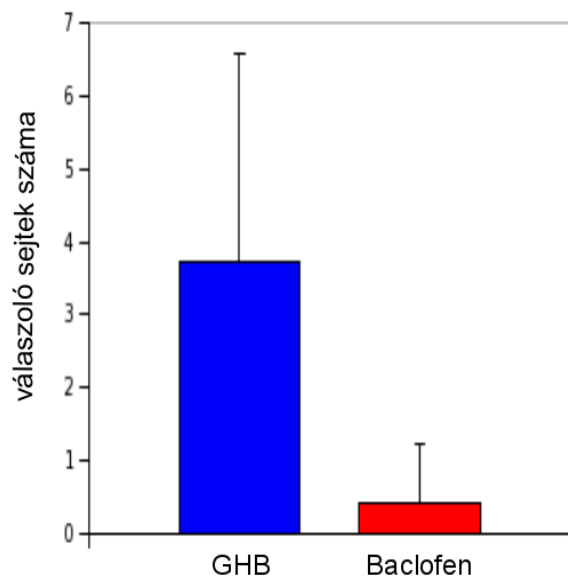


GHB 2mM



#### 8. ábra. Intracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ ion szint növekedés GHB hatására

Fluo-4  $\text{Ca}^{2+}$  ion-érzékeny festék membrán permeábilis formájával feltöltött sejtek NA szeletben. A GHB adagolás hatására felvillanó nyíllal megjelölt sejt megnövekedett intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szintet mutat.

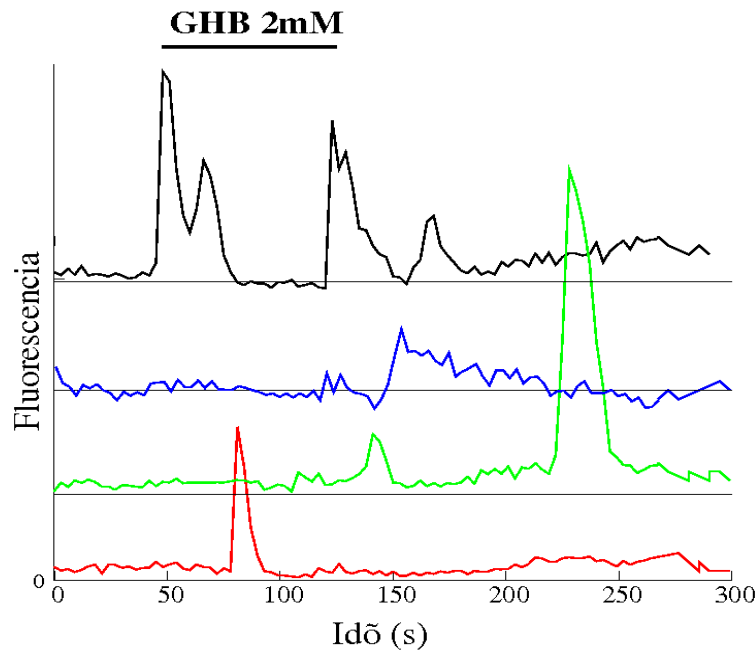


#### 9 ábra

#### GHB és baclofen hatása a sejtek intracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ ion szintjére

NA szeletekben 2 mM GHB illetve 10  $\mu\text{M}$  baclofen hatására intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint növekedést mutató sejtek száma. GHB adagolást követően  $3.73 \pm 2.86$  (n=22) sejtben láttunk intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint változást míg baclofen adagolást követően  $0.43 \pm 0.79$  sejtben (n=8).

A GHB-ra a sejtek nem szimultán válaszoltak, GHB adása után, az addig nem aktív szeletben percekig detektálhattunk felvillanó sejteket. A GHB-ra válaszoló sejtek száma illetve a válasz intenzitása nem mutatott erős korrelációt a GHB koncentrációval, 0,4mM és 10mM GHB hatására felvillanó sejtek száma nem különbözött szignifikánsan. A GHB-ra adott válaszlehetett egyszeri villanás illetve egy felvillanás sorozat.

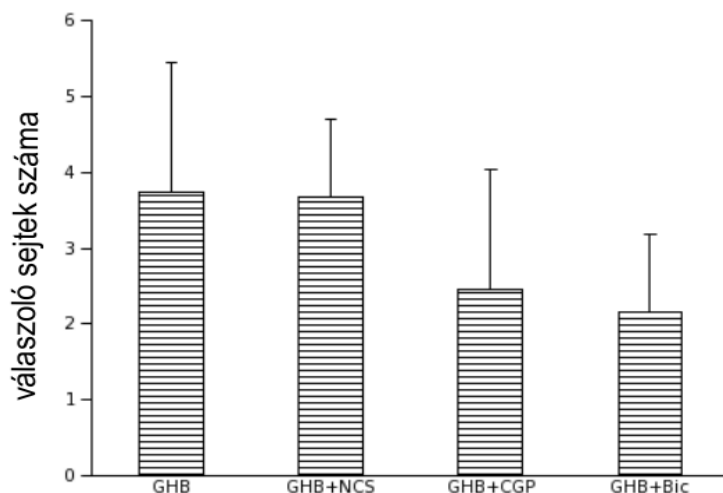


**10. ábra**

**A GHB-val kiváltott  $Ca^{2+}$  tranziensek**

A sejtek GHB-ra adott válasza töb percig tartó egyszeri vagy többszöri intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion szint növekedés.

A GHB-val kiváltott  $Ca^{2+}$  tranzienseket nem tudtuk gátolni a GHB receptor antagonistá NCS-382-vel, a GABA-B receptor antagonistá CGP-55845-tel illetve CGP-54626-tal, vagy a GABA-A receptor antagonistá bicucullinnal.

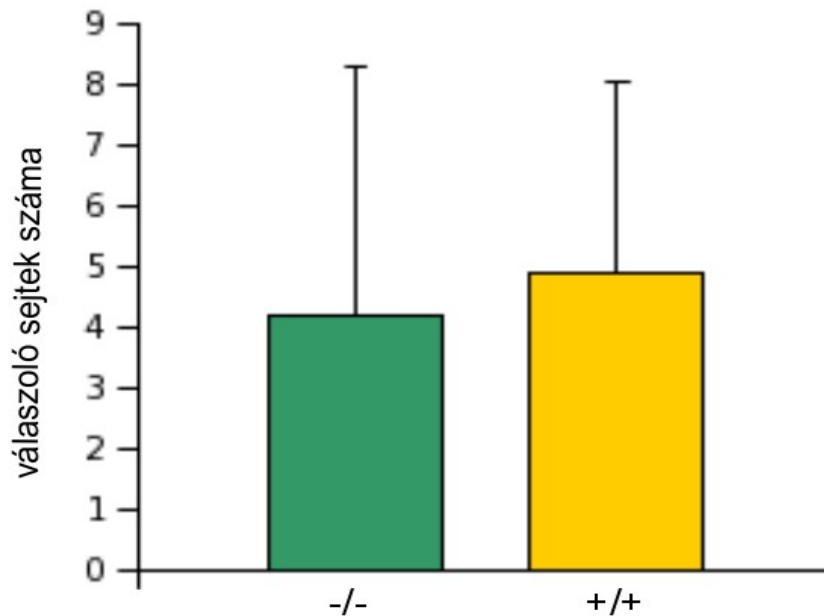


**11. ábra**

**GHB, GABA-B és GABA-A receptor blokkolók hatása a GHB-val kiváltott intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion szint növekedésre**

Egyik receptor blokkoló sem csökkentette GHB-ra felvillanó sejtek számát szignifikánsan.

Annak bizonyítására, hogy a GHB-val kiváltott intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint-növekedés nem GABA-B receptor függő hatás, a kísérleteket elvégeztük olyan egerekben is, amelyek nem rendelkeztek funkcionális GABA-B receptorral. A GHB GABA-B receptor 1-es alegységet nem tartalmazó egerekből származó NA szeletekben is előidézt intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion tranzienseket, amelyeket NCS-382-vel nem lehetett blokkolni.

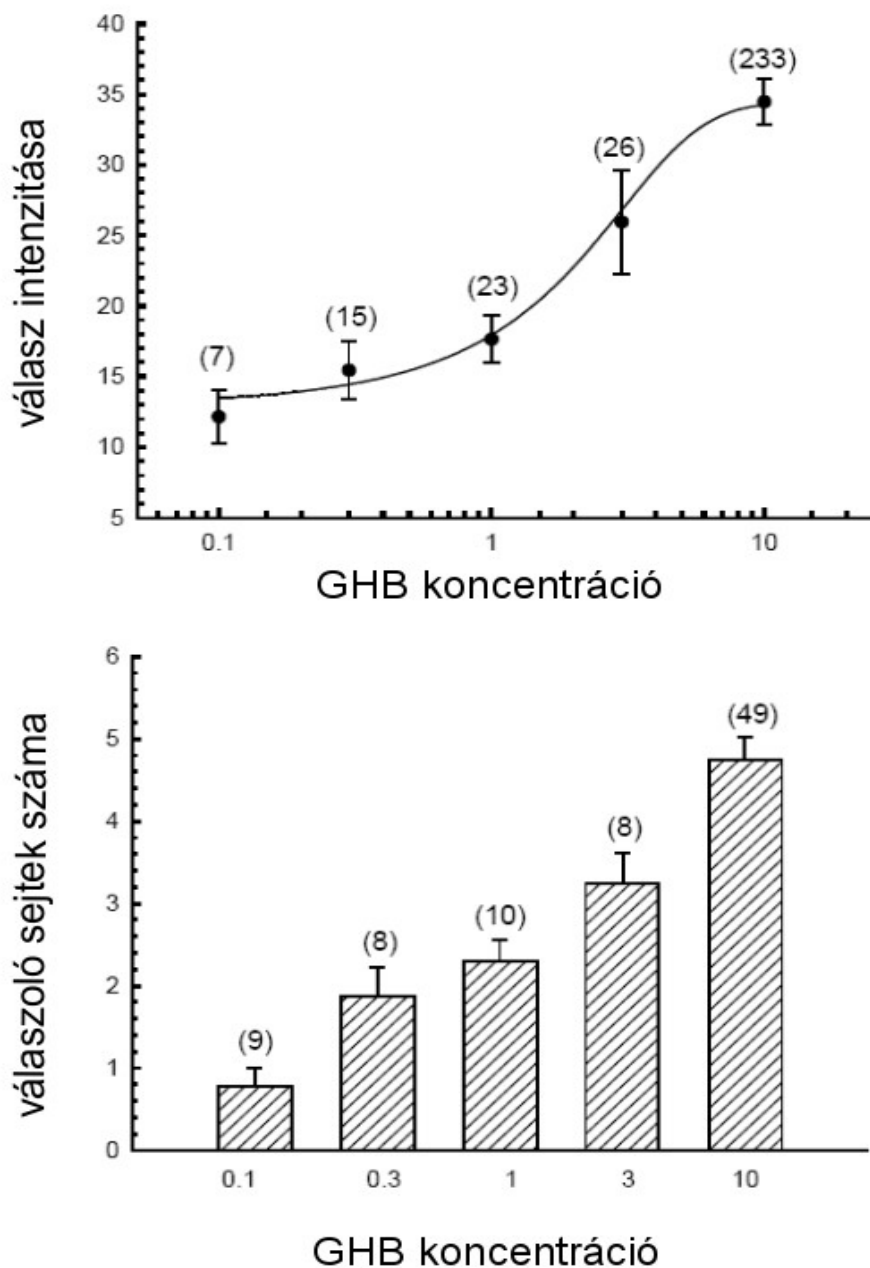


**12. ábra**  
**GHB-ra válaszoló sejtek száma**  
**GABA-B receptor 1-es alegységet**  
 **nem tartalmazó (-/-) és vad (+/+)**  
 **típusú állatok NA szeleteiben.**

GHB hatására a gén-módosított és a vad típusú egerek NA sejtjeiben is előfordult intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint növekedés.

#### **V. GHB hatás vizsgálata a ventrális tegmentális terület sejtjei intracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ ion koncentrációjára.**

1) GHB hatása a ventrális tegmentális terület (VTA) sejtjei intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion koncentrációjára. A nucleus accumbens mellett a kábítószer függőség kialakulásában illetve a kábítószer fogyasztáshoz kapcsolódó eufória kialakulásában részt vevő másik fontos agyterület a VTA. Ezt az agyterület dopaminerg és GABAerg sejtjei alkotják. A kábítószerekre itt kialakuló válasz az innen induló dopaminerg pálya közvetítésével eljut az NA-ba és a kábítószer hatások kialakításáért felelős egyéb agyterületekre is. Az innen kiinduló dopaminerg jel megváltozása kábítószer adagoláskor a triggere a kábítószerekkel kapcsolatos azonnali és későbbi változások kialakulásának is. Kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy a membrán-permeábilis  $\text{Ca}^{2+}$  ion-érzékeny Fluo-4 festékkel feltöltött VTA sejtjeiben is változik-e az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint GHB hatására. A GHB a VTA sejtjeiben is okozott intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ion szint-növekedést: GHB hatására, rövid egyszeri  $\text{Ca}^{2+}$  ion tranziensek alakultak ki. A válasz intenzitása és a válaszoló sejtek száma a GHB koncentrációjával növekedett.



**13. ábra**

**GHB hatása a VTA sejtek intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion szintjére.**

GHB koncentrációjával párhuzamosan nőtt a GHB-ra válaszoló sejtek száma és a válasz nagysága is. A számok a felső grafikon pontjai felett a válaszoló sejtek számát, az alsó oszlopdiaagramon pedig a vizsgált szeletek számát jelzik.

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, a GHB a kábítószer függőség kialakulása szempontjából fontos két agyterületen (NA és VTA) is tranziens intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion szint-növekedést vált ki. Mivel a membrán permeábilis festékek elsősorban glia sejtekben halmozódnak fel feltételezhetjük azt is, hogy a GHB-ra intracelluláris  $Ca^{2+}$  ion szint növekedéssel válaszoló sejtek egy része glia sejt, vagyis a kábítószer nemcsak az idegi, hanem glia sejteken is kifejti hatásukat, és feltehetőleg a függőség kialakulásakor bekövetkező változások a gliális-neuronális kölcsönhatás megváltozását is magukban foglalják.

Jelen kísérletsorozat kiértékelése folyamatban van, és a publikáció még 2006 első felében készül.

