

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Molekulární biologie a biochemie organismů



Michaela Kubincová

Mitochondrie a mechanismus drogové závislosti
Mitochondria and the mechanism of drug dependence

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2025

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne

Podpis:

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zaměřuje na zkoumání změn ve fungování mitochondrií v souvislosti s drogovou závislostí a shrnutí představ o možném významu těchto organel při rozvoji závislosti. Mitochondrie, známé jako "elektrárny buňky", hrají klíčovou roli v produkci energie prostřednictvím oxidativní fosforylace, což je proces nezbytný pro zajištění energetických potřeb buňky. Kromě toho mají mitochondrie významnou roli v regulaci apoptózy, metabolismu a buněčného cyklu. Drogová závislost je chronické onemocnění charakterizované kompulzivním vyhledáváním a užíváním drog navzdory jejich negativním důsledkům. Mechanismy vedoucí k závislosti zahrnují složité interakce mezi genetikou, prostředím a chemickými změnami v mozku, které mění neurochemické procesy, zejména v oblastech spojených s odměnou a motivací. Souvislost mezi mitochondriemi a drogovou závislostí je oblastí intenzivního výzkumu. Drogová závislost může způsobit mitochondriální dysfunkci, což vede k narušení buněčné homeostázy a potenciálně k neurodegeneraci. Tato práce se zaměřuje na analýzu literatury a experimentálních studií, které zkoumají vztah mezi mitochondriální dysfunkcí a mechanismy drogové závislosti.

Klíčová slova: mitochondrie, drogová závislost, oxidační stres, neurodegenerace, homeostáza, mitochondriální dysfunkce

Abstract

This bachelor's thesis focuses on examining changes in mitochondrial function in relation to drug addiction and summarizing ideas about the potential significance of these organelles in the development of addiction. Known as the "powerhouses of the cell," mitochondria play a crucial role in energy production through oxidative phosphorylation, a process essential for meeting the cell's energy needs. Additionally, mitochondria significantly contribute to the regulation of apoptosis, metabolism, and the cell cycle. Drug addiction is a chronic disease characterized by compulsive drug seeking and use despite its negative consequences. The mechanisms leading to addiction involve complex interactions between genetics, environment, and chemical changes in the brain that modify neurochemical processes, particularly in areas associated with reward and motivation. The relationship between mitochondria and drug addiction is an area of intense research. Drug addiction can cause mitochondrial dysfunction, leading to disruption of cellular homeostasis and potentially to neurodegeneration. This work focuses on analyzing literature and experimental studies that explore the relationship between mitochondrial dysfunction and the mechanisms of drug addiction.

Key words: mitochondria, drug addiction, oxidative stress, neurodegeneration, homeostasis, mitochondrial dysfunction

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Mitochondrie.....	2
2.1. Struktura.....	3
2.2. Mitochondriální dynamika	4
2.2.1. Mitochondriální dynamika a neurony	6
2.3. Mitofagie	8
2.4. Apoptóza.....	9
2.5. Biogeneze	11
2.6. Oxidativní fosforylace	11
2.6.1. ROS	12
2.7. Mitochondrie a Ca^{2+}	13
3. Mechanismus drogové závislosti	14
3.1. Drogami indukovaná neuroplasticita.....	14
3.2. Zánětlivé procesy.....	17
4. Mitochondrie a mechanismus drogové závislosti	18
4.1. Kokain a mitochondriální dysfunkce.....	18
4.1.1. Oxidativní fosforylace.....	18
4.1.2. Mitochondriální dynamika	19
4.1.3. Metabolismus vápníku	20
4.1.4. Epigenetické změny	20
4.2. Opioidy a mitochondriální dysfunkce	21
4.3. Kanabinoidy a mitochondriální dysfunkce.....	22
5. Závěr.....	24
6. Použitá literatura.....	26

Seznam zkratek

2 -AG	2-arachidonoylglycerol
AIF	Apoptózu indukující faktor
AMPA	Kyselina α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionová
ANT	ADP/ATP-translokázy
Apaf-1	Apoptotický proteázový aktivační faktor 1
ATP	Adenosintrifosfát
Bcl-2	B cell lymphoma-2
BH3	BH3-only proteiny
bp	Pár bází
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
CAT	Kataláza
CBD	Kanabidiol
CJ	Kristální spoje
CNS	Centrální nervový systém
DAT	Dopaminový transportér
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ER	Endoplasmatické retikulum
ERK	Kináza regulovaná extracelulárním signálem
ETC	Elektronový transportní řetězec
FAD	Flavinadenindinukleotid
FasL	Fas ligand
GABA	Kyselina gama-aminomáselná
GPx	Glutathion peroxidáza
GSH	Glutathion
IL-1β	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6
IMM	Vnitřní mitochondriální membrána
IP3	Inositol-1,4,5-trifosfát
LTD	Dlouhodobá deprese synapsí
LTP	Dlouhodobá potenciace synapsí
MAMs	Membrány asociované s mitochondriemi
MAPK	Mitogenem aktivovaná proteinkináza
MCU	Mitochondriální vápníkový uniportér
MDA	Malondialdehyd
MERCs	Mitochondriální endoplazmatické kontakty
Mff	Faktor mitochondriálního štěpení
Mfn1	Mitofusin 1
Mfn2	Mitofusin 2
MiD49	Protein mitochondriální dynamiky o velikosti 49 kDa
MiD51	Protein mitochondriální dynamiky o velikosti 51 kDa
MOR	μ -opioidní receptor
mPTP	Mitochondriální pór přechodné propustnosti
mRNA	Mediátorová RNA
mtDNA	Mitochondriální DNA
mtSSB	mtDNA jednovláknový vázající protein
mtTFA	Mitochondriální transkripční faktor A
NAcc	Nucleus accumbens

NADH	Nikotinamidadeninukleotid (redukovaná forma)
NMDA	N-methyl-D-aspartát
NRF-1	Nukleární respirační faktor 1
NRF-2	Nukleární respirační faktor 2
OFC	Orbitofrontální kůra
OMM	Vnější mitochondriální membrána
OXFOS	Oxidativní fosforylace
PFC	Prefrontální kortex
PKA	Proteinkináza A
POLG	DNA polymeráza γ
RCR	Respirační kontrolní poměr
RNA	Ribonukleová kyselina
ROS	Reaktivní formy kyslíku
rRNA	Ribosomální RNA
siRNA	Malá interferující RNA
SOD	Superoxid dismutáza
THC	Tetrahydrokanabinol
TIM	Translokázový komplex vnitřní membrány
TLR4	Toll-like receptor 4
TNF-α	Tumor nekrotizující faktor alfa
TOM	Translokázový komplex vnější membrány
tRNA	Transferová RNA
VDAC	Napětově závislý aniontový kanál
Δ^9-THC	Delta-9-tetrahydrokanabinol
$\Delta\Psi_m$	Mitochondriální membránový potenciál

1. Úvod

Mitochondrie jsou základním stavebním kamenem energetického metabolismu všech eukaryotních buněk, ovlivňující nejen produkci energie, ale i mnoho dalších zásadních buněčných procesů, včetně signalizace, diferenciaci buněk, buněčného růstu a buněčné smrti.

Drogová závislost je definována jako chronické onemocnění charakterizované kompulzivním a opakovaným užíváním drog navzdory jejich negativním efektům. Závislost je výsledkem složitých interakcí mezi genetickými, environmentálními a chemickými změnami v mozku. Nejvíce užívané drogy nejčastěji vedou k dočasné elevaci hladiny neurotransmiteru dopaminu ihned po užití, který je úzce spojený s odměnou a motivací. Při nadměrném a dlouhodobém užívání drog dochází ke změnám neurochemických procesů v mozku, snižuje se množství dopaminových receptorů, a to vede k patologickým změnám v chování. Základními charakteristikami závislosti jsou kompulzivní vyhledávání a užívání drog, ztráta kontroly nad množstvím užívaných drog a zhoršení psychický stav.

Souvislost mezi mitochondriemi a drogovou závislostí je oblastí výzkumu, která se skládá z oblastí lépe i hůře prozkoumaných. Mitochondrie hrají klíčovou roli v řízení uvolňování neurotransmiterů, neurogenezi i neuroplasticitě. V případě nesprávné funkce či mutace mitochondrií může dojít ke zkompromitování oxidativní fosforylace (OXFOS), produkci reaktivních forem kyslíku (ROS), apoptóze a neurodegenerativním poruchám, a drogová závislost může způsobit mitochondriální dysfunkci, což vede k narušení buněčné homeostázy a potenciálně k neurodegeneraci.

Cílem této práce je prozkoumat, jakým způsobem drogová závislost ovlivňuje mitochondriální funkce a jak různé druhy drog na mitochondrie působí. Práce se zaměřuje na rešerši literatury a experimentálních studií, které zkoumají vztah mezi mitochondriální dysfunkcí a mechanismy drogové závislosti.

2. Mitochondrie

Mitochondrie jsou nejpodstatnějším článkem pro výrobu energie, kterou potřebují eukaryotické buňky ke svému správnému fungování, a i proto se nachází téměř ve většině buněk eukaryotického organismu. Tato energie je vytvářena převážně z karbohydrátů a mastných kyselin, které se pomocí OXFOS, ve spojení s Krebsovým cyklem a β -oxidací mastných kyselin, přetváří sérií chemických reakcí až na finální produkt adenosintrifosfát, neboli ATP. Kromě toho mitochondrie dále fungují jako regulátoři buněčného metabolismu, nakládají s vápníkem, čímž pomáhají udržovat homeostázu uvnitř buněk, účastní se signalizace, řízení buněčného cyklu, programování buněčné smrti, vývoje tkání a dalších významných dějů.

Mitochondrie jsou semiautonomní organely obalené dvěma membránami tvořenými fosfolipidovou dvojvrstvou nacházející se v cytosolu. Jejich neobvyklá struktura pro buněčnou organelu a jejich semiautonomita, která se vyznačuje přítomností vlastní mitochondriální DNA (mtDNA), vypovídá o jejich bakteriálním endosymbiotickém původu dle široce uznávané endosymbiotické teorie. Studium genetického kódu mitochondrií a jeho porovnávání s bakteriální ribosomální RNA (rRNA) teorií potvrdilo a původ mitochondrií napříč eukaryotickým fylogenetickým stromem přiřadil k jedinému předkovi z řádu Proteobacteria, konkrétněji Alphaproteobacteria. Aby mitochondrie získaly svou aktuální podobu, musel jejich předek projít značnými evolučními změnami. Z nich nejvýraznějšími jsou redukce genomu, přesun značného množství genů do jádra eukaryotické buňky a vytvoření transportních systémů pro transport proteinů z cytosolu do organely (Margulis, 1970; Tylor, 1974).

Po evoluční redukci původního bakteriálního genomu obsahuje genom savčích mitochondrií pouze 37 genů, které jsou uloženy do cirkulární dvoušroubovice o délce 16 569 párů bází (bp). Všechny 37 mitochondriálních genů je esenciálních pro životaschopnost a správnou funkčnost mitochondrie, jelikož zahrnují geny důležité pro replikaci, transkripci a translaci. Z těchto 37 genů dva kódují 2 rRNA, a to 12 S a 16 S rRNA, a dalších 22 je využito pro transferové RNAs (tRNA) (Anderson, 1981). Z mtDNA se pomocí genů pro 11 messenger RNAs (mRNA) kóduje 13 proteinů pro systém OXFOS. Tento systém zahrnuje přibližně 90 proteinů jak mitochondriálního, tak jaderného genetického původu, nicméně těchto 13 mitochondriálních proteinů je pro OXFOS esenciálních i přes jejich malý počet, jelikož se jedná o hlavní podjednotky komplexů I-IV zakomponovaných ve vnitřní mitochondriální membráně a podjednotky komplexu V (Larsson et al., 1998).

Na rozdíl od jaderné DNA se mitochondriální DNA vyskytuje ve formě komplexu mtDNA a proteinů tzv. mitochondriálních nukleoidů, kterých jsou stovky až tisíce kopií na jednu buňku (Kuroiwa, 1982; Miyakawa et al., 1984). Dalším rozdílem je absence intronů, nekódujících oblastí a symetrická transkripce mtDNA, která má počátek v oblasti D-smyčky o velikosti přibližně 1 kbp, která je jedinou

nekódující oblastí mtDNA, pomocí dvou promotorů, kde jeden je specifický pro lehké na cytosin bohaté vlákno a druhý je specifický pro těžké na guanin bohaté vlákno (Clayton, 1982).

Mitochondriální genom podléhá většinově matroklínální dědičnosti (Giles et al., 1980), což při vzniku mutace v mtDNA usnadňuje její přenos na potomka. Mitochondriální DNA je vysoce senzitivní na mutace, a to z velké části kvůli tomu, že mitochondrie produkují většinu množství ROS, které je poškozují. Zároveň mutace mtDNA mohou poškodit správné fungování OXFOS, což může vést ke snížené produkci energie, zvýšené produkci ROS a k apoptóze. Mutace mtDNA pak mohou vést až k projevům ve formě kardiovaskulárních, neurodegenerativních, endokrinních a dalších onemocněních (Luft et al., 1962; Wallace, 1999).

Mitochondrie nejsou prostorově vázané a stálé organely, ale dynamické útvary procházející častou fúzí a štěpením, a v čase vytvářejí síť neustále měnící svůj tvar (Nunnari et al., 1997). Aby byly mitochondrie dlouhodobě funkční je potřeba poškozené či nečinné mitochondrie odstraňovat a následně je nahradit novými. K tomu jsou klíčové dva procesy, a to mitofagie a biogeneze. Díky opakování cyklů fúze a štěpení jsou mitochondrie schopné zachovat svoji funkčnost, a to i v přítomnosti mutace, díky homogenizaci nejenom mtDNA (Hayashi et al., 1994), ale i lipidů a proteinů, při jejich interakci s nepoškozenými mitochondriemi, která může vést k jejich reparaci nebo mitofagii (Chen et al., 2005; Twig et al., 2008a).

2.1. Struktura

Základní strukturu mitochondrií představuje systém membrán tvořený fosfolipidovou dvojvrstvou, který je klíčový pro jejich funkci. Na povrchu mitochondrie se nachází vnější mitochondriální membrána (OMM), která je hladká a jsou v ní zakomponovány proteiny poriny umožňující průchod iontům a malým molekulám do velikosti 5 kDa, což z ní dělá relativně propustnou bariéru (Lindén et al., 1984). Uvnitř se nachází vnitřní mitochondriální membrána (IMM), která uzavírá matrix mitochondrie a vytváří nepropustnou bariéru pro volný pohyb molekul. Oproti většině membrán je IMM jedna z nejvíce bohatých membrán na proteiny, kde poměr objemu proteinů k lipidům je přibližně 75:25 (u OMM by tento poměr byl zhruba 50:50) (Ardail et al., 1990; Simbeni et al., 1991). Tyto proteiny zaujímají různé funkce, kde mezi nejpodstatnější patří proteiny zajišťující translokaci proteinů a proteiny účastníci se OXFOS, které jsou zabudovány v IMM, a to nejvíce ve strukturách vytvářených IMM takzvaných kristách (Gilkerson et al., 2003).

Kristy jsou útvary, které zvětšují plochu membrány a zvyšují tím efektivitu produkce ATP. Počet krist v buňce koreluje s její energetickou potřebou a díky tomografickým studiím víme, že se kristy mohou nacházet v různých podobách a tvarech, které se odvíjejí od přechodů mezi respiračními cykly

(Hackenbrock, 1966). Současné studie rozdělují IMM na dvě morfologicky a funkčně odlišné podjednotky, a to na samostatnou IMM a membránu krist. Propojení mezi těmito dvěma strukturami, kristální spoje (CJ), mají tubulární tvar a průměr okolo 30 nm (Perkins et al., 1997). Předpokládáme, že tyto struktury hrají roli v udržování pH gradientu napříč IMM a tvoří bariéru pro difúzi proteinů a metabolitů mezi vnitřním prostorem krist a mezimembránovým prostorem, který se nachází mezi IMM a OMM a obsahuje enzymy a proteiny, které se podílejí na metabolických procesech a apoptóze, jako je cytochromu c, který hraje zásadní roli v iniciační kaskádě apoptózy. Jedny z metabolitů, které jsou CJ ovlivněny, jsou např. ATP, které směřuje směrem z matrix do cytosolu, a ADP, které směřuje opačným směrem. Tyto metabolity proto musí využívat specializované transportéry pro svůj přenos, jelikož jim CJ neumožní přechod prostou difúzi mezi mitochondriálními oblastmi (Dalbon et al., 1988).

Jelikož je genom mitochondrií velmi redukovaný a z velké části přesunutý do jaderného genomu eukaryotických buněk, existují translokázové systémy na obou membránách pro transport proteinů z cytosolu do membrán či až do matrix mitochondrií. Na OMM je to translokázový komplex vnější membrány (TOM) a na IMM je to translokázový komplex vnitřní membrány (TIM). TOM komplex zajišťuje translokaci proteinů do mezimembránového systému a převážně strukturních proteinů pro OMM. TIM poté zajišťuje translokaci proteinů pro IMM a proteinů důležitých pro systém OXPHOS (Schleyer & Neupert, 1985).

2.2. Mitochondriální dynamika

Mitochondriální dynamika je založena na dvou esenciálních dějích, kterými tyto organely udržují svoji funkčnost. Jedná se o fúzi a štěpení, které společnými silami udržují homogenní populaci mitochondrií v buňce, zajišťují, aby mtDNA byla mezi jednotlivými mitochondriemi komplementární, a zároveň hrají roli v odstraňování poškozených mitochondrií, což napomáhá udržování stability jejich energetické produkce a prevenci neuronové degenerace a dalších dysfunkcí (Delettre et al., 2000; Züchner et al., 2004).

Mitochondriální fúze spočívá ve spojení jedné nebo více mitochondrií do jedné a tento proces má dvě části – fúzi OMM a následující fúzi IMM. Fúze mitochondrií umožňuje přesun proteinů, lipidů a mtDNA mezi organelami, což napomáhá opravě poškození způsobeného oxidativním stresem a zlepšení metabolických funkcí mitochondrie. Na OMM se nachází proteiny s GTPázovou aktivitou zvané Mitofusin 1 (Mfn1) a Mitofusin 2 (Mfn2), které prochází vnější fosfolipidovou dvojvrstvou nadvakrát, což vystavuje obě jejich GTPázové domény, tedy jak C konec, tak N konec, směrem do cytosolu buňky (Santel & Fuller, 2001). Mfn2 navíc hraje důležitou roli v interakci mitochondrie s endoplasmatickým retikulem (ER), která je důležitá pro příjem Ca^{2+} a následnou signalizaci (de Brito & Scorrano, 2008).

Na IMM se nachází dynaminový protein taktéž s GTPázovou aktivitou známý jako OPA1, který kromě fúze IMM napomáhá udržovat kristy ve správném tvaru. OPA1 má několik isoform, které vznikají alternativním sestřihem mRNA, a pro jeho správné fungování v rámci vlastních interakcí a oligomerizace je důležité, aby množství krátkých (S) a dlouhých (L) isoform bylo vyrovnáno, jelikož dle studií byla prokázána tendence S isoform OPA1 k fragmentaci mitochondrií, zatímco role u L isoform spočívá hlavně ve tvoření mitochondriálních sítí (Ishihara et al., 2006).

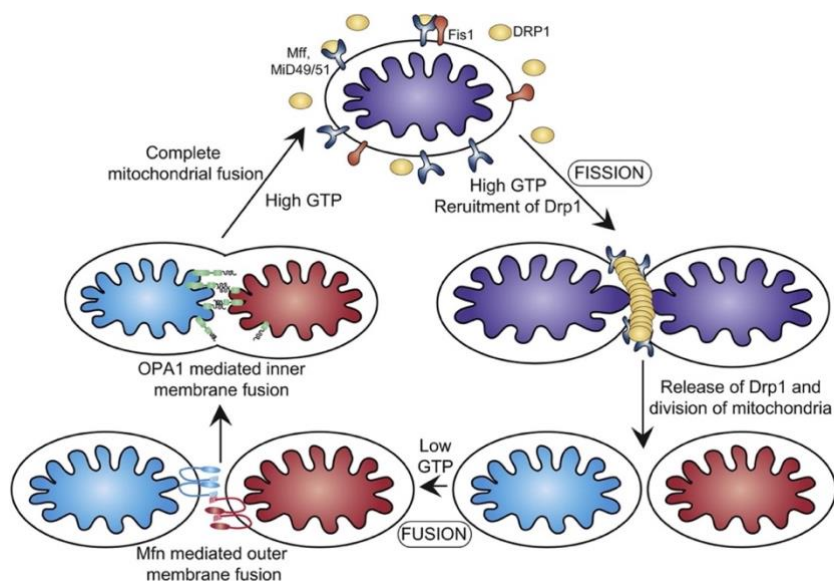
Nicméně díky studiím role OPA1 v mitochondriální dynamice bylo dokázáno, že při snížení exprese proteinu OPA1 za pomoci specifické malé interferující RNA (siRNA) nedojde pouze k fragmentaci mitochondrií a narušení podoby krist, ale dochází i ke ztrátě mitochondriálního membránového potenciálu ($\Delta\Psi_m$) a uvolnění cytochromu c, což vede k navození apoptických procesů spojených s aktivací kaspázy (Arnoult et al., 2005; Olichon et al., 2003).

Štěpení mitochondrií probíhá krátce po fúzi a naopak spočívá v rozdělení mitochondrie na více menších částí. Fúzí spojené mitochondrie nejprve přerozdělí svůj obsah, kdy je jedna mitochondrie obohacena o funkční komponenty a látky a druhá, depolarizovaná, je předurčena pro mitofagii (Elmore et al., 2001; Twig et al., 2008a). Druhá možnost rozdělení mitochondrií spočívá v tom, že dochází k replikaci mtDNA a zvýšení množství proteinů uvnitř organel v rámci biogeneze pro vznik nové funkční mitochondrie.

Štěpení mitochondrií je založeno na dvou hlavních proteinech, a to Drp1 a Fis1. Drp1 je GTPáza, která se nachází v cytosolu a pomocí interakcí s membránovými proteiny, které fungují jako její receptory, lokalizuje místo pro štěpení mitochondrie a následně vytváří oligomerní prstencovou strukturu okolo mitochondrie. Fis1 je protein lokalizovaný na vnější membráně a rekrutuje Drp1 do míst iniciace štěpení (Mozdy et al., 2000; Otsuga et al., 1998; Yoon et al., 2003). Recentní studie zjistily účast dalších významných proteinů, které se podílí na štěpení mitochondrií. Jsou to faktor mitochondriálního štěpení (Mff), protein mitochondriální dynamiky o velikosti 49 kDa (MiD49) a protein mitochondriální dynamiky o velikosti 51 kDa (MiD51) (Loson et al. 2013; Palmer et al., 2011). Schématické zobrazení procesů fúze a štěpení mitochondrií včetně proteinů, které tyto mechanismy zprostředkovávají, je vyobrazeno na obrázku č. 1.

Další důležitou komponentou v dynamice mitochondrií je faktor $\Delta\Psi_m$ na OMM, který musí udržovat membránu polarizovanou pro správné provedení fúze. Nicméně v případě štěpení nevznikají pravidlem identické mitochondrie. Jedna dceřiná mitochondrie je obohacena o komponenty a má vyšší $\Delta\Psi_m$, což jí dělá vhodnou mitochondrií pro další fúze, zatímco u druhých dceřiných mitochondrií bylo zjištěno, že pravděpodobnost, aby fúzovaly, je razantně menší. Je to hlavně kvůli tomu, že jsou druhé dceřiné mitochondrie často ochuzeny o funkční komponenty a jsou depolarizovány, což je dělá terčem pro mitofagii, pokud jim jejich funkčnost nedovolí repolarizovat svoji membránu pro další fúze. Z toho

vychází i závislost četnosti fúzí a štěpení na množství nefunkčních mitochondrií, které tím pádem budou odhaleny a odstraněny. Můžeme tedy říci, že dynamika mitochondrií hraje společně s mitofágií klíčovou roli v kontrole kvality mitochondrií (Twig et al., 2008a).



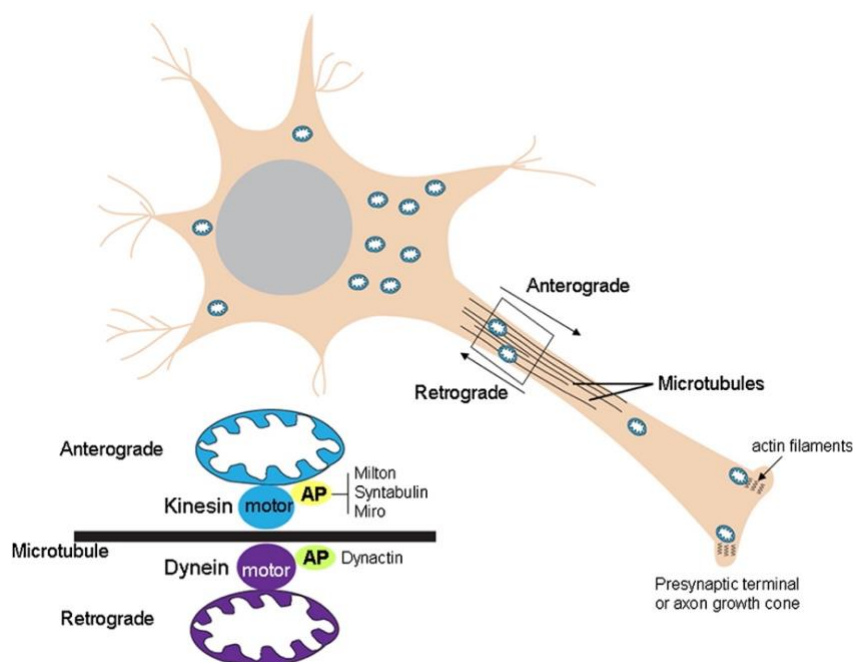
Obrázek 1: Schématické zobrazení procesů „fission“ a „fusion“, tedy štěpení a fúze, kde je znázorněna podstata proteinů účastnících se těchto procesů (převzato z Osellame et al., 2012).

2.2.1. Mitochondriální dynamika a neurony

Dynamika mitochondrií je ale také esenciální pro správnou funkčnost nervové soustavy, zejména neuronů. Neurony mají totiž vysoké energetické požadavky, a to kvůli jejich dlouhým axonům, aktivitě založené na napětí a řízení synaptických funkcí, zejména uvolňování neurotransmiterů. To vyžaduje určitou distribuci mitochondrií na místa s velkou spotřebou ATP a potřebou řízení správy Ca^{2+} iontů, což jsou v rámci neuronů převážně synaptická zakončení a místa aktivního axonálního růstu. Mitochondrie zde proto často bývají nacházeny ve větší četnosti než v ostatních částech neuronové buňky (Morris & Hollenbeck, 1993; Palay, 1956; Rowland et al., 2000; Shepherd & Harris, 1998).

Transport mitochondrií je proto v neuronech kritický pro správnou distribuci energie a funkčnost synapsí. Mitochondrie se pohybují podél mikrotubulů, a to pomocí motorových proteinů, které využívají energii z ATP. Mikrotubuly v neuronech jsou uspořádány do paralelních a polarizovaných vláken, díky čemuž můžou mitochondrie putovat jak v anterográdním (směrem k synaptickým zakončením, +), tak v retrográdním směru (směrem k tělu neuronu, -), který umožňuje recyklaci nebo případnou reparaci mitochondrií. Anterográdní transport, který koreluje převážně s transportem mitochondrií s vyšším $\Delta\Psi_m$, je především zajišťován proteiny kinesiny a retrográdní transport, který naopak koreluje převážně s transportem mitochondrií s nižším $\Delta\Psi_m$, především proteiny dyneiny (Brady et al., 1990; Miller & Sheetz, 2004; Nangaku et al., 1994; Varadi et al., 2004). Mitochondrie se ale nevážou přímo na motorové

proteiny. Kinesiny se pomocí atypických GTPáz Miro-1 a Miro-2 na mitochondriální membráně váží k motorovým proteinům přes proteiny adaptorové, kde hlavní roli hrají TRAK1/2, lidské homology k proteinu Milton, a syntabulin. TRAK1 a syntabulin jsou zodpovědní převážně za anterográdní transport, zatímco TRAK2 je spojován převážně s retrográdním transportem (Cai et al., 2005; Brickley et al., 2005; Brickley & Stephenson, 2011; Fransson et al., 2006). V případě dyneinů je klíčovým hráčem proteinový komplex dynaktin, který se ale může vázat i ke kinesinům pro zprostředkování anterográdního transportu (Deacon et al., 2003). Schématické zobrazení mikrotubulárního transportu mitochondrií v neuronu je vyobrazeno na obrázku č. 2.



Obrázek 2: Schéma mechanismu anterográdního a retrográdního mikrotubulárního transportu mitochondrií v neuronu a proteinů, jež nasednutí na mikrotubuly umožňují (převzato z Mattson et al., 2008).

Dynamika mitochondrií a její význam v neuronové energetice a synaptických funkcích byla ověřena jako zásadní článek pro synaptickou funkci a jako prevence neurodegenerativních onemocnění. Díky mnohým studiím byla implikována přímá souvislost mezi štěpením mitochondrií a vznikem synapsí v axonu a dendritických trnech. Ze studií bylo vyvozeno, že při vyšší expresi proteinu Drp1, který je hlavní účastník mitochondriálního štěpení, dochází ke zvýšené tvorbě synapsí. Naopak v případě, že je použita mutantní forma proteinu Drp1, jejíž GTPázová aktivita je narušena, mitochondriální štěpení je také narušeno, a to vede k odstranění mitochondrií z dendritických trnů a snížení počtu a velikosti synapsí. Problémové ale není pouze mitochondriální štěpení. Mutace fúzních proteinů, tedy Mfn1, Mfn2 a OPA1, jsou spojeny se vznikem neuropatií a neurodegenerativních onemocnění, jako je například Alzheimerova či Parkinsonova choroba (Li et al., 2004).

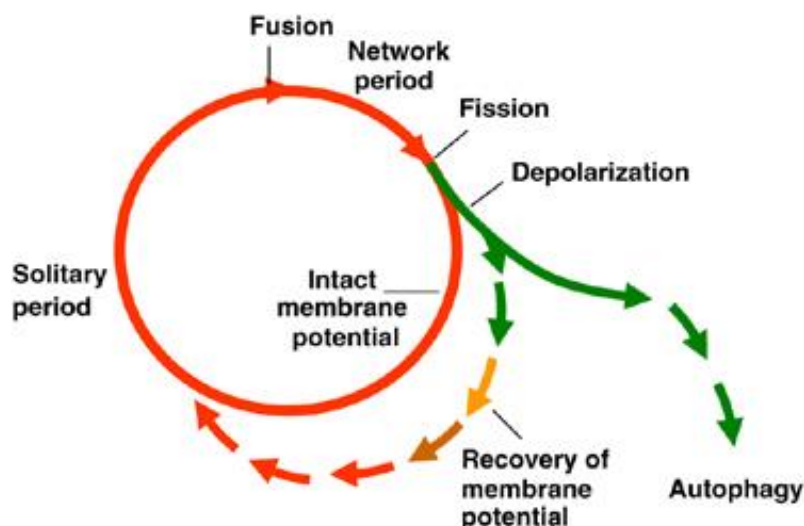
2.3. Mitofagie

Mitofagie je typ selektivní autofagie, pomocí které dochází k odstranění poškozených mitochondrií selektivním obalením autofagosomální membránou a následnou degradací v lysozomech (Dunn, 1990). Tento proces je zásadní pro udržení homeostázy v buňce a zabránění hromadění dysfunkčních mitochondrií, které by mohlo vést k rozsáhlému buněčnému poškození či až buněčné smrti. Dysfunkční mitochondrie totiž mají tendenci k nadměrné produkci ROS, reaktivních částic, které mohou ve vyšších koncentracích vést k poškození proteinů, lipidů, ale i DNA, k poruchám energetického metabolismu a k uvolňování apoptických proteinů (Elmore et al., 2001; James et al., 1996; Kim et al., 2003). Mitofagie je proto obzvláště důležitá v neuronech, kde v případě poruchy tohoto procesu může docházet k neurodegenerativním onemocněním, jako je Parkinsonova choroba (Kitada et al., 1998; Narendra et al., 2008).

V mechanismu mitofagie je klíčovým hráčem protein PINK1, mitochondriální serin/threoninová kináza, díky které dochází k rozpoznávání dysfunkčních mitochondrií. V případě funkčních mitochondrií je PINK1 importován do mitochondrií a následně degradován proteázou PARL v jejich matrix. Nicméně v případě dysfunkčních mitochondrií se PINK1 hromadí na OMM a rekrutuje Parkin, cytosolickou E3 ubiquitin ligázu, která ubiquitínuje povrchové proteiny mitochondrií, což slouží jako signál pro obalení mitochondrie autofagosomální membránou. Jejich důležitost v mitofagii je očividná a díky studiím bylo potvrzeno, že mutace v genech kódující PINK1 a Parkin souvisí s dědičnými formami Parkinsonovy choroby. (Jin et al., 2010; Matsuda et al., 2010; Narendra et al., 2008 a 2010; Poole et al., 2008). V mechanismu mitofagie navíc hrají roli adaptorové proteiny, které zajišťují vazbu ubiquitínovaných proteinů a autofagosomální membrány, konkrétněji vazbu s autofagosomálním proteinem LC3. Mezi takové adaptérové proteiny patří např. protein p62 (Bjørkøy et al., 2005).

Dalším signálem pro mitofagii je také depolarizace mitochondrií, během mitochondriálního štěpení, jak bylo již nastíněno v části o dynamice mitochondrií. Důležitost dynamiky dále podporuje i pozorování, kdy při inhibici mitochondriálního štěpení či zvýšení mitochondriální fúze dochází ke snížení mitofagické aktivity (Matsuda et al., 2010; Narendra et al., 2008; Twig et al., 2008a). Nicméně depolarizace mitochondrií může být způsobena i jinými jevy, jako je např. otevření mitochondriálních pórů přechodné propustnosti (mPTP), které slouží jako signál pro selektivní eliminaci mitochondrií a hraje tím důležitou roli nejenom v mitofagii, ale i v apoptóze. Depolarizace totiž způsobí inhibici degradace PINK1 a jeho přesun na povrch mitochondrie (Elmore et al., 2001; Narendra et al., 2008). Tento životní cyklus mitochondrií je schématicky vyobrazen na obrázku č. 3.

Mitochondriální autofágie je převážně brána jako selektivní, nicméně může být i neselektivní, a to v případě buněčného hladovění, kdy pohlcení částí buňky souvisí se snahou přežít. Tyto pohlcené části jsou následně recyklovány a využity pro další buněčné pochody (Rodriguez-Enriquez et al., 2006).



Obrázek 3: Schématické zobrazení životního cyklu mitochondrií založené na dynamice mitochondrií, tedy na fúzi a jejich štěpení, a polarizaci či depolarizaci jejich membrány (převzato z Twig et al., 2008b)

2.4. Apoptóza

Apoptóza neboli programovaná buněčná smrt, je klíčový mechanismus pro udržení buněčné homeostázy, jelikož zajišťuje odstranění poškozených nebo nepotřebných buněk. Tento mechanismus není oproti nekróze doprovázen zánětlivou reakcí, která by mohla vést k poškození okolních buněk, což je pro udržení správné funkčnosti tkání nezbytné. Zároveň nadměrná či nedostatečná apoptóza může vést k různým onemocněním včetně onemocnění spojených s neurodegenerací nebo například k rakovinnému bujení. Apoptóza je řízena pomocí množství buněčných signálních drah zahrnujících ve svém mechanismu proteiny z rodiny Bcl-2 a kaspázy, ale nejznámější a nejvíce prostudované dráhy apoptózy jsou intracelulární a extracelulární dráha (Zamzami et al., 1996).

V intracelulární dráze hrají nejvýznamnější roli mitochondrie, i proto se také označuje jako mitochondriální dráha (Zamzami et al., 1996). Tato dráha je iniciována pomocí vnitřních stresových signálů, jako je oxidativní stres, UV, poškození DNA či další poškození funkčnosti mitochondrií. V této dráze je klíčové, aby se cytochrom c, který je uchováván v mezimembránovém prostoru krist, uvolnil do cytosolu buňky, kde se naváže na apoptotický proteázový aktivační faktor 1 (Apaf-1) za přítomnosti ATP, díky čemuž dochází ke vzniku apoptosomu. Tento komplex rekrutuje a aktivuje prokaspázu-9, která následně aktivuje efektorové kaspázy-3 a -7, které spouští fragmentaci buněčné DNA a vedou k buněčné smrti (Hao et al., 2005; Li et al., 1997).

V uvolnění cytochromu c hrají zásadní roli proteiny rodiny Bcl-2, a to pomocí regulace funkce a integrity OMM. Proteiny rodiny Bcl-2 můžeme rozdělit na základě jejich funkce na anti-apoptické, Bcl-2, Bcl-xL a Mcl-1, a pro-apoptické, Bax a Bak. Poslední skupinou jsou BH3-only proteiny (BH3), jako jsou Bid (tBID), Bim, Bik a PUMA, které navozují apoptózu aktivací pro-apoptických proteinů, kde

způsobují konformační změny Bax a Bak, což umožní jejich oligomerizaci a následně i permeabilizaci OMM, nebo inaktivaci anti-apoptických proteinů. Anti-apoptotické proteiny se totiž váží na aktivační proteiny BH3 a vytvářejí s nimi neaktivní komplexy, čímž zabraňují aktivaci proteinů Bax a Bak. Proto BH3 skupina obsahuje i proteiny, jako např. Bad, které nepůsobí jako aktivátoři pro-apoptických proteinů, ale naopak umožňují vyvázání aktivačních proteinů z těchto komplexů a následné spuštění apoptózy (Cheng et al., 2001; Kim et al., 2009; Luo et al., 1998).

Mitochondrie obsahují ještě další pro-apoptotické faktory, jako je Smac/Diablo, Omi/HtrA2, AIF (apoptózu indukující faktor) a endonukleáza G, které se během apoptózy uvolňují do cytosolu. Smac/Diablo a Omi/HtrA2 inhibují inhibitory apoptózy, zatímco AIF a endonukleáza G iniciují apoptózu nezávisle na kaspázách díky jejich nukleázové aktivitě prostřednictvím fragmentace jaderné DNA (Du et al., 2000; Li et al., 2001; Susin et al., 1999; Suzuki et al., 2001; Verhagen et al., 2000).

Další důležitou součástí mechanismu apoptózy jsou mPTP, které vytváří transmembránový kanál mezi OMM a IMM pomocí interakce mezi ADP/ATP-translokázami (ANT) a napětově závislým aniontovým kanálem (VDAC), a které jsou regulovány pomocí pro-apoptotických a anti-apoptotických proteinů z rodiny Bcl-2. Proto při otevření mPTP, za účasti pro-apoptotických proteinů, dochází k depolarizaci mitochondriální membrány a uvolnění cytochromu c, což vede k iniciaci apoptózy. S tím spojená je i role proteinu Bik ze skupiny BH3, který podporuje uvolňování Ca^{2+} z ER pomocí IP3 receptoru (receptoru pro inositol-1,4,5-trifosfát) do cytosolu. Následně zvýšená koncentrace Ca^{2+} poté může vést k jeho vstupu do mitochondrií, kde dlouhodobé hromadění Ca^{2+} napomáhá otevření mPTP a translokaci Drp-1. Translokace Drp1, proteinu, který hraje zásadní roli v štěpení mitochondrií, vede k mitochondriální fragmentaci, což usnadňuje jejich odstranění a pomáhá uvolňovat cytochrom c a další pro-apoptické faktory (Germain et al., 2005; Shimizu et al., 1999; White et al., 2005).

Extracelulární apoptotická dráha, nebo také receptorová dráha, je naopak iniciována pomocí signálu pocházejících z vnějšího okolí buněk, a to pomocí receptorů z nadrodiny pro tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α), jako je Fas receptor, TNF receptor 1 a TRAIL, které se nacházejí na povrchu buněk. Tyto receptory jsou aktivovány pomocí vazby se specifickými ligandy, jako je například Fas ligand (FasL), což aktivuje kaspázy nebo translokuje pro-apoptický tBid do mitochondrií a tím spustí mitochondriální apoptickou dráhu (Deng et al., 2002 a 2003; Mootha et al., 2001; Scaffidi et al., 1998).

Apoptóza je také úzce propojena s mitofágií, jelikož mitofagie odstraňuje poškozené mitochondrie, které mohou produkovat značné množství ROS a uvolnit pro-apoptotické faktory, jako je cytochrom c, což by vedlo k apoptóze. Mitofagie tedy brání nadměrné buněčné smrti pomocí odstranění poškozených mitochondrií.

2.5. Biogeneze

Dalším důležitým mitochondriálním mechanismem je biogeneze, která zajišťuje udržení dostatečného množství funkčních mitochondrií nutných pro energetický metabolismus buněk a přispívá k udržování buněčné homeostázy. V rámci mitochondriální dynamiky mitochondrie neustále mění svůj tvar a prochází cykly fúze a štěpení, kde jsou dysfunkční mitochondrie odstraněny pomocí mitofagie. Proto je jejich počet třeba doplnit pro správnou funkci a zdraví buněk. Mitochondrie nicméně nevznikají *de novo*, ale nabytím stavebního a genetického materiálu a následným rozdělením. Z toho vyplývá hned několik implikací procesů, které budou potřebné pro úspěšnou biogenezi, a to za účasti jak jaderných, tak mitochondriálních genů. Biogeneze mitochondrií spočívá v replikaci mtDNA, syntéze mitochondriálních membrán a syntéze proteinů, jak již bylo řečeno, z mtDNA i jaderné DNA.

Klíčovou roli v biogenezi hraje protein PGC-1 α , který reguluje biogenezi na základě externích faktorů a aktivuje transkripční faktory zodpovědné za expresi genů, které jsou zásadní pro funkčnost mitochondrií a replikaci mtDNA. Těmito transkripčními faktory jsou nukleární respirační faktor 1 (NRF-1) a nukleární respirační faktor 2 (NRF-2), které regulují expresi jaderných genů potřebných pro funkci mitochondrií, včetně podjednotek systému OXFOs a mitochondriálního transkripčního faktoru A (mtTFA), který je zásadní pro udržování počtu kopií mtDNA a její transkripci a replikaci (Virbasius & Scarpulla, 1994; Wu et al., 1999).

Replikace mtDNA je řízena jak *cis*-regulačními prvky oblasti D-smyčky mtDNA, která obsahuje zásadní regulační sekvence nezbytné pro iniciaci replikace a transkripce, tak jaderně kódovanými trans-aktivními faktory. Mezi tyto trans-aktivní faktory patří mitochondriální DNA polymeráza γ (POLG), která tvoří základ pro syntézu mtDNA, mitochondriální RNA polymeráza, která je zodpovědná za syntézu RNA primerů, mtTFA, který navíc k předem zmíněným funkcím pomáhá sbalení mtDNA do podoby nukleoidů, mtDNA jednovláknový vázající protein (mtSSB), který stabilizuje jednovláknovou DNA během replikace, a endonukleáza G, která má také roli v syntéze RNA primerů. Tyto faktory jsou klíčové pro syntézu mitochondriální RNA a následnou syntézu proteinů nezbytných pro mitochondriální mechanismy (Farr et al., 1999; Gensler et al., 2001; Gerschenson et al., 1995).

2.6. Oxidativní fosforylace

Oxidativní fosforylaci, která je základem pro tvorbu buněčné energie, můžeme rozdělit na dvě části: elektronový transportní řetězec (ETC) a syntézu ATP fosforylací z ADP. ETC je složen z enzymových komplexů I-IV, jehož komponenty jsou spojené s IMM, a je zakončen pomocí ATP-syntázy (komplexu V). Elektrony pocházející z NADH a FADH₂ jsou předávány přes tyto komplexy, které všechny specificky přispívají k transportu elektronů, až na molekulu kyslíku, která je konečným akceptorem

elektronů a přeměňuje se na vodu. Zároveň je pumpováním protonů z matrix do mezimembránového prostoru vytvářen protonový gradient, který je finálně využit pro syntézu ATP prostřednictvím ATP syntázy (Osellame et al., 2012).

2.6.1. ROS

ROS, neboli reaktivní formy kyslíku, jsou molekuly obsahující kyslík s vysokou chemickou reaktivitou. ROS zahrnují volné, tedy reaktivní, radikály, mezi jež se řadí superoxidové anionty ($O_2^- \bullet$) a hydroxylové radikály ($\bullet OH$), a taktéž nereaktivní formy, jako je peroxid vodíku (H_2O_2). ROS pocházejí primárně z mitochondrií jako vedlejší produkty OXFOS v ETC. Hlavními producenty ROS jsou komplexy I a III ETC, jelikož v těchto komplexech vznikají díky úniku elektronů jako vedlejší produkty superoxidové anionty, které jsou pomocí enzymu superoxid dismutázy (SOD) přeměněny na peroxid vodíku. H_2O_2 je poté pomocí antioxidačních drah detoxikován specializovanými enzymy na vodu a kyslík (Boveris et al., 1972; Cadenas et al., 1977; Ku et al., 1993; Weisiger & Fridovich, 1973; Winterbourn et al., 1978).

ROS nejsou pouze škodlivé, jak by se mohlo na první pohled zdát – ve zdravé buňce totiž mívají také důležité regulační funkce. Za fyziologických podmínek ROS fungují jako signální molekuly, regulují buněčné procesy, jako je proliferace, diferenciací a apoptóza, pomáhají udržení homeostázy a iniciaci odpovědi na stress. Nicméně při nadprodukci ROS, a tedy jeho nadměrnému množství v buňce, může dojít k oxidačnímu stresu, který nastává, pokud množství ROS překročí kapacitu antioxidačního systému, což může vést k buněčné dysfunkci a až k buněčné smrti. Oxidační stress totiž vede k poškození proteinů, lipidů a DNA, a to hlavně mtDNA, která jelikož se nachází v blízkosti produkce ROS a obsahuje klíčové geny OXFOS, může být snadno poškozena, čímž se často zhorší mitochondriální funkce a vytváří se o to více ROS, čímž vzniká jakýsi začarovaný kruh (Essers et al., 2004; Schulz et al., 2007; Shackelford et al., 2001; Shokolenko et al., 2009).

Pro ochranu buněk před škodlivými účinky nadměrné produkce ROS jsou proto klíčové antioxidační obranné systémy. Tyto systémy zahrnují enzymatickou složku, která přeměňuje ROS na méně reaktivní molekuly, a neenzymatickou složku. Mezi enzymatické antioxidanty patří SOD, přeměňující superoxidové anionty na peroxid vodíku, kataláza (CAT), rozkládající peroxid vodíku na vodu a kyslík, a glutathion peroxidáza (GPx), detoxikující peroxid vodíku a organické hydroperoxydy pomocí glutathionu (GSH) (McCord & Fridovich, 1969; Mockett et al., 1999). Významnou roli v regulaci těchto antioxidačních mechanismů hraje transkripční faktor FOXO3a, člen rodiny „forkhead box O“ (FOXO), který aktivuje expresi zmíněných enzymů, klíčových pro neutralizaci ROS a udržení buněčné homeostázy. I proto je jeho deficience spojena se zvýšenou náchylností k buněčné smrti v důsledku oxidačního stresu (Essers et al., 2004; Kops et al., 2002). Kromě enzymů, jak již bylo nastíněno, působí proti nadměrnému hromadění ROS i neenzymatické antioxidanty, jako jsou vitamíny

C a E, které mohou volné radikály neutralizovat přímo (Hayes, 1974; Podmore et al., 1998; Wójcicki et al., 1991).

2.7. Mitochondrie a Ca^{2+}

Mitochondrie mají kromě své energetické funkce další zásadní roli v buněčných mechanismech. Jsou to totiž důležité regulátory intracelulárních hladin Ca^{2+} iontů, které mají klíčovou roli v udržování buněčné homeostázy Ca^{2+} , buněčné signalizaci a iniciaci různých signálních drah, jako je například apoptóza a autofagie, proto je nedostatečná regulace Ca^{2+} spojená s různými dysfunkcemi a neurodegenerativními onemocněními. Zároveň se Ca^{2+} účastní také regulace metabolických drah a energetického metabolismu, protože vápník aktivuje různé dehydrogenázy Krebsova cyklu, což vede ke zvýšení produkce ATP. Aby Ca^{2+} ionty mohly tyto funkce zastávat, jsou do mitochondrií dopravovány prostřednictvím vápníkových kanálů na OMM a mitochondriálního vápníkového uniportéru (MCU) na IMM, jehož činnost je umožněna negativním $\Delta\Psi_m$ (Hajnóczky et al., 1995; Selwyn et al., 1970; Sparagna et al., 1995; Wingrove et al., 1984). Pro udržení rovnováhy je nicméně nutný i efektivní výstup Ca^{2+} iontů z mitochondrií do cytosolu, jejichž transport je umožněn zejména $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměníkem (Colegrove et al., 2000; Wingrove & Gunter, 1986).

Kromě toho mitochondrie interagují s ER pomocí mitochondriálních endoplazmatických kontaktů (MERCs), nazývanými také jako membrány asociované s mitochondriemi (MAMs). Tyto kontakty hrají důležitou roli při přenosu Ca^{2+} mezi těmito organelami, jelikož vysoké koncentrace Ca^{2+} v blízkosti mitochondrií mohou stimulovat produkci ATP, ale naopak nadměrné hromadění Ca^{2+} může vést k otevření mPTP, což může vést k membránové depolarizaci, a dokonce až k buněčné smrti (Csordás et al., 2006; Rizzuto et al., 1998; Szalai et al., 1999).

Role Ca^{2+} je dále zásadně důležitá obzvláště v neuronech, kde Ca^{2+} ionty umožňují synaptický přenos a plasticitu. Mitochondrie v neuronech regulují lokální koncentrace Ca^{2+} , kdy například zvýšením koncentrace Ca^{2+} aktivují proteiny, a to třeba vápníkový senzor synaptotagmin, které usnadní fúzi synaptických váčků s presynaptickou membránou, čímž se spustí exocytóza neurotransmiterů do synaptické štěrbiny. Mitochondrie také přispívají k regulaci Ca^{2+} během neuronové excitability, tedy když je neuron stimulován a zvýší se v něm koncentrace Ca^{2+} , kdy mitochondrie vstřebávají přebytek těchto vápníkových iontů a chrání díky tomu neurony před excitotoxicitou, která může vzniknout při nadměrném uvolnění neurotransmiterů. Pokud by mitochondrie měli disfunkční metabolismus spojený s vápníkovými ionty, docházelo by tedy k patologickým stavům a v neuronech k již zmíněné neurodegeneraci (Ankarcrona et al., 1995; Colegrove et al., 2000; Kruman & Mattson, 1999; Schneggenburger & Neher, 2000; Schoch et al., 2002).

3. Mechanismus drogové závislosti

Drogová závislost je definována jako chronické onemocnění charakterizované kompulzivním a opakovaným užíváním drog navzdory jejich negativním efektům, a to jak zdravotních, tak i sociálních. Závislost je výsledkem složitých interakcí mezi genetickými, environmentálními a chemickými změnami v mozku. Nejvíce užívané drogy nejčastěji vedou k dočasné elevaci hladiny neurotransmiteru dopaminu ihned po užití, který je úzce spojený s odměnou a motivací. Při nadměrném a dlouhodobém užívání drog dochází ke změnám neurochemických procesů v mozku, snižuje se exprese a citlivost dopaminových receptorů, a to vede k patologickým změnám v chování. Základními charakteristikami závislosti jsou kompulzivní vyhledávání a užívání drog, ztráta kontroly nad množstvím užívaných drog a zhoršení psychický stav (Deroche-Gamonet et al., 2004; Leshner, 1997; O'Brien & McLellan, 1996; Wang et al., 1997).

Základní neurobiologický mechanismus drogové závislosti spočívá v dysregulaci systému odměny, kde hraje klíčovou roli neurotransmiter dopamin, který je zásadní pro posílení iniciace chování, kdy při vyšších hladinách dopaminu může docházet k zvýšené motorické aktivitě či k impulsivnímu chování, protože poskytuje pocity potěšení a uspokojení. Drogy narušují přirozený systém odměny právě tím, že způsobují nadměrné uvolňování dopaminu v oblastech mozku, jako je nucleus accumbens, centrum systému odměny, motivace a asociací, a prefrontální kortex, místo důležité v rozhodování, kontrole impulsů, emočních reakcích, učení se z nových zkušeností a adaptaci, což vyvolává to, že euforické pocity spojené s užíváním drog, jsou jenom upevňovány (McGregor et al., 1994 a 1996; Schultz et al., 1993; Villemagne et al., 1999).

Dlouhodobé vystavení a užívání drog následně vede ke změnám v dopaminových receptorech, které jsou spojeny s jejich downregulací, tedy snížením počtu nebo citlivosti těchto receptorů. Tato adaptace je důsledkem neustálé a nadměrné stimulace dopaminových drah, což vede ke ztrátě citlivosti na přirozené odměny a uživatel drog má poté tendence k neustálému vyhledávání drog, aby obnovil pocit potěšení, které dříve zažíval za běžných situací a z běžných činností (McGregor et al., 1994; Volkow et al., 2001; Wang et al., 1997).

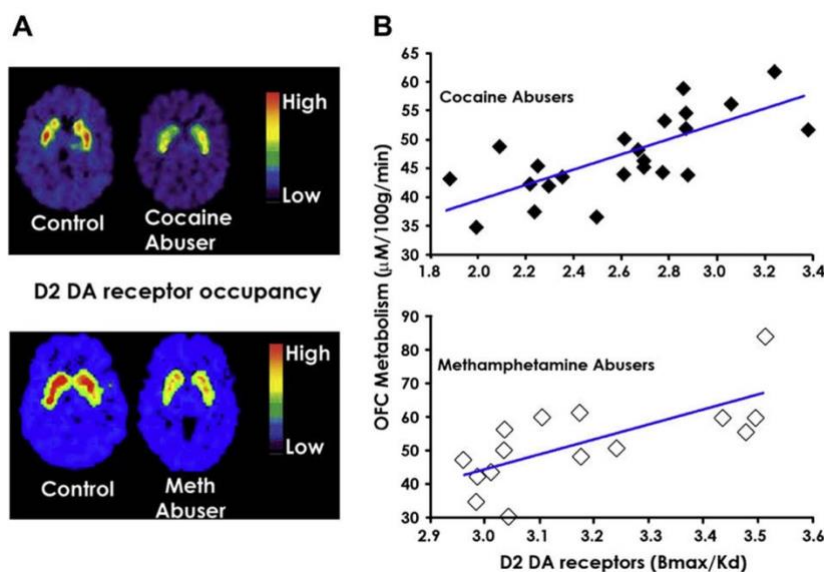
3.1. Drogami indukovaná neuroplasticita

Drogami indukovaná neuroplasticita je komplexní proces, který zahrnuje dlouhodobé změny v mozku spojené s opakovaným užíváním drog, jako jsou kokain, patřící mezi stimulanty, opioidy a kanabinoidy. Jedním z hlavních mechanismů, jak drogy ovlivňují neuroplasticitu, je modulace neurotransmiterové signalizace, a to zejména dopaminergního systému. Dopamin hraje ústřední roli v odměňovacím systému mozku, kde při vystavení účinkům drog, jako je kokain, následuje rychlé a

intenzivní zvýšení jeho hladiny v nucleus accumbens (NAcc), kde se navíc akumuluje v synaptické štěrbině, kvůli inhibičním účinkům kokainu na dopaminový transportér (DAT). To má za následek nadměrnou aktivaci dopaminových receptorů D1 a D2 (Drevets et al., 2001; Volkow et al., 1990, 1997 a 2000). Aktivace D1 receptorů spouští signalizační kaskádu zahrnující proteinkinázu A (PKA), která následně fosforyluje transkripční faktory, jako je CREB, který je fosforylován na Ser133 a reguluje expresi genů klíčových pro synaptickou plasticitu a neuronální adaptaci (Hagiwara et al., 1993; Schacher et al., 1988; Soleimanpour et al., 2021; Valjent et al., 2005).

Dlouhodobé potenciace (LTP) a deprese (LTD) synapsí jsou zásadními mechanismy, kterými drogy mění synaptickou plasticitu. Kokain indukují LTP, zesílení citlivosti synaptického spojení, v NAcc prostřednictvím aktivace transkripčních faktorů a souvisejících genů, a zvýšenou expresí AMPA receptorů na postsynaptických membránách (Bliss & Lømo, 1973; Snyder et al., 2000; Sun et al., 2005). Tento proces je zprostředkován transkripčním faktorem Δ FosB, který se hromadí při opakované expozici drogám v jeho stabilní isoformě a podporuje dlouhodobé změny v neuronálních sítích spojených s odměnou (Hope et al., 1994; Chen et al., 1997). Oproti tomu LTD, oslabení citlivosti synaptického spojení, může být způsobena snížením aktivity NMDA receptorů na postsynaptických membránách, což zhoršuje synaptickou signalizaci v oblastech zodpovědných za kontrolu chování (Dudek & Bear, 1992). Drogami indukovaná neuroplasticita také zahrnuje strukturální změny v morfologii neuronů, a to zejména v dendritických trnech, které jsou klíčové pro synaptickou komunikaci a jejich změny jsou evidentní ještě dlouhou dobu po počátku abstinence. Tyto změny se liší dle druhu užívaných drog a dle ovlivněných částí mozku. Například opakovaná expozice kokainu zvyšuje hustotu a velikost dendritických trnů v NAcc a prefrontálním kortexu (PFC), což vede k zesílení synaptické konektivity a posílení odměňovacích drah. Naopak expozice morfinu snižuje hustotu dendritů jak v NAcc, tak v mediální PFC, ale naopak v orbitálním PFC ji zvyšuje. (Robinson et al., 2002; Robinson & Kolb, 1999).

U chronických uživatelů stimulantů dochází ke snížení počtu dopaminových receptorů D2 a ke snížení uvolňování dopaminu, což je spojeno s poklesem glukózového metabolismu v orbitofrontálním kortexu a dalších oblastech mozku, jako je gyrus cinguli, či dorzolaterální prefrontální kortex, zodpovědných za inhibici impulzivního chování a regulaci a zpracovávání emocí, což je nastíněno z výzkumů Volkova a spolupracovníků na obrázku č. 4. Toto narušení rovnováhy mezi odměňovacími a regulačními drahami mozku poté ukotvuje chronické vyhledávání drog u závislých uživatelů, jelikož běžné podněty již na downregulovaný dopaminový systém nemají takový účinek, což přispívá ke ztrátě kontroly nad užíváním drog, kde uživatelé již drogy nevyhledávají pouze kvůli pocitu euforie, ale spíše, aby znovunabyli pocitu normalnosti (Volkow et al., 2001 a 2006).



Obrázek 4: Rozdíly v dostupnosti dopaminových receptorů D2 a metabolické aktivitě orbitofrontální kůry (OFC) mezi uživateli drog a kontrolními osobami.

(A) Zobrazení vazby [^{11}C]raclopridu, antagonisty dopaminových receptorů, ve striatu. Vyšší intenzita barev označuje vyšší dostupnost receptorů, kde je u uživatelů kokainu a metamfetaminu patrná snížená dostupnost D2 receptorů.

(B) Korelace mezi dostupností dopaminových receptorů D2 (B_{max}/K_d) ve striatu a metabolickou aktivitou v OFC (měřenou jako $\mu\text{M}/100\text{ g/min}$). Modrá čára znázorňuje pozitivní korelaci mezi těmito parametry (převzato z Volkow et al., 2009).

Opioidy působí na tři typy typů opioidních receptorů, a to dle typu opioidů a jejich affinity k nim. Jeden z nejznámějších opioidů, morfin, působí převážně na μ -opioidní receptory (MOR) (Chang & Cuatrecasas, 1979), které se naskytují nejenom v mozku, ale také např. v imunitních buňkách, a aktivují signální kaskády mitogenem aktivovaných proteinkináz (MAPK), regulátorů buněčné proliferace, diferenciace, přežívání, učení, paměti a hypersenzitivity na bolest, které se skládají ze čtyř hlavních skupin a jejich aktivace opiáty způsobuje adaptivní změny, které se účastní vzniku tolerance a závislosti. Nejvíce prozkoumaná dráha v rámci účinků morfinu je ERK (kináza regulovaná extracelulárním signálem) dráha, kde aktivace ERK vede k fosforylaci CREB a dalších transkripčních faktorů (Chuang et al., 1997), což posiluje expresi efektorů, jako jsou prozánětlivé cytokiny IL-1 β (interleukin-1 beta) a TNF- α , spojených se synaptickou plasticitou a tolerancí na opioidy (Wang et al., 2009). Tento mechanismus zprostředkovává dlouhodobé změny v neuronálních sítích a posiluje maladaptivní odpovědi spojené se závislostí. Navíc, obdobně jako u uživatelů kokainu, tak při dlouhodobém užívání opiátů dochází ke snížení počtu D2 receptorů (Wang et al., 1997).

Kanabinoidy, jako je marihuana či hašiš, a jejich hlavní aktivní účinná složka delta-9-tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC), působí na kanabinoidní receptory CB1 a CB2, převážně nacházející se v buňkách imunitního systému, které fungují jako receptory pro endogenní kanabinoidní ligandy anandamid a 2-arachidonoylglycerol (2-AG) (Devane et al., 1988 a 1992; Galiègue et al., 1995;

Herkenham et al., 1990; Stella et al., 1997). Tyto molekuly fungují jako zpětnovazebné mediátory, jelikož jsou syntetizovány neurony s dopaminovou aktivitou a ovlivňují presynaptické konce axonů. Tyto neurotransmitery poté ovlivňují taktéž glutamátové a GABA konce, a tím i jejich uvolňování či působí až inhibičně (Katona et al., 1999; Vaughan et al., 1999). Chronické užívání kanabinoidů tedy mění hladiny endogenních kanabinoidů a narušuje rovnováhu mezi inhibičními a excitačními drahami, což může vést k poruchám synaptické plasticity. Při chronickém užívání kanabisu může docházet k celkové downregulaci dopaminového systému, což je závažné ve striatu, v oblasti mozku klíčové pro odměnu a motivaci, ale také v dalších oblastech, které vedou u uživatelů ke snížené pozornosti, paměti a schopnosti učení se (Bossong et al., 2009; van de Giessen et al., 2017).

3.2. Zánětlivé procesy

Drogami indukovaná neuroplasticita je rovněž ovlivňována zánětlivými procesy. Aktivace mikroglie, rezidentních imunitních buněk centrální nervové soustavy (CNS), při expozici drogám, například kokainu či metamfetaminu, vede k uvolňování prozánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- α , IL-1 β a IL-6 (interleukin-6) (Cearley et al., 2011; Gonçalves et al., 2008; Ye & Johnson, 1999). Tyto cytokiny zesilují neurozánětlivý stav a přispívají k excitotoxicitě prostřednictvím dysregulace glutamátové signalizace (Zou, & Crews, 2005), což způsobuje poškození neuronů zejména v oblastech mozku spojených s odměnou a motivací, jako je NAcc a PFC. Zánětlivé procesy zároveň zhoršují neuronální regeneraci a přispívají k neurodegenerativním změnám, které hrají klíčovou roli v udržování cyklu závislosti (Ekdahl et al., 2003).

Aktivace mikroglie je často doprovázena zvýšenou expresí Toll-like receptorů 4 (TLR4), které zesilují zánětlivou odpověď, jelikož aktivace TLR4 podporuje uvolňování dalších zánětlivých mediátorů, což dále narušuje synaptickou signalizaci a neuronální plasticitu (Liao et al., 2016; Northcutt et al., 2015). Tento mechanismus je obzvláště významný u opioidů, kde aktivace TLR4 přispívá k rozvoji tolerance a závislosti na látce, jako je morfin, díky zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů a excitotoxickým procesům (Hutchinson et al., 2010).

4. Mitochondrie a mechanismus drogové závislosti

Mitochondrie, jak již bylo řečeno, hrají klíčovou roli v mnohých buněčných procesech a drahách. Nejenže hrají zásadní roli v syntéze energie prostřednictvím OXFOS, ale také v regulaci buněčného metabolismu, apoptózy a homeostázy Ca^{2+} iontů a v dalších důležitých pochodech. Nicméně také hrají důležitou roli v mechanismu závislosti. Nadměrné a časté užívání drog totiž může významně ovlivnit mitochondriální funkci, a to hlavně změnami v energetickém metabolismu, zvýšenou produkcí ROS a narušením mitochondriální dynamiky (Devi & Chan, 1997; Chandra et al., 2017).

4.1. Kokain a mitochondriální dysfunkce

Kokain je silný psychostimulant, který inhibuje zpětné vychytávání monoaminových neurotransmiterů, jako jsou dopamin, norepinefrin a serotonin, což vede ke zvýšení jejich koncentrace v synaptické šterbině a následné hyperstimulaci postsynaptických receptorů. Kokain má rozsáhlé toxické účinky na organismus, přičemž mitochondrie hrají ústřední roli v jeho mechanismech poškození. Tyto orgány, nezbytné pro produkci energie, regulaci metabolismu a apoptózy, jsou klíčovým cílem toxických procesů indukovaných kokainem. Mechanismy poškození zahrnují narušení ETC, zvýšenou produkci ROS, dysregulaci mitochondriální dynamiky, přetížení vápníkem a epigenetické změny. Tyto mechanismy jsou klíčové pro pochopení systémových toxických účinků kokainu na mozek, srdce, játra, kde je metabolizován, a další orgány. Klíčovými hráči jsou zde oxidativní metabolity kokainu, které vysoce ovlivňují oxidativní stres, produkci ROS a ETC. Jedná se o norkokain a jeho deriváty, tedy nitroxidový radikál, N-hydroxy, nitosonium, kokain imonium a formaldehyd, kde jako největší původce ROS se označuje pár nitroxid-hydroxylamin účastníci se redoxního cyklování (Boess et al., 2000; Kovacic, 2005).

4.1.1. Oxidativní fosforylace

Jedním z nejvýznamnějších mechanismů mitochondriální dysfunkce způsobené kokainem je narušení ETC. Kokain narušuje zejména funkci komplexu I (NADH:ubichinon oxidoreduktáza), jehož inhibice způsobuje hromadění NADH v mitochondriální matrix, což vede ke zvýšené redukci molekulárního kyslíku a produkci superoxidového aniontu (Cunha-Oliveira et al., 2013a a 2013b; Devi & Chan, 1997).

Kromě komplexu I ovlivňuje kokain i další komplexy ETC. Dle studií provedených na jaterních mitochondriích bylo dokázáno, že kokain snižuje respiraci ve stavu 3, tedy při nejvyšší respirační aktivitě, dále snižuje respirační kontrolní poměr (RCR) a také významně inhibuje aktivitu komplexů I, II/III a IV. Tyto změny jsou doprovázeny zvýšením hladin malondialdehydu (MDA), ukazatele lipidové

peroxidace, indikující oxidační poškození membránových fosfolipidů způsobené zvýšenou produkcí ROS. Zároveň dochází k poklesu hladiny antioxidantu GSH, který je klíčový pro obranu proti oxidačnímu stresu. Toto poškození je primárně způsobeno dysfunkcí komplexů I a III, které jsou klíčovými místy úniku elektronů a generování ROS (Devi & Chan, 1997).

Depolarizace mitochondriální membrány je dalším klíčovým důsledkem narušení ETC. Kokain významně ovlivňuje $\Delta\Psi_m$, který je nezbytný pro pohon ATP syntázy, a tedy i produkci ATP, prostřednictvím zvýšené produkce ROS, která destabilizuje lipidovou dvojvrstvu mitochondriální membrány. Depolarizace této membrány je spojena s inhibicí antioxidantního systému, zejména poklesem hladin GSH, který ROS neutralizuje a brání lipidové peroxidaci. Snížení GSH vede k akumulaci ROS, což způsobuje oxidační poškození membránových fosfolipidů, otevření mPTP a narušení protonového gradientu, což dále přispívá zhoršené mitochondriální dysfunkci. Tyto změny jsou doprovázeny zvýšením hladin MDA a snížením energetické účinnosti mitochondrií, takže se omezuje schopnost jaterních buněk udržovat své detoxikační funkce. Zároveň bylo ve studiích naznačeno, že obnovou hladin GSH prostřednictvím exogenního podání antioxidantů může částečně obnovit $\Delta\Psi_m$ a zmírnit tím mitochondriální dysfunkci. To dokazuje klíčovou roli antioxidantů jako ochrany proti toxickým účinkům kokainu (Masini et al., 1997).

4.1.2. Mitochondriální dynamika

Kokain také ovlivňuje dynamiku mitochondrií, která je nezbytná pro udržení mitochondriální integrity a funkce, především tím, že podporuje jejich štěpení a inhibuje proces fúze, což vede k fragmentaci mitochondrií, zhoršení jejich schopnosti produkovat ATP a zvýšení produkce ROS. Kokain totiž zvyšuje expresi a fosforylaci proteinu Drp1, který podporuje štěpení mitochondrií a jeho zvýšená aktivita byla pozorována zejména v D1-exprimujících středních trnitých neuronech v NAcc, kde nadměrná fragmentace mitochondrií vede k tvorbě množství menších a dysfunkčních mitochondrií. Tyto fragmentované mitochondrie mají sníženou schopnost produkovat ATP, zvýšenou produkci ROS a zvýšenou náchylnost k apoptóze. Tyto procesy mohou vést k progresivní neuronální degeneraci a maladaptivní neuronální plasticitě spojené s chronickým užíváním kokainu (Chandra et al., 2017).

Kokain současně inhibuje mitochondriální fúzi tím, že snižuje expresi mitofuzinů (Mfn1 a Mfn2), které jsou nezbytné pro fúzi a regeneraci mitochondrií a výměnu lipidů, proteinů a DNA mezi jednotlivými mitochondriemi, ale naopak u proteinu OPA1, který je taktéž klíčový pro mitochondriální fúzi, nemá kokain významný vliv. Tato inhibice mitochondriální fúze způsobená poklesem mitofuzinů vede k akumulaci poškozených mitochondrií, které zvyšují oxidační stres, snižují bioenergetickou kapacitu a zvyšují pravděpodobnost apoptózy (Funakoshi et al., 2019).

Mitochondriální dynamika je rovněž klíčová pro mitofagii, proces, kterým jsou selektivně odstraněny poškozené mitochondrie. Kokain proces mitofagie totiž také narušuje, a to hlavně dysregulací PINK1/Parkin dráhy, která je nezbytná pro rozpoznání a označení dysfunkčních mitochondrií k degradaci. Přestože kokain zvyšuje expresi jak PINK1, tak Parkinu, je rekrutace Parkinu na mitochondrie narušena, což vede k neúplnému odstranění poškozených mitochondrií a projevuje se akumulací mitofagosomů. Kokainem ovlivněné mitochondrie navíc vykazují pokles $\Delta\Psi_m$, který je klíčový pro zachování energetického metabolismu a řízení mitofagie. Jeho ztráta, jak bylo již dříve zmíněno, je zároveň jedním z hlavních signálů pro spuštění autofagického odstranění těchto organel. Akumulace poškozených mitochondrií poté aktivuje mikroglie, což vede k uvolňování prozánětlivých cytokinů, jako je TNF- α a IL-1 β . Tyto zánětlivé signály dále narušují neuronální homeostázu a přispívají k neurodegenerativním změnám a neurotoxicitě kokainu (Thangaraj et al., 2020).

Kokainem indukovaná dysfunkce mitochondriální dynamiky také úzce souvisí s apoptózou, kde kokain narušuje rovnováhu mezi pro-apoptotickými a anti-apoptotickými proteiny rodiny Bcl-2, čímž zvyšuje náchylnost buněk k apoptóze. Například v mozковém kmeni kokain zvyšuje expresi pro-apoptotického proteinu Bax, který podporuje permeabilizaci OMM, čímž získává převahu nad anti-apoptotickým proteinem Bcl-2, který brání otevření mPTP. Tato nerovnováha vede k poklesu $\Delta\Psi_m$ a uvolnění proapoptotických faktorů, jako je cytochrom c, do cytosolu, kde se aktivuje kaspázová kaskáda, která spouští apoptózu (Cunha-Oliveira et al., 2006; Dey et al., 2007).

4.1.3. Metabolismus vápníku

Kokain významně narušuje homeostázu intracelulárního vápníku, což má závažné důsledky pro mitochondrie. Kokain zvyšuje koncentraci vápníku v cytosolu prostřednictvím aktivace L-typu vápníkových kanálů a uvolňování vápníku prostřednictvím MCU z intracelulárních zásobníků, čímž dochází k přetížení mitochondriální matrix. Toto přetížení vede k otevření mPTP, což způsobí ztrátu $\Delta\Psi_m$, a uvolnění cytochromu c, který spouští apoptotickou kaskádu. Tento proces je klíčový zejména v kardiomyocytech, kde vede k hypertrofii, srdečnímu selhání a zvýšené apoptóze (Lattanzio et al., 2005).

4.1.4. Epigenetické změny

Kokain, ale i další drogy, významně ovlivňují mitochondrie nejen na úrovni jejich bioenergetických funkcí, ale i prostřednictvím epigenetických změn. Jeden z hlavních účinků kokainu je snížení počtu kopií mtDNA a její oxidativní poškození, což může narušit aktivitu ETC a zvýšit produkci ROS (Dietrich et al., 2004). Kromě toho kokain ovlivňuje mitochondriální geny prostřednictvím epigenetických mechanismů, jako je metylace DNA a modifikace histonů, které regulují expresi genů zapojených do mitochondriální dynamiky a energetického metabolismu, čímž zhoršují mitochondriální

funkci a přispívají k maladaptacím spojených s chronickým užíváním kokainu (Sadakierska-Chudy et al., 2014).

4.2. Opioidy a mitochondriální dysfunkce

Opioidy, jako je morfin a heroin, působí vazbou na opioidní receptory v mozku, čímž aktivují intracelulární signální dráhy, které regulují uvolňování neurotransmiterů. Přestože jsou opioidy účinnými analgetiky, jejich dlouhodobé užívání může vést k rozvoji závislosti a tolerance, která je spojená s potřebou vyšší dávky látky k dosažení stejných účinků. Závislost na opioidech je spojena s narušením mitochondriální funkce, včetně změn v energetickém metabolismu, zvýšení produkce ROS, narušení homeostázy Ca^{2+} a dysregulace mitochondriální dynamiky (Jiang et al., 2024).

Studie Feng et al. (2008) ukázala, že nízké koncentrace morfinu (0,01–0,1 mM) snižují klidovou respiraci (ve stavu 4) a zvyšují aktivitu respirace při maximální zátěži (ve stavu 3), což vede ke zvýšení RCR a poměru ADP/O v mitochondriích izolovaných z mozku potkanů. Tyto změny mohou indikovat zvýšenou účinnost oxidativní fosforylace (Feng et al., 2008). V modelu jaterních mitochondrií morfin (0,2–1 mM) neovlivnil většinu respiračních parametrů, až na respiraci ve stavu 2, která byla morfinem podpořena. Navíc ze studií mozkových tkání potkanů bylo zjištěno, že morfin inhibuje aktivitu ATPáz, což přispívá k energetickému deficitu, který je obzvláště nežádoucí u energeticky náročných neuronů (Cunha-Oliveira et al., 2013a).

Opioidy také negativně ovlivňují mitochondriální dynamiku, a to zejména snížením exprese genu pro Mfn1, který je klíčový pro správnou fúzi mitochondrií, což vede k fragmentaci mitochondrií a k jejich zvýšené dysfunkci a s tím spojenému oxidačnímu stresu. Studie Jiang et al. (2024) se ale zaměřila na cílené zvrácení tohoto procesu pomocí zvýšené exprese Mfn1 a implementace Mdivi-1, inhibitoru mitochondriálního štěpení, což pomohlo zmírnit negativní účinky morfinu na neuronální plasticitu a také zmírnit abstinenci příznaky bez ovlivnění analgetického účinku morfinu (Jiang et al., 2024). Toto ukazuje na možný potenciál cílených terapeutických strategií na mitochondrie při léčbě závislosti na opioidech.

Kromě toho opioidy narušují PINK1/Parkin dráhu, která je zodpovědná za selektivní odstranění poškozených mitochondrií prostřednictvím mitofagie. Morfin inhibuje akumulaci PINK1, což zabrání aktivaci Parkinu, který poté není schopen ubikvitinovat mitochondriální proteiny a označit je k degradaci. Inhibice této dráhy vede k akumulaci dysfunkčních mitochondrií, které poté dále přispívají k oxidačnímu stresu a neuronální dysfunkci (Kong et al., 2019).

Heroin má oproti morfinu závažnější dopad na mitochondrie, jelikož bylo dokázáno, že vyvolává vyšší úroveň oxidačního stresu, snižuje $\Delta\Psi_m$ a indukuje apoptózu prostřednictvím mitochondriálních

apoptotických drah, souvisejících s uvolněním cytochromu c do cytosolu a aktivací kaspázové kaskády. Zároveň také ovlivňuje rovnováhu mezi pro-apoptotickými a anti-apoptotickými proteiny, kde svým účinkem snižuje expresi anti-apoptotického proteinu Bcl-2, čímž zvyšuje náchylnost buněk k apoptóze, jelikož je rovnováha spíše nakloněna k pro-apoptotickému proteinu Bax (Cunha-Oliveira et al., 2007). Podobné účinky, ale v menší intenzitě, byly nicméně prokázány i u morfinu (Kong et al., 2019), ale síla účinků je u těchto dvou opioidů odlišná. Tato odlišnost poukazuje na složení heroinu, který oproti morfinu není čistý opioid, ale jedná se o semi-syntetickou drogu vytvořenou acetylací morfinu, která častokrát obsahuje také své metabolity, jako je 6-monoacetylmorfin a morfin, což zvyšuje jeho neurotoxické účinky na mitochondrie (Cunha-Oliveira et al., 2007).

4.3. Kanabinoidy a mitochondriální dysfunkce

Kanabinoidy, aktivní látky přítomné v konopí, jsou známé jako rekreační drogy s terapeutickým účinkem. Konopné účinné látky, jako je psychoaktivní delta-9-tetrahydrokanabinol (THC) a nepsychoaktivní kanabidiol (CBD), interagují vazbou s kanabinoidními receptory CB1 a CB2, přičemž CB1 receptory jsou přítomny nejen na povrchu buněk, ale také na mitochondriálních membránách, kde se označují jako mtCB1 receptory a přímo ovlivňují bioenergetiku a respiraci mitochondrií. Aktivace mtCB1 receptorů THC ovlivňuje bioenergetiku mitochondrií inhibicí cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) a proteinkinázy A (PKA), což následně narušuje oxidativní fosforylaci a snižuje produkci ATP. Tyto změny jsou klíčové neurotoxické účinky kanabinoidů, zejména v oblastech, jako je hipokampus, který hraje zásadní roli v paměti a kognici (Hebert-Chatelain et al., 2016).

THC také ovlivňuje funkci ETC v mitochondriích, kde dochází k narušení funkce komplexů I – IV, což vede ke snížení efektivity oxidativní fosforylace a produkce ATP. Kromě toho THC významně zvyšuje produkci ROS, což vede k oxidačnímu stresu. Toto nejenomže poškozuje mitochondriální membrány, ale také přispívá k otevření mPTP, což vede ke ztrátě $\Delta\Psi_m$ a uvolnění pro-apoptotických faktorů, jako je cytochrom c, do cytosolu, mající zásadní vliv na spuštění apoptotických procesů. Tyto procesy tedy podporují neurodegenerativní změny a ztrátu neuronů v klíčových oblastech pro paměť a kognici (Wolff et al., 2015).

CBD, oproti THC, má odlišné účinky na mitochondrie, a to v závislosti na koncentraci dávky a kontextu. Nízké dávky CBD mají na mitochondrie ochranný účinek. CBD snižuje oxidativní stres, zvyšuje produkci ATP, a reguluje glukózový metabolismus prostřednictvím pentózového fosfátového cyklu, snižuje apoptózu, a dokonce má antioxidační účinky (Sun et al., 2017). Naopak vyšší dávky CBD narušují mitochondriální respiraci, snižují produkci ATP, a indukují apoptózu. Tyto protichůdné účinky

byly pozorovány také v kontextu různých typů buněk, a to včetně trofoblastu, kde byly negativní účinky kanabinoidů zřetelnější (Podinic et al., 2024).

Další důležitý mechanismus, kterým kanabinoidy ovlivňují mitochondrie, je dysregulace mitochondriální dynamiky. THC narušuje rovnováhu mezi fragmentací a regenerací mitochondrií, kde snižuje expresi fúzních proteinů, jako jsou mitofuziny (Mfn1, Mfn2) a OPA1, zatímco množství Drp1 zodpovědného za štěpení se oproti fúzním proteinům zvyšuje. Tento proces vede k nadměrné fragmentaci mitochondrií, akumulaci poškozených organel a zvýšenému oxidačnímu stresu (Walker et al., 2021). THC navíc indukuje apoptózu, a to snížením exprese anti-apoptotického proteinu Bcl-2 (Zhu et al., 1998).

Kromě toho kanabinoidy významně ovlivňují i mitochondriální regulaci vápníku, která je klíčová pro udržení energetického metabolismu a řízení apoptózy. Bylo prokázáno, že CBD může narušit homeostázu Ca^{2+} , a to zvýšením jeho cytosolické koncentrace pomocí vyprázdnění intracelulárních zásob. Tento nárůst množství Ca^{2+} může vést k přetížení mitochondrií, což poté způsobuje ztrátu $\Delta\Psi_m$, otevření mPTP a spuštění apoptózy. Studie Olivas-Aguirre et al. (2019), která byla zaměřena na studium CBD a jeho účinků na T lymfocyty u akutní lymfoblastické leukemie T linie, prokázala selektivní působení CBD na leukemií postihnuté buněčné linie prostřednictvím narušení mitochondriálně zprostředkované regulace Ca^{2+} a navození apoptózy v leukemií postihnutých buňkách, zatímco zdravé T lymfocyty nejsou podstatně ovlivněny (Olivas-Aguirre et al., 2019). Na druhou stranu studie od Mato et al. (2010) zabývající se studiem zdravých buněk, oligodendrocytů, ukazuje, že tento mechanismus, kdy dochází k prudkému zvýšení intracelulárního Ca^{2+} , může vést k cytotoxicitě (Mato et al., 2010). Tyto poznatky naznačují, že působení CBD na mitochondrie a Ca^{2+} homeostázu je silně závislé na buněčném kontextu, což může mít jak terapeutické využití, tak potenciálně škodlivé důsledky.

5. Závěr

Tato práce shrnuje současné poznatky o vlivu drog, konkrétně kokainu, opioidů a kanabinoidů, na mitochondriální funkci a dynamiku. Výsledky ukazují, že mitochondrie hrají klíčovou roli v mechanismech drogové závislosti, a to zejména prostřednictvím změn v bioenergetice, kde dochází k narušení elektronového transportního řetězce a zvýšené produkci reaktivních forem kyslíku, dále nakládání s vápníkem a dysregulace apoptotických a mitofagických drah. Tyto procesy zásadním způsobem přispívají k neurodegeneraci, poruchám synaptické plasticity a maladaptacím neuronálních okruhů spojených s dlouhodobým užíváním návykových látek.

Mitochondriální dysfunkce je ale spojena i s řadou dalších onemocnění, která jsou doprovázena stejnými mitochondriálními dysfunkcemi, které doprovází i účinky dlouhodobého užívání drog. Můžeme proto vyvodit, že některá onemocnění mohou být díky drogám podpořena v rozvoji a předčasné manifestaci. Těchto onemocnění je velmi široká škála, kde mezi nejzávažnější patří neurodegenerativní onemocnění (jako Alzheimerova, Parkinsonova a Huntingtonova choroba), kardiovaskulární onemocnění (jako ateroskleróza, ischemická choroba srdeční a kardiomyopatie), jaterní onemocnění (jako nealkoholická steatohepatitida a cirhóza), metabolická onemocnění (jako metabolický syndrom a diabetes mellitus 2. typu), imunologická a systémová onemocnění (jako lupus erythematosus a revmatoidní artritida) a psychiatrické poruchy (jako bipolární porucha, schizofrenie a deprese) (Haas, 2019; Rezin et al., 2009; Wallace, 1999). Navíc mitochondriální dysfunkce může mít klíčovou roli v rozvoji rakoviny, kde jsou dysfunkční mitochondrie spojeny s podporou růstu nádorů, odolností vůči terapii a metastázemi (Wallace, 1999). Všechny tyto stavy mají společné mitochondriální znaky – sníženou produkci energie, zvýšený oxidační stres, poruchy apoptózy a nedostatečnou eliminaci poškozených mitochondrií. V některých případech, jako je například Parkinsonova choroba, byla mitochondriální dysfunkce identifikována i jako primární spouštěč choroby (Schapira et al., 1990).

Vzhledem k prostorovým omezením této práce nebylo možné podrobně rozebrat všechny návykové látky a jejich specifické účinky na mitochondrie. Mezi tyto látky patří např. nikotin, methamfetamin, MDMA, ethanol, PCP, ketamin, ale i běžně užívané látky, jako jsou benzodiazepiny nebo kofein, který může mít nicméně v nízkých dávkách dokonce antioxidační účinky, zvýšit rychlost mitochondriální respirace a hladiny ATP, a navíc obnovit $\Delta\Psi_m$ (Dragicevic et al., 2012; Xu et al., 2020).

Nelze ale opomenout ani nelátkové závislosti, jako jsou závislost na hazardu, internetu, hrách či na sexu, které mohou vykazovat podobné změny v dopaminergní signalizaci a neuroplasticitě. Přímá spojitost mezi těmito závislostmi a mitochondriální dysfunkcí zatím není definována. Co ale koreluje, je to, že častokrát bývají tyto závislosti doprovázené užíváním návykových látek, které pomáhají udržovat energii (psychostimulanty a nikotin), stimulují motivaci (psychostimulanty), nebo zvyšují příjemné pocity (psychostimulanty, opiáty) (Wise & Robble, 2020).

I přestože současný výzkum přinesl významné poznatky o vlivu návykových látek na mitochondriální funkce, některé oblasti stále zůstávají nedostatečně prozkoumané, například přesné molekulární mechanismy interakce mezi jednotlivými typy drog a mitochondriálními proteiny či dlouhodobé dopady těchto změn na buněčné a systémové úrovni. Tyto nedostatky zdůrazňují potřebu dalšího výzkumu, který by se zaměřil na komplexní pochopení těchto procesů a možností vývoje terapeutických zásahů. Vzhledem k významu mitochondrií v mechanismech závislosti představují mitochondriálně cílené terapie možnou cestu pro budoucí léčbu závislostí a s nimi souvisejících neurodegenerativních poruch. Vývoj strategií zaměřených na ochranu mitochondrií, obnovení jejich funkce nebo modulaci jejich dynamiky by mohl nabídnout nové možnosti při léčbě drogové závislosti a dalších onemocnění spojených s mitochondriálními dysfunkcemi. V tomto kontextu je důležitý i výzkum látek, na které se běžně nahlíží jako na návykové. Jedná se například o CBD, o kterém studie Olivas-Aguirre et al. (2019) ukázala, že může selektivně ovlivnit mitochondriální regulaci vápníku a indukovat apoptózu v leukemických buňkách, aniž by poškodil zdravé buňky. Tento účinek naznačuje potenciál CBD pro terapeutické využití nejen v léčbě rakoviny, ale také v terapii neurodegenerativních a dalších onemocnění. Nicméně kvůli citlivosti mitochondrií na změny v buněčném prostředí bude pravděpodobně nutné pečlivě zvážit dlouhodobou účinnost a bezpečnost těchto terapeutických přístupů.

6. Použitá literatura

- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J., Staden, R., & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465.
- Ankarcrona, M., Dypbukt, J. M., Bonfoco, E., Zhivotovsky, B., Orrenius, S., Lipton, S. A., & Nicotera, P. (1995). Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron*, 15(4), 961–973.
- Ardail, D., Privat, J. P., Egret-Charlier, M., Levrat, C., Lerme, F., & Louisot, P. (1990). Mitochondrial contact sites. Lipid composition and dynamics. *J. Biol. Chem.*, 265(31), 18797–18802.
- Arnoult, D., Grodet, A., Lee, Y. J., Estaquier, J., & Blackstone, C. (2005). Release of OPA1 during apoptosis participates in the rapid and complete release of cytochrome c and subsequent mitochondrial fragmentation. *J. Biol. Chem.*, 280(42), 35742–35750.
- Bjørkøy, G., Lamark, T., Brech, A., Outzen, H., Perander, M., Overvatn, A., Stenmark, H., & Johansen, T. (2005). p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J. Cell Biol.*, 171(4), 603–614.
- Bliss, T. V., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, 232(2), 331–356.
- Boess, F., Ndikum-Moffor, F. M., Boelsterli, U. A., & Roberts, S. M. (2000). Effects of cocaine and its oxidative metabolites on mitochondrial respiration and generation of reactive oxygen species. *Biochem. Pharmacol.*, 60(5), 615–623.
- Bossong, M. G., Van Berckel, B. N., Boellaard, R., Zuurman, L., Schuit, R. C., Windhorst, A. D., ... & Kahn, R. S. (2009). Δ^9 -tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology*, 34(3), 759–766.
- Boveris, A., Oshino, N., & Chance, B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem. J.*, 128(3), 617–630.
- Brady, S. T., Pfister, K. K., & Bloom, G. S. (1990). A monoclonal antibody against kinesin inhibits both anterograde and retrograde fast axonal transport in squid axoplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87(3), 1061–1065.
- Brickley, K., & Stephenson, F. A. (2011). Trafficking kinesin protein (TRAK)-mediated transport of mitochondria in axons of hippocampal neurons. *J. Biol. Chem.*, 286(20), 18079–18092.
- Brickley, K., Smith, M. J., Beck, M., & Stephenson, F. A. (2005). GRIF-1 and OIP106, members of a novel gene family of coiled-coil domain proteins: association in vivo and in vitro with kinesin. *J. Biol. Chem.*, 280(15), 14723–14732.

- Cadenas, E., Boveris, A., Ragan, C. I., & Stoppani, A. O. (1977). Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 180(2), 248–257.
- Cai, Q., Gerwin, C., & Sheng, Z. H. (2005). Syntabulin-mediated anterograde transport of mitochondria along neuronal processes. *J. Cell Biol.*, 170(6), 959–969.
- Cearley, C. N., Blindheim, K., Sorg, B. A., Krueger, J. M., & Churchill, L. (2011). Acute cocaine increases interleukin-1 β mRNA and immunoreactive cells in the cortex and nucleus accumbens. *Neurochem. Res.*, 36(4), 686–692.
- * Clayton D. A. (1982). Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell*, 28(4), 693–705.
- Colegrove, S. L., Albrecht, M. A., & Friel, D. D. (2000). Quantitative analysis of mitochondrial Ca²⁺ uptake and release pathways in sympathetic neurons. Reconstruction of the recovery after depolarization-evoked [Ca²⁺]_i elevations. *J. Gen. Physiol.*, 115(3), 371–388.
- Csordás, G., Renken, C., Várnai, P., Walter, L., Weaver, D., Buttle, K. F., Balla, T., Mannella, C. A., & Hajnóczky, G. (2006). Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J. Cell Biol.*, 174(7), 915–921.
- Cunha-Oliveira, T., Rego, A. C., Cardoso, S. M., Borges, F., Swerdlow, R. H., Macedo, T., & de Oliveira, C. R. (2006). Mitochondrial dysfunction and caspase activation in rat cortical neurons treated with cocaine or amphetamine. *Brain Res.*, 1089(1), 44–54.
- Cunha-Oliveira, T., Rego, A. C., Garrido, J., Borges, F., Macedo, T., & Oliveira, C. R. (2007). Street heroin induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in rat cortical neurons. *J. Neurochem.*, 101(2), 543–554.
- Cunha-Oliveira, T., Silva, L., Silva, A. M., Moreno, A. J., Oliveira, C. R., & Santos, M. S. (2013a). Acute effects of cocaine, morphine and their combination on bioenergetic function and susceptibility to oxidative stress of rat liver mitochondria. *Life Sci.*, 92(24-26), 1157–1164.
- Cunha-Oliveira, T., Silva, L., Silva, A. M., Moreno, A. J., Oliveira, C. R., & Santos, M. S. (2013b). Mitochondrial complex I dysfunction induced by cocaine and cocaine plus morphine in brain and liver mitochondria. *Toxicol. Lett.*, 219(3), 298–306.
- Dalbon, P., Brandolin, G., Boulay, F., Hoppe, J., & Vignais, P. V. (1988). Mapping of the nucleotide-binding sites in the ADP/ATP carrier of beef heart mitochondria by photolabeling with 2-azido[α -³²P]adenosine diphosphate. *Biochemistry*, 27(14), 5141–5149.
- de Brito, O. M., & Scorrano, L. (2008). Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 456(7222), 605–610.
- Deacon, S. W., Serpinskaya, A. S., Vaughan, P. S., Lopez Fanarraga, M., Vernos, I., Vaughan, K. T., & Gelfand, V. I. (2003). Dynactin is required for bidirectional organelle transport. *J. Cell Biol.*, 160(3), 297–301.
- Delettre, C., Lenaers, G., Griffoin, J. M., Gigarel, N., Lorenzo, C., Belenguer, P., Pelloquin, L., Grosgeorge, J., Turc-Carel, C., Perret, E., Astarie-Dequeker, C., Lasquelléc, L., Arnaud, B.,

- Ducommun, B., Kaplan, J., & Hamel, C. P. (2000). Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat. Genet.*, 26(2), 207–210.
- Deng, Y., Lin, Y., & Wu, X. (2002). TRAIL-induced apoptosis requires Bax-dependent mitochondrial release of Smac/DIABLO. *Genes Dev.*, 16(1), 33–45.
- Deng, Y., Ren, X., Yang, L., Lin, Y., & Wu, X. (2003). A JNK-dependent pathway is required for TNF α -induced apoptosis. *Cell*, 115(1), 61–70.
- Deroche-Gamonet, V., Belin, D., & Piazza, P. V. (2004). Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science*, 305(5686), 1014–1017.
- Devane, W. A., Dysarz, F. A., 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S., & Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol. Pharmacol.*, 34(5), 605–613.
- Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 258(5090), 1946–1949.
- Devi, B. G., & Chan, A. W. (1997). Impairment of mitochondrial respiration and electron transport chain enzymes during cocaine-induced hepatic injury. *Life Sci.*, 60(11), 849–855.
- Dey, S., Mactutus, C. F., Booze, R. M., & Snow, D. M. (2007). Cocaine exposure in vitro induces apoptosis in fetal locus coeruleus neurons by altering the Bax/Bcl-2 ratio and through caspase-3 apoptotic signaling. *Neuroscience*, 144(2), 509–521.
- Dietrich, J. B., Poirier, R., Aunis, D., & Zwiller, J. (2004). Cocaine downregulates the expression of the mitochondrial genome in rat brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1025, 345–350.
- Dragicevic, N., Delic, V., Cao, C., Copes, N., Lin, X., Mamcarz, M., Wang, L., Arendash, G. W., & Bradshaw, P. C. (2012). Caffeine increases mitochondrial function and blocks melatonin signaling to mitochondria in Alzheimer's mice and cells. *Neuropharmacology*, 63(8), 1368–1379.
- Drevets, W. C., Gautier, C., Price, J. C., Kupfer, D. J., Kinahan, P. E., Grace, A. A., Price, J. L., & Mathis, C. A. (2001). Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. *Biol. Psychiatry*, 49(2), 81–96.
- Du, C., Fang, M., Li, Y., Li, L., & Wang, X. (2000). Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*, 102(1), 33–42.
- Dudek, S. M., & Bear, M. F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 89(10), 4363–4367.
- Dunn W. A., Jr (1990). Studies on the mechanisms of autophagy: maturation of the autophagic vacuole. *J. Cell Biol.*, 110(6), 1935–1945.
- Ekdahl, C. T., Claassen, J. H., Bonde, S., Kokaia, Z., & Lindvall, O. (2003). Inflammation is detrimental for neurogenesis in adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100(23), 13632–13637.

- Elmore, S. P., Qian, T., Grissom, S. F., & Lemasters, J. J. (2001). The mitochondrial permeability transition initiates autophagy in rat hepatocytes. *FASEB J.*, 15(12), 2286–2287.
- Essers, M. A., Weijzen, S., de Vries-Smits, A. M., Saarloos, I., de Ruiter, N. D., Bos, J. L., & Burgering, B. M. (2004). FOXO transcription factor activation by oxidative stress mediated by the small GTPase Ral and JNK. *EMBO J.*, 23(24), 4802–4812.
- Farr, C. L., Wang, Y., & Kaguni, L. S. (1999). Functional interactions of mitochondrial DNA polymerase and single-stranded DNA-binding protein. Template-primer DNA binding and initiation and elongation of DNA strand synthesis. *J. Biol. Chem.*, 274(21), 14779–14785.
- Feng, Y., Lu, Y., Lin, X., Gao, Y., Zhao, Q., Li, W., & Wang, R. (2008). Endomorphins and morphine limit anoxia-reoxygenation-induced brain mitochondrial dysfunction in the mouse. *Life Sci.*, 82(13-14), 752–763.
- Fransson, S., Ruusala, A., & Aspenström, P. (2006). The atypical Rho GTPases Miro-1 and Miro-2 have essential roles in mitochondrial trafficking. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 344(2), 500–510.
- Funakoshi, T., Furukawa, M., Aki, T., & Uemura, K. (2019). Repeated exposure of cocaine alters mitochondrial dynamics in mouse neuroblastoma Neuro2a. *Neurotoxicology*, 75, 70–77.
- Galiègue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carrière, D., Carayon, P., Bouaboula, M., Shire, D., Le Fur, G., & Casellas, P. (1995). Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur. J. Biochem.*, 232(1), 54–61.
- Gensler, S., Weber, K., Schmitt, W. E., Pérez-Martos, A., Enriquez, J. A., Montoya, J., & Wiesner, R. J. (2001). Mechanism of mammalian mitochondrial DNA replication: import of mitochondrial transcription factor A into isolated mitochondria stimulates 7S DNA synthesis. *Nucleic Acids Res.*, 29(17), 3657–3663.
- Germain, M., Mathai, J. P., McBride, H. M., & Shore, G. C. (2005). Endoplasmic reticulum BIK initiates DRP1-regulated remodelling of mitochondrial cristae during apoptosis. *EMBO J.*, 24(8), 1546–1556.
- Gerschenson, M., Houmiel, K. L., & Low, R. L. (1995). Endonuclease G from mammalian nuclei is identical to the major endonuclease of mitochondria. *Nucleic Acids Res.*, 23(1), 88–97.
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M., & Wallace, D. C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77(11), 6715–6719.
- Gilkerson, R. W., Selker, J. M., & Capaldi, R. A. (2003). The cristal membrane of mitochondria is the principal site of oxidative phosphorylation. *FEBS Lett.*, 546(2-3), 355–358.
- Gonçalves, J., Martins, T., Ferreira, R., Milhazes, N., Borges, F., Ribeiro, C. F., Malva, J. O., Macedo, T. R., & Silva, A. P. (2008). Methamphetamine-induced early increase of IL-6 and TNF-alpha mRNA expression in the mouse brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1139, 103–111.
- * Haas R. H. (2019). Mitochondrial Dysfunction in Aging and Diseases of Aging. *Biology*, 8(2), 48.

- Hackenbrock C. R. (1966). Ultrastructural bases for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. I. Reversible ultrastructural changes with change in metabolic steady state in isolated liver mitochondria. *J. Cell Biol.*, 30(2), 269–297.
- Hagiwara, M., Brindle, P., Harootunian, A., Armstrong, R., Rivier, J., Vale, W., Tsien, R., & Montminy, M. R. (1993). Coupling of hormonal stimulation and transcription via the cyclic AMP-responsive factor CREB is rate limited by nuclear entry of protein kinase A. *Mol. Cell. Biol.*, 13(8), 4852–4859.
- Hajnóczky, G., Robb-Gaspers, L. D., Seitz, M. B., & Thomas, A. P. (1995). Decoding of cytosolic calcium oscillations in the mitochondria. *Cell*, 82(3), 415–424.
- Hao, Z., Duncan, G. S., Chang, C. C., Elia, A., Fang, M., Wakeham, A., Okada, H., Calzascia, T., Jang, Y., You-Ten, A., Yeh, W. C., Ohashi, P., Wang, X., & Mak, T. W. (2005). Specific ablation of the apoptotic functions of cytochrome C reveals a differential requirement for cytochrome C and Apaf-1 in apoptosis. *Cell*, 121(4), 579–591.
- Hayashi, J., Takemitsu, M., Goto, Y., & Nonaka, I. (1994). Human mitochondria and mitochondrial genome function as a single dynamic cellular unit. *J. Cell Biol.*, 125(1), 43–50.
- Hayes K. C. (1974). Retinal degeneration in monkeys induced by deficiencies of vitamin E or A. *Invest. Ophthalmol.*, 13(7), 499–510.
- Hebert-Chatelain, E., Desprez, T., Serrat, R., Bellocchio, L., Soria-Gomez, E., Busquets-Garcia, A., Pagano Zottola, A. C., Delamarre, A., Cannich, A., Vincent, P., Varilh, M., Robin, L. M., Terral, G., García-Fernández, M. D., Colavita, M., Mazier, W., Drago, F., Puente, N., Reguero, L., Elezgarai, I., Marsicano, G. (2016). A cannabinoid link between mitochondria and memory. *Nature*, 539(7630), 555–559.
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87(5), 1932–1936.
- Hope, B. T., Nye, H. E., Kelz, M. B., Self, D. W., Iadarola, M. J., Nakabeppu, Y., Duman, R. S., & Nestler, E. J. (1994). Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in brain by chronic cocaine and other chronic treatments. *Neuron*, 13(5), 1235–1244.
- Hutchinson, M. R., Zhang, Y., Shridhar, M., Evans, J. H., Buchanan, M. M., Zhao, T. X., Slivka, P. F., Coats, B. D., Rezvani, N., Wieseler, J., Hughes, T. S., Landgraf, K. E., Chan, S., Fong, S., Phipps, S., Falke, J. J., Leinwand, L. A., Maier, S. F., Yin, H., Rice, K. C., Watkins, L. R. (2010). Evidence that opioids may have toll-like receptor 4 and MD-2 effects. *Brain Behav. Immun.*, 24(1), 83–95.
- Chandra, R., Engeln, M., Schiefer, C., Patton, M. H., Martin, J. A., Werner, C. T., Riggs, L. M., Francis, T. C., McGlincy, M., Evans, B., Nam, H., Das, S., Girven, K., Konkalmatt, P., Gancarz, A. M., Golden, S. A., Iñiguez, S. D., Russo, S. J., Turecki, G., Mathur, B. N., Lobo, M. K. (2017). Drp1 Mitochondrial Fission in D1 Neurons Mediates Behavioral and Cellular Plasticity during Early Cocaine Abstinence. *Neuron*, 96(6), 1327–1341.e6.

- Chang, K. J., & Cuatrecasas, P. (1979). Multiple opiate receptors. Enkephalins and morphine bind to receptors of different specificity. *J. Biol. Chem.*, 254(8), 2610-2618.
- Chen, H., Chomyn, A., & Chan, D. C. (2005). Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. *J. Biol. Chem.*, 280(28), 26185–26192.
- Chen, J., Kelz, M. B., Hope, B. T., Nakabeppu, Y., & Nestler, E. J. (1997). Chronic Fos-related antigens: stable variants of Δ FosB induced in brain by chronic treatments. *J. Neurosci.*, 17(13), 4933-4941.
- Cheng, E. H., Wei, M. C., Weiler, S., Flavell, R. A., Mak, T. W., Lindsten, T., & Korsmeyer, S. J. (2001). BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis. *Mol. Cell*, 8(3), 705–711.
- Chuang, L. F., Killam, K. F., Jr, & Chuang, R. Y. (1997). Induction and activation of mitogen-activated protein kinases of human lymphocytes as one of the signaling pathways of the immunomodulatory effects of morphine sulfate. *J. Biol. Chem.*, 272(43), 26815–26817.
- Ishihara, N., Fujita, Y., Oka, T., & Mihara, K. (2006). Regulation of mitochondrial morphology through proteolytic cleavage of OPA1. *EMBO J.*, 25(13), 2966–2977.
- James, A. M., Wei, Y. H., Pang, C. Y., & Murphy, M. P. (1996). Altered mitochondrial function in fibroblasts containing MELAS or MERRF mitochondrial DNA mutations. *Biochem. J.*, 318 (Pt 2)(Pt 2), 401–407.
- Jiang, C., Huang, H., Yang, X., Le, Q., Liu, X., Ma, L., & Wang, F. (2024). Targeting mitochondrial dynamics of morphine-responsive dopaminergic neurons ameliorates opiate withdrawal. *J. Clin. Invest.* 134(5), e171995.
- Jin, S. M., Lazarou, M., Wang, C., Kane, L. A., Narendra, D. P., & Youle, R. J. (2010). Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL. *J. Cell Biol.*, 191(5), 933–942.
- Katona, I., Sperlágh, B., Sík, A., Käfalvi, A., Vizi, E. S., Mackie, K., & Freund, T. F. (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J. Neurosci.*, 19(11), 4544–4558.
- Kim, H., Tu, H. C., Ren, D., Takeuchi, O., Jeffers, J. R., Zambetti, G. P., Hsieh, J. J., & Cheng, E. H. (2009). Stepwise activation of BAX and BAK by tBID, BIM, and PUMA initiates mitochondrial apoptosis. *Mol. Cell*, 36(3), 487–499.
- Kim, J. S., Qian, T., & Lemasters, J. J. (2003). Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes. *Gastroenterology*, 124(2), 494–503.
- Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N., Matsumine, H., Yamamura, Y., Minoshima, S., Yokochi, M., Mizuno, Y., & Shimizu, N. (1998). Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*, 392(6676), 605–608.
- Kong, H., Jiang, C. Y., Hu, L., Teng, P., Zhang, Y., Pan, X. X., Sun, X. D., & Liu, W. T. (2019). Morphine induces dysfunction of PINK1/Parkin-mediated mitophagy in spinal cord neurons implying involvement in antinociceptive tolerance. *J. Mol. Cell Biol.*, 11(12), 1056–1068.

- Kops, G. J., Dansen, T. B., Polderman, P. E., Saarloos, I., Wirtz, K. W., Coffey, P. J., Huang, T. T., Bos, J. L., Medema, R. H., & Burgering, B. M. (2002). Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. *Nature*, 419(6904), 316–321.
- * Kovacic P. (2005). Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med. Hypotheses*, 64(2), 350–356.
- Kruman, I. I., & Mattson, M. P. (1999). Pivotal role of mitochondrial calcium uptake in neural cell apoptosis and necrosis. *J. Neurochem.*, 72(2), 529–540.
- Ku, H. H., Brunk, U. T., & Sohal, R. S. (1993). Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radic. Biol. Med.*, 15(6), 621–627.
- * Kuroiwa T. (1982). Mitochondrial nuclei. *Int. Rev. Cytol.*, 75, 1–59.
- Larsson, N. G., Wang, J., Wilhelmsson, H., Oldfors, A., Rustin, P., Lewandoski, M., Barsh, G. S., & Clayton, D. A. (1998). Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat. Genet.*, 18(3), 231–236.
- Lattanzio, F. A., Jr, Tiangco, D., Osgood, C., Beebe, S., Kerry, J., & Hargrave, B. Y. (2005). Cocaine increases intracellular calcium and reactive oxygen species, depolarizes mitochondria, and activates genes associated with heart failure and remodeling. *Cardiovasc. Toxicol.*, 5(4), 377–390.
- * Leshner, A. I. (1997). Addiction is a brain disease, and it matters. *Science*, 278(5335), 45–47.
- Li, L. Y., Luo, X., & Wang, X. (2001). Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412(6842), 95–99.
- Li, P., Nijhawan, D., Budihardjo, I., Srinivasula, S. M., Ahmad, M., Alnemri, E. S., & Wang, X. (1997). Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*, 91(4), 479–489.
- Li, Z., Okamoto, K., Hayashi, Y., & Sheng, M. (2004). The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell*, 119(6), 873–887.
- Liao, K., Guo, M., Niu, F., Yang, L., Callen, S. E., & Buch, S. (2016). Cocaine-mediated induction of microglial activation involves the ER stress-TLR2 axis. *J. Neuroinflammation*, 13, 33.
- Lindén, M., Andersson, G., Gellerfors, P., & Nelson, B. D. (1984). Subcellular distribution of rat liver porin. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 770(1), 93–96.
- Loson, O., Song, Z., Chen, H., & Chan, D. (2013). Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Mol. Biol. Cell*, 24, 659 - 667.
- Luft, R., Ikkos, D., Palmieri, G., Ernster, L., & Afzelius, B. (1962). A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J. Clin. Invest.*, 41(9), 1776–1804.
- Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C., & Wang, X. (1998). Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*, 94(4), 481–490.

- Margulis, Lynn, 1970. Origin of eukaryotic cells: evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian Earth. První vydání. New Haven: Yale University Press. ISBN 978-0-300-01353-6.
- Masini, A., Galesi, D., Giovannini, F., Trenti, T., & Ceccarelli, D. (1997). Membrane potential of hepatic mitochondria after acute cocaine administration in rats—The role of mitochondrial reduced glutathione. *Hepatology*, 25(2), 385-390.
- Mato, S., Victoria Sánchez-Gómez, M., & Matute, C. (2010). Cannabidiol induces intracellular calcium elevation and cytotoxicity in oligodendrocytes. *Glia*, 58(14), 1739-1747.
- Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C. A., Sou, Y. S., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., & Tanaka, K. (2010). PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J. Cell Biol.*, 189(2), 211–221.
- * Mattson, M., Gleichmann, M., & Cheng, A. (2008). Mitochondria in Neuroplasticity and Neurological Disorders. *Neuron*, 60, 748-766.
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244(22), 6049–6055.
- McGregor, A., Baker, G., & Roberts, D. C. (1994). Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the amygdala on intravenous cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Brain Res.*, 646(2), 273-278.
- McGregor, A., Baker, G., & Roberts, D. C. (1996). Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on intravenous cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 53(1), 5-9.
- Miller, K. E., & Sheetz, M. P. (2004). Axonal mitochondrial transport and potential are correlated. *J. Cell Sci.*, 117(Pt 13), 2791–2804.
- Miyakawa, I., Aoi, H., Sando, N., & Kuroiwa, T. (1984). Fluorescence microscopic studies of mitochondrial nucleoids during meiosis and sporulation in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.*, 66, 21–38.
- Mockett, R. J., Sohal, R. S., & Orr, W. C. (1999). Overexpression of glutathione reductase extends survival in transgenic *Drosophila melanogaster* under hyperoxia but not normoxia. *FASEB J.*, 13(13), 1733–1742.
- Mootha, V. K., Wei, M. C., Buttle, K. F., Scorrano, L., Panoutsakopoulou, V., Mannella, C. A., & Korsmeyer, S. J. (2001). A reversible component of mitochondrial respiratory dysfunction in apoptosis can be rescued by exogenous cytochrome c. *EMBO J.*, 20(4), 661–671.
- Morris, R. L., & Hollenbeck, P. J. (1993). The regulation of bidirectional mitochondrial transport is coordinated with axonal outgrowth. *J. Cell Sci.*, 104 (Pt 3), 917–927.

- Mozdy, A. D., McCaffery, J. M., & Shaw, J. M. (2000). Dnm1p GTPase-mediated mitochondrial fission is a multi-step process requiring the novel integral membrane component Fis1p. *J. Cell Biol.*, 151(2), 367–380.
- Nangaku, M., Sato-Yoshitake, R., Okada, Y., Noda, Y., Takemura, R., Yamazaki, H., & Hirokawa, N. (1994). KIF1B, a novel microtubule plus end-directed monomeric motor protein for transport of mitochondria. *Cell*, 79(7), 1209–1220.
- Narendra, D. P., Jin, S. M., Tanaka, A., Suen, D. F., Gautier, C. A., Shen, J., Cookson, M. R., & Youle, R. J. (2010). PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol.*, 8(1), e1000298.
- Narendra, D., Tanaka, A., Suen, D. F., & Youle, R. J. (2008). Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J. Cell Biol.*, 183(5), 795–803.
- Northcutt, A. L., Hutchinson, M. R., Wang, X., Baratta, M. V., Hiranita, T., Cochran, T. A., Pomrenze, M. B., Galer, E. L., Kopajtic, T. A., Li, C. M., Amat, J., Larson, G., Cooper, D. C., Huang, Y., O'Neill, C. E., Yin, H., Zahniser, N. R., Katz, J. L., Rice, K. C., Maier, S. F., Watkins, L. R. (2015). DAT isn't all that: cocaine reward and reinforcement require Toll-like receptor 4 signaling. *Mol. Psychiatry*, 20(12), 1525–1537.
- Nunnari, J., Marshall, W. F., Straight, A., Murray, A., Sedat, J. W., & Walter, P. (1997). Mitochondrial transmission during mating in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by mitochondrial fusion and fission and the intramitochondrial segregation of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Cell*, 8(7), 1233–1242.
- * O'Brien, C. P., & McLellan, A. T. (1996). Myths about the treatment of addiction. *Lancet*, 347(8996), 237–240.
- Olichon, A., Baricault, L., Gas, N., Guillou, E., Valette, A., Belenguer, P., & Lenaers, G. (2003). Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 278(10), 7743–7746.
- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Valle-Reyes, J. S., Hernández-Cruz, A., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2019). Cannabidiol directly targets mitochondria and disturbs calcium homeostasis in acute lymphoblastic leukemia. *Cell Death & Dis.*, 10(10), 779.
- * Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 26(6), 711–723.
- Otsuga, D., Keegan, B. R., Brisch, E., Thatcher, J. W., Hermann, G. J., Bleazard, W., & Shaw, J. M. (1998). The dynamin-related GTPase, Dnm1p, controls mitochondrial morphology in yeast. *J. Cell Biol.*, 143(2), 333–349.
- Palay S. L. (1956). Synapses in the central nervous system. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 2(4 Suppl), 193–202.

- Palmer, C. S., Osellame, L. D., Laine, D., Koutsopoulos, O. S., Frazier, A. E., & Ryan, M. T. (2011). MiD49 and MiD51, new components of the mitochondrial fission machinery. *EMBO Rep.*, *12*(6), 565–573.
- Perkins, G., Renken, C., Martone, M. E., Young, S. J., Ellisman, M., & Frey, T. (1997). Electron tomography of neuronal mitochondria: three-dimensional structure and organization of cristae and membrane contacts. *J. Struct. Biol.*, *119*(3), 260–272.
- Podinic, T., Limoges, L., Monaco, C., MacAndrew, A., Minhas, M., Nederveen, J., & Raha, S. (2024). Cannabidiol Disrupts Mitochondrial Respiration and Metabolism and Dysregulates Trophoblast Cell Differentiation. *Cells*, *13*(6), 486.
- Podmore, I. D., Griffiths, H. R., Herbert, K. E., Mistry, N., Mistry, P., & Lunec, J. (1998). Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*, *392*(6676), 559.
- Poole, A. C., Thomas, R. E., Andrews, L. A., McBride, H. M., Whitworth, A. J., & Pallanck, L. J. (2008). The PINK1/Parkin pathway regulates mitochondrial morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, *105*(5), 1638–1643.
- * Rezin, G. T., Amboni, G., Zugno, A. I., Quevedo, J., & Streck, E. L. (2009). Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem. Res.*, *34*(6), 1021–1029.
- Rizzuto, R., Pinton, P., Carrington, W., Fay, F. S., Fogarty, K. E., Lifshitz, L. M., Tuft, R. A., & Pozzan, T. (1998). Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses. *Science*, *280*(5370), 1763–1766.
- Robinson, T. E., & Kolb, B. (1999). Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur. J. Neurosci.*, *11*(5), 1598–1604.
- Robinson, T. E., Gorny, G., Savage, V. R., & Kolb, B. (2002). Widespread but regionally specific effects of experimenter-versus self-administered morphine on dendritic spines in the nucleus accumbens, hippocampus, and neocortex of adult rats. *Synapse*, *46*(4), 271–279.
- Rodriguez-Enriquez, S., Kim, I., Currin, R. T., & Lemasters, J. J. (2006). Tracker dyes to probe mitochondrial autophagy (mitophagy) in rat hepatocytes. *Autophagy*, *2*(1), 39–46.
- Rowland, K. C., Irby, N. K., & Spirou, G. A. (2000). Specialized synapse-associated structures within the calyx of Held. *J. Neurosci.*, *20*(24), 9135–9144.
- * Sadakierska-Chudy, A., Frankowska, M., & Filip, M. (2014). Mitoepigenetics and drug addiction. *Pharmacol. Ther.*, *144*(2), 226–233.
- Santel, A., & Fuller, M. T. (2001). Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J. Cell Sci.*, *114*(Pt 5), 867–874.
- Scaffidi, C., Fulda, S., Srinivasan, A., Friesen, C., Li, F., Tomaselli, K. J., Debatin, K. M., Krammer, P. H., & Peter, M. E. (1998). Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *EMBO J.*, *17*(6), 1675–1687.

- Selwyn, M. J., Dawson, A. P., & Dunnett, S. J. (1970). Calcium transport in mitochondria. *FEBS Lett.*, 10(1), 1–5.
- Shackelford, R. E., Innes, C. L., Sieber, S. O., Heinloth, A. N., Leadon, S. A., & Paules, R. S. (2001). The Ataxia telangiectasia gene product is required for oxidative stress-induced G1 and G2 checkpoint function in human fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 276(24), 21951–21959.
- Shepherd, G. M., & Harris, K. M. (1998). Three-dimensional structure and composition of CA3→CA1 axons in rat hippocampal slices: implications for presynaptic connectivity and compartmentalization. *J. Neurosci.*, 18(20), 8300–8310.
- Shimizu, S., Narita, M., & Tsujimoto, Y. (1999). Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature*, 399(6735), 483–487.
- Shokolenko, I., Venediktova, N., Bochkareva, A., Wilson, G. L., & Alexeyev, M. F. (2009). Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res.*, 37(8), 2539–2548.
- Schacher, S., Castellucci, V. F., & Kandel, E. R. (1988). cAMP evokes long-term facilitation in Aplysia sensory neurons that requires new protein synthesis. *Science*, 240(4859), 1667–1669.
- Schleyer, M., & Neupert, W. (1985). Transport of proteins into mitochondria: translocational intermediates spanning contact sites between outer and inner membranes. *Cell*, 43(1), 339–350.
- Schneggenburger, R., & Neher, E. (2000). Intracellular calcium dependence of transmitter release rates at a fast central synapse. *Nature*, 406(6798), 889–893.
- Schoch, S., Castillo, P. E., Jo, T., Mukherjee, K., Geppert, M., Wang, Y., Schmitz, F., Malenka, R. C., & Südhof, T. C. (2002). RIM1α forms a protein scaffold for regulating neurotransmitter release at the active zone. *Nature*, 415(6869), 321–326.
- Schultz, W., Apicella, P., & Ljungberg, T. (1993). Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J. Neurosci.*, 13(3), 900–913.
- Schulz, T. J., Zarse, K., Voigt, A., Urban, N., Birringer, M., & Ristow, M. (2007). Glucose restriction extends *Caenorhabditis elegans* life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress. *Cell Metab.*, 6(4), 280–293.
- Schapira, A. H. V., Cooper, J. M., Dexter, D., Clark, J. B., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1990). Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J. Neurochem.*, 54(3), 823–827.
- Simbeni, R., Pon, L., Zinser, E., Paltauf, F., & Daum, G. (1991). Mitochondrial membrane contact sites of yeast. Characterization of lipid components and possible involvement in intramitochondrial translocation of phospholipids. *J. Biol. Chem.*, 266(16), 10047–10049.
- Snyder, G. L., Allen, P. B., Fienberg, A. A., Valle, C. G., Huganir, R. L., Nairn, A. C., & Greengard, P. (2000). Regulation of phosphorylation of the GluR1 AMPA receptor in the neostriatum by dopamine and psychostimulants in vivo. *J. Neurosci.*, 20(12), 4480–4488.

- Soleimanpour, E., Bergado Acosta, J. R., Landgraf, P., Mayer, D., Dankert, E., Dieterich, D. C., & Fendt, M. (2021). Regulation of CREB Phosphorylation in Nucleus Accumbens after Relief Conditioning. *Cells*, 10(2), 238.
- Sparagna, G. C., Gunter, K. K., Sheu, S. S., & Gunter, T. E. (1995). Mitochondrial calcium uptake from physiological-type pulses of calcium. A description of the rapid uptake mode. *J. Biol. Chem.*, 270(46), 27510–27515.
- Stella, N., Schweitzer, P., & Piomelli, D. (1997). A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*, 388(6644), 773–778.
- Sun, S., Hu, F., Wu, J., & Zhang, S. (2017). Cannabidiol attenuates OGD/R-induced damage by enhancing mitochondrial bioenergetics and modulating glucose metabolism via pentose-phosphate pathway in hippocampal neurons. *Redox Biol.*, 11, 577–585.
- Sun, X., Zhao, Y., & Wolf, M. E. (2005). Dopamine receptor stimulation modulates AMPA receptor synaptic insertion in prefrontal cortex neurons. *J. Neurosci.*, 25(32), 7342–7351.
- Susin, S. A., Lorenzo, H. K., Zamzami, N., Marzo, I., Snow, B. E., Brothers, G. M., Mangion, J., Jacotot, E., Costantini, P., Loeffler, M., Larochette, N., Goodlett, D. R., Aebersold, R., Siderovski, D. P., Penninger, J. M., & Kroemer, G. (1999). Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 397(6718), 441–446.
- Suzuki, Y., Imai, Y., Nakayama, H., Takahashi, K., Takio, K., & Takahashi, R. (2001). A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol. Cell*, 8(3), 613–621.
- Szalai, G., Krishnamurthy, R., & Hajnóczky, G. (1999). Apoptosis driven by IP(3)-linked mitochondrial calcium signals. *EMBO J.*, 18(22), 6349–6361.
- * Taylor, F. J. R. (1974). Implications and Extensions of the Serial Endosymbiosis Theory of the Origin of Eukaryotes. *Taxon*, 23(2/3), 229–258.
- Thangaraj, A., Periyasamy, P., Guo, M. L., Chivero, E. T., Callen, S., & Buch, S. (2020). Mitigation of cocaine-mediated mitochondrial damage, defective mitophagy and microglial activation by superoxide dismutase mimetics. *Autophagy*, 16(2), 289–312.
- Ton, J. M. N. C., Gerhardt, G. A., Friedemann, M., Etgen, A. M., Rose, G. M., Sharpless, N. S., & Gardner, E. L. (1988). The effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on potassium-evoked release of dopamine in the rat caudate nucleus: an in vivo electrochemical and in vivo microdialysis study. *Brain Res.*, 451(1-2), 59-68.
- Twig, G., Elorza, A., Molina, A. J., Mohamed, H., Wikstrom, J. D., Walzer, G., Stiles, L., Haigh, S. E., Katz, S., Las, G., Alroy, J., Wu, M., Py, B. F., Yuan, J., Deeney, J. T., Corkey, B. E., & Shirihai, O. S. (2008a). Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J.*, 27(2), 433–446.
- * Twig, G., Hyde, B., & Shirihai, O. S. (2008b). Mitochondrial fusion, fission and autophagy as a quality control axis: the bioenergetic view. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, 1777(9), 1092–1097.

- Valjent, E., Pascoli, V., Svenningsson, P., Paul, S., Enslen, H., Corvol, J. C., ... & Girault, J. A. (2005). Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102(2), 491-496.
- van de Giessen, E., Weinstein, J. J., Cassidy, C. M., Haney, M., Dong, Z., Ghazzaoui, R., Ojeil, N., Kegeles, L. S., Xu, X., Vadhan, N. P., Volkow, N. D., Slifstein, M., & Abi-Dargham, A. (2017). Deficits in striatal dopamine release in cannabis dependence. *Mol. Psychiatry*, 22(1), 68–75.
- Varadi, A., Johnson-Cadwell, L. I., Cirulli, V., Yoon, Y., Allan, V. J., & Rutter, G. A. (2004). Cytoplasmic dynein regulates the subcellular distribution of mitochondria by controlling the recruitment of the fission factor dynamin-related protein-1. *J. Cell Sci.*, 117(Pt 19), 4389–4400.
- Vaughan, C. W., McGregor, I. S., & Christie, M. J. (1999). Cannabinoid receptor activation inhibits GABAergic neurotransmission in rostral ventromedial medulla neurons in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 127(4), 935–940.
- Verhagen, A. M., Ekert, P. G., Pakusch, M., Silke, J., Connolly, L. M., Reid, G. E., Moritz, R. L., Simpson, R. J., & Vaux, D. L. (2000). Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*, 102(1), 43–53.
- Villemagne, V. L., Wong, D. F., Yokoi, F., Stephane, M., Rice, K. C., Matecka, D., ... & Rothman, R. B. (1999). GBR12909 attenuates amphetamine-induced striatal dopamine release as measured by [11C] raclopride continuous infusion PET scans. *Synapse*, 33(4), 268-273.
- Virbasius, J. V., & Scarpulla, R. C. (1994). Activation of the human mitochondrial transcription factor A gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91(4), 1309–1313.
- * Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Baler, R., & Telang, F. (2009). Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*, 56 Suppl 1(Suppl 1), 3–8.
- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wolf, A. P., Schlyer, D., Shiue, C. Y., Alpert, R., Dewey, S. L., Logan, J., Bendriem, B., & Christman, D. (1990). Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am. J. Psychiatry*, 147(6), 719–724.
- Volkow, N. D., Chang, L., Wang, G. J., Fowler, J. S., Ding, Y. S., Sedler, M., Logan, J., Franceschi, D., Gatley, J., Hitzemann, R., Gifford, A., Wong, C., & Pappas, N. (2001). Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am. J. Psychiatry*, 158(12), 2015–2021.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fischman, M. W., Foltin, R. W., Fowler, J. S., Abumrad, N. N., ... & Shea, C. E. (1997). Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature*, 386(6627), 827-830.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fischman, M. W., Foltin, R., Fowler, J. S., Franceschi, D., Franceschi, M., Logan, J., Gatley, S. J., Wong, C., Ding, Y. S., Hitzemann, R., & Pappas, N. (2000). Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain. *Life Sci.*, 67(12), 1507–1515.

- Volkow, N. D., Wang, G. J., Telang, F., Fowler, J. S., Logan, J., Childress, A. R., Jayne, M., Ma, Y., & Wong, C. (2006). Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J. Neurosci.*, 26(24), 6583–6588.
- Walker, O. L. S., Gurm, H., Sharma, R., Verma, N., May, L. L., & Raha, S. (2021). Delta-9-tetrahydrocannabinol inhibits invasion of HTR8/SVneo human extravillous trophoblast cells and negatively impacts mitochondrial function. *Sci. Rep.*, 11(1), 4029.
- * Wallace D. C. (1999). Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*, 283(5407), 1482–1488.
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Logan, J., Abumrad, N. N., Hitzemann, R. J., ... & Pascani, K. (1997). Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 16(2), 174-182.
- Wang, Z., Ma, W., Chabot, J. G., & Quirion, R. (2009). Cell-type specific activation of p38 and ERK mediates calcitonin gene-related peptide involvement in tolerance to morphine-induced analgesia. *FASEB J.*, 23(8), 2576-2586.
- Weisiger, R. A., & Fridovich, I. (1973). Superoxide dismutase. Organelle specificity. *J. Biol. Chem.*, 248(10), 3582–3592.
- White, C., Li, C., Yang, J., Petrenko, N. B., Madesh, M., Thompson, C. B., & Foskett, J. K. (2005). The endoplasmic reticulum gateway to apoptosis by Bcl-X(L) modulation of the InsP3R. *Nat. Cell Biol.*, 7(10), 1021–1028.
- Wingrove, D. E., & Gunter, T. E. (1986). Kinetics of mitochondrial calcium transport. II. A kinetic description of the sodium-dependent calcium efflux mechanism of liver mitochondria and inhibition by ruthenium red and by tetraphenylphosphonium. *J. Biol. Chem.*, 261(32), 15166–15171.
- Wingrove, D. E., Amatruda, J. M., & Gunter, T. E. (1984). Glucagon effects on the membrane potential and calcium uptake rate of rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 259(15), 9390–9394.
- Winterbourn, C. C., French, J. K., & Claridge, R. F. (1978). Superoxide dismutase as an inhibitor of reactions of semiquinone radicals. *FEBS Lett.*, 94(2), 269–272.
- * Wise, R. A., & Robble, M. A. (2020). Dopamine and Addiction. *Annu. Rev. Psychol.*, 71, 79–106.
- Wójcicki, J., Rózewicka, L., Barcew-Wiszniewska, B., Samochowiec, L., Juźwiak, S., Kadłubowska, D., Tustanowski, S., & Juzyszyn, Z. (1991). Effect of selenium and vitamin E on the development of experimental atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 87(1), 9–16.
- Wolff, V., Schlagowski, A. I., Rouyer, O., Charles, A. L., Singh, F., Auger, C., Schini-Kerth, V., Marescaux, C., Raul, J. S., Zoll, J., & Geny, B. (2015). Tetrahydrocannabinol induces brain mitochondrial respiratory chain dysfunction and increases oxidative stress: a potential mechanism involved in cannabis-related stroke. *BioMed Res. Int.*, 2015, 323706.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R. C., & Spiegelman, B. M. (1999). Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 98(1), 115–124.

- Xu, H., Gan, C., Gao, Z., Huang, Y., Wu, S., Zhang, D., Wang, X., & Sheng, J. (2020). Caffeine Targets SIRT3 to Enhance SOD2 Activity in Mitochondria. *Front. Cell Dev. Biol.*, 8, 822.
- Ye, S. M., & Johnson, R. W. (1999). Increased interleukin-6 expression by microglia from brain of aged mice. *J. Neuroimmunol.*, 93(1-2), 139–148.
- Yoon, Y., Krueger, E. W., Oswald, B. J., & McNiven, M. A. (2003). The mitochondrial protein hFis1 regulates mitochondrial fission in mammalian cells through an interaction with the dynamin-like protein DLP1. *Mol. Cell Biol.*, 23(15), 5409–5420.
- Zamzami, N., Susin, S. A., Marchetti, P., Hirsch, T., Gómez-Monterrey, I., Castedo, M., & Kroemer, G. (1996). Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *J. Exp. Med.*, 183(4), 1533–1544.
- Zhu, W., Friedman, H., & Klein, T. W. (1998). Δ^9 -Tetrahydrocannabinol induces apoptosis in macrophages and lymphocytes: involvement of Bcl-2 and caspase-1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 286(2), 1103–1109.
- Zou, J. Y., & Crews, F. T. (2005). TNF alpha potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: neuroprotection by NF kappa B inhibition. *Brain Res.*, 1034(1-2), 11–24.
- Züchner, S., Mersiyanova, I. V., Muglia, M., Bissar-Tadmouri, N., Rochelle, J., Dadali, E. L., Zappia, M., Nelis, E., Patitucci, A., Senderek, J., Parman, Y., Evgrafov, O., Jonghe, P. D., Takahashi, Y., Tsuji, S., Pericak-Vance, M. A., Quattrone, A., Battaloglu, E., Polyakov, A. V., Timmerman, V., Vance, J. M. (2004). Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat. Genet.*, 36(5), 449–451.

* označení pro sekundární zdroj