

Uloga dopamina u preferencijalnoj samoadministraciji metamfetamina

Gvozdić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:193:604651>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)

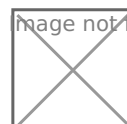


image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU

Preddiplomski sveučilišni studij
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Ivana Gvozdić

**Uloga dopamina u preferencijalnoj samoadministraciji
metamfetamina**

Završni rad

Rijeka, srpanj 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Preddiplomski sveučilišni studij
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Ivana Gvozdić

**Uloga dopamina u preferencijalnoj samoadministraciji
metamfetamina**

Završni rad

Rijeka, srpanj 2022.

UNIVERSITY OF RIJEKA
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
Undergraduate programme
"Biotechnology and drug research"

Ivana Gvozdić

**The role of dopamine in preferential self-administration of
methamphetamine**

Undergraduate thesis

Rijeka, July 2022

Mentor rada: dr.sc. Rozi Andreć Waldovski

Završni rad obranjen je dana 25. srpnja 2022. pred povjerenstvom:

Završni rad obranjen je dana. pred povjerenstvom:

1. Izv. prof. dr. sc. Jelena Ban
2. doc. dr. sc. Ivana Ratkaj
3. Izv. prof. dr. sc. Rozi Andreć Waldovski, mentor

Rad ima 29 stranica, 5 slika i 32 literaturna navoda

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Ovisnost	1
1.2. Samoadministracija opojnih droga	1
1.3. Dopaminski sustav i nagrađujući efekt.....	2
1.4. Mutacije dopaminskog transportera u sisavaca	4
1.5. Mutacije dopaminskog transportera u mušica	5
2. CILJ RADA	6
3. MATERIJALI I METODE	7
3.1. Sojevi <i>Drosophila melanogaster</i>	7
3.2. Postavljanje <i>FlyCafe</i> metode	7
3.3. Priprema uzoraka	10
3.4. Obrada podataka i statistička analiza	10
4. REZULTATI	11
4.1. <i>fmn</i> mušice ne preferiraju METH tijekom tri dana samoadministracije ...	11
4.2. <i>fmn</i> mušice ne preferiraju METH tijekom pet dana samoadministracije.	13
4.3. <i>fmn</i> mušice značajno se razlikuju u preferencijalnoj samoadministraciji od mušica divljeg soja	15
5. RASPRAVA	17
6. ZAKLJUČAK.....	22
7. LITERATURA.....	24
8. ŽIVOTOPIS	28

SAŽETAK

Konzumacija opojnih droga utječe na dopaminsku i serotoninsku neurotransmisiju te je značajan faktor razvoja ovisnosti. Psihostimulansi poput metamfetamina (METH) djeluju na centre u mozgu zadužene za regulaciju procesuiranja nagrade i ugone. Nagrađujući utjecaj droga dovodi do opetovane konzumacije i u konačnici do ovisničkog ponašanja koje se ispituje na laboratorijskim životinjama kao preferencijalna samoadministracija. *Drosophila melanogaster* poznati je modelni organizam za izučavanje ovisničkog ponašanja.

U provedenom istraživanju koristili smo *fumin* (*fmn*) mutante *Drosophila melanogaster* kao modelni organizam za ispitivanje preferencijalne konzumacije METH-a. Zanimalo nas je kakva će biti preferencijalna administracija u tih mušica koje zbog mutacije u genima za dopaminski transporter (DAT) imaju narušenu homeostazu u dopaminskom sustavu. Metoda pomoću koje se ispitivala preferencijalna konzumacija je Fly CAFE (eng. Capillary Feeder) esej u kojemu su mušice imale izbor između šećerne otopine i šećerne otopine s dodatkom METH-a.

Dobiveni rezultati upućuju da dopamin (DA) ima ključnu ulogu u preferencijalnoj konzumaciji METH-a. *fmn* mušice razvijaju odbojan do neutralan odgovor prema šećernoj otopini koja sadrži METH. Također prikazana je značajna statistička razlika u preferenci za METH-om između divljeg tipa (*wt*) mušica s normalnom funkcijom dopaminskog sustava i *fmn* s neaktivnim DAT-om.

Potrebna su daljnja istraživanja i razumijevanje samoadministracije opojnih droga i njihovog nagrađujućeg djelovanja kako bi se dizajnirali prikladni farmakološki tretmani u liječenju i sprječavanju ovisnosti.

Ključne riječi: *Drosophila melanogaster*, dopamin, preferencijalna samoadministracija, metamfetamin

SUMMARY

The consumption of narcotic drugs affects dopamine and serotonin neurotransmission and is a significant factor in the development of addiction. Psychostimulants such as methamphetamine (METH) act on centers in the brain responsible for regulating reward and pleasure processing. The rewarding influence of drugs leads to repeated consumption and ultimately to addictive behavior that is tested on laboratory animals as preferential self-administration. *Drosophila melanogaster* is a well-known model organism for studying addictive behavior.

In the conducted experiment we used *fumin* (*fmn*) mutants of *Drosophila melanogaster* as a model organism for testing the preferential consumption of METH. We were interested to test the preferential administration in flies that, due to a mutation in the genes for the dopamine transporter (DAT), have disturbed homeostasis in the dopamine system. The method used to test preferential consumption is the Fly CAFE (Capillary Feeder) assay in which the flies had a choice between a sugar solution and a sugar solution with the addition of METH.

We found that dopamine plays a key role in the preferential consumption of METH. *fmn* flies develop an aversive to neutral response to a sugar solution containing METH. A significant statistical difference in preference for METH was also shown between wild type flies (*wt*) with normal dopamine system function and *fmn* with an inactive DAT.

Further research and understanding of self-administration of narcotic drugs and their rewarding effects will be useful in design of appropriate pharmacological treatments for the treatment and prevention of addiction.

Key words: *Drosophila melanogaster*, dopamine, preferential self-administration, methamphetamine

1. UVOD

1.1. Ovisnost

Ovisnost je kronični recidivni poremećaj kojega karakterizira kompulzivna upotreba psihostimulansa [1]. Zloupotreba psihostimulansa poput METH-a i kokaina (COC) postaje sve veći javnozdravstveni problem. Prema Svjetskom izvješću o drogama za 2021. godinu koje je objavio Ured Ujedinjenih naroda za droge i kriminal (UNODC), više od 36 milijuna ljudi patilo je od poremećaja upotreba droge. Posljedica koja se javlja uzimanjem adiktivnih psihostimulansa poput METH-a i COC-a jest poremećaj homeostaze organizma na molekularnoj i staničnoj razini. Dolazi do modulacije ekspresije gena uključenih u neuroplastičnost epigenetskim i RNA modifikacijama. U konačnici dolazi do ometanja unutarstaničnih signalnih kaskada i neuronskih krugova čija disfunkcija je uključena u dugotrajne promjene povezane s ovisnošću [2]. Mehanizam kojim psihostimulansi točno izazivaju ovisnost nije u potpunosti razriješen. Dosadašnja istraživanja potvrdila su značaj povećanja dopaminergične neurotransmisije koja je zajednička direktna ili indirektna posljedica konzumacije različitih vrsta droga i ovisničkog ponašanja.

1.2. Samoadministracija opojnih droga

Ovisnost je nemoguće ispitivati kao cjelinu u laboratorijskim uvjetima zbog kompleksnosti bolesti. U svrhu istraživanja mehanizama ovisnosti prate se jednostavnija karakteristična ponašanja koja se javljaju u bolesti poput samoadministracije, kontinuirane konzumacije unatoč negativnim posljedicama. Samoadministracija supstanci koje izazivaju ovisnost kod laboratorijskih životinja koristi se već desetljećima kao alat za proučavanje bihevioralnih, neurobioloških i genetskih čimbenika ovisnosti. Zahvaljujući takvim studijama dostupne su brojne informacije o mehanizmima uključenima

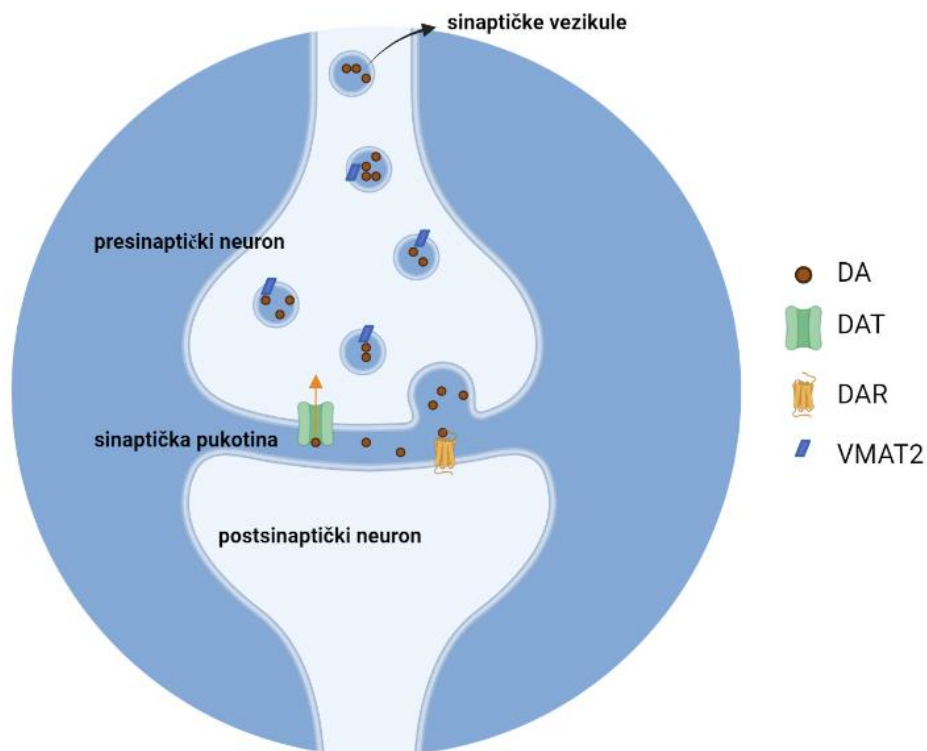
u razvoj ovisnosti i o mogućim farmakoterapijskim tretmanima [3].

Način na koji se ispituje opetovana konzumacija droge kod modelnih organizama je da se uz ponuđenu drogu veže i odbojan stimulans. Primjerice, vinske mušice konzumiraju etanol unatoč tome što su zbog toga izložene elekto-šokovima [4]. Isto tako etanol sadrži kinin koji mu daje odbojan, gorak okus koji je životinjama evolucijski povezan s toksičnim tvarima, no unatoč tome mušice svejedno preferiraju etanol naspram šećerne otopine [5]. Samoadministracija opojnih sredstava kod životinja uspješno je korištena za predviđanje sklonosti zlouporabe opojnih sredstava kod ljudi. U studijama koje koriste usporedive postupke za proučavanje ponašanja ljudi i životinja koji imaju slobodan pristup opojnim sredstvima pokazano je da se razvija vrlo sličan obrazac ponašanja u obje vrste. [6]

1.3. Dopaminski sustav i nagrađujući efekt

DA je neurotransmitter čija je uloga u različitim fiziološkim procesima, uključujući lokomotorno ponašanje, spavanje, motivaciju, učenje, pamćenje, ponašanje povezano s nagradom i motivacijom te razvojem ovisnosti [7]. DA se sintetizira iz aminokiseline tirozin, djelovanjem enzima tirozin hidroksilaze nastaje L-dihidroksifenilalanin (DOPA). Dekarboksilaza aromatskih aminokiselina katalizira pretvorbu DOPA u DA koji se transportira pomoću vezikularnog monoaminskog transportera 2 (VMAT2) u sinaptičkim vezikulama. Kada presinaptički neuron primi akcijski potencijal dolazi do otpuštanja DA u sinaptičku pukotinu egzocitozom vezikula. DA se veže na dopaminske receptore (DAR) koji se nalaze na postsinaptičkom neuronu. Signalizacija se zaustavlja uklanjanjem DA iz sinaptičke pukotine pomoću dopaminskog transportera (DAT). Aktivnim transportom DAT prenosi DA u citosol presinaptičkog neurona, gdje se on degradira ili ponovno pohranjuje u sinaptičke vezikule pomoću VMAT2 (Slika 1.). [8,9]

Podražaji koji proizvode motivaciju i nagradu, poput primarnih nagrada (podražaji važni za preživljenje vrste) i opojnih droga, povećavaju oslobađanje DA. Otpuštanje DA u mezolimbickom sustavu povezuje se s nagrađujućim svojstvima podražaja. Vezanje DA za receptore utječe na motivaciju i želju za nagrađujućim podražajima te percepciju užitka i u nekim slučajevima, razvojem ovisnosti. [10]



Slika 1. Shematski prikaz dopaminergične neurotransmisije (DA-dopamin; DAT-dopaminski transporter; DAR-dopaminski receptor VMAT2-vezikularni monoaminski transporter 2

1.4. Mutacije dopaminskog transportera u sisavaca

Dopaminski sustav ima važnu ulogu u mnogim fiziološkim, bihevioralnim i endokrinim funkcijama. Disfunkcije ovog sustava uključene su u brojna patološka stanja uključujući Parkinsonovu bolest (PD), poremećaj pažnje s hiperaktivnošću (ADHD), depresiju, ovisnost, shizofreniju i Touretteov sindrom [13, 14].

Nedostatak transportera dopamina u DAT (eng. knock-out (KO)) životinja dovodi do znatno smanjenog uklanjanja DA iz sinaptičke pukotine. Sojevi miševa s narušenim DAT genom stvoreni su korištenjem *in vivo* homologne rekombinacije [15, 16]. Unatoč nedostatku DAT-a, miševi su bili vitalni, ali su bile izražene promjene u neurokemiji, fenotipu i ponašanju. Nije uočena promjena u plodnosti i reprodukciji miševa, ali ženke DAT-KO miševa pokazale su oslabljeno majčinsko ponašanje, nemogućnost dojenja te se stoga nisu mogle brinuti za leglo. DAT-KO miševi imaju vrlo izražen fenotip ponašanja. Kao rezultat trajnog povišenja izvanstaničnog DA, pokazuju hiperlokomociju, poremećen senzomotorni pristup, povećanu impulzivnost i smanjenu sposobnost učenja. Kada su izloženi novoj okolini, kod DAT-KO miševa izraženo je spontano kretanje. Studije sugeriraju da disfunkcija DAT-a može pridonijeti patogenezi ADHD-a. [17]

Višestruke genetske studije na pacijentima pokazale su povezanost varijanti gena DAT s ADHD-om [18]. Isto tako poznato je da u bolesnika koji pate od ADHD-a psihostimulansi u interakciji s DAT-om, poput amfetamina i metilfenidata, mogu poboljšati poremećaje u ponašanju. Promjene u dopaminskom transporteru, disregulacija DA i promijenjena razvojna putanja dopaminergičkih struktura povezuje se s poremećajima iz spektra autizma (ASD). [19]

1.5. Mutacije dopaminskog transportera u mušica

fmn mušice nose mutaciju u genu DAT-a. Mutacija je recesivna i nalazi se na drugom kromosomu. Nefunkcionalan DAT rezultira povećanom količinom DA u sinaptičkoj pukotini, stoga *fmn* mutanti pokazuju povećanu duljinu aktivne (budne) faze što rezultira značajnim smanjenjem spavanja. Lokomotorna aktivnost osim što traje duže značajno je povećanog intenziteta nego u *wt* mušica. *fmn* mušice pokazuju povećanu osjetljivost na mehaničke podražaje i duže trajanje pobuđenog stanja, što ukazuje na smanjeni prag uzbuđenja [11]. Imaju normalnu morfologiju dijela mozga koji je povezan s učenjem i pamćenjem (engl. *Mushroom body*), a analogan je hipokampusu u sisavaca [12].

2. CILJ RADA

DA je neurotransmitter koji se povezuje s nagrađujućim učincima konzumacije opojnih droga i može imati ključnu ulogu u pokretanju neurobioloških promjena povezanih s ovisnošću. Svrha ovog istraživačkog rada je opisati postoji li korelacija između preferencijalne samoadministracije METH-a i razine DA na modelnom organizmu *Drosophila melanogaster*.

Osnovni cilj provedenog eksperimenta je ispitati kakvu će preferencu za METH-om pokazivati mutanti dopaminskog transportera koji u sinaptičkoj pukotini imaju povećane razine dopamina.

3. MATERIJALI I METODE

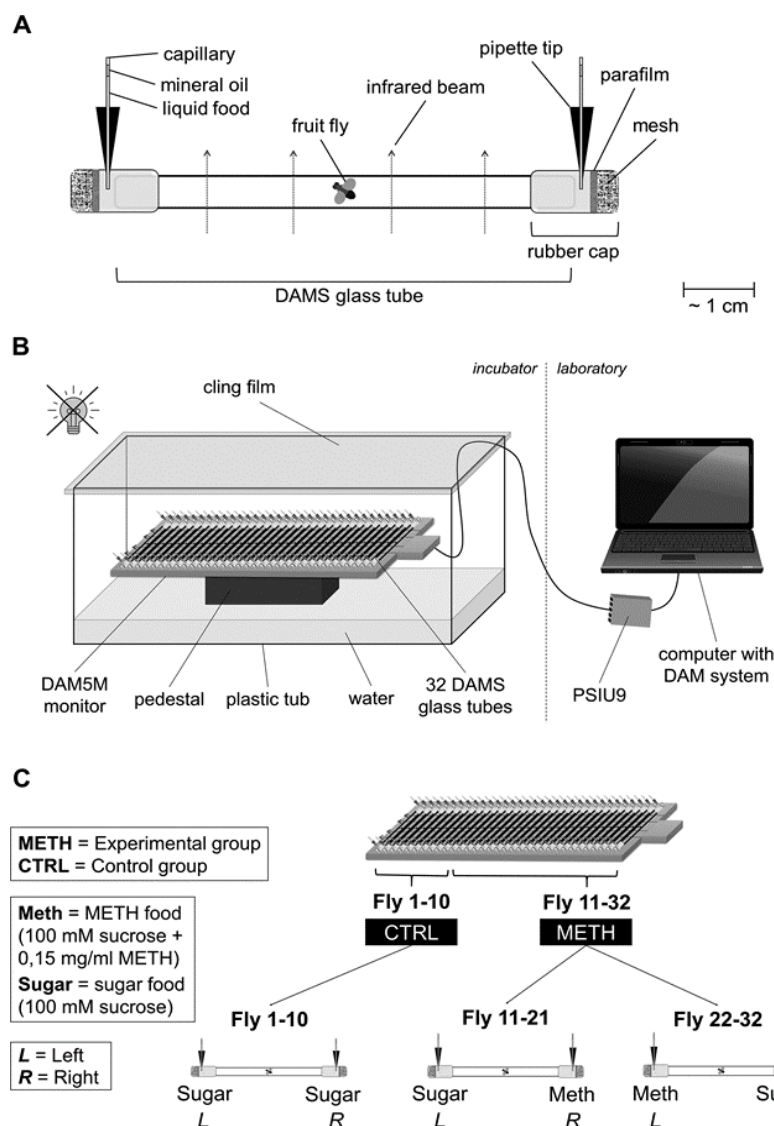
3.1. Sojevi *Drosophile melanogaster*

Za pojedini pokus gdje se mjerila preferencijalna samoadministracija METH-a pomoću FlyCafe metode, korištena su 32 mužjaka *fmn* mutanata *Drosophile melanogaster*. Mušice su uzgajane bočicama na standardnom mediju od kukuruznog brašna/agra na 25 °C i 70% vlažnosti u ciklusu svjetlo/mrak od 12 sati. Mušice stare do pet dana anestetizirane su ugljikovim dioksidom i odvojeni mužjaci od ženki pod svjetlosnim mikroskopom. Podaci za divlji tip mušica koji su korišteni za usporedbu s *fmn* mutantima preuzeti su iz pokusa provedenima u istom laboratoriju. [20]

3.2. Postavljanje *FlyCafe* metode

Pojedinačne mušice prenesene su iz bočica za uzgoj u staklene cjevčice Drosophila Activity Monitor (DAM) sustava (65 × 5 mm). DAM bilježi dužinu vremena aktivnosti i mirovanja te dužinu zadržavanja u pojedinim sektorima cjevčice svake mušice za svaku minutu tijekom eksperimenta. Monitor je spojen s računalom pomoću PSIU9 sučelja za napajanje (TriKinetics, Waltham, MASS) gdje se prikupljaju svi podaci. Na krajevima svake staklene cjevčice stavljen je dio gumene cijevi veličine 1,5 cm, prekriven najlonskom mrežicom koja je učvršćena parafilmom. Na ovaj su način mušice zatvorene unutar staklene cjevčice, ali je omogućeno održavanje vlažnosti zraka i sprječava se dehidracija. U središtu svake gumene cijevi s gornje strane probušena je rupa kako bi se uklopio vrh plastičnog nastavka pipete od 200 µl. On je modificiran da drži staklenu kapilaru od 5 µl (Slika 2.A). U svakom eksperimentu koristili smo dvije vrste kontrola. Prva kontrola služila je da se utvrdi da mušice ne pokazuju preferencu za konzumiranje hrane ovisno o strani cjevčice na kojoj se nalazila kapilara. Svaki monitor sadržavao je deset cjevčica s mušicama koje su s obje strane imale kapilare

u kojima se nalazila tekuća hrana na bazi šećera. Preostale 22 mušice u monitoru bila su eksperimentalna skupina kojima je s jedne strane ponuđena šećerna otopina, a s druge šećerna otopina s METH-om. U 11 cjevčica METH se nalazio s desne strane, a drugih 11 s lijeve strane (Slika 2.C). Druga kontrola u svakom eksperimentu je kontrola za evaporaciju hrane. Postavljene su staklene cjevčice s hranom bez mušica. Na taj način se svaki dan korigirala količina hrane koju su mušice konzumirale s prosječnom količinom hrane koja je evaporirala u cjevčicama bez mušica. DAMS i kontrola za evaporaciju postavljeni su na postolje u veliku plastičnu posudu u koju se ulila jedna litra vode. Monitor je povezan s računalom, a plastična posuda prekrivena je prijanjajućom folijom i stavljena u inkubator na 24 °C i tijekom eksperimenta bila je u konstantnom mraku (Slika 2.B).



Slika 2. FlyCafe metoda za mjerenje preferencijalne samoadministracije METH-a pojedinačnih mušica. A) Staklena cjevčica sustava DAMS s modificiranim krajevima za umetanje staklenih kapilara s tekućom hranom. B) Eksperimentalna postava FlyCafe-a sastavljena od: DAMS monitora spojenog s računalom, 32 staklene cjevčice u kojima se nalaze pojedinačne mušice u prekrivenoj plastičnoj posudi s vodom. Računalo prikuplja podatke o lokomotornoj aktinosti svake minute tijekom 24 sata. C) Standardni postupak pozicioniranja staklenih cjevčica u monitoru DAM5M. Preuzeto iz rada [20].

3.3. Priprema uzoraka

Tekuća hrana kojom su se punile kapilare sastojala se od 0,05 mg/mL kvasca i 0,1 mol/L saharoze uz dodatak 0,15 mg/mL METH-a ili iste hrane bez dodatka METH-a. Da bi se minimiziralo isparavanje hrane, kapilare su najprije punjene mineralim uljem pomoću kapilarnog djelovanja, a potom tekućom hranom. Ravnalom se mjerila visina tekuće hrane do mineralnog ulja (cm) te su kapilare umetnute u vrh plastičnog nastavka pipete. Količina popijene hrane mjerila se svaki dan u isto vrijeme. Kapilara se potom zamijenila novom svježije pripremljenom i izmjerenom hranom. Isti postupak primijenjen je i za kontrolne kapilare za evaporaciju. Eksperiment je ponovljen dva puta u trajanju od tri dana, te jednom u trajanju od pet dana.

3.4. Obrada podataka i statistička analiza

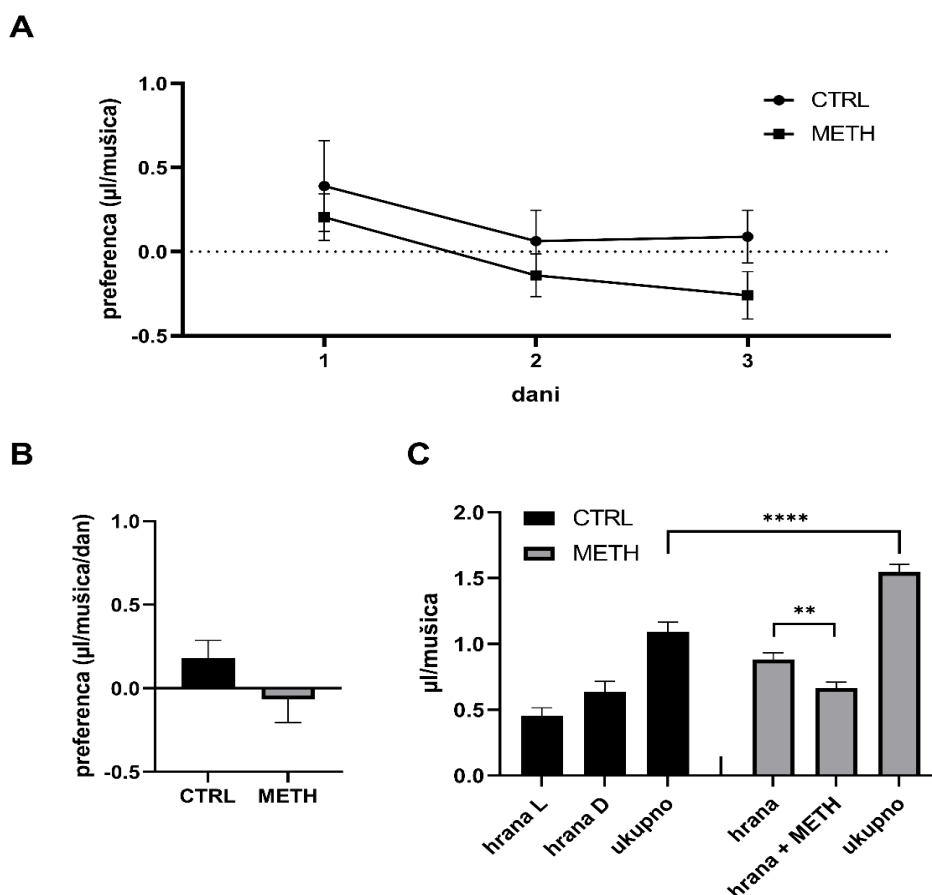
Količina popijene hrane računala se tako da se od količine hrane prethodnog dana oduzela vrijednost sljedećeg dana (u cm). Dobivena razlika korigirala se za prosječno isparavanje hrane tog dana. Vrijednost se pomnožila s presjekom kapilare (1,52) i dobivena je vrijednost u μL . Preferencijalna konzumacija izračunala se kao razlika u konzumaciji šećerne otopine s METH-om naspram šećerne otopine (u μL), gdje nula označuje jednaku konzumaciju obje otopine, vrijednosti veće od nula predstavljaju preferencu za METH-om, a vrijednosti manje od nule predstavljaju odbojnost prema METH-u. Obrada podataka napravljena je u programu MS Excel. Nadalje su podaci analizirani u programu GraphPad Prism 8.4.3. Statistička obrada radila se pomoću t-testa za nezavisne uzorke, jednosmjerne analize varijance (ANOVA) za usporedbu dvije ili više grupa i dvosmjerne ANOVA u slučaju dvije različite kategoričke nezavisne varijable (usporedba *fmn* i *wt*), nakon čega je korišten Bonferronijev post hoc test za višestruke usporedbe.

4. REZULTATI

Kako bi ispitali pokazuju li *fmn* mušice preferencu u konzumaciji METH-a napravljen je pokus pomoću FlyCafe metode koja omogućuje kvantifikaciju količine popijene tekuće hrane za pojedinačne mušice. Iz navedenih podataka moguće je izračunati preferencu za šećernu otopinu ili šećernu otopinu s dodatkom 0,15 mg/mL METH-a. Kontrolnoj skupini (CTRL) ponuđena je samo šećerna otopina.

4.1. *fmn* mušice ne preferiraju METH tijekom tri dana samoadministracije

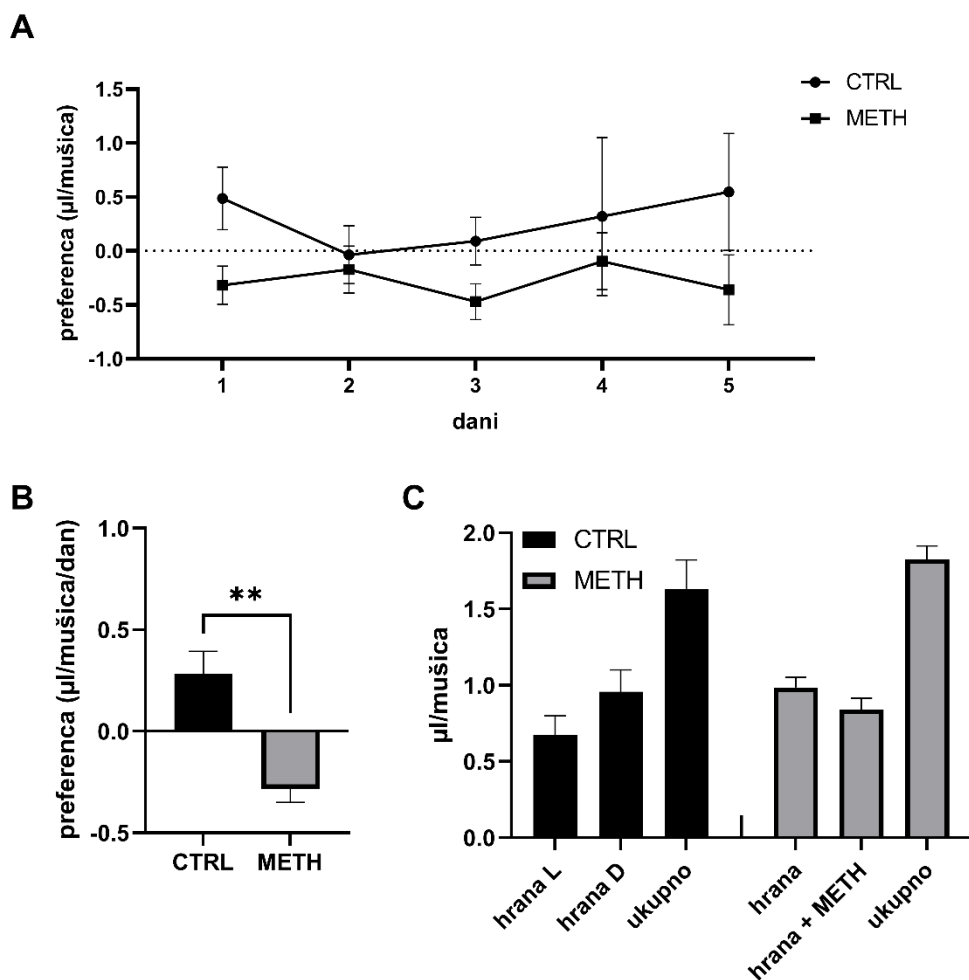
Za svaku mušicu tijekom tri dana mjerena je količina popijene šećerne otopine i šećerne otopine s dodatkom METH-a u kapilarama te se izračunala preferenca. Ne postoji statistički značajna razlika u preferenci (CTRL, $n=14$) i (METH, $n=51$) skupine za pojedine dane eksperimenta (Slika 3.A i B). Prosječna količina samoadministracije tijekom tri dana ukazuje da mužjaci *fmn* mušica ne pokazuju preferencu za METH. Prosječna preferenca po danima pokazuju trend odbojnosti hrane koja sadržava METH, naročito uočljivo trećeg dana, međutim razlika nije dosegla nivo statističke značajnosti. (Slika 2A). Uočena je značajna razlika kod ukupne prosječne količine popijene hrane između CTRL i METH skupine mušica ($****p < 1 \times 10^{-4}$, t-test za nezavisne uzorke) (Slika 3.C). CTRL skupina konzumirala je manju ukupnu količinu hrane u odnosu na eksperimentalnu (METH) grupu. Također u METH grupi mušice su konzumirale manje hrane s METH-om nego šećerne otopine ($**p = 1,4 \times 10^{-3}$, t-test za nezavisne uzorke) (Slika 3.C).



Slika 3. Mušice s mutacijom u dopaminskom transporteru (*fmn*) ne pokazuju preferencu za METH tijekom 3 dana samoadministracije. *fmn* mužjaci stavljeni su u *FlyCafe* gdje im je u kapilarama s jedne strane bila ponuđena šećerna otopina, a s druge šećerna otopina s dodatkom 0,15 mg/ml METH-a. Kontrolnoj skupini (CTRL) ponuđena je šećerna otopina u obje kapilare. Preferenca se izračunala kao razlika u konzumaciji šećerne otopine s METH-om [μL] naspram šećerne otopine [μL]. Eksperiment se ponovio tri puta. A) Prosječna preferenca za svaki dan eksperimenta (METH, n=51) i kontrolnu (CTRL, n=14) skupinu. B) Prosječna preferenca za 3 dana. C) Prosječna količina popijene šećerne otopine i šećerne otopine s dodatkom METH-a. ** $p=1,4 \times 10^{-3}$, **** $p<1 \times 10^{-4}$, t-test za nezavisne uzorke. * $p<0,05$ ** $p<0,003$

4.2. *fmn* mušice ne preferiraju METH tijekom pet dana samoadministracije

Kako bismo vidjeli postoji li razlika u samoadministraciji METH-a u *fmn* mušica kod duže vremenske administracije, pokus smo s tri dana produljili na pet. Kao i prethodnom pokusu ne uočava se preferenca *fmn* mušica za konzumacijom METH-a, te u pojedinim danima eksperimenta razlika u preferenci nije statistički značajna (CTRL, n=5) i (METH, n=15) (Slika 4.A). Prosječna preferenca METH skupine tijekom pet dana eksperimenta značajno je negativnija u odnosu na CTRL što ukazuje da mušice ne preferiraju šećernu otopinu s METH-om (**p=0,025, t-test za nezavisne uzorke) (Slika 4.B). To je uočljivije na Slici 3.B koja prikazuje prosječnu preferencu tijekom pet dana. U ovom pokusu nije pokazana značajna razlika u prosječnoj količini popijene šećerne otopine i šećerne otopine s METH-om (Slika 4.C).

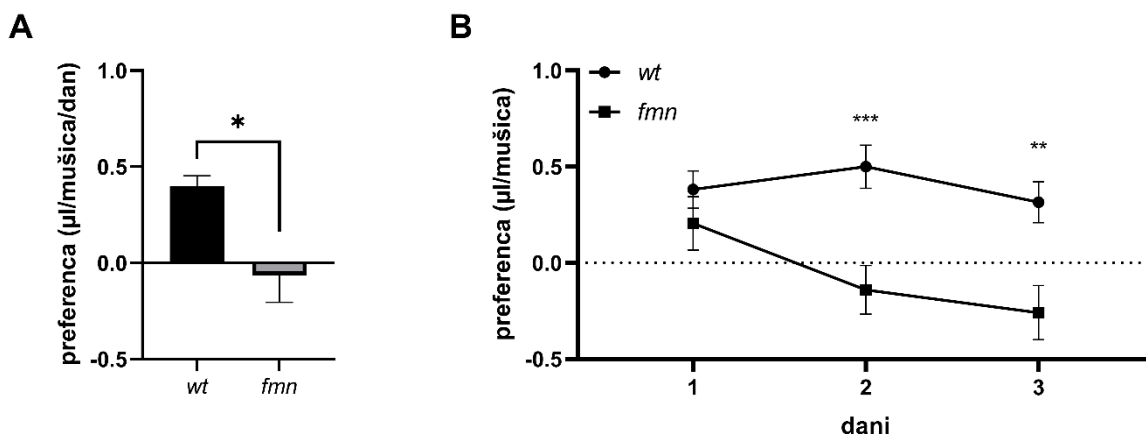


Slika 4. *fmn* mušice ne pokazuju preferencijalnu konzumaciju METH-a tijekom 5 dana. Mužjacima stavljenim u FLYCafe ponuđen je izbor između šećerne otopine i šećerne otopine s dodatkom 0,15 mg/ml METH-a u kapilarama. Kontrolnoj skupini (CTRL) ponuđena je šećerna otopina u obje kapilare. Preferenca se izračunala kao razlika u konzumaciji šećerne otopine s METH-om [μL] naspram šećerne otopine [μL]. A) Prosječna preferenca za za svaki dan eksperimenta (METH, n=15) i kontrolnu (CTRL, n=5) skupinu. B) Prosječna preferenca za 5 dana. **p=0,025, t-test za nezavisne uzorke C) Prosječna količina popijene šećerne otopine i šećerne otopine s dodatkom METH-a. *p < 0,05, **p<0,003

4.3. *fmn* mušice značajno se razlikuju u preferencijalnoj samoadministraciji od mušica divljeg soja

Interesiralo nas je postoji li značajna razlika između preference u dvije METH grupe različitih genotipova. Podatke dobivene u svojim pokusima za *fmn* uspredila sam s podacima za *wt* mušice [20]. Uočava se značajna razlika u preferenci za šećernom otopinom s 0,15 mg/mL METH-a tijekom tri dana između *wt* (n=74) i *fmn* (n=51) mušica (*p=3,62×10⁻², t-test za nezavisne uzorke). *wt* mušice pokazuju preferencu za šećernu otopinu koja sadrži METH, suprotno tome *fmn* mutanti pokazuju odbojan do neutralan odgovor prema šećrnoj otopini s dodatkom METH-a (Slika 5.A).

Prvi dan samoadministracije nema statistički značajne razlike. Drugi dan se u *fmn* mušica javlja dbojan do neutralan odgovor prema šećrnoj otopini s METH-om i njihova preferenca je negtivna, dok se preferenca kod *wt* mušica povećala te se uočava statistički značajna razlika između dva genotipa (***p=5×10⁻⁵, Two-way ANOVA s Bonferronijevom korekcijom). Treći dan samoadministracije *fmn* mušice i dalje pokazuju odbojnost prema šećrnoj otopini s dodatkom METH-a dok ju *wt* mušice preferiraju uz statistički značajnu razliku (**p=0,002, Two-way ANOVA s Bonferronijevom korekcijom) (Slika 5.B).



Slika 5. Značajna razlika u preferencijalnoj konzumaciji METH-a između *fnm* i mušica divljeg soja (*wt*). Mušice su stavljene u *FlyCafe* gdje im je u kapilarama s jedne strane bila ponuđena šećerna otopina, a s druge šećerna otopina s dodatkom 0,15 mg/ml METH-a. Preferenca se izračunala kao razlika u konzumaciji šećerne otopine s METH-om [μL] naspram šećerne otopine [μL]. Eksperimenti su ponovljeni tri puta. A) Prosječna preferenca za 3 dana (*fnm*, n=51) i (*wt*, n=74). * $p=3,62 \times 10^{-2}$, t-test za nezavisne uzorke. B) Prosječna preferenca za svaki dan eksperimenta. *** $p=5 \times 10^{-5}$, ** $p=0,002$, Two-way ANOVA s Bonferronijevom korekcijom. Korišteni podaci za *wt* preuzeti su iz [20]. * $p<0,05$, ** $p<0,003$

5. RASPRAVA

Naš cilj bio je proučiti kakva će biti preferencijalna samoadministracija METH-a u *fmn* mušica. One imaju mutaciju u genu za DAT što ga čini neaktivnim stoga imaju povećanu količinu DA u sinaptičkoj pukotini [11]. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da *fmn* mušice ne razviju preferencijalnu konzumaciju METH-a za razliku od mušica divljeg tipa kod kojih je ona prisutna od prvoga dana konzumacije.

Ovisnost je neizlječiva i složena bolest mozga u kojoj organizam osjeća psihičku ili fizičku potrebu za opojnom supstancom. Istraživanja potvrđuju povezanost povećanja dopaminergične neurotransmisije u razvoju ovisnosti [2]. U sisavaca DA neuroni projiciraju u dio mozga, *nucleus accumbens*, uključenom u efekt nagrade i ugone, koji je dio složenog kompleksa povezanog s razvojem emocija [22]. S vremenom, uz opetovanu upotrebu opojnih droga, živčani sustav razvija ovisnost kako bi zadržao osjećaje nagrađivanja. Negativna posljedica koja se javlja usprkos visokim razinama DA i osjećajima jake euforije jest smanjenje razina serotonina, bitnog neurotransmitera povezanog s pozitivnim osjećajem. Kontinuirana upotreba droga može rezultirati tome da svakodnevne aktivnosti koje bi u zdravog pojedinca izazvale ugodu ili nagrađujući efekt više ne djeluju tako i zbog manjka serotonina javlja se loše raspoloženje uslijed nekonzumacije opojnih droga. [23] U sisavaca je pokazano da DA regulira motivaciju i stvaranje navika, stoga je DA vrlo važan u razvoju motivacije za uzimanjem droge. [24]

Konzumacija psihostimulansa poput METH-a utječe na dopaminski sustav koji je zadužen za regulaciju procesuiranja nagrade. Primarno djelovanje psihostimulansa je DAT čija je uloga ključna u uklanjanju DA iz sinaptičke pukotine. METH ulazi u neuron pomoću DAT-a zbog svoje strukturne sličnosti s DA i inhibira djelovanje VMAT2 te se onemogućuje pohranjivanje DA u presinaptičkim vezikulama. Tako se povećava koncentracija ekstracelularnog DA u sinaptičkoj pukotini [21].

Proveli smo dva eksperimenta, sa sličnim ishodima, u kojima smo pratili preferencijalnu konzumaciju *fmn* mušica. U prvom eksperimentu pratili smo preferencijalnu konzumaciju tijekom tri dana te smo uočili da odgovor *fmn* mušica varira između neutralnog do odbojnog. To potvrđuje statistički značajna razlika u konzumaciji šećerne otopine naspram šećerne otopine s dodatkom METH-a u METH skupini (** $p=1,4\times 10^{-3}$) (Slika 3.B). U drugom smo pokusu produljili vrijeme trajanja pokusa na pet dana te smo uočili isti trend uz statistički značajnu razliku u prosječnoj preferenci za šećernom otopinom i onom s METH-om (** $p=0,025$).

Ukupna količina popijene hrane između kontrolne i METH skupine u prvom pokusu se razlikuje uz statističku značajnost (**** $p<1\times 10^{-4}$). Razlog tome može biti pomor mušica. U kontrolnoj skupini ostalo je samo 14 mušica, dok je u METH skupini 51. Do pomora je moglo doći ukoliko su evaporacije bile nešto više jer *fmn* mušice pokazuju povećanu osjetljivost na promjene u temperaturi, promjene u količini vlage u zraku i mehaničke podražaje općenito. Problem koji se još također mogao javiti tijekom izvođenja pokusa jest položaj kapilara. Ukoliko su se pomakle iz uspravnog položaja ili su bile postavljene skroz do ruba staklene cjevčice, hrana se nije zadržala u njima. Kao posljedica ovoga može uslijediti i pomor mušica jer nisu imale hrane, ali ovo također može biti uzrok varijacijama u rezultatima prosječne preference pojedinih dana drugog pokusa. Potrebno je ponoviti pokuse kako bi se točno utvrdilo mijenja li se odgovor *fmn* mušica tijekom više dana konzumacije.

Zanimalo nas je razlikuju li se rezultati eksperimenta za *fmn* mutante od onih u *wt* mušica. Usporedili smo naše rezultate s prethodno dobivenim rezultatima eksperimenta za *wt* mušice [20]. Eksperiment za *wt* također je proveden u laboratoriju za genetiku ponašanja na Odjelu za biotehnologiju u identičnim uvjetima. Uočena je značajna statistička razlika u prosječnoj preferenci za METH između *wt* i *fmn* mušica. Dok *wt* mušice preferiraju otopinu s METH-om, odgovor *fmn* mutanata varira između neutralnog do odbojnog. Najveća statistički značajna razlika uočava se drugi dan

samoadministracije kada *wt* mušice imaju najveću preferencu za METH-om, a *fmn* pokazuju odbojnost.

Ovisničko ponašanje u ljudi okarakterizirano je opetovanom konzumacijom droge unatoč negativnim posljedicama. Kako bi se pratio mehanizam razvoja ovisnosti u laboratorijskim uvjetima ispitana je konzumacija COC-a na *wt* mušicama. Pokazano je da mušice konzumiraju COC unatoč gorkom okusu koji je životinjama evolucijski povezan s toksičnim tvarima. [5]. Konzumacija kokaina i METH-a povećava razinu dopamina u sinaptičkoj pukotini te se stimulira put nagrađivanja u mozgu. U sisavaca DA neuroni projiciraju u područje koje se naziva *nucleus accumbens*, dio mozga uključen u procesuiranje nagrada i ugone [22, 25]. Istraživanja na štakorima pokazuju da neće prestati konzumirati METH unatoč elektrošokovima koji slijede nakon svake samoadministracije [25]. Objašnjene toga navodi se povećana ekspresija oksitocina u *nucleus accumbens*. Oksitocin se navodi kao važan neuropeptid u manifestaciji ovisnosti o METH-u. [26]

U miševa koji nose mutaciju u dopaminskom transporteru konzumacija METH-a i COC-a ne dovodi do promjene u izvanstaničnoj koncentraciji dopamina. Zbog nefunkcionalnog DAT, METH ne ulazi u presinaptički neuron gdje inače inhibira VMAT2 te se ne povećava razina izvanstaničnog DA. Naši rezultati pokazuju da *fmn* mušice razvijaju odbojan do neutralan odgovor prema METH-u [26]. *fmn* mušice imaju veće količine DA u sinaptičkoj pukotini zbog nefunkcionalnog DAT jer ne dolazi do prijenosa DA u citosol presinaptičkog neurona i pohrane u vezikule. Naši rezultati sugeriraju da dopaminski sustav potencijalno ima ključnu ulogu u razvoju ovisnosti. Provedena su i istraživanja koja pokazuju da su mušice s mutacijom u dopaminskom receptoru tipa 1 rezistentne na oralno administrirani aktivirajući učinak METH-a [28]. Studije provedene na DAT mutiranim miševima objavile su slične rezultate rezistencije na psihostimulativni učinak METH-a. Visoke doze injektirane droge u DAT mutanata nisu izazvale stereotipna ponašanja niti značajan lokomotorni učinak u usporedbi s *wt*

miševima [29]. Navedeno istraživanje moguće je objašnjenje zašto *fmn* mušice razvijaju neutralan do odbojan odgovor na konzumaciju METH-a u usporedbi s *wt* mušicama.

Mutacije u dopaminskom transporteru povezuju se i s brojnim poremećajima i bolestima kod ljudi. DAT mutacije uzrokuju smanjenu funkciju transportera, sinaptičku hiperdopaminergiju i smanjenu sintezu DA u striatumu. Proučavanje DA i proteina koji reguliraju ovaj sustav od ključne je važnosti u razjašnjavanju uloge disfunkcionalnog dopaminskog sustava u raznim bolestima. Studije povezuju bolesti mutacije u DAT-u i nepravilnu regulaciju DA s ASD-om i neuropsihijatrijskim poremećajima poput ADHD-a [29]. Ljudski gen koji se povezuje s ovim poremećajima jest SLC6A3, ali mehanizam još nije poznat. Najmanje pet lokusa ovog gena pronađeno je u poremećajima konzumacije alkohola i opojnih droga, depresiji i Parkinsonovoj bolesti. Prepoznat je sve veći rizik koji nose mutacije u SLC6A3 genu, a komorbiditet povezanih bolesti predstavlja sve veći klinički izazov. *in vivo* aktivnost gena regulirana je okolišnim čimbenicima rizika koji uključuju i konzumaciju opojnih droga [31].

Proučavanjem regulacije DA putem DAT moguće je dodatno razumjeti kako disfunkcija DAT doprinosi neurofiziološkim promjenama i promjenama u ponašanju. Primjerice, studija na mišjem modelu de novo mutacije T356M DAT povezane s ASD-om omogućuje istraživanje fiziološke i fenotipske posljedice ove mutacije, posebno onoga što se odnosi na homeostazu DA i ponašanja za koja je poznato da ovise o DA. Pokazano je da miševi s tom mutacijom pokazuju obrasce ponašanja tipično povezanih s fenotipom ASD-a (promijenjene društvene interakcije i ponavljajuća ponašanja), kao i ponašanja povezana s ADHD-om (hiperaktivnost). Na fiziološkoj razini pokazano je da mutacija uzrokuje smanjenu funkciju transportera, sinaptičku hiperdopaminergiju i smanjenu sintezu DA u striatumu. [32].

Buduća istraživanja i nova saznanja o interakciji opojnih droga i molekularnih mehanizama dopaminskog sustava mogla bi pospješiti liječenje teških ovisnosti koje postaju sve veći problem današnjice i doprinijeti boljem razumijevanju neurofizioloških promjena i promjena u ponašanju koje dovode do rizika obolijevanja od različitih neuropsihijatrijskih poremećaja.

6. ZAKLJUČAK

Ovisnost predstavlja sve veći javnozdravstveni problem. Potrebno je još istraživanja na tom području kako bi se utvrdio točan molekularni mehanizam kojim kronična upotreba opojnih droga dovodi do ovisnosti.

U ovom istraživanju koristili smo *fmn* mušice s neaktivnim dopaminskim transporterom kako bi ispitali povezanost dopaminskog sustava i samovoljne administracije METH-a. Uobičajeno se ovi mutanti koriste za proučavanje fenotipa koji u temelju molekularnog mehanizma imaju dopaminsku transmisiju poput ponašanja uzrokovano administracijom opojnih droga ili procesuiranja nagrade i ugone. Za mjerenje preferencijalne konzumacije korišten je Fly CAFE esej kojim je prethodno pokazana samoadministracija METH-a u *wt* mušica [20].

Pokazali smo da mušice ne razviju preferencijalnu konzumaciju METH-a. Pri mogućnosti slobodnog odabira između šećerne hrane i šećerne hrane s dodatkom 0,15 mg/mL METH-a mušice su preferencijalno konzumirale šećernu otopinu što je suprotno rezultatima provedenima na *wt* mušicama. Ovo ponašanje moguće je interpretirati tako što konzumacija METH-a u *fmn* mutanata ne dovodi do promjene koncentracije izvanstaničnog DA te ne dolazi do procesuiranja nagrade i ugone.

U konačnici rezultati ovog istraživanja sugeriraju da dopamin ima ključnu ulogu u samoadministraciji METH-a. U budućim istraživanjima potrebno je ponoviti eksperimente kako bi se točno utvrdilo pokazuju li *fmn* mušice neutralan ili odbojan odgovor na METH i mijenja li se on tijekom dana. Isto tako moguće je potkrijepiti istraživanje podacima o preferencijalnoj samoadministraciji mušica sa smanjenom količinom dopamina. Mušice bi se tretirale 3-jodtirozinom, inhibitorom sinteze DA te bi se pratilo kakav utjecaj tretman ima na samoadministraciju METH-a. Moguće je i istraživanje u kojemu bi gledali samoadministraciju mušica u kojih je povećana aktivnost sinteze DA te zbog toga imaju povećanu količinu DA. S ovakvim istraživanjima

mogli bismo utvrditi je li kod *fmn* mušica ključno to da radi nefunkcionalnog DAT-a ne dolazi do promijene u količini dopamina prilikom administracije METH-a te se zbog toga javlja neutralan do odbojan odgovor.

7. LITERATURA

1. Nestler EJ. Cellular basis of memory for addiction. *Dialogues Clin Neurosci*. 2013 Dec;15(4):431-43.
2. Nora D. Volkow, Marisela Morales, The Brain on Drugs: From Reward to Addiction, *Cell*. Volume 162, Issue 4, 2015: 712-725,
3. Uhl GR, Koob GF, Cable J. The neurobiology of addiction. *Ann N Y Acad Sci*. 2019 Sep;1451(1):5-28.
4. Kaun KR, Azanchi R, Maung Z, Hirsh J, Heberlein U. A *Drosophila* model for alcohol reward. *Nat Neurosci*. Svibanj 2011.;14(5):612–9.
5. Devineni AV, Heberlein U. Preferential ethanol consumption in *Drosophila* models features of addiction. *Curr Biol CB*. 29. December 2009.;19(24):2126–32.
6. Panlilio LV, Goldberg SR. Self-administration of drugs in animals and humans as a model and an investigative tool. *Addiction*. 2007 Dec;102(12):1863-70
7. Speranza L, di Porzio U, Viggiano D, de Donato A, Volpicelli F. Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. *Cells*. 2021 Mar 26;10(4):735.
8. Meiser J, Weindl D, Hiller K. Complexity of dopamine metabolism. *Cell Commun Signal*. 2013 May 17;11(1):34.
9. Wang KH, Penmatsa A, Gouaux E. Neurotransmitter and psychostimulant recognition by the dopamine transporter. *Nature*. 2015 May 21;521(7552):322-7.
10. Roffman JL, Tanner AS, Eryilmaz H, Rodriguez-Thompson A, Silverstein NJ, Ho NF, Nitenson AZ, Chonde DB, Greve DN, Abi-Dargham A, Buckner RL, Manoach DS, Rosen BR, Hooker JM, Catana C. Dopamine D1 signaling organizes network dynamics underlying working memory. *Sci Adv*. 2016 Jun 3;2(6):e1501672.

11. Kume K, Kume S, Park SK, Hirsh J, Jackson FR. Dopamine is a regulator of arousal in the fruit fly. *J Neurosci*. 2005 Aug 10;25(32):7377-84
12. Pfeifferberger C, Allada R. Cul3 and the BTB adaptor insomniac are key regulators of sleep homeostasis and a dopamine arousal pathway in *Drosophila*. *PLoS Genet*. 2012;8(10):e1003003.
13. Miller GW, Gainetdinov RR, Levey AI, Caron MG. Dopamine transporters and neuronal injury. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1999;20(10):424–429.
14. Wilson JM, Levey AI, Bergeron C, Kalasinsky K, Ang L, Peretti F, Kish SJ. Striatal dopamine, dopamine transporter, and vesicular monoamine transporter in chronic cocaine users. *Annals of Neurology*. 1996;40(3):428–439.
15. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*. 1996;379(6566):606–612.
16. Sora I, Wichems C, Takahashi N, Li XF, Zeng Z, Revay R, Uhl GR. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(13):7699–7704.
17. Efimova EV, Gainetdinov RR, Budygin EA, Sotnikova TD. Dopamine transporter mutant animals: a translational perspective. *J Neurogenet*. 2016 Mar;30(1):5-15.
18. Faraone SV, Bonvicini C, Scassellati C. Biomarkers in the diagnosis of ADHD--promising directions. *Current Psychiatry Reports*. 2014;16(11):497

19. DiCarlo GE, Aguilar JI, Matthies HJ, Harrison FE, Bundschuh KE, West A, Hashemi P, Herborg F, Rickhag M, Chen H, Gether U, Wallace MT, Galli A. Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. *J Clin Invest*. 2019 May
20. Rigo F, Filošević A, Petrović M, Jović K, Andretić Waldowski R. Locomotor sensitization modulates voluntary self-administration of methamphetamine in *Drosophila melanogaster*. *Addict Biol*. 2021 May;26(3)
21. Zahniser NR, Sorkin A. Rapid regulation of the dopamine transporter: role in stimulant addiction? *Neuropharmacology*. 2004.;47 Suppl 1:80–91.
22. Volkow ND, Morales M. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. *Cell*. 2015 Aug 13;162(4):712-25. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.046. PMID: 26276628.
23. Ekhtiari, H., & Paulus, M. (2016). *Neuroscience for Addiction Medicine: From Prevention to Rehabilitation-Methods and Interventions*. Elsevier.
24. Wise, R. Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci* 5, 483–494 (2004).
25. Cadet JL, Brannock C, Krasnova IN, Jayanthi S, Ladenheim B, McCoy MT, Walther D, Godino A, Pirooznia M, Lee RS. Genome-wide DNA hydroxymethylation identifies potassium channels in the nucleus accumbens as discriminators of methamphetamine addiction and abstinence. *Mol Psychiatry*. 2017 Aug;22(8):1196-1204.
26. Krasnova, I.N., Gerra, M.C., Walther, D. et al. Compulsive methamphetamine taking in the presence of punishment is associated with

increased oxytocin expression in the nucleus accumbens of rats. *Sci Rep* 7, 8331 (2017).

27. M, Sambo D, Khoshbouei H. Methamphetamine Regulation of Firing Activity of Dopamine Neurons. *J Neurosci*. 2016 Oct 5;36(40):10376-10391

28. Kanno, M., Hiramatsu, S., Kondo, S. et al. Voluntary intake of psychoactive substances is regulated by the dopamine receptor Dop1R1 in *Drosophila*. *Sci Rep* 11, 3432 (2021).

29. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*. 15. veljača 1996.;379(6566):606–12.

30. Gadow, K.D., Roohi, J., DeVincent, C.J. and Hatchwell, E. (2008) Association of ADHD, Tics, and Anxiety with Dopamine Transporter (DAT1) Genotype in Autism Spectrum Disorder. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 49, 1331-1338.

31. Reith MEA, Kortagere S, Wiers CE, Sun H, Kurian MA, Galli A, Volkow ND, Lin Z. The dopamine transporter gene SLC6A3: multidisease risks. *Mol Psychiatry*. 2022 Feb;27(2):1031-1046. doi: 10.1038/s41380-021-01341-5. Epub 2021 Oct 14.

32. DiCarlo GE, Aguilar JI, Matthies HJ, Harrison FE, Bundschuh KE, West A, Hashemi P, Herborg F, Rickhag M, Chen H, Gether U, Wallace MT, Galli A. Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. *J Clin Invest*. 2019 May 16;129(8):3407-3419

8. ŽIVOTOPIS

Osobne informacije

Ime i prezime:
Datum rođenja:
e-mail:

Ivana Gvozdić
2.4.2000.
ivanagvozdic0@gmail.com

Obrazovanje

2019. - danas

Preddiplomski studij „Biotehnologija i istraživanje lijekova“
Sveučilište u Rijeci

2015.- 2019.

Prirodoslovna gimnazija
Prirodoslovna škola Vladimira Preloga,
Zagreb

Osobne vještine i kompetencije

- Iskustvo u radu s ljudima
- Organizacijske vještine stečene organizacijom različitih društveno-korisnih projekata (NatuRIs, Časopis Biotech, 72 sata bez kompromisa)
- Izražene komunikacijske i prezentacijske vještine

Jezične vještine

- MATERINSKI JEZIK: hrvatski
- Engleski: Slušanje C1 Čitanje C1 Govorna Produkcija C1
Govorna Interakcija C1 Pisanje C1
- Njemački: Slušanje B1 Čitanje B1 Govorna Produkcija B1
Govorna Interakcija B1 Pisanje B1

Digitalne vještine

- Vješto korištenje MS Office paketa
- Pretraživanje baza znanstvenih radova

Vozačka dozvola

- B

Radno iskustvo

- Stručna praksa u Medicinsko-biokemijskom laboratoriju Branka Kovačević u Novskoj
- Instruktor kemije i biologije u Nauči.hr
- Demonstrator na kolegiju organska kemija, Odjel za biotehnologiju (akademska godina 2021.-2022.)
- Ostali studentski i učenički poslovi (ugostiteljstvo, maloprodaja, promocije)

Volontiranje:

- Članica Studentskog zbora Odjela za biotehnologiju
- Članica stegovnog povjerenstva Odjela za biotehnologiju
- studentska pravobraniteljica
- volontiranje u sklopu projekata Udruge studenata biotehnologije Sveučilišta u Rijeci (Putujući znanstvenici, Kuglice dobrih želja, NatuRIs, Časopis Biotech)
- Voditeljica projekta Časopis Biotech (akademske godine 2020.-2021.; 2021-2022.)
- Suvoditeljica projekta NatuRIs (akademska godina 2020.-2021.)
- Voditeljica projekta NatuRIs (akademska godina 2021—2022.)
- Volontiranje i sudjelovanje u organizaciji projekta 72 sata bez kompromisa u Rijeci (2021. i 2022. godine)