

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie mechanizmów uzależnienia od morfiny u szczurów – znaczenie receptorów dla glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1).

2. Czas trwania projektu: 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): morphine, addiction, linagliptin, CPP test

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Uzależnienie lekowe jest przewlekłą chorobą dotykającą wiele ludzi. Pomimo przeprowadzania licznych badań, skuteczne metody farmakoterapii uzależnień lekowych są wciąż nieznane, dlatego niezwykle ważne jest poszukiwanie nowych kierunków farmakoterapii uzależnień. W niniejszych badaniach będzie oceniany wpływ inhibitora dipeptydylopeptydazy-4 (DPP-4) – linagliptyny – w działanie uzależniające morfiny w badaniach behawioralnych u zwierząt doświadczalnych. Będzie oceniana intensywność objawów odstawiennych oraz działanie nagradzające morfiny w teście warunkowej preferencji miejsca. Dane literaturowe potwierdzają, że pobudzenie receptorów GLP-1, na które linagliptyna jako inhibitor DPP-4 ma pośredni wpływ, zmniejsza ilość pobieranego pokarmu, a także osłabia działanie nagradzające pokarmu, co ściśle jest związane z obecnością receptorów dla GLP-1 w strukturach układu mezolimbicznego, tj. w jądrze półleżącym (NAc) i w obszarze brzusznej nakrywki (VTA). Jak wiadomo, układ mezolimbiczny stanowi neuroanatomiczne podłoże układu nagrody związanego z zachowaniami motywacyjnymi i pobieraniem pokarmu oraz ma istotny wpływ na działanie substancji uzależniających, dlatego można przypuszczać, że linagliptyna może mieć wpływ na działanie substancji uzależniającej. Ponadto wstępne doświadczenia przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Farmakologii z Farmakodynamiką w Uniwersytecie Medycznym w Lublinie potwierdziły wpływ linagliptyny w działanie uzależniające morfiny. Doświadczenia opisane w niniejszym wniosku stanowią uzupełnienie do planowanych

badających dotyczących oceny znaczenia linagliptyny w mechanizmach uzależnienia od morfiny u szczurów. Po zakończonych badaniach behawioralnych zwierzęta zostaną poddane dekapitacji w celu pobrania struktur mózgu ściśle związanych z uzależnieniem (kora przedczołowa, hipokamp, prążkowie). Pobranie tkanek jest niezbędne do przeprowadzenia serii badań biochemicznych, molekularnych, histopatologicznych oraz epigenetycznych, które znacznie poszerzą uzyskane w badaniach behawioralnych wyniki. Badania te są nowatorskie i mogą przyczynić się do poznania skutecznej farmakoterapii uzależnień lekowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zostaną wykorzystane szczury (samce) szczepu Wistar. Liczba zwierząt wynosi 160 osobników.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych PubMed oraz Web of Science (JCR).

Wykorzystałam następujące słowa kluczowe:

morphine, addiction, conditioned place preference test, linagliptin

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że istnieją dane literaturowe, głównie dotyczące badań *in vitro*, które wskazują na możliwość wpływu linagliptyny na działanie uzależniające substancji psychoaktywnych, w tym uzależniających. Są dane literaturowe, wskazujące na rozmieszczenie receptorów GLP-1, na które linagliptyna jako inhibitor DPP-4 ma pośredni wpływ, w strukturach układu mezolimbicznego [Merchenthaier i wsp., 1999]. Jednak nie ma żadnych doniesień dotyczących wpływu linagliptyny oraz innych inhibitorów DPP-4 na działanie uzależniające morfiny w testach behawioralnych, zarówno dotyczących oceny ostrości objawów odstawiennych, jak też działania nagradzającego morfiny.

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

REPLACEMENT - zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego; - Ze względu na zaplanowane testy behawioralne, a także pobieranie struktur mózgowych, niemożliwe jest zbadanie wpływu linagliptyny w działanie uzależniające morfiny za pomocą techniki *in vitro*. Niewskazane jest także, zastąpienie szczurów zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na szczurach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Badania te mogą się przyczynić do określenia nowego wskazania klinicznego inhibitorów DPP-4, w tym linagliptyny.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

REDUCTION - *zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych.* W badaniach zaplanowano najmniejszą liczbę zwierząt (n=10), pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników behawioralnych, stwarzających możliwość analizy statystycznej.

REFINEMENT – *zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień* – Zaplanowane modele eksperymentalne w miarę możliwości ograniczają cierpienie zwierząt. W niniejszym projekcie nie ma możliwości uniknięcia wielokrotnych iniekcji. Pobranie struktur mózgowych w wyniku dekapitacji znacznie poszerzy wiedzę nt. potencjalnych mechanizmów zachodzących w mózgu pod wpływem linagliptyny i substancji uzależniających.

Uzyskane wyniki badań pozwolą na:

- rozwinięcie dotychczasowej wiedzy teoretycznej dotyczącej wpływu linagliptyny na rozwój uzależnienia fizycznego od morfiny
- poszerzenie wiedzy nt. wpływu linagliptyny na ekspresję objawów odstawiennych w fizycznym uzależnieniu od morfiny
- poznanie wpływu linagliptyny na rozwój i ekspresję działania nagradzającego morfiny
- udokumentowanie nowego wskazania klinicznego inhibitorów DPP-4, w tym linagliptyny
- wskazanie nowego kierunku leczenia uzależnienia od morfiny.

Merchantaler I., Lane M., Shughrue P. Distribution of pre-pro-glucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system. J Comp Neurol. 1999;403(2):261-280.

Zwierzęta zostaną uśmiercone poprzez dekapitację. Jest to jedyna metoda, dzięki której możliwe jest pobranie tkanki mózgowej do dalszych badań. Badania molekularne i histopatologiczne dostarczą dodatkowych informacji nt. zmian zachodzących w mózgu zwierząt poddanych działaniu morfiny i badanych substancji, a więc znacznie poszerzą wyniki eksperymentów behawioralnych. Powyższa procedura należy do dopuszczonych metod eutanazji gryzoni:

Close B. i wsp.: Recommendations for euthanasia of experimental euthanasia: Part 1. DGXI of the European commission. Lab. Anim. 1996, 30:293-316.

Close B. i wsp.: Recommendations for euthanasia of experimental euthanasia: Part 2. DGXI of the European commission. Lab. Anim. 1997, 31:1-32.