

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu : „Wpływ chronicznych podań nowych atypowych neuroleptyków na ekspresję i aktywność wątrobowych i mózgowych izoenzymów cytochromu P450”.

2. Czas trwania projektu: 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): nowe atypowe neuroleptyki, chroniczne podanie, cytochrom P450, wątroba, mózg

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.

Celem uzyskania efektu terapeutycznego, jego utrzymania i zapobiegania nawrotom schizofrenii, leki przeciwpsychotyczne (neuroleptyczne) muszą być podawane pacjentom przez długi okres czasu (wiele miesięcy a nawet lat). Stąd leki te mogą wywierać istotny wpływ na ekspresję i aktywność cytochromu P450 (CYP) w kierunku metabolizmu leków oraz ważnych fizjologicznie związków endogennych, nie tylko w wątrobie, ale również innych organach i tkankach, także w mózgu.

Cytochrom P450 jest zespołem izoenzymów odpowiedzialnym za metabolizm większości leków i innych ksenobiotyków (między innymi promutagenów i prokancerogenów) oraz substratów endogennych, takich jak cholesterol, kwasy żółciowe, sterydy i neurotransmitery. Zatem zmiany w jego aktywności mogą okazać się istotne nie tylko dla farmakoterapii, ale również dla stanu fizjologicznego organizmu.

Podczas długotrwałej terapii neuroleptykami, leki te mogą być łączone z innymi lekami psychotropowym lub z lekami należącymi do innych grup farmakologicznych (np. z lekami

nasercowymi lub antybiotykami), które pacjent przyjmuje przy współistniejących innych schorzeniach. Powyższe sytuacje stwarzają możliwość interakcji farmakokinetycznej na poziomie metabolizmu przy udziale cytochromu P450.

Nasze wcześniejsze badania wykazały zróżnicowany, zależny od struktury leku wpływ wielokrotnego podania szczurom neuroleptyków klasycznych (promazyna, chloropromazyna, perazyna, tiorydazyna) i starszych neuroleptyków atypowych (klozapina, risperidon, sertindol) na aktywność i ekspresję szczurzych wątrobowych i mózgowych izoenzymów CYP. Natomiast wpływ najnowszych atypowych neuroleptyków na cytochrom P450 nie został dotychczas zbadany.

Celem naukowym projektu jest zbadanie wpływu wielokrotnych podań najnowszych atypowych neuroleptyków - asenapiny, lurasidonu i iloperidonu na aktywność i ekspresję izoenzymów cytochromu P450 w obrębie izoenzymów rodzin 1 - 3, związanych z metabolizmem leków. Badania będą obejmowały podanie zwierzętom powyższych leków przez 14 dni, a następnie zostanie wykonany pomiar aktywności i ekspresji (poziom białka i mRNA) izoenzymów CYP w wątrobie i wybranych strukturach mózgu (substancja czarna, jądro półleżące przegrody, hipokamp, prążkowie, kora czołowa, pień mózgu, rdzeń przedłużony, mózdzek, reszta mózgu).

Wyniki badań niniejszego projektu powinny dostarczyć danych pozwalających na przewidywanie u pacjentów interakcji metabolicznych (na poziomie cytochromu P450) pomiędzy badanymi neuroleptykami a innymi, jednocześnie przyjmowanymi lekami. A to z kolei może pozwolić na lepszą optymalizację dawkowania nowych atypowych neuroleptyków i innych, jednocześnie podawanych pacjentom leków. Ponadto, planowane badania mogą mieć istotne znaczenie fizjologiczne i toksykologiczne, gdyż izoenzymy CYP są zaangażowane w metabolizm substancji endogennych i zanieczyszczeń środowiskowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

280 szczurów Wistar Han

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie jego tematyki w bazie danych PUBMED. Wykorzystałem słowa kluczowe: asenapina, lurasidon, iloperidon, chroniczne podanie, aktywność, ekspresja, wątrobowy cytochrom P450, mózgowy cytochrom P450. Jak dotąd nie ma żadnych danych literaturowych odnośnie wpływu asenepiny, lurasidonu i iloperidonu na aktywność i ekspresję mózgowego i wątrobowego cytochromu P450 po chronicznym podaniu powyższych leków

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

neuroleptycznych. Jedyna dostępna w bazie PubMed praca dotyczy wpływu chronicznego podania lurasidonu tylko na wątrobowy cytochrom P450 i tylko w modelu chronicznego łagodnego stresu. Wybrane do badań leki są stosowane w terapii schizofrenii od niedawna. Mogą one wpływać na ekspresję i aktywność wątrobowych i mózgowych izoenzymów cytochromu P450, co może mieć istotne znaczenie farmakologiczne, fizjologiczne i toksykologiczne i co będzie przedmiotem planowanych badań.

Liczba zwierząt użytych w każdej procedurze została zmniejszona do minimum pozwalającego uzyskać wyniki o istotności statystycznej. Liczebność pojedynczej grupy badawczej jest podyktowana koniecznością pulowania struktur mózgu po 5 sztuk/próbkę (co daje 7 próbek na grupę badawczą). Jest to spowodowane tym, że poziom ekspresji izoenzymów CYP w mózgu w porównaniu z wątrobą jest około 100 razy mniejszy i by mieć możliwość oznaczenia aktywności izoenzymów cytochromu P450 w strukturach mózgu muszą być one pulowane. Ponadto, nasze poprzednie badania wykazały, że w grupach zwierząt uzyskujemy wyniki obarczone dużym odchyleniem standardowym – np. wartość średnia \pm SD dla aktywności izoenzymu CYP3A mierzona 2 β - i 6 β -hydroksylacją testosteronu wynosiła w grupie kontrolnej 0.096 ± 0.065 i 0.367 ± 0.295 , a dla izoenzymu CYP2C11, dla reakcji 2 α - i 16 α -hydroksylacji testosteronu 0.214 ± 0.136 i 0.121 ± 0.168 . W związku z powyższym liczba 7 próbek w grupie jest minimalną ilością pozwalającą uzyskać wiarygodne statystycznie wyniki.

Podczas trwania całego eksperymentu zwierzęta będą przebywały we wzbogaconym środowisku. Ponadto, zaplanowane doświadczenia są kontynuacją cyklu badań prowadzonych w naszym zakładzie i w związku z tym muszą być wykonane na tym samym gatunku zwierząt, aby uzyskane wyniki mogły być porównywane z poprzednimi.

Zaplanowane eksperymenty dotyczą badania cytochromu P450 w wątrobie i mózgu, dlatego też muszą być przeprowadzone na osobnikach posiadających ten zestaw izoenzymów bardzo dobrze rozwinięty, co wyklucza użycie zwierząt znajdujących się na niższym stopniu rozwoju. Pomiedzy ludzkim i szczurzym cytochromem P450 istnieje wiele podobieństw w sekwencji aminokwasów poszczególnych izoenzymów oraz pod względem specyficzności substratów, inhibitorów, a także regulacji wielu izoenzymów. Ponadto, mózg szczura i człowieka wykazuje wiele podobieństw, zarówno pod względem anatomicznym jak i funkcjonalnym. Nie jest możliwe wykonanie tego typu badań na hodowlach komórkowych. Zaplanowane badania zostaną wykonane przy zastosowaniu najnowszych, niezwykle czułych metod badawczych (spektroskopia masowa, HPLC, RT-PCR, technika western blotting).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.