



Streszczenia rozprawy doktorskiej w języku polskim

Informacje ogólne	
Imię i nazwisko doktoranta:	Renata Pukło
Dziedzina/dyscyplina naukowa:	nauki medyczne i nauki o zdrowiu/nauki farmaceutyczne
Promotor (imię, nazwisko, stopień/tytuł naukowy, jednostka macierzysta):	Prof. dr hab. Władysława Anna Daniel Zakład Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk
Telefon i e-mail promotora:	+48 12 6623266; nfdaniel@cyf-kr.edu.pl
Tytuł rozprawy doktorskiej:	Znaczenie receptorów glutaminianergiczných NMDA w regulacji cytochromu P450 w wątrobie

Streszczenie rozprawy doktorskiej w języku polskim:

Większość leków obecnie wydawanych na receptę jest metabolizowana przez enzymy z rodzin CYP1–3, które obok biotransformacji ksenobiotyków są zaangażowane również w metabolizm związków endogennych, takich jak kwas arachidonowy, hormony steroidowe czy przekąźniki monoaminergiczne. Różnice w poziomie ekspresji oraz funkcjonalności poszczególnych enzymów CYP mogą znacząco determinować metabolizm leków i innych substancji chemicznych prowadząc do interakcji farmakokinetycznych. Zróżnicowana ekspresja enzymów cytochromu P450 zależy od takich czynników jak płeć, rodzaj tkanki czy stadium rozwoju, a kontrola regulacyjna odbywa się za pośrednictwem hormonów, aktywujących odpowiednie receptory błonowe, jądrowe czy cytoplazmatyczne zależne od ligandu. Wydzielanie hormonów kontrolowane jest przez podwzgórze, unerwione przez różne układy neuroprzekąźnikowe, takie jak badane już wcześniej w kontekście cytochromu układy noradrenergiczny, dopaminergiczny czy serotonergiczny.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu związku CP-101,606, selektywnego antagonisty podjednostki GluN2B receptora NMDA, wykorzystywanego jako narzędzie farmakologiczne, na neuroendokrynną regulację cytochromu P450 w wątrobie przez układ glutaminianergiczny, a w szczególności identyfikację struktur mózgowych i hormonów pośredniczących w tym procesie. Receptor NMDA staje się atrakcyjnym celem dla poszukiwania nowych kandydatów na leki w zakresie chorób neurodegeneracyjnych czy depresji. Jak dotąd potencjalni kandydaci na leki oddziałujący poprzez receptor NMDA napotkali licznie trudności, takie jak problemy z przenikaniem przez barierę krew–mózg oraz skutki uboczne. Jednakże ze względu na



ich potencjał terapeutyczny rozwijane są nowe związki tej klasy. Wstępne badania po dootrzewnowych podaniach związku CP-101,606 samcom szczurów rasy Wistar Han wykazały potencjalne zaangażowanie układu glutaminianergicznego w neuroendokrynną regulację wątrobowych enzymów cytochromu P450. Jednakże w przypadku podań obwodowych uzyskane efekty mogą być konsekwencją różnych bezpośrednich i pośrednich interakcji pomiędzy związkiem a enzymem, dlatego trudno jednoznacznie stwierdzić, czy mechanizm neuroendokrynný jest w nim dominujący. Celem szczegółowego wyjaśnienia obserwowanych efektów po podaniach związku CP-101,606 zaplanowano i przeprowadzono wielokrotne podania selektywnego antagonisty podjednostki GluN2B receptora NMDA do komórek bocznych mózgu szczura, a następnie do jąder przykomorowych i łukowatych podwzgórza, które wpływają na wydzielanie hormonów regulujących wątrobowe enzymy cytochromu P450. Sprawdzono również bezpośredni wpływ związku CP-101,606 na hormonalnie regulowane enzymy cytochromu P450.

Pięciodniowe podawanie CP-101,606 do komórek bocznych mózgu szczura (w dawkach 6, 15 lub 30 $\mu\text{g}/\text{mózg}$) wywierało zależny od dawki wpływ na enzymy cytochromu P450 w wątrobie oraz na hormony podwzgórza i przysadki. Najniższa dawka antagonisty prowadziła do zwiększenia aktywności, poziomu białka oraz mRNA izoformy CYP2C11 w porównaniu z grupą kontrolną. Aktywność enzymów CYP2A, CYP2B, CYP2C11, CYP2C6 i CYP2D, a także poziom białka CYP2B i CYP2C11, były wyższe po podaniu najniższej dawki w porównaniu z dawką najwyższą. Ponadto CP-101,606 zwiększał poziom białka CYP1A oraz poziom mRNA *CYP1A1* i *CYP1A2*, nie wpływając jednak na aktywność enzymatyczną tych enzymów. Badany antagonistą obniżał poziom somatostatyny w przysadce mózgowej i zwiększał stężenie hormonu wzrostu w surowicy po zastosowaniu najniższej dawki, a jednocześnie, niezależnie od dawki, zmniejszał stężenie kortykosteronu w surowicy.

Pięciodniowe podawanie CP-101,606 do jądra przykomorowego podwzgórza zwiększało poziom somatostatyny zarówno w tym jądrze, jak i w przysadce mózgowej, obniżało stężenie hormonu wzrostu oraz kortykosteronu w surowicy, a jednocześnie podwyższało stężenie trójiodotyroniny. Zaobserwowano również spadek ekspresji (na poziomie mRNA i białka) oraz aktywności CYP1A1/2, CYP2A1/2, CYP2B1/2, CYP2C11 i CYP3A w wątrobie. Z kolei wielokrotne podawanie CP-101,606 do jądra łukowatego podwzgórza prowadziło do obniżenia poziomu hormonu uwalniającego hormon wzrostu w jądrze łukowatym i przysadce mózgowej oraz do spadku stężeń GH i kortykosteronu w surowicy, bez istotnych zmian w poziomie hormonów tarczycy. Stwierdzono

również obniżenie ekspresji i aktywności wątrobowych enzymów CYP1A1/2 i CYP2C11, a także spadek poziomu mRNA *CYP3A2*.

Wyniki uzyskane po 5-dniowym podawaniu selektywnego antagonisty podjednostki GluN2B receptora NMDA do jąder przykomorowych lub łukowatych podwzgórza wykazały zgodność z efektami obserwowanymi po 5-dniowym podawaniu tego związku drogą dootrzewnową, natomiast odmienne rezultaty uzyskano po podaniach CP-101,606 do komórek bocznych mózgu szczura. Dodatkowo, badania przeprowadzone *in vitro*, w których CP-101,606 inkubowano ze szczurzymi mikrosomami wątrobowymi wykazały, iż antagonistą NMDA nie wykazuje bezpośredniego wpływu na regulowane hormonalnie enzymy CYP2A, CYP2B, CYP2C11 oraz CYP3A. Zatem wydaje się, iż wpływ obwodowego podania antagonisty na wątrobowy cytochrom P450 pochodzi głównie z oddziaływania związku na poziomie ośrodkowego układu nerwowego, na drodze neuroendokrynej.

Uzyskane wyniki wskazują na istotną rolę receptorów NMDA zawierających podjednostkę GluN2B, obecnych w jądrach przykomorowych i łukowatych podwzgórza, w centralnej regulacji neuroendokrynej ekspresji i aktywności cytochromu P450 w wątrobie szczura. Obserwowane zmiany w ekspresji i aktywności enzymów cytochromu P450 pod wpływem blokady receptora NMDA (przez nowe leki) mogą mieć znaczenie medyczne, zarówno dla metabolizmu substancji endogennych (sterydów), jak i biotransformacji jednocześnie podawanych innych leków.