

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie znaczenia linagliptyny w mechanizmach uzależnienia od morfiny u szczurów.

2. Czas trwania projektu: 1,5 roku

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.

Pomimo, że uzależnienie lekowe jest coraz powszechniejszą chorobą, efektywne metody leczenia i profilaktyki uzależnień są nadal nieznane. Linagliptyna, inhibitor dipeptydylopeptydazy-4 (DPP-4), jak dotąd jest stosowana jedynie w cukrzycy, jednak istnieją przesłanki, iż linagliptyna może mieć szersze zastosowanie w medycynie. Dane literaturowe wykazują, iż linagliptyna hamując DPP-4, powoduje pobudzenie receptorów GLP-1, zmniejszenie ilości pobieranego pokarmu oraz osłabienie działania nagradzającego pokarmu, co jest związane z występowaniem receptorów dla GLP-1 w strukturach układu mezo limbicznego. Wiadome jest, że układ mezo limbiczny stanowi neuroanatomiczne podłoże układu nagrody związanego z zachowaniami motywacyjnymi i pobieraniem pokarmu, a także odgrywa istotną rolę w działaniu substancji uzależniających, dlatego można sugerować, iż linagliptyna może wpływać na działanie substancji uzależniających. Niniejsze doświadczenia mają na celu ocenę zaangażowania linagliptyny w działanie uzależniające i nagradzające morfiny, które będą analizowane w testach behawioralnych u szczurów. Zostaną przeprowadzone testy oceniające intensywność objawów odstawiennych oraz działanie nagradzające substancji uzależniających. Ponadto wstępne badania przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Farmakologii z Farmakodynamiką w Uniwersytecie Medycznym w Lublinie potwierdziły wpływ linagliptyny na morfinowe uzależnienie. Doświadczenia opisane w niniejszym wniosku stanowią uzupełnienie do planowanych badań dotyczących oceny znaczenia receptorów dla glukagonopodobnego peptydu -1 w mechanizmie 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 80 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

Po przeanalizowaniu dostępnej literatury, stwierdzam, iż nie istnieją doniesienia dotyczące wpływu linagliptyny (ani innych leków z tej samej grupy – inhibitorów DPP-4) na działanie nagradzające i uzależniające morfiny w doświadczeniach behawioralnych. Jednakże doświadczenia opisane w niniejszym wniosku są podstawne, ponieważ istnieją dane literaturowe, głównie dotyczące badań *in vitro*, które wskazują na możliwość wpływu linagliptyny na działanie uzależniające substancji psychoaktywnych, w tym uzależniających. Są również dane literaturowe, wskazujące na rozmieszczenie receptorów GLP-1, na które linagliptyna jako inhibitor DPP-4 ma pośredni wpływ, w strukturach układu mezo limbicznego [Merchenthaler i wsp., 1999].

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

REPLACEMENT - zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego; - Niemożliwa jest ocena wpływu linagliptyny na morfinowe działanie uzależniające za pomocą techniki *in vitro*, ze względu na zaplanowane testy behawioralne, a także pobieranie struktur mózgowych. Zastąpienie szczurów przez zwierzęta o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, jest niewskazane, ponieważ takie doświadczenia nie dostarczyłyby tak wiarygodnych wyników, jak te, które są przeprowadzane na szczurach i które można odnieść do problemów klinicznych występujących u ludzi. Badania te mogą się przyczynić do określenia nowego wskazania klinicznego linagliptyny, a więc i innych inhibitorów DPP-4.

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

REDUCTION - *zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych*. W niniejszym projekcie, zaplanowane badania obejmują możliwie najmniejszą liczbę zwierząt w grupie (n=10), pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników behawioralnych, stwarzających możliwość analizy statystycznej.

REFINEMENT – *zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień* – Zaplanowane doświadczenia 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 poszerzenie obecnej wiedzy związanej z wpływem linagliptyny na ekspresję objawów odstawiennych w fizycznym uzależnieniu morfinowym, a także na poznanie wpływu linagliptyny na ekspresję działania nagradzającego morfiny. Co więcej, jest szansa, iż przeprowadzenie opisanych doświadczeń umożliwi zastosowanie linagliptyny w nowym wskazaniu klinicznym, a także wskaże nowy kierunek w farmakoterapii uzależnień od morfiny.

Merchenthaler 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.