

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Farmakokinetyka choliny i jej wybranych pochodnych po podaniu doustnym.

2. Czas trwania projektu 3.04.2017 – 3.04.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) Cholina, citikolina, karnityna, liposomy, TMAO.

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

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.

Cholina jest niezbędnym składnikiem ludzkiej diety. Około połowa choliny zawarta w pożywieniu, wskutek działania bakterii jelitowych ulega przekształceniu do trimetyloaminy (TMA), która jest wchłaniana i następnie w wątrobie jest przekształcana do N-tlenku trimetyloaminy (TMAO). TMAO jest czynnikiem miażdżycorodnym, powodującym zwiększone ryzyko zawału serca, udaru mózgu, itp.

Cholina oraz jej pochodne (citikolina, karnityna) są szeroko stosowane jako suplementy diety – ale ich przyjmowanie może powodować wzrost stężenia TMAO w krwi i sprzyjać rozwojowi miażdżycy.

Celem projektu jest opracowanie liposomowych postaci choliny i jej pochodnych (citikolina, karnityna), które powinny po podaniu doustnym generować mniejszy wzrost stężenia TMAO w krwi, niż ten, który występuje po podaniu ekwimolowej dawki tych substancji w postaci roztworu.

Zakładamy, że umieszczenie choliny lub jej pochodnej wewnątrz liposomów utrudni przemianę grupy cholinowej przez bakterie jelitowe do TMA.

Testowane substancje charakteryzuje niska toksyczność: cholina  $LD_{50}=3,9$  g/kg m.c.; citikolina i karnityna  $LD_{50}$  odpowiednio 8 i 10 g/kg m.c (Agut 1983, Grieb 2014). W planowanych badaniach dawkowanie jest niższe co najmniej o rząd wielkości, dlatego nie spodziewany się wystąpienia

objawów niepożądanych u zwierząt, wynikających z podania testowanych substancji. Ewentualne przewidywane szkody mogące wystąpić u wykorzystywanych zwierząt będą ograniczone do niewielkiego stresu podczas podawania dożołądkowego testowanych preparatów i pobrania krwi (liczba pobrań ograniczona do minimum).

Dzięki przeprowadzonym badaniom uzyskamy pełniejsze informacje dotyczące metabolizmu choline i jej wybranych pochodnych. Opracujemy również ich formę aplikacyjną, ograniczającą ryzyko wystąpienia miażdżycy naczyń.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie 91 szczurów stada Wistar Cmd:(WI)WU.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED; Medline; Google Scholar

Wykorzystałem słowa kluczowe:

TMAO /choline /carnitine / citicoline / liposomes/ Rat oral gavage

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

Cholina spożywana w diecie przyczynia się do wzrostu produkcji TMA przez mikroflorę jelitową, co skutkuje zwiększonym poziomem TMAO w krwi i niebezpieczeństwem przyspieszonego rozwoju miażdżycy.

B. Brak jest danych, lub też dane są mało wiarygodne lub nie są sprawdzone w zakresie:

W jakim stopniu pochodne choline (citikolina, karnityna) po podaniu doustnym przyczyniają się do generacji TMA i TMAO.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze lub ugruntowanie istniejącej wiedzy w kierunku:

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Uzyskanie informacji na temat metabolizmu substancji zawierających cholinę.

Ocenie wpływu postaci podawanej substancji na jej późniejszy metabolizm w ustroju.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na:

Ocenie bezpieczeństwa stosowania suplementów diety zawierających cholinę. Opracowana zostanie postać liposomalna badanych substancji ograniczająca ryzyko wystąpienia miażdżycy naczyń. Metabolizm badanych substancji jest bardzo złożony (zachodzi w różnych organach, dodatkowo zaangażowane są bakterie jelitowe) – badanie wymaga wykorzystania modelu zwierzęcego i nie ma możliwości całkowitego zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym.

Wobec braku metod alternatywnych z wykorzystaniem układów nie-zwierzęcych w doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego. Doświadczenie zaplanowano z wykorzystaniem zwierząt pochodzących z certyfikowanej hodowli IMDiK. W ramach czynności doświadczalnych zaplanowano zastosowanie anestetyków (izofluran) pozwalających na ograniczenie świadomości i stresu u badanych zwierząt.

Zwierzętom zostaną zapewnione odpowiednie warunki utrzymania. Zwierzęta poddane będą okresowi adaptacji do nowego otoczenia, a w czasie eksperymentu będą przebywały w otoczeniu, które zminimalizuje ich stres.

#### Literatura

1. Gao X., Jiang C., Xu J., Yanagita T., Xue C. Wang Y., (2016) Serum pharmacokinetics of choline, trimethylamine, and trimethylamine-N-oxide after oral gavage of phosphatidylcholines with different fatty acid compositions in mice, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80:11, 2217-2223.
2. Agut J., Lopez G.-Coviella I., Oortiz J.A., Wurtman R.J., (1993) Oral Cytidine 5'-Diphosphate Choline Administration to Rats Increases Brain Phospholipid Levels, *Ann N Y Acad Sci*. 24;695:318-20.
3. Koeth R. A., Levison B. S., Culley M. K., Buffa J. A., Wang Z., Gregory J. C., Org E., Wu Y., Li L., Smith J. D., Tang W. H. W., DiDonato J. A., Lusis A. J., Hazen S. L. (2014)  $\gamma$ -Butyrobetaine is a pro-atherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO, *Cell Metab*. 20(5): 799–812.
4. Agut J, Font E, Sacristán A, Ortiz JA. (1983) Dissimilar effects in acute toxicity studies of CDP-choline and choline. *Arzneimittelforschung*; 33(7A):1016-8.
5. Grieb P (2014) Neuroprotective properties of citicoline: facts, doubts and unresolved issues. *CNS Drugs*. 28(3):185-93.