

Mgr Marta Rysz

Zakład Farmakokinytyki i Metabolizmu Leków, Instytut Farmakologii PAN

Temat pracy:

„Znaczenie układu serotoninergetycznego mózgu w regulacji cytochromu P450”.

Promotorzy:

- **Prof. dr hab. Władysława Anna Daniel**
Zakład Farmakokinytyki i Metabolizmu Leków, IF PAN
- **Prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski**
Pracownia Wysokorozdzielczej Spektrometrii Masowej
Środowiskowe Laboratorium Analiz Fizykochemicznych i Badań Strukturalnych
Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Recenzenci:

- **Prof. dr hab. Jerzy Z. Nowak**
Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Farmakologii i Katedry Farmakologii
Klinicznej
- **Prof. dr hab. Marek Drożdżik**
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski, Zakład
Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej

Streszczenie pracy doktorskiej

Cytochrom P450 (kompleks izoenzymów o budowie hemoproteiny) odgrywa ważną rolę w metabolizmie oksydacyjnym substratów endogennych (np. steroidów) i egzogennych (leków, toksyn). Najważniejsze znaczenie w fizjologicznej regulacji ekspresji cytochromu P450 mają następujące hormony: hormon wzrostu, hormony tarczycy (T_3 i T_4), glikokortykosteroidy, a także hormony płciowe, które poprzez aktywację receptorów jądrowych/cytoplazmatycznych regulują transkrypcję genów kodujących cytochromy P450.

Badania prowadzone w Zakładzie Farmakokinytyki i Metabolizmu Leków IF PAN od wielu lat mają na celu określenie znaczenia układu nerwowego mózgu w neuroendokrynnej

regulacji ekspresji cytochromu P450. Dotychczasowe badania wykazały istotną rolę układu dopaminergicznego i noradrenergicznego mózgu w powyższej regulacji.

Ponadto wykazano, iż obwodowe podanie neurotoksyny serotonergicznej p-chloroamfetaminy (PCA), inhibitora syntezy serotoniny p-chlorofenyloalaniny (PCPA) lub diety pozbawionej tryptofanu (prekursora serotoniny), powoduje złożone zmiany w obrazie aktywności izoenzymów cytochromu P450 w wątrobie. Obserwowane zmiany mogą wynikać z obniżenia poziomu serotoniny zarówno w mózgu jak i na obwodzie.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie udziału układu serotonergicznego mózgu w regulacji wątrobowego cytochromu P450 (z wykluczeniem bezpośredniego oddziaływania obwodowego) oraz poznanie szlaków neuroendokrynych zaangażowanych w tę regulację. W tym celu przeprowadzono badania ekspresji i aktywności cytochromu P450 po uszkodzeniu i aktywacji ogólnej układu serotonergicznego mózgu, a także po uszkodzenie unerwienia serotonergicznego jąder przykomorowych i łukowatych podwzgórza.

Podanie neurotoksyny 5,7-dihydroksytryptaminy do przedniej grupy jąder szwu (DRN i MRN), spowodowało spadek poziomu serotoniny w strukturach mózgowych (w tym w podwzgórzu), co wywołało zmiany stężenia hormonów we krwi (wzrost stężenia hormonu wzrostu, testosteronu i kortykosteronu oraz spadek trójiodotyroniny), regulujących ekspresję cytochromu P450. W konsekwencji nastąpił wzrost ekspresji (mRNA i białka) oraz aktywności zależnych od hormonów izoenzymów cytochromu P450 (CYP1A1/2, CYP2C11, CYP3A1).

Wielokrotne podanie prekursora serotoniny 5-hydroksytryptofanu (5-HTP) przez 5 dni do komór bocznych mózgu spowodowało znaczny wzrost poziomu serotoniny w całym mózgu (w szczególności w podwzgórzu), czego wynikiem był spadek stężenia hormonu wzrostu i podniesienie stężenia tyroksyny we krwi. Te zmiany hormonalne doprowadziły do obniżenia ekspresji (mRNA i białka) i aktywności izoenzymów cytochromu P450 CYP1A2, CYP2C11 i CYP3A1/2 (mierzonej szybkością metabolizmu kofeiny i testosteronu, HPLC).

Poziom serotoniny w podwzgórzu uległ silnym zmianom, zarówno po uszkodzeniu jąder szwu podaniem 5,7-DHT, jak również po dokomorowym podaniu 5-HTP. Ta struktura mózgu zawiera dwa istotne dla regulacji hormonalnej jądra: jądra przykomorowe (syntetyzujące CRH, TRH i somatostatynę) i łukowate (syntetyzujące GHRH), działające odmiennie na sekrecję hormonów przedniego płata przysadki mózgowej, zaangażowanych w regulację ekspresji genów kodujących cytochromy cytochromu P450. Dlatego kolejnym etapem badań

było uszkodzenie unerwienia serotonergicznego w obszarach zawierających jądra przykomorowe lub jądra łukowate, poprzez dostrukturalne podanie neurotoksyny 5,7-DHT.

Uszkodzenie jąder przykomorowych podwzgórza (PVN) spowodowało spadek poziomu serotoniny w obszarze podwzgórza zawierającym PVN, co wywołało wzrost stężenia hormonu wzrostu i testosteronu we krwi, a w konsekwencji podwyższenie ekspresji izoenzymu CYP2C11 w wątrobie. Uszkodzenie jąder łukowatych podwzgórza (ARC) spowodowało spadek poziomu serotoniny w obszarze podwzgórza zawierającym ARC oraz obniżenie stężenia hormonu wzrostu we krwi, co w konsekwencji doprowadziło do obniżenia ekspresji izoenzymu CYP2C11 w wątrobie.

W celu określenia aktywności mózgowego cytochromu P450, przeprowadzono optymalizację warunków reakcji hydroksylacji testosteronu w mikrosomach mózgowych, przy użyciu LC/ESI-MS/MS. Pomiar metabolitów testosteronu przeprowadzone w korze mózgowej (korze frontalnej i w reszcie kory) wykazały: niską aktywność mózgowego CYP2C11 w odniesieniu do enzymów podrodzin CYP2B i CYP3A (mierzoną szybkością hydroksylacji testosteronu); znacznie niższą aktywność wymienionych enzymów w korze mózgowej w porównaniu z wątrobą, oraz brak zmian aktywności CYP2C11 w mózgu po uszkodzeniu jądra przykomorowego podwzgórza (PVN) podaniem lokalnym neurotoksyny serotonergicznego, pomimo zaobserwowanego wzrostu aktywności tego izoenzymu w wątrobie.

Układ serotonergicznego mózgu reguluje negatywnie ekspresję zależnych od hormonów izoenzymów cytochromu P450 w wątrobie (CYP1A1/2, CYP2C11 i CYP3A1/2), co wynika prawdopodobnie z większego oddziaływania tego układu na jądra przykomorowe niż łukowate. Opisana regulacja neuroendokrynną cytochromu P450 może mieć istotne znaczenie dla metabolizmu substratów endo- i egzogennych, w warunkach zaburzenia funkcji układu serotonergicznego lub podczas stosowania leków działających poprzez ten układ.