

mgr Aleksandra Szewczyk

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena właściwości neuroprotekcyjnych oraz wpływu na neurogenezę nowej pochodnej kwasu 2-(2,5-diokspiroolidyno-1-ylo)-2-propanowego oraz wybranych leków przeciwpadaczkowych w badaniach *in vivo*”

Promotor rozprawy: dr hab. n. med. Marta Andres-Mach, prof. IMW

Promotor pomocniczy: dr n. biol. Mirosław Zagaja

STRESZCZENIE

Padaczka należy do grupy przewlekłych zaburzeń neurologicznych charakteryzujących się nagłymi i napadowymi wyładowaniami wewnątrz komórek nerwowych. Dotyka około 70 milionów ludzi na całym świecie, przy czym najwyższą zachorowalność obserwuje się u dzieci oraz u osób powyżej 60 roku życia. Choroba ta ma ogromny wpływ na jakość życia chorego i to we wszystkich jego obszarach, tj. fizycznym, psychicznym i społecznym.

Z punktu widzenia neurochemicznego napady padaczkowe występują na skutek zaburzeń równowagi pomiędzy szeroko rozumianymi procesami pobudzenia i hamowania w ośrodkowym układzie nerwowym. Do głównych czynników neurochemicznych sprzyjających występowaniu napadów padaczkowych należą: zmiany w obrębie neurotransmisji glutaminianergicznej i GABA-ergicznej, zaburzenia czynności kanałów i pomp jonowych, jak również zaburzenia metabolizmu i stanu energetycznego komórki. Istotną rolę w epileptogenezie przypisuje się również innym neuroprzekaźnikom i neuromodulatorom m.in. monoaminom, acetylocholinie, neuropeptydom, neutrofinom czy adenozyne.

Rozpoczęcie leczenia przeciwpadaczkowego musi być poprzedzone wnikliwą diagnostyką z określeniem rodzaju napadów, częstości ich występowania czy też możliwych przyczyn. Niestety na dzień dzisiejszy terapia padaczki ma charakter głównie objawowy, ponieważ znosi lub ogranicza liczbę napadów, ale nie zapobiega zjawisku epileptogenezy. Podstawowym sposobem leczenia jest farmakoterapia, której działanie oparte jest na podwyższeniu progu pobudliwości drgawkowej. Ze względu na dużą różnorodność napadów padaczkowych właściwe dobranie i wykorzystanie obecnie dostępnych leków przeciwpadaczkowych (LPP) jest niezbędne do osiągnięcia skutecznego leczenia tej choroby. Jednakże skuteczność leków stosowanych w terapii padaczki, mimo wprowadzania nowych

preparatów, wciąż związana jest z występowaniem licznych objawów niepożądanych jak również ze zjawiskiem lekooporności, obniżając tym samym jakość życia pacjentów.

W ostatnich latach wielu naukowców skupia swoje wysiłki na poszukiwaniu nowych naturalnych lub syntetycznych LPP. Głównym celem ich badań jest przede wszystkim zaprojektowanie i synteza takich substancji, które będą wykazywać szerokie spektrum aktywności przeciwdrgawkowej przy minimalnych skutkach ubocznych w doświadczalnych zwierzęcych modelach padaczki eksperymentalnej. Jednym z nowych, strukturalnie oryginalnych związków, z którym wiąże się ogromne nadzieje w terapii padaczki jest substancja C-11. Związek ten integruje fragmenty strukturalne trzech zróżnicowanych chemicznie i farmakologicznie LPP, a mianowicie etosuksymidu (ETS), lewetyracetamu (LEV) oraz lakoamidu (LCM). Wyniki badań z wykorzystaniem zwierzęcych modeli drgawek padaczkowych takich jak MES, scPTZ, 6Hz czy drgawki rozniecane wielokrotnym podaniem PTZ wykazały wysoką aktywność przeciwdrgawkową substancji C-11. Co więcej, C-11 posiada znacznie lepszy profil bezpieczeństwa niż istotne klinicznie LPP tj. ETS, LEV i LCM, które tworzą cząsteczkę związku C-11.

Głównym założeniem rozprawy doktorskiej było określenie wpływu przewlekłego podawania substancji C-11 i wybranych leków przeciwpadaczkowych na degenerację, apoptozę, neurogenezę oraz ocena potencjalnych właściwości neuroprotektoryjnych w hipokampie u myszy.

Wykazano, że przewlekłe podawanie C-11, LEV, ETS i LCM nie powoduje degeneracji ani apoptozy komórek nerwowych. Zastosowanie C-11, ETS oraz LEV w przeciwieństwie do LCM nie powoduje zaburzeń pamięci ani orientacji przestrzennej u myszy, co potwierdza brak skutków ubocznych. Przewlekłe podawanie C-11, ETS oraz LEV nie zaburza procesu proliferacji i różnicowania się nowo powstałych komórek nerwowych w mózgu myszy, podczas gdy LCM istotnie statystycznie je obniża, co świadczy o zaburzonej neurogenezie. Wykazano, że C-11 i ETS nie powodują zmian w poziomie kilku wybranych neurometabolitów, ważnych dla prawidłowego przebiegu neurogenety, podczas gdy LEV LCM podwyższa poziom NAA. Ponadto C-11 nie wykazała działania neuroprotektoryjnego, podczas gdy LEV posiada takie właściwości.

Zasadniczym wnioskiem wynikającym z niniejszej rozprawy doktorskiej jest fakt, że związek C-11 jest obiecującym kandydatem na skuteczny lek przeciwpadaczkowy, jednocześnie bezpieczny z punktu widzenia funkcji poznawczych jak i neurogenety w porównaniu do referencyjnych LPP - LCM, LEV i ETS.

ABSTRACT

Epilepsy belongs to a group of chronic neurological disorders characterized by sudden and recurrent seizures. It affects approximately 70 million people worldwide, with the highest incidence observed in children and people over 60. This disease has a huge impact on the patient's quality of life in all its areas: physical, mental and social.

From the neurochemical point of view, epileptic seizures occur as a result of imbalances between the widely understood processes of excitation and inhibition in the central nervous system. The main neurochemical factors contributing to the occurrence of epileptic seizures include: changes in glutamatergic and GABA-ergic neurotransmission, dysfunction of ion channels and pumps, as well as disturbances in metabolism and energy state of the cell. An important role in epileptogenesis is also attributed to other neurotransmitters and neuromodulators, including monoamines, acetylcholine, neuropeptides, neuropeptides or adenosine.

The initiation of antiepileptic treatment must be preceded by a thorough diagnosis including the type of seizures, frequency of their occurrence, and possible causes. Unfortunately, today the treatment of epilepsy is mainly symptomatic, because it eliminates or limits the number of seizures without preventing epileptogenesis. The main method of treatment is pharmacotherapy, and its action is based on increasing the convulsive threshold. Due to the wide variety of seizures, proper selection and use of currently available antiepileptic drugs (AEDs) is essential in achieving effective treatment. However, the effectiveness of drugs used in the treatment of epilepsy, despite the introduction of new preparations, is still associated with the occurrence of numerous side effects as well as the phenomenon of drug resistance, thus reducing patient's quality of life.

In recent years, many scientists have focused their efforts on finding new natural or synthetic antiepileptic drugs. The main goal of their research is primarily to design and synthesize such substances that will exhibit a broad spectrum of anticonvulsant activity with minimal side effects in experimental animal models of epilepsy. One of the new, structurally original compounds, which raises great hopes in the treatment of epilepsy is C-11. This compound integrates structural fragments of three chemically and pharmacologically diverse AEDs: ethosuximide (ETS), levetiracetam (LEV) and lacosamide (LCM). Results of studies using animal models of epileptic seizures such as MES, scPTZ, 6Hz or convulsions ignited by repeated administration of PTZ showed high anticonvulsant activity of the C-11 compound. Moreover, C-11 has a much better safety profile than clinically significant AEDs such as ETS, LEV and LCM, which make up the C-11 hybrid

molecule.

The aim of the study was to determine the effect of chronic administration of C-11 and selected antiepileptic drugs on degeneration, apoptosis and neurogenesis, and to evaluate potential neuroprotective properties in the hippocampus in mice.

Results indicate that chronic administration of C-11, LEV, ETS and LCM does not cause degeneration or apoptosis of nerve cells. The use of C-11, ETS and LEV, unlike the use of LCM, does not cause memory or spatial orientation disorders in mice, which confirms the absence of side effects. Chronic administration of C-11, ETS and LEV has no negative impact on the process of neurogenesis, whereas LCM significantly decreases hippocampal neurogenesis in mouse brain. It has been shown that C-11 and ETS do not cause changes in the level of a few selected neurometabolites important for the proper course of neurogenesis, while LEV LCM increases the level of NAA. Moreover, C-11 did not show neuroprotective effect while LEV had such properties.

The main conclusion of this doctoral dissertation is the fact that the C-11 compound is a promising candidate for an effective antiepileptic drug. Simultaneously it proved safer from the point of view of cognitive functions and neurogenesis than the referenced AEDs - LCM, LEV and ETS