Streszczenie pracy doktorskiej mgr Urszuli Jankowskiej wykonanej w Zakładzie Biochemii Fizycznej WBBiB pod opieką prof. dr hab. Marty Dziedzickiej-Wasylewskiej oraz dr Sylwii Kędrackiej-Krok

Badania proteomiczne w aspekcie działania leków przeciwpsychotycznych w komórkach PC12

Schizofrenia jest przewlekłym zaburzeniem psychicznym, które dotyka 0.3%-0.7% populacji. Leczenie schizofrenii, która u 30% pacjentów występuje w postaci lekoopornej, uważa się za jedno z największych wyzwań współczesnej psychiatrii klinicznej. Leki przeciwpsychotyczne stosowane w terapii schizofrenii ze względu na profil działania są klasyfikowane jako leki pierwszej generacji (typowe) oraz leki drugiej generacji (atypowe). Leki pierwszej generacji skutecznie znoszą objawy wytwórcze schizofrenii, lecz nie niwelują objawów negatywnych choroby. Natomiast leki drugiej generacji wykazują dużo wyższą skuteczność w zwalczaniu objawów negatywnych oraz polepszają funkcje poznawcze, nie powodując przy tym pozapiramidowych skutków ubocznych. Wspólną cechą wszystkich leków przeciwpsychotycznych jest blokowanie postsynaptycznych receptorów dopaminergicznych D_2. Charakter oddziaływania oraz spektrum interakcji leków z różnymi typami receptorów są znacznie bardziej skomplikowane, a dokładny mechanizm działania neuroleptyków pozostaje niejasny.

Celem pracy doktorskiej była analiza porównawcza proteomu komórek traktowanych trzema lekami przeciwpsychotycznymi o odmiennym sposobie działania: haloperidolem, risperidonem oraz klozapiną. Haloperidol jako przedstawiciel starszych, typowych neuroleptyków posiada stosunkowo prosty profil farmakologiczny. Risperidon zaliczany jest do leków atypowych, jednak wykazuje właściwości pośrednie pomiędzy obiema grupami neuroleptyków. Klozapina jest pierwszym lekiem atypowym wprowadzonym do farmakoterapii schizofrenii w 1971 roku i do dziś pozostaje najskuteczniejszym lekiem przeciwpsychotycznym. Niestety, ze względu na wysokie ryzyko potencjalnie śmiertelnej agranulocytozy oraz zaburzeń metabolicznych związanych ze stosowaniem klozapiny, jest ona przepisywana rzadko; głównie w przypadku lekoopornej postaci schizofrenii.

W niniejszej pracy podjęto próbę scharakteryzowania mechanizmów biochemicznych uruchamianych w komórkach pod wpływem leków po 12 i 24 godzinach inkubacji. Eksperymenty przeprowadzono na linii komórkowej PC12, która jest modelem komórek

nerwowych. Do badań wykorzystano techniki proteomiczne, które umożliwiają globalną analizę stanu komórki poprzez obserwację poziomu kilku tysięcy białek w jednym eksperymencie. Jedną z zastosowanych technik była dwuwymiarowa żelowa elektroforeza różnicowa (2D-DIGE). Wyłonione podczas analizy plamki różnicowe zidentyfikowano za pomocą tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS). Drugą, komplementarną metodą badania zmian w profilu białkowym komórek była bezżelowa analiza LC-MS/MS z wykorzystaniem izobarycznych znaczników iTRAQ (ang. *isobaric tag for relative and absolute quantitation*).

Na podstawie zaobserwowanych zmian ekspresji białek wytypowano szlaki przekazu sygnału, które są aktywowane bądź hamowane pod wpływem leków. W komórkach inkubowanych z haloperidolem zaobserwowano obniżenie poziomu białek należących do szlaku czynnika neurotroficznego rzęskowego (CNTF), co wydaje się ciekawe gdyż niektóre badania genetyczne (analizy asocjacyjne) wykazały, iż mutacja genu kodującego CNTF ma związek ze schizofrenią. Zaś w komórkach traktowanych risperidonem odnotowano zmniejszenie ekspresji białek zaangażowanych w odpowiedź na zapalenie. Analiza profilu białkowego komórek poddanych działaniu klozapiny wskazuje na obniżenie poziomu białek regulujących cytoszkielet aktynowy, co jest zbieżne z naszymi wcześniejszymi obserwacjami w korze mózgowej szczurów po podaniu klozapiny. Ponadto, wyżej wymieniony lek powoduje wzrost ekspresji białek szlaku kinazy białkowej A (PKA), którego zaburzenia wykazano u pacjentów cierpiących na schizofrenię. Natomiast indukowany przez klozapinę wzrost ekspresji białek należących do szlaku aktywacji czynnika inicjacji translacji (EIF2), może być źródłem wyjątkowej skuteczności jej terapeutycznego działania, zwłaszcza w świetle faktu, że u pacjentów chorych na schizofrenię stwierdzono redukcję syntezy białek.

Podsumowując, otrzymane wyniki zostały przedyskutowane w kontekście danych literaturowych dotyczących zarówno procesów molekularnych zaburzonych w schizofrenii, jak i procesów biochemicznych charakterystycznych dla działania poszczególnych leków przeciwpsychotycznych. Przeprowadzona analiza poszerza wiedzę na temat mechanizmów działania neuroleptyków oraz rzuca nowe światło na zagadnienie wyjątkowej skuteczności klozapiny w redukowaniu objawów schizofrenii.

Urszula Jankowska

17 LIS. 2016