



MINISTERUL EDUCAȚIEI
ROMÂNIA
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ,
FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE”
DIN TÂRGU MUREȘ

Studiul acțiunii unor antipsihotice moderne asupra adipogenezei: contribuții la elucidarea mecanismelor centrale și periferice ale acestora.

Conducător de doctorat:
Prof. Dr. Imre Zoltán Kun

Doctorand:
László-István Bába

Tîrgu Mureș

2021



Introducere: Antipsihoticele atipice (AAT) sunt substanțe medicamentoase cu utilizare largă în domeniul psihiatriei, fiind indispensabile în tratamentul psihozelor. Această clasă farmacologică se distinge de cea a antipsihoticelor tipice/clasice prin faptul că reacțiile adverse principale ale acestora sunt de natură metabolică. Frecvența și severitatea efectelor adverse diferă semnificativ între reprezentanții clasei, astfel olanzapina (Ola) și clozapina prezintă efecte metabolice severe, care apar cu o frecvență ridicată, în timp ce paliperidona, risperidona, sertindolul, quetinapina prezintă risc metabolic mediu, iar aripiprazolul (Ari), ziprasidona, lurasidona au astfel de efecte neglijabile.

Ari, deși în mod tradițional este clasificat ca și AAT, este inclus într-o subclasă nouă, în cea de-a treia generație a antipsihoticelor (numiți și „*modulatori ai dopaminei*”), datorită faptului că se comportă ca și agonist parțial la nivelul receptorilor dopaminergici D2/D3. O substanță cu mecanism de acțiune similar, apărută recent în terapie este cariprazina (Car). Datele din literatură privind efectele sale adverse metabolice, erau limitate la momentul apariției pe piață, dar au indicat un profil favorabil, similar cu Ari.

Sistemul endocannabinoid (SEC) este un sistem descoperit relativ recent, care are rol cheie în reglarea metabolismului energetic. SEC este exprimat atât la nivel central (SNC) cât și periferic, la nivelul diferitelor organe și țesuturi. Activarea acestui sistem favorizează în general procesele care economisesc energie, stimulând adipo- și lipogeneza, crescând pofta de mâncare și aportul energetic, reducând totodată pierderea energetică prin mecanisme variate. Toate aceste observații au ridicat posibilitatea ca și SEC să fie implicat în efectele metabolice adverse ale AAT. Numeroase date experimentale au confirmat această ipoteză, dar nu sunt încă astfel de date referitor la Car.

Scopul studiului: Mi-am propus studierea mecanismelor prin care cele trei AAT – Ola, Ari și Car – își exercită efectele metabolice caracteristice. Car reprezintă o moleculă nouă, cu care experiența clinică este încă limitată. Compararea efectelor metabolice și comportamentale ale acestora cu Ola, caracterizată prin efecte adverse metabolice foarte pronunțate, precum și cu Ari, cu efecte metabolice neglijabile, poate contribui cu date noi la conturarea caracterului farmacologic și clinic al Car.

Mecanismele efectelor metabolice sunt complexe și vizează interacțiunea mecanismelor centrale (influențarea foamei/sațietății, și a motilității spontane) cu cele periferice (influențarea țesutului adipos, a mușchiului striat, și a pancreasului endocrin). Astfel, investigațiile au fost planificate în așa manieră, încât ele să permită studierea a celor două tipuri de mecanisme amintite, printr-un design experimental care permite cercetarea distinctă a acestora.

Având în vedere importanța țesutului adipos ca și organ metabolic, am hotărât să studiez comparativ acțiunile celor trei AAT asupra adipo- și lipogenezei. Un alt obiectiv de seamă a fost studierea efectelor celor trei AAT asupra SEC periferic (la nivelul țesutului adipos), mecanism care ar putea oferi explicații pentru anumite efecte metabolice/endocrine ale medicamentelor menționate.

Material și metodă: Teza este compusă din patru studii. În cadrul primului studiu am examinat efectele endocrino-metabolice ale AAT, utilizând un model experimental de administrare cronică pe șobolani. Am ales 42 de șobolani albi Wistar, femele, de vârstă adultă, medicamentele fiind aplicate prin autoadministrare, cu scopul de a evita stress-ul legat de o administrare forțată. După 6 săptămâni de tratament animalele au fost sacrificate, determinând lipidele sanguine (colesterolul total - TotCHOL, trigliceridele - TG) și prolactinemia. S-au studiat efectele AAT și asupra țesutului adipos visceral alb (perirenal), determinând aria vacuolară, precum și nivelul de exprimare a SREBP-1 („*sterol response element binding protein-1*”), și UCP-1 („*uncoupling protein-1*”), utilizând determinare imunohistochimică. Cel de-al doilea studiu a abordat efectele comportamentale (anxiolitice și sedative/activatoare) ale antipsihoticelor după patru săptămâni de tratament, prin testul „*elevated plus maze*”. În cadrul celui de-al treilea experiment s-a studiat nivelul de exprimare a unor componente SEC (receptorul CB1 – cannabinoid receptor 1 – și enzimele de degradare: FAAH – hidrolaza amidelor acizilor grași și MAGL – lipaza mono-acil gliceridelor) la nivelul țesutului adipos. În cel de-al patrulea studiu, realizat în condiții *in-vitro*, s-au urmărit efectele celor trei AAT asupra adipogenezei (transformarea preadipocitelor în adipocite mature) și lipogenezei, pe o linie celulară embrională („*mouse embryonal fibroblast*”). Astfel, s-au cuantificat trigliceridele acumulate, nivelul de adiponectină (AN) din supernatantul culturilor celulare și nivelul de exprimare a „*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*” (PPAR γ).

Rezultate: Ola a accelerat evoluția curbei ponderale față de lotul martor (Ctr) care a primit doar vehiculul substanței, iar în cazul loturilor tratate cu Ari și Car creșterea în greutate era atenuată comparativ cu Ctr. Car, administrată în doza mare, a dus la o creștere (dar statistic nesemnificativă) a nivelului seric de colesterol total. Prolactinemia animalelor



tratate cu Car avuse o tendință de creștere, dar nesemnificativă față de Ctr. Toate cele trei substanțe au crescut semnificativ mărimea vacuolelor la nivelul țesutului adipos perirenal, cele mai mari diferențe înregistrându-se după Ari 1,5 mg/kg. Sursa variațiilor relativ mari ale mărimii celulelor în cazul lotului Ola 1,5 mg/kg este faptul că foarte multe celule au avut vacuole mici. Cantitatea SREBP-1 tisulară a arătat o tendință crescătoare în cazul loturilor tratate cu Ola și Car, însă Ari, în doza de 3 mg/kg, a determinat o scădere semnificativă, marcată. Car a crescut semnificativ cantitatea tisulară a UCP-1.

Ola a influențat comportamentul animalelor scăzând timpul petrecut pe brațul deschis și în zona de explorare, numărul de intrări și preferința pentru brațul deschis. Totodată, s-a observat o tendință de scădere a parametrilor corelați cu interesul față de mediu și cu activitatea generală a animalelor. Privind distanța parcursă, se poate observa o scădere semnificativă în ceea ce privește lotul tratat cu doza mare de Ola. Ari a avut efecte comportamentale opuse, prezentând o tendință de creștere a parametrilor care reflectă efect anxiolitic și explorator: timpul petrecut pe brațul deschis, preferința pentru acesta, timpul petrecut în zona de explorare și distanța parcursă. Analiza statistică nu a atins pragul de semnificație din cauza variabilității interindividuale mari și numărului redus de subiecți (n=6). Car a provocat efecte comportamentale care seamănă cu cele induse de Ola: tendință de scădere –ușoară, nesemnificativă – a timpului petrecut pe brațul deschis, a distanței parcurse, și a timpului petrecut în zona de explorare.

În ceea ce privește nivelul de exprimare a receptorilor CB1 canabinoizi, am observat o tendință de creștere după Ola în doza de 1,5 mg/kg și într-o măsură mai puțin evidentă după Ari 3 mg/kg și cele două doze de Car. Enzimele de degradare aferente SEC au fost crescute după toate cele trei AAT studiate, în cazul lotului tratat cu Car 0,1 mg/kg creșterea expresiei FAAH fiind semnificativă față de lotul de control. Exprimarea enzimei MAGL nu a fost influențată semnificativ de niciun tratament aplicat, și s-a putut observa o dispersie considerabilă a datelor (similar celei văzute în cazul receptorului CB1). Totuși, s-a constatat o tendință de creștere în cazul loturilor Ari 1,5 mg/kg și Car 0,25 mg/kg.

În condiții *in-vitro*, cele trei substanțe au avut efecte caracteristice asupra adipo- și lipogenezei. Toate cele trei AAT au stimulat acumularea de trigliceride celulare, dar cu intensitate diferită, fenomen evidențiat prin metoda spectrofotometrică Oil-Red O. Privind conținutul supernatantului în adiponectină, am observat că Ari, în concentrația mai mare, a crescut semnificativ acest conținut, ceea ce poate contribui esențial la efectele adverse metabolice avantajoase ale sale. Restul substanțelor nu au influențat acest parametru. În mod surprinzător, nivelul de exprimare a PPAR γ a scăzut semnificativ în cultura liniilor celulare tratate cu Car 0,1 μ M.

Concluzii: În studiile de față am comparat efectele metabolice ale celor trei AAT, reprezentând fiecare o subgrupă caracteristică. Car nu a avut efecte metabolice pronunțate, atenuând creșterea ponderală a animalelor și scăzând nivelul de trigliceride. În același timp, ea a crescut nivelul seric de colesterol și a indus o tendință de creștere a prolactinemiei. Efectele sale asupra SEC n-au fost foarte evidente, dar stimularea exprimării la nivel proteic a enzimei FAAH poate contribui la EAm atenuate. Totodată, Car a prezentat un posibil efect sedativ, fapt ce poate contribui la efectele adverse metabolice.

Ari a influențat creșterea ponderală a animalelor avantajos, în mod similar cu Car, dar nu a influențat profilul lipidic. A prezentat, totodată, un posibil efect anxiolitic, fără efect sedativ. Scăderea nivelului de exprimare a SREBP-1 la nivelul țesutului adipos poate fi un mecanism benefic (nedescriș până acum) cu privire la efectele sale adverse metabolice.

Ola a determinat o creștere ponderală mai rapidă decât cea a lotului martor, și o scădere a nivelului de trigliceride. Tendința de creștere a exprimării receptorilor CB1 este un mecanism care poate contribui la înțelegerea EAm. Toate cele trei substanțe au dus la o creștere a suprafeței vacuolare, fapt ce indică stimularea adipo- și/sau lipogenezei, în funcție de medicament.

În condiții *in-vitro*, Car și Ari prezintă avantaje clare față de Ola, care a crescut cantitatea de TG adipocitară, și a dus la o tendință de scădere a adiponectinei din supernatant. Efectele observate la nivel adipocitar pot contribui la EAm ale medicamentelor studiate.

Rezultatele prezentate subliniază faptul că AAT influențează metabolismul prin multiple mecanisme, atât centrale (schimbarea activității generale) cât și periferice (legate de țesutul adipos).