

Hallás és halláskárosodások: molekuláris mechanizmusok és terápiás megközelítések

Az idegi eredetű halláskárosodások a leggyakoribb idegrendszert érintő megbetegedések. Bár a halláskárosodások gyakorisága világszerte növekszik, hatékony gyógyszeres kezelésük hiányzik. Egy betegség gyógymódjának megtalálásához ismernünk kell a szervezet egészséges és zavart működését is. A hallás esetében egyik sem teljesül. Emellett egy potenciális hallásvédő vegyület klinikumban való kipróbálásához elengedhetetlenek preklinikai vizsgálatok, melyekhez megfelelő állatmodellekre van szükség. Célunk új gyógyszer-támadáspontok feltárása sejtszintű vizsgálatokkal illetve lehetséges hallásvédő vegyületek tesztelése halláskárosodás modellekben, élő állatokon.

Tekintettel arra, hogy projektjeink célja gyógyszerek hatásának vizsgálata komplex, az emberhez hallás és halláskárosodás szempontjából nagyon hasonló szervezetben, alternatív, nem emlős állatokat használó módszerek alkalmazása nem célravezető. Kísérleteinkben laboratóriumi egereket alkalmazunk. Az egerek jól alkalmazhatóak a hallás kutatásához valamint emberi halláskárosodás modellek kifejlesztéséhez, mert nagyon hasonló a fül felépítése, élettana valamint a halláskárosodásuk kialakulásában is hasonló tényezők játszanak szerepet. Ezáltal az egyes egérmodellek jó prediktív értékkel bírnak, vagyis a hallásvédőnek bizonyult vegyületek nagyobb eséllyel lesznek védőhatásúak emberben is, növelve a gyógyszerfejlesztés hatékonyságát és sikerrátáját.

A hangok érzékelésében főszerepet játszó sejteket körülvevő, azoktól eltérő szerkezetű támasztósejtek működése ill. szabályozása kevésbé ismert, de a hallás és a halláskárosodások mechanizmusának teljes megértése szempontjából nélkülözhetetlen. Munkacsoportunk ezen mechanizmusok feltárására törekszik in vitro kísérleteiben, amely lehetőséget adhat új hallásvédő gyógyszer-támadáspontok azonosítására.

Kísérleti vegyületek hallásvédő hatásának vizsgálatára munkacsoportunk beállította a négy leggyakoribb idegi eredetű halláskárosodás forma egérmodelljét (időskori, egyszeri zaj, ismételt zaj és gyógyszer mellékhatás okozta halláskárosodás), amelyek alkalmasak annak egyértelmű eldöntésére, hogy a jelölt vegyület rendelkezik-e hallásvédő hatással.

Az állatokat érő konkrét ártalom az egyes kísérletek során:

In vitro kísérleteink a törvényi szabályozások szerint nem tartoznak az állatkísérletek kategóriába. A kísérleti állatokat a kísérlet elején izofluránnal elbódítjuk, majd dekapitáljuk. A folyamatot hozzáértő személyzet végzi gyors és precíz módon, az állatok fájdalmat nem éreznek.

In vivo kísérleteinkben - az alkalmazott egérmodelltől függően - az egyes kísérleti csoportok esetén meghatározott számú hallásküszöb mérést végzünk a hallás állapotának megállapítására, altatott állaton. Az állatok egy tűszúrásnyi fájdalmat éreznek az altató + fájdalomcsillapító intraperitoneális (hasüregbe történő) beadásakor. A szubcutan tüelektródák bevezetése (vertex, jobb fül processus mastoideus és jobb hátsó combizom), a hangszóró csövének külső hallójáratba történő bevezetése (önmagában teljesen fájdalommentes) valamint a mérés alatt már fennáll a teljes anesztézia állapota. Egy mérés 20 percet vesz igénybe állatonként.

In vivo kísérleteinkben - az alkalmazott egérmodelltől függően - az egyes kísérleti csoportok esetén meghatározott számú és típusú kezelést végzünk. Alkalmazott kezelési formáink: subcutan injekció, intraperitoneális injekció valamint per os adásmód. Az egyes subcutan vagy intraperitoneális injekcióban történő kezelések 0,5-1 percet vesznek igénybe állatonként és egy-

egy tűszúrásnyi fájdalommal járnak. Per os adásmód esetén az állatok a vegyületet az ivóvízben oldva kapják.

- Aminoglikozid (AG) antibiotikum okozta hallásvesztés modell

Egy adott állat 21 napig vesz részt a kísérletben. Ezalatt összesen 49 subcutan kezelésben és 2 hallásküszöb mérésben részesül, amelyek 1-1 tűszúrásnyi fájdalommal járnak.

- Egyszeri zaj okozta hallásvesztés (NIHL) modell

Egy adott állat 30 napig vesz részt a kísérletben. Ezalatt összesen 8 intraperitoneális kezelésben és 6 hallásküszöb mérésben részesül, amelyek 1-1 tűszúrásnyi fájdalommal járnak.

A zajkárosodás elleni védő vegyületek tesztelésénél az állatokat egyszeri zajexpozíciónak tesszük ki (98 dB, 30 perc). Az alkalmazott hangnyomás mértéke (a vonatkozó irodalomban elfogadott és alkalmazott <110 dB) jelentősen alacsonyabb a fájdalomküszöbnél (130 dB).

- Ismételt, mérsékelt zaj okozta hallásvesztés (NIHL) modell

Egy adott állat 3 hónapig vesz részt a kísérletben. Ezalatt összesen 28 intraperitoneális kezelésben és 10 hallásküszöb mérésben részesül, amelyek 1-1 tűszúrásnyi fájdalommal járnak. Az ismételt, mérsékelt zajkárosodás elleni védő vegyületek tesztelésénél az állatokat összesen négy alkalommal tesszük ki zajexpozíciónak (95 dB, 15 perc). Az alkalmazott hangnyomás mértéke (a vonatkozó irodalomban elfogadott és alkalmazott <110 dB) jelentősen alacsonyabb a fájdalomküszöbnél (130 dB).

- Presbycusis (AHL) modell

Egy adott állat a DBA/2J törzs esetében 6 hónapig, a BALB/c törzs esetében pedig 12 hónapig vesz részt a kísérletben. Ezalatt a DBA/2J törzs esetében összesen 11, a BALB/c törzs esetében pedig 13 hallásküszöb mérésben részesül, amelyek 1-1 tűszúrásnyi fájdalommal járnak. Az állatok a kísérleti vegyületet per os, ivóvízben oldva kapják.

- **AG és AHL modell nem káros fenotípusú, CD1 háttérű PACAP-KO egereken**

Alkalmazott 3R intézkedések:

Projektjeink célja gyógyszerek hatásának vizsgálata komplex, az emberhez hallás és halláskárosodás szempontjából nagyon hasonló szervezetben. Az emlősök hallása nagymértékben különbözik a nem emlősök hallásától. Alternatív, alacsonyabb rendű állatokat használó módszerek alkalmazása nem célravezető. A kísérleteinkben laboratóriumi egereket használunk, amely állatokat nem tudjuk helyettesíteni alacsonyabb rendű élőlénnel.

Az állatkísérletek során nagymértékben törekszünk arra, hogy a lehető legkevesebb állatszámmal dolgozzunk és az állatok minél kisebb szenvedésen menjenek keresztül. Ennek érdekében:

- az állatok tartása pontos állatházi előírásoknak megfelelően történik
- in vivo kísérleteink minimális elemszámának meghatározásához power analízist végzünk statisztikus bevonásával, minimalizálva a kísérletekhez szükséges állatszámot
- az in vivo kísérleteinkben alkalmazott injekciós kezeléseket, hallásküszöb méréseket hozzáértő és gyakorlott személyzet végzi, gyors és precíz módon, a lehető legkevesebb stressznek kitéve az állatokat
- a zajkárosodás ellen védő vegyületek tesztelésénél nem kerülhető el a zaj expozíció (98 ill. 95 dB). Az alkalmazott hangnyomás mértéke (a vonatkozó irodalomban elfogadott és alkalmazott <110 dB) jelentősen alacsonyabb a fájdalomküszöbnél (130 dB)
- in vitro kísérleteinkhez kifejlesztettünk egy új, a sejtek festékekkel való megtöltésére alkalmas eljárást, amely jobb jel-zaj arány eredményez. Ezáltal kevesebb kísérlet elvégzésére van szükség, mint a korábban alkalmazott eljárással, csökkentve a kísérletekhez szükséges állatszámot.

Projektjeink öt éves periódusa alatt **3 670** egeret kívánunk felhasználni.

