



Mgr Karolina Przepiórska-Drońska

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Identyfikacja molekularnych mechanizmów działania amorfrutyny B w komórkowych modelach hipoksyjno-ischemicznych uszkodzeń mózgu: badania z wykorzystaniem pierwotnych hodowli mysich neuronów i ludzkiej linii mikrogleju*

Promotor: prof. dr hab. Małgorzata Kajta

Promotor pomocniczy: dr hab. Agnieszka Wnuk

Streszczenie

Każdego roku 12,2 miliona osób na świecie doświadcza udaru mózgu, co czyni go drugą najczęstszą przyczyną zgonów. Obecna farmakoterapia udaru niedokrwinnego obejmuje trombolizę z rtPA, która musi być zaaplikowana w ciągu 4,5 godziny od wystąpienia objawów. Równie istotnym problemem dla współczesnej medycyny jest asfiksja okołoporodowa (niedotlenienie okołoporodowe), której rocznie doświadczają 4 miliony noworodków. Mimo terapii opartej na hipotermii z oknem terapeutycznym wynoszącym do 6 godzin, śmiertelność wciąż utrzymuje się na poziomie 25%. Ze względu na niską efektywność, wąskie okno terapeutyczne oraz szereg przeciwwskazań do stosowania obecnych terapii, wciąż trwają poszukiwania nowych strategii leczenia schorzeń hipoksyjno-ischemicznych mózgu. Interesującym punktem uchwytu dla nowych leków okazał się receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów typu gamma (PPAR γ). Agoniści PPAR γ , tiazolidinediony (TZD), wykazują neuroprotekcjne działanie w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Niestety, wywołują one również poważne skutki uboczne, co doprowadziło do częściowego wycofania TZD z rynku farmaceutycznego. Z dostępnych danych wynika, że w odróżnieniu od agonistów, selektywne modulatory receptora PPAR γ (SPPAR γ M), takie jak amorfrutyna B, wywołują częściową odpowiedź transkrypcyjną i mogą być bezpieczną alternatywą dla tradycyjnie stosowanych TZD. Zatem koncepcja moich badań zakłada, że selektywna modulacja PPAR γ przez amorfrutynę B może stanowić nowatorskie podejście do leczenia uszkodzeń układu nerwowego wywołanych hipoksją lub ischemią.

W celu określenia neuroprotekcyjnych mechanizmów działania tej substancji i zależnego od mikrogleju potencjału przeciwzapalnego, wykorzystywałam pierwotne hodowle neuronów kory mózgowej myszy, a także komórki ludzkiego mikrogleju linii HMC3, które były poddawane niedotlenieniu (model hipoksji), względnie niedotlenieniu z deprivacją



glukozy (model ischemii). Dowiodłam, że amorfrutyna B podana 6 godzin po zainicjowaniu uszkodzenia hipoksyjno-ischemicznego wykazuje silne działanie neuroprotekcyjne oraz działanie przeciwzapalne zależne od mikrogleju. Amorfrutyna B chroni komórki nerwowe przed uszkodzeniem wywołanym hipoksją oraz ischemią poprzez aktywację receptora PPAR γ oraz zmniejszenie stresu oksydacyjnego i zależnych od wolnych rodników uszkodzeń DNA. Neuroprotekcyjne efekty działania amorfrutyny B obejmują także hamowanie wywołanej hipoksją i ischemią apoptozy i autofagii, co manifestuje się wzrostem błonowego potencjału mitochondrialnego, ograniczeniem formowania autofagolizosomów i apoptotycznych skupisk heterochromatyny oraz normalizacją ekspresji genów i/lub białek związanych z apoptozą i autofagią. Amorfrutyna B reguluje poziom metylacji obszarów promotorowych genów zaangażowanych w procesy apoptozy i autofagii, co sugeruje że amorfrutyna B wywołuje efekt neuroprotekcyny z udziałem mechanizmów epigenetycznych. Substancja ta wykazuje cechy modulatora epigenetycznego, ponieważ w warunkach hipoksyjno-ischemicznych podwyższa poziom acetylotransferaz histonowych (HAT), obniża poziom sirtuin oraz normalizuje ekspresję miRNA będących markerami udaru niedokrwienego mózgu. Na ostatnim etapie badań wykazałam, że amorfrutyna B hamuje wywołaną hipoksją i ischemią aktywację mikrogleju, a także przekształca fenotyp komórek z prozapalnego „M1” na przeciwzapalny „M2”. Ściślej ujmując, amorfrutyna B wycisza procesy zapalne, zmienia morfologię komórek mikrogleju na bardziej rozgałęziony fenotyp, jak również hamuje potencjał proliferacyjny i aktywność metaboliczną mikrogleju. Zmianom tym towarzyszy wzrost ekspresji receptora PPAR γ i jego koaktywatora PGC1 α , co sugeruje zaangażowanie tych ścieżek sygnałowych w przeciwzapalne właściwości badanej substancji.

Wykazane w obecnej rozprawie doktorskiej neuroprotekcyjne i przeciwzapalne właściwości amorfrutyny B stanowią silną przesłankę do wykorzystania amorfrutyny B jako substancji modelowej do opracowania nowych farmakoterapii udarów mózgu, które będą oddziaływać na różne typy komórek i posiadać szerokie okno terapeutyczne. W dalszej perspektywie, moje badania mogą przyczynić się do poprawy farmakoterapii chorób układu nerwowego i pomóc w identyfikacji nowych celów terapeutycznych opartych na selektywnej modulacji receptora PPAR γ .