



Kraków, 06.10.2025
Miejscowość, data

Michał Józef Wilczkowski

Streszczenie w języku polskim, rozprawy doktorskiej: „Regulacja plastyczności synaptycznej przez kortykosteron: badanie mechanizmów w kortykalnych oraz hipokampalnych hodowlach pierwotnych”.

Streszczenie

Plastyczność synaptyczna, jedna z form neuroplastyczności, leży u podłoża prawidłowego funkcjonowania mózgowia. W związku z tym, że dominujące w mózgowiu synapsy chemiczne zlokalizowane są na kolcach dendrytycznych, plastyczność synaptyczną można badać analizując morfologię i/lub gęstość kolców dendrytycznych. Nawet niewielkie odstępstwo od typowej morfologii kolców dendrytycznych, może prowadzić do zaburzeń działania na poziomie pojedynczej komórki oraz całej sieci neuronalnej. Dlatego, zrozumienie jak różne czynniki biologiczne wpływają na morfologię kolców dendrytycznych, tym samym plastyczność synaptyczną, jest kluczowe.

Jednym z czynników, które wpływają na morfologię kolców dendrytycznych, jest długotrwanie podwyższony poziom kortykosteronu (CORT). Chronicznie podwyższony poziom CORT, skutkuje redukcją liczby kolców neuronów kortykalnych i hipokampalnych oraz modyfikacją ich struktury. Jednakże, wciąż nie wiadomo, czy CORT jest bezpośrednim czynnikiem wywołującym zmiany morfologiczne kolców, a jeżeli tak, to w jakim stopniu i jakie konkretnie parametry struktury kolców ulegają zmianie w neuronach kortykalnych oraz hipokampalnych, za sprawą długotrwałego działania podniesionego poziomu CORT. Co więcej, ścieżki sygnałowe za pośrednictwem których CORT wpływa na strukturę kolców dendrytycznych, również nie zostały w pełni poznane. Jedno z białek, którego aktywność jest związana z reorganizacją struktury kolców i jednocześnie może być pośrednio modulowana przez CORT jest kinaza płytek przylegania (FAK). Pomimo przesłanek wskazujących na potencjalne zaangażowanie FAK w zmiany morfologiczne kolców dendrytycznych neuronów kortykalnych i hipokampalnych, wywołane długotrwanie podniesionym poziomem CORT, nadal brakuje jednoznacznych danych potwierdzających słuszność tej hipotezy.

Biorąc pod uwagę powyższe, pierwszym celem badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej, było zweryfikowanie hipotezy, że efektem zastosowania długotrwałe podniesionego poziomu CORT, będzie wywołanie zmian morfologicznych kolców dendrytycznych neuronów korykalnych oraz hipokampalnych, a następnie scharakteryzowanie obserwowanych zmian. Drugim celem była weryfikacja hipotezy zakładającej zaangażowanie FAK w zmiany morfologiczne kolców dendrytycznych neuronów korykalnych i hipokampalnych, wywołane przez długotrwałe podniesiony poziom CORT.

Aby zrealizować wyżej opisane cele, wykorzystano mysie, pierwotne hodowle korykalne oraz hipokampalne, które inkubowano długotrwałe w środowisku podwyższonego stężenia CORT, a następnie morfologię ich kolców dendrytycznych, wizualizowano i obrazowano przy użyciu mikroskopu konfokalnego oraz analizowano biorąc pod uwagę wybrane parametry struktury kolców. Ponadto, wykorzystując narzędzia farmakologiczne, takie jak aktywator oraz inhibitor białka FAK oraz stosując metody biologii molekularnej, takie jak reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR), analizowano rolę białka FAK w zmianach morfologicznych kolców dendrytycznych, wywołanych długotrwałe podniesionym poziomem CORT.

W pierwszym etapie badań, doświadczalnie wyznaczono stężenie CORT, które wywołuje odpowiedź w zakresie sygnalizacji glikokortykoidowej, jednocześnie nie wpływając na przeżywalność komórek pierwotnych oraz na ogólną morfologię neuronów. W kolejnym etapie, wykazano, że długotrwałe podniesiony poziom CORT, w odmienny sposób wpływa na morfologię kolców dendrytycznych pierwotnych neuronów hipokampalnych oraz korykalnych. W przypadku kolców neuronów korykalnych, wykazano tendencję wzrostową, zaś w przypadku kolców neuronów hipokampalnych, wykazano spadek, w zakresie ich przeciętnej długości. Dodatkowo, w przypadku komórek pierwotnych z obu tych regionów, wykazano spadek w zakresie szerokości głów kolców. W dalszych badaniach, wykazano, że manipulowanie aktywnością białka FAK, może odtwarzać bądź przeciwdziałać efektom CORT. W przypadku pierwotnych neuronów korykalnych, zaobserwowano, że zastosowanie inhibitora fosforylacji FAK, prowadzi do zmian w zakresie morfologii kolców, które są analogiczne do efektów długotrwałego działania CORT. Podobnych rezultatów nie zaobserwowano w przypadku pierwotnych komórek hipokampalnych. Z drugiej strony, poprzez zastosowanie aktywatora FAK, udało się przeciwdziałać zmianom w zakresie długości kolców i szerokości ich głów, w pierwotnych hodowlach korykalnych, ale nie hipokampalnych, gdzie aktywacja FAK przeciwdziała jedynie wywołanemu przez CORT, spadkowi przeciętnej szerokości głowy kolców, a pozostawała bez wpływu na zależny od

CORT, spadek w zakresie przeciętnej długości kolców. W dalszych badaniach, wykazano zależność od czasu trwania inkubacji komórek z CORT, zmiany w poziomie mRNA genu kodującego FAK, w komórkach korykalnych. Podobnych zmian nie wykazano w przypadku komórek hipokampalnych. W ostatnim etapie, wykazano brak wpływu długotrwale podniesionego poziomu CORT na poziom całkowitego i fosforylowanego białka FAK, zarówno w komórkach korykalnych jak i hipokampalnych.

Podsumowując, wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej, dostarczają nowych informacji o specyfice wpływu długotrwale podniesionego poziomu CORT na morfologię kolców dendrytycznych korykalnych oraz hipokampalnych neuronów pierwotnych. Ponadto, wykazano potencjalne zaangażowanie białka FAK w zmiany morfologiczne kolców dendrytycznych neuronów korykalnych oraz hipokampalnych w warunkach pozbawionych CORT, a także tych wywołanych CORT.

