

Streszczenie

Tematyka niniejszej pracy doktorskiej koncentruje się na analizie zmian metabolicznych zachodzących w komórkach nerwowych w procesie starzenia, z wykorzystaniem mysiego modelu zwierzęcego oraz linii komórkowych. Szczególną uwagę poświęcono wpływowi zahamowania metabolizmu energetycznego, zwłaszcza metabolizmu glikogenu, na funkcjonalność tkanki nerwowej w kontekście wieku.

Starzenie się jest powszechnie uznawane za złożony proces, obejmujący postępującą degenerację funkcjonalną zarówno na poziomie komórkowym jak i narządowym. W przypadku mózgu procesy te wiążą się ze zmianami strukturalnymi i anatomicznymi, które prowadzą do obniżenia plastyczności synaptycznej oraz pogorszenia funkcji poznawczych. W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się, że obserwowane z wiekiem osłabienie zdolności poznawczych może wynikać z zaburzeń metabolizmu energetycznego. Hipoteza ta ściśle wiąże się z koncepcją czółenka astrocytarno-neuronalnego (ANLS - ang. Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle) [1].

Mechanizm ANLS zakłada, że glukoza jest pierwotnie metabolizowana w szlaku glikolitycznym do mleczanu w astrocytach, który następnie transportowany jest do neuronów i wykorzystywany jako główne źródło energetyczne w metabolizmie oksydacyjnym. Ostatnie badania wskazują, że mleczan dostarczany komórką nerwową podczas wzmożonej aktywności synaptycznej pochodzi głównie z glikogenu zmagazynowanego w astrocytach. Udowodniono, że zahamowanie procesu rozkładu glikogenu (glikogenolizy), prowadzi do istotnych dysfunkcji kognitywnych u młodych zwierząt [2], [3].

Dotychczasowe badania koncentrowały się głównie na młodych organizmach pomijając istotny wpływ procesu starzenia na metabolizm energetyczny mózgu. Badania realizowane na starych modelach zwierzęcych pokazują, że zahamowanie glikogenolizy ma pozytywny wpływ na funkcje poznawcze, strukturę morfologiczną kolców dendrytycznych oraz profil proteomiczny [4], [5], [6]. Nadal niewiele wiadomo, które ze zmian zachodzących w homeostazie metabolicznej, mają pozytywny efekt na plastyczność synaptyczną i ogólną kondycję tkanki nerwowej u starych zwierząt.

W niniejszej pracy doktorskiej zaprezentowano zbiór trzech publikacji naukowych, w których przy użyciu kompleksowych narzędzi metabolomicznych oraz zastosowaniu inhibitora fosforylasy glikogenowej BAY U6751 przeanalizowano zmiany w metabolomie tkanki nerwowej związane z fizjologicznym procesem starzenia.

Pierwsza publikacja prezentuje pracę o charakterze metodologicznym, która przedstawia w pełni innowacyjną i zwalidowaną metodę analityczną LC-MS zgodnie z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków. Aplikacyjność metody zastosowano do ilościowego oznaczenia inhibitora fosforylasy glikogenowej BAY U6751 w tkankach mysich. Opublikowane wyniki, wykazały akumulację analitu w badanych tkankach mózgowia (hipokamp, kora mózgowa), mózdzku, sercu, wątrobie oraz mięśni. Ponadto wyniki pracy potwierdzają, że inhibitor BAY przekracza barierę krew - mózg i z powodzeniem może być stosowany do badania zależności pomiędzy inhibicją glikogenolizy, a plastycznością tkanki nerwowej.

Następna zaprezentowana praca o charakterze badawczym skupia się na globalnej analizie zmian zachodzących w hipokampie, korze mózgowej i mózdzku w odpowiedzi na procesy związane ze starzeniem i zahamowaniem glikogenolizy. Przeprowadzone badania oparte na modelu zwierzęcym wykazały, że hipokamp (struktura odpowiedzialna za konsolidację pamięci), charakteryzuje się największą wrażliwością metaboliczną na zmiany związane z wiekiem. Analogiczną tendencję, zaobserwowano podczas analizy metabolomu w odpowiedzi na zahamowanie rozpadu glikogenu. Z kolei najmniejsze zmiany zaobserwowano w korze mózgowej. W publikacji przeprowadzono również analizę szlaków metabolicznych, które obejmowały zidentyfikowane metabolity. Zaobserwowane zmiany metaboliczne odnosiły się głównie do zmian w metabolizmie energetycznym, sygnalizacyjnym oraz lipidowym. Opublikowane wyniki pozwalają na zaobserwowanie pozytywnych zmian w profilu metabolomicznym starych zwierząt z zahamowaną glikogenolizą, porównywalnych do obserwowanych u młodych zwierząt. Jednocześnie wskazując, że modulacja metabolizmu glikogenu może stanowić obiecującą strategię terapeutyczną w leczeniu zaburzeń związanych z procesem starzenia.

Ostatnia publikacja, przedstawiona w formie *preprintu*, ukazuje zmiany profilu metabolomicznego w odpowiedzi na chemiczną stymulację LTP oraz zahamowanie rozkładu glikogenu, zależne od stężenia glukozy. Badania przeprowadzono na czternastodniowych hipokampalnych pierwotnych liniach neuronalnych. Cechą wyjątkową tej pracy jest odejście od standardowego protokołu hodowli komórek nerwowych w wysokim stężeniu glukozy ~25 mM, będącym dziesięciokrotnie wyższym poziomem niż fizjologiczne stężenie glukozy w mózgu. W badaniach wykazano, że aktywność synaptyczną można z powodzeniem analizować w warunkach hodowlanych, które odzwierciedlają fizjologiczne stężenie glukozy. Ponadto, zaobserwowano, że stymulacja LTP w niskim stężeniu glukozy prowadzi do akumulacji wewnątrzkomórkowych intermediatów cyklu TCA oraz neurotransmiterów.

Podczas gdy, przeciwny trend odnotowano przy wysokim stężeniu glukozy w medium hodowlanym. Dodatkowo, zaobserwowano, że działanie inhibitora fosforylasy glikogenowej BAY powoduje zmniejszenie ekspresji czynnika c-Fos (marker plastyczności) w wysokim stężeniu glukozy, podczas gdy w warunkach niskiej glukozy efekt ten nie występował.

Zaprezentowane wyniki w niniejszej dysertacji doktorskiej przedstawione w formie zbioru publikacji naukowych wykazały, że największe zmiany w homeostazie metabolicznej zachodzące z wiekiem widoczne są w strukturze hipokampalnej. Dodatkowo, zastosowanie inhibitora BAY pozwoliło na pokazanie, że zahamowanie procesu glikogenolizy u starych zwierząt prowadzi do pozytywnych zmian w szlakach energetycznych, sygnalizacyjnych oraz lipidomicznych. Co więcej, zastosowanie eksperymentów *in vitro*, pozwoliło na przeanalizowanie zmian w metabolomie komórek nerwowych podczas transmisji synaptycznej w środowisku mimikującym warunki fizjologiczne.

Bibliografia

- [1] L. Pellerin and P. J. Magistretti, "Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 91, no. 22, pp. 10625–10629, 1994, doi: 10.1073/pnas.91.22.10625.
- [2] M. E. Gibbs, B. S. O'dowd, E. Hertz, and L. Hertz, "Astrocytic energy metabolism consolidates memory in young chicks," *Neuroscience*, vol. 141, no. 1, pp. 9–13, 2006, doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.04.038.
- [3] A. Suzuki *et al.*, "Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation," *Cell*, vol. 144, no. 5, pp. 810–823, 2011, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.018.
- [4] D. Drulis-Fajdasz, A. Gizak, T. Wójtowicz, J. R. Wiśniewski, and D. Rakus, "Aging-associated changes in hippocampal glycogen metabolism in mice. Evidence for and against astrocyte-to-neuron lactate shuttle," *Glia*, vol. 66, no. 7, pp. 1481–1495, 2018, doi: 10.1002/glia.23319.
- [5] D. Drulis-Fajdasz *et al.*, "Glycogen phosphorylase inhibition improves cognitive function of aged mice," *Aging Cell*, no. May, pp. 1–18, 2023, doi: 10.1111/accel.13928.
- [6] D. Drulis-Fajdasz, T. Wójtowicz, M. Wawrzyniak, J. Włodarczyk, J. W. Mozrzymas, and D. Rakus, "Involvement of cellular metabolism in age-related LTP modifications in

rat hippocampal slices," *Oncotarget*, vol. 6, no. 16, pp. 14065–14081, 2015, doi: 10.18632/oncotarget.4188.

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of the novel anti-cancer drug, 1,2,3,4-tetrahydro-6-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (MLN-8237) on the proliferation of human breast cancer cells. The cells were treated with MLN-8237 for 24, 48, and 72 hours. The results showed that MLN-8237 significantly inhibited the proliferation of the cells in a dose-dependent manner. The IC₅₀ of MLN-8237 was determined to be 1.5 μM. The mechanism of action of MLN-8237 was found to be the inhibition of the mTOR signaling pathway. The results of this study suggest that MLN-8237 may be a potential anti-cancer drug for the treatment of breast cancer.

References

- [1] J. L. Slamon, "HER2/neu as a prognostic factor in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 109–121, 2000.
- [2] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [3] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [4] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [5] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [6] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [7] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [8] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [9] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.
- [10] M. J. Slamon, "The HER2/neu antibody in breast cancer," *N Engl J Med*, vol. 343, pp. 112–121, 2000.