

STRESZCZENIE

Aktywności anty-cholinoesterazowe, przeciwutleniające i przeciwcukrzycowe owoców borówki czarnej (*Vaccinium myrtillus* L.) w kontekście choroby Alzheimer

Kamila Borowiec

Choroba Alzheimer jest schorzeniem neurozwyrodnieniowym będącym skutkiem nagromadzenia amyloidu β i hiperfosforylowanego białka tau. W rezultacie obserwuje się zmiany zanikowe tkanki nerwowej, dystrofię dendrytyczną i deficyt neuroprzekazników. Dużą rolę w patologii tego schorzenia odgrywają także enzymy: acetylocholinoesteraza i butyrylocholinoesteraza, które poza hydrolizą acetylocholino, przyczyniają się do zwiększenia toksyczności amyloidu β . Do czynników ryzyka rozwoju choroby Alzheimer należą m. in. stres oksydacyjny i cukrzyca typu 2. Wyróżniono również wspólne mechanizmy leżące u podstaw cukrzycy typu 2 i choroby Alzheimer. Jednakże coraz większa liczba roślin jest uznawana za źródło związków, które mogą zmniejszać ryzyko wystąpienia choroby Alzheimer lub odgrywać rolę w terapii tego schorzenia (np. huperdyna A, galantamina). W prezentowanej rozprawie doktorskiej wykazano, że ekstrakt z owoców borówki skutecznie hamował aktywność acetylo- i butyrylocholinesterazy. Następnie przeprowadzono badania zmierzające do wyizolowania i identyfikacji potencjalnych inhibitorów cholinoesteraz z owoców borówki czarnej z wykorzystaniem technik: HPLC, FT-IR, NMR i LC-MS. Oceniono wpływ wybranych warunków stosowanych w czasie produkcji soku z owoców borówki czarnej na zdolność soku do hamowania cholinoesteraz i aktywność przeciwutleniającą. Określono wpływ diety bogatej w owoce tej rośliny na wzrost, wybrane parametry biochemiczne krwi (w tym markery występowania cukrzycy) oraz procesy poznawcze u szczurów szczepu Wistar. Doświadczenia z udziałem zwierząt poprzedzono badaniami z wykorzystaniem linii komórkowych układu pokarmowego (Caco-2, IEC-6 i HepG2).

Stwierdzono, że owoce borówki czarnej stanowią źródło inhibitorów cholinoesteraz, wyizolowanych w niniejszej pracy i zidentyfikowanych jako pochodne kwasu chlorogenowego lub kwasu benzoowego. Wykazano, że zarówno krótkotrwałe wstępne rozparzanie owoców, jak również zastosowanie wybranych preparatów enzymatycznych podnosi aktywność przeciwutleniającą i zdolność do hamowania aktywności cholinoesteraz w soku z owoców borówki czarnej. Należy podkreślić, iż ultrafiltrat z owoców borówki czarnej nie wykazał aktywności mutagennej i cytotoksyczności wobec komórek służących jako model fragmentu przewodu pokarmowego człowieka (linie: Caco-2, IEC-6 i HepG2). Nie stwierdzono także wpływu ultrafiltratu z owoców borówki czarnej na proliferację i żywotność w/w linii komórkowych. Dodatkowo, zaobserwowano ochronne działanie ultrafiltratu z owoców borówki czarnej w stosunku do ludzkich hepatocytów (linia HepG2) w zakresie uszkodzeń oksydacyjnych. W trakcie badań z udziałem zwierząt doświadczalnych wykazano, że rezultatem 8-miesięcznej diety wzbogaconej w owoce borówki czarnej było obniżenie redukcji masy mózgowi, a także aktywności aminotransferazy asparaginianowej u dorosłych szczurów szczepu Wistar. Nie stwierdzono wpływu długotrwałego podawania szczurom owoców borówki na stężenie: glukozy, fruktozaminy i insuliny u zwierząt zdrowych i zwierząt z cukrzycą. Podawanie szczurom owoców borówki w dawce 5 g/kg m.c./dzień, przez trzy miesiące, wywołało poprawę pamięci krótko- i długotrwałej zwierząt doświadczalnych w porównaniu z osobnikami z grupy kontrolnej.

SUMMARY

Anticholinesterase, antioxidant and antidiabetic activities of bilberry fruit (*Vaccinium myrtillus* L.) in Alzheimer's disease

Kamila Borowiec

Alzheimer's disease is a result of a neurodegenerative process caused by accumulation of amyloid- β and hyperphosphorylated tau protein. The result is a loss of synaptic connections and somata, the dendritic dystrophy and deficits in the neurotransmitter levels. Crucial enzymes participating in the pathogenesis of Alzheimer's disease are acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. The enzymes catalyze the hydrolysis of acetylcholine and are involved in the pathogenesis of amyloid- β . A number of risk factors have been identified including oxidative stress and type 2 diabetes mellitus. Epidemiological and basic science evidence suggest a connection between Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. However, a growing body of evidence suggests that plants deliver various compounds which can reduce the risk of Alzheimer's disease or exert beneficial therapeutic role in the therapy of this disorder (e.g. huperzine A, galanthamine). In represented work it was showed that extract prepared from bilberry fruit effectively inhibited the activity of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. The purification of potential cholinesterase inhibitors from bilberry fruit followed by determination of their chemical structures using HPLC, FT-IR, NMR and LC-MS were carried out. Selected chemical and physical factors that influence the production of the juice from bilberry were tested, as well as the anticholinesterase and antioxidant activities of produced juice was examined. Nutritional, hypoglycemic and cognitive effects of ultrafiltrates from bilberry were tested using cell cultures (Caco-2, IEC-6 and HepG2) and in *in vivo* tests using male Wistar rats.

The presented results confirm that bilberry fruit is an interesting source of cholinesterase inhibitors, including derivatives of chlorogenic acid or benzoic acid, purified within the frames of this work. It was found that pre-heating of bilberry pulp as well as the use of selected enzyme preparations (during the juice production) increased the anticholinesterase and antioxidant activities of bilberry juice. It should be noted that bilberry ultrafiltrate did not exert mutagenic and cytotoxic effects as well as did not affect the proliferation and viability of cells in the selected cell lines (Caco-2, IEC-6 and HepG2). Additionally, the reduction of oxidative damage in HepG2 cells was also observed. It was found that the administration of bilberry fruit to adult Wistar rats for 8 months (in the diet) contributed to the maintainance of higher brain weight and to the good control of the ASPAT levels in adult Wistar rats. However, no differences in the blood glucose, fructosamine and insulin levels in normal and diabetic rats fed with bilberry and control animals were observed. The supplementation of the diet with bilberry fruit for 3 months (5 g/kg b.w./day) improved the short-term and long-term memory in adult Wistar rats, in comparison to control animals.