

## STRESZCZENIE

Wstęp: Choroba Parkinsona jest chorobą z grupy chorób neurodegeneracyjnych, rozwijającą się wskutek zaniku komórek dopaminergicznych w istocie czarnej mózgu. Głównymi czynnikami przyspieszającymi neurodegenerację są zaburzenia funkcji mitochondriów i stres oksydacyjny związany z obecnością reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species*, ROS). Dotychczas nie opracowano skutecznej terapii eliminującej przyczynę rozwoju choroby Parkinsona, a obecne metody skupiają się na leczeniu objawowym skutków utraty neuronów dopaminergicznych oraz łagodzeniu niekorzystnych efektów długotrwałego stosowania prekursorów dopaminy. Nonapeptyd RPKHPIKHQ (NP-POL) został wyizolowany z kompleksu polipeptydowego bogatego w prolinę – PRP, nazwanego później Colostryniną, odkrytego w 1981 roku w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. W badaniach klinicznych wykazano skuteczność Colostryliny w leczeniu choroby Alzheimera, a także właściwości ochronne peptydów składowych Colostryliny na neurony dopaminergiczne, co wskazuje na ich potencjalne zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu choroby Parkinsona. Najnowsze badania dowodzą również, że podobne właściwości immunoregulatorowe, neuroochronne i prokognitywne Colostryliny posiada kompleks polipeptydowy towarzyszący immunoglobulinie Y z żółtka jaja kurzego - yolkina.

Cel pracy: W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań, których głównym celem było wyjaśnienie molekularnych mechanizmów potencjalnego neuroprotekcynnego działania nonapeptydu NP-POL. Ponadto sprawdzono prokognitywne działanie kompleksu polipeptydowego Y (yolkiny) z żółtka jaja kurzego.

Materiały i metody: Przeanalizowano wpływ NP-POL na ochronę wypustek nerwowych oraz przeżywalność komórek neuropodobnych linii PC12 w obecności toksycznych produktów metabolizmu dopaminy oraz w odpowiedzi na stres oksydacyjny indukowany nadtlenkiem wodoru. Oznaczono również aktywność antyoksydacyjną NP-POL oraz jego wpływ na ekspresję czynnika neurotroficznego BDNF. Zbadano prokognitywne działanie yolkiny i preparatów z siary (Colostrynina, Coloco-PRP) w modelu zwierzęcym, stosując testy behawioralne: otwartego pola, labiryntu wodnego i rozpoznawania obiektów.

Wyniki: NP-POL w warunkach stresu oksydacyjnego wykazywał działanie neuroochronne, przejawiające się wzrostem przeżywalności neuronów, ochroną wypustek nerwowych, oraz aktywacją wewnątrzkomórkowych mechanizmów systemu ochrony antyoksydacyjnej.

NP-POL był także zdolny do aktywacji kinaz ERK 1/2 aktywujących czynniki transkrypcyjne odpowiedzialne za ekspresję genów kontrolujących procesy przeżycia i neuroprotekcji. W modelu zwierzęcym yolkina wykazała silne właściwości prokognitywne, porównywalne z substancjami pochodzącymi z siary.

Wnioski: Przedstawione wyniki badań wskazują na potencjalne możliwości zastosowania NP-POL w zapobieganiu i leczeniu chorób neurodegeneracyjnych, w szczególności choroby Parkinsona. Potwierdzono prokognitywne działanie kompleksu polipeptydowego Y, który ze względu na swoje właściwości neuroochronne, podobnie jak preparaty wyizolowane z siary może znaleźć zastosowanie terapeutyczne w leczeniu chorób o podłożu neurodegeneracyjnym.

## ABSTRACT

Background: Parkinson's Disease (PD) is one of the neurodegenerative diseases, caused by chronic and progressive loss of dopamine containing neurons in the substantia nigra pars compacta. The mechanisms involved in neurodegeneration are mainly generation of reactive oxygen species (ROS), inhibition of mitochondrial complex I and alterations in protein forming and protein degradation. As yet there is no therapy that treats the underlying cause of PD. The current treatments do not prevent the continuing loss of dopamine neurons, and eventually treatment-related side effects result in severe disability. RPKHPIKHQ nonapeptide (NP-POL) is one of the peptides comprising the protein complex PRP/Colostrinin, isolated for the first time by Janusz and colleagues in 1981. The research on the properties of Colostrinin shown that this complex of proteins have the potential preventive properties in neurodegenerative diseases, particularly Alzheimer's Disease. According to a patent description of peptide (RPKHPIKHQ), it was reported to have protective properties also on dopaminergic neurons. Thus it can be assumed that it could have possible therapeutic significance on PD. Recent studies also confirmed that polypeptide complex associated with a major avian immunoglobulin class IgY present in egg yolk, called yolkin, shows strong similarities to colostrum-derived substances in terms of its regulatory and pro-cognitive properties.

Aim of the study: The purpose of the studies performed was to show the molecular and enzymatic mechanisms lying at the root of neuroprotective effects of NP-POL. Also, the studies were performed to assess the effect of the polypeptide Y complex, isolated from chicken egg yolk, on behavioral and cognitive functions.

Materials and methods: The protective properties of NP-POL was studied in neuron-like PC12 cells in response to toxic dopamine metabolites and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Analyses included also the antioxidant activity of NP-POL and its effects on the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). In the study, the effect of yolkin, administered to rats of different ages, who performed various tasks involving spatial and episodic memory, motor functions and exploratory behavior, was assessed, including an open field test, a novel object recognition test and a Morris water maze.

Results: The results showed neuroprotective activity of NP-POL in the oxidative stress condition, including the regulation of cell survival, neurite protection, ROS release and intracellular antioxidant mechanisms. Furthermore, NP-POL has an effect on the activation of ERK1/2 kinases, involved in regulating the expression of genes related to cell survival

and neuroprotection. The presented study shows strong procognitive capabilities of a chicken egg-yolk derived preparation known as yolkin. Some age-related cognitive deficits seemed to be restored during the yolkin treatment, i.e., increased recognition of the novel object in the testing area or higher effectiveness in localizing the target zone in the water maze.

Conclusions: The studies included in the dissertation indicate that NP-POL is potential neuroprotective agent with potential preventive and therapeutic application in neurodegenerative conditions, particularly in Parkinson's Disease. The applied behavioral animal model of age-related cognitive dysfunctions has revealed the efficacy of yolkin in improving spatial and episodic memory, due to the neuroprotective and immunomodulatory properties, in parallel with Colostrinin and Coloco-PRP. Therefore, it may be used to enhance cognitive functions and inhibit the progression of dementia in the course of neurodegenerative disorders.