

Magdalena Narbutowicz, Bożena Regulska-Iłow

Znaczenie suplementacji w regulacji zaburzeń strukturalnych oraz funkcjonalnych w ośrodkowym układzie nerwowym u osób z zespołem Downa

The role of supplementation in the regulation of structural and functional central nervous system disorders among patients with Down syndrome

Zakład Dietetyki, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Adres do korespondencji: Bożena Regulska-Iłow, Zakład Dietetyki, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Parkowa 34, 51-616 Wrocław, tel.: +48 500 270 692, e-mail: bozena.regulska-ilow@umed.wroc.pl

Department of Dietetics, Faculty of Health Sciences, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

Correspondence: Bożena Regulska-Iłow, Department of Dietetics, Faculty of Health Sciences, Wrocław Medical University, Parkowa 34, 51-616 Wrocław, tel.: +48 500 270 692, e-mail: bozena.regulska-ilow@umed.wroc.pl

Streszczenie

Zespół Downa jest najczęstszą genetyczną przyczyną niepełnosprawności intelektualnej u ludzi, wynikającą z obecności dodatkowego chromosomu 21. W ciągu ostatnich kilku lat dokonano znacznego postępu w pogłębieniu wiedzy na temat zaburzeń na poziomie molekularnym oraz strukturalnym i funkcjonalnym narządów i układów u osób z zespołem Downa. Otrzymane wyniki badań skłoniły wielu naukowców do podjęcia prób zastosowania substancji bioaktywnych *in vivo* i *in vitro* w celu zahamowania zaburzeń w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Zastosowanie suplementów w postaci galusanu epigallockatechiny (*epigallocatechin gallate*, EGCG) przyczynia się do poprawy funkcjonowania mitochondriów w neuronach, obniżenia nadekspresji genu *DYRK1A* oraz ograniczenia nadprodukcji reaktywnych form tlenu. Przyjmowanie określonych dawek resweratrolu wpływa na poprawę funkcjonowania mitochondriów, zwiększenie proliferacji komórek progenitorowych w hipokampie oraz podobnie jak kurkumina i sok z granatu hamuje przedwczesne starzenie organizmu i zapobiega wystąpieniu choroby Alzheimera. Zaobserwowano ponadto, iż zastosowanie suplementów choliny w okresie ciąży u zwierząt doświadczalnych zdrowych i z trisomią przyczyniło się do stymulacji neurogenetyki w hipokampie, poprawy koncentracji, nastroju oraz funkcjonowania procesów poznawczych u potomstwa.

Słowa kluczowe: zespół Downa, galusan epigallockatechiny, resweratrol, kurkumina, cholina

Abstract

Down syndrome is the most common genetic cause of intellectual disability in humans, which results from the presence of an extra chromosome 21. Significant progress has been made over the past years in expanding knowledge on molecular, structural and functional abnormalities in patients with Down syndrome. The obtained findings encouraged many scientists to attempt to use bioactive substances in *in vivo* and *in vitro* settings to inhibit central nervous system disorders. The use of supplements in the form of epigallocatechin gallate (EGCG) contributes to improved mitochondrial function in neurons, reduced *DYRK1A* overexpression and limited overproduction of reactive oxygen species. Certain doses of resveratrol improve mitochondrial function, increase hippocampal progenitor cell proliferation and, similarly to curcumin and pomegranate juice, inhibit premature ageing and prevent Alzheimer's disease. Furthermore, it was observed that the use of choline supplements during pregnancy in healthy and trisomic experimental animals contributed to the stimulation of hippocampal neurogenesis, improved concentration, mood and cognitive functions in the offspring.

Keywords: Down syndrome, epigallocatechin gallate, resveratrol, curcumin, choline

WSTĘP

Zespół Downa jest najczęściej występującą aberracją ludzkich chromosomów autosomalnych, charakteryzującą się obecnością dodatkowego chromosomu 21. w karyotypie. Obecność dodatkowego chromosomu 21. prowadzi do wad narządowych i zaburzeń w prawidłowym funkcjonowaniu, w tym dysmorfizmu tkankowego, zaburzeń neurologicznych, endokrynologicznych, pokarmowych, sercowo-naczyniowych, immunologicznych oraz metabolicznych⁽¹⁾. U osób z zespołem Downa występuje nadekspresja genów, głównie *DYRK1A* (*dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A* – kinazy 1A o podwójnej specyficzności regulowanej fosforylacją tyrozyny), *Cu/ZnSOD* (*copper- and zinc-containing superoxide dismutase* – dysmutazy nadadtlenkowej SOD zależnej od jonów Cu/Zn) i *MnSOD* (*manganese superoxide dismutase* – dysmutazy nadadtlenkowej SOD zależnej od Mn). Nadekspresja genu *DYRK1A* prowadzi do upośledzenia funkcji poznawczych, procesów nauczania i zapamiętywania, dysfunkcji neuronów oraz przedwczesnego wystąpienia choroby Alzheimera. Nadekspresja genów kodujących enzymy układu antyoksydacyjnego oraz brak równowagi pomiędzy *Cu/ZnSOD* a innymi enzymami antyoksydacyjnymi, katalazą i peroksydazą glutationową, jak również zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów polegające na zmniejszeniu produkcji energii są przyczyną zwiększonej syntezy reaktywnych form tlenu (RFT) oraz nasilenia stresu oksydacyjnego^(2,3). Aby zahamować przedwczesne starzenie organizmu, zmniejszyć ryzyko rozwoju choroby Alzheimera, poprawić funkcje poznawcze, stymulować neurogenezę hipokampa oraz poprawić komfort i jakość życia osób z zespołem Downa, przeprowadzono liczne badania *in vivo* i *in vitro* z wykorzystaniem suplementów diety, takich jak EGCG (*epigallocatechin gallate* – galusan epigalokatechiny), resweratrol, kurkumina, cholina, jako związków o potencjalnym działaniu terapeutycznym u osób z zespołem Downa⁽³⁻⁵⁾.

BIODOSTĘPNOŚĆ, ZASADNOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA EGCG

Galusan epigalokatechiny jest główną katechiną zawartą w liściach zielonej herbaty (*Camellia sinensis*, 50–80% zawartości w suchej masie)⁽⁶⁾. Katechina ta może przenikać przez barierę krew–mózg oraz przez barierę łożyskową⁽⁷⁾. EGCG wykazuje działanie antyoksydacyjne, bezpośrednio reagując z białkami i lipidami błony komórkowej, poprzez regulację szlaków przekazywania sygnałów oraz czynniki transkrypcyjne. Wykazano między innymi, że substancja ta podwyższa pojemność antyoksydacyjną osocza, zmniejsza stężenie markerów produktów peroksydacji lipidów⁽⁸⁾, a także wykazuje działanie przeciwzapalne⁽⁹⁾. Autorzy prac wskazują na możliwości wykorzystania EGCG jako naturalnego inhibitora ekspresji genu *DYRK1A*, którego nadekspresja prowadzi do zaburzeń strukturalnych oraz funkcjonalnych

INTRODUCTION

Down syndrome is the most common autosomal chromosome aberration in humans, which is characterised by the presence of an extra chromosome 21 in the karyotype. This additional chromosome 21 is responsible for organ defects and dysfunctions, including tissue dysmorphism as well as neurological, endocrine, nutritional, cardiovascular, immunological and metabolic disorders⁽¹⁾. Patients with Down syndrome show overexpression of some genes, mainly *DYRK1A* (*dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A*), *Cu/ZnSOD* (*copper- and zinc-containing superoxide dismutase*) and *MnSOD* (*manganese superoxide dismutase*). *DYRK1A* overexpression results in cognitive dysfunction, learning and memory difficulties, neuronal impairment and early-onset Alzheimer's disease. Overexpression of genes coding for antioxidant enzymes and an imbalance between *Cu/ZnSOD* and other antioxidant enzymes, catalase and glutathione peroxidase as well as mitochondrial dysfunction in the form of energy underproduction lead to increased synthesis of reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress^(2,3). Many *in vivo* and *in vitro* studies using dietary supplements, such as epigallocatechin gallate (EGCG), resveratrol, curcumin and choline as compounds with potential therapeutic effects, were conducted in patients with Down syndrome to inhibit premature ageing, reduce the risk of Alzheimer's disease, improve cognitive functions, stimulate hippocampal neurogenesis as well as improve comfort and life quality in these patients⁽³⁻⁵⁾.

BIOAVAILABILITY, RATIONALE AND SAFETY OF EGCG

Epigallocatechin gallate is the major catechin found in green tea leaves (*Camellia sinensis*, 50–80% dry matter content)⁽⁶⁾. The catechin can cross the blood-brain barrier and the placental barrier⁽⁷⁾. EGCG exhibits antioxidant activity by reacting directly with proteins and lipids in the cell membrane, modulating signaling pathways as well as via transcription factors. It was demonstrated, among other things, that this substance increases plasma antioxidant capacity, reduces the levels of markers of lipid peroxidation products⁽⁸⁾ as well as has anti-inflammatory activity⁽⁹⁾. The authors suggest the possible use of EGCG as a natural inhibitor of *DYRK1A*, which overexpression results in central nervous system (CNS) structural and functional disorders, increased oxidative stress, and an early onset of Alzheimer's disease in patients with Down syndrome^(10,11).

A randomised, placebo-controlled trial in healthy volunteers showed that EGCG or decaffeinated green tea extract containing 60% EGCG administered at a dose of 800 mg of EGCG daily is safe and well-tolerated⁽¹²⁾. Mild adverse effects observed during the study included nausea, abdominal pain, muscle pain and dizziness. Long-term administration

w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), nasilenia stresu oksydacyjnego oraz do przyspieszonego rozwoju choroby Alzheimera u osób z zespołem Downa^(10,11).

Autorzy randomizowanego badania z placebo przeprowadzonego z udziałem zdrowych ochotników stwierdzają, że EGCG lub bezkofeinowy ekstrakt z zielonej herbaty zawierający 60% EGCG, podawany w dawce 800 mg EGCG raz dziennie przez okres 4 tygodni, został uznany za bezpieczny i dobrze tolerowany przez organizm⁽¹²⁾. Objawy niepożądane o charakterze łagodnym, które wystąpiły podczas badania, obejmowały nudności, bóle brzucha, bóle mięśniowe oraz zawroty głowy. W efekcie długotrwałego podawania EGCG lub bezkofeinowego ekstraktu z zielonej herbaty zaobserwowano 600-procentowy wzrost biodostępności w porównaniu ze stanem z początku badania. Podawanie suplementu w dwóch dawkach po 400 mg 2 razy dziennie nie spowodowało wzrostu biodostępności pod koniec badania. Czas półtrwania EGCG pochodzącego z preparatu bezkofeinowego w ostatnim dniu badania wynosił $163,0 \pm 56,2$ min, co wskazuje, że nie występuje zjawisko kumulacji w organizmie.

Ullmann i wsp.⁽¹³⁾ analizowali skutki wielokrotnego podawania 1 kapsułki EGCG w dawce 0, 200, 400, 800 mg dziennie u płci męskiej, stwierdzając bardziej dynamiczny wzrost biodostępności przy maksymalnej dawce. U jednego z uczestników, który otrzymywał maksymalną dawkę, autorzy odnotowali odwracalny wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej.

Dane dotyczące biodostępności EGCG w zależności od podania na czczo lub z posiłkiem przedstawili Naumovski i wsp.⁽¹⁴⁾ W badaniu trzej mężczyźni i jedna kobieta przyjmowali kapsułki EGCG w dawce 2×250 mg na czczo z wodą (100 ml) bądź z lekkim śniadaniem (50 g pieczywa i 200 ml mleka pełnotłustego), ewentualnie spożywali 500 mg EGCG rozpuszczonego w 200 ml sorbetu truskawkowego. Autorzy badania zaobserwowali najwyższe stężenie EGCG w surowicy u pacjentów, którzy spożyli kapsułki na czczo popite wodą. Maksymalne stężenie EGCG po przyjęciu kapsułek na czczo odnotowano po 1 godzinie i wynosiło ono $824,2 \pm 75,1$ ng/ml, z kolei po pobraniu ze śniadaniem lub sorbetem truskawkowym po 2 godzinach stężenie wynosiło odpowiednio $231,8 \pm 134,3$ ng/ml i $218,0 \pm 160,0$ ng/ml.

BADANIA *IN VITRO* Z WYKORZYSTANIEM KOMÓREK HODOWLANYCH

Wpływ EGCG na funkcjonowanie mitochondriów w fibroblastach i limfoblastach pozyskanych od osób z zespołem Downa

Chociaż mechanizmy zaburzeń funkcjonowania neuronów w OUN u osób z zespołem Downa nie zostały do końca poznane, w wielu badaniach na modelach zwierzęcych^(15,16) z dodatkową kopią chromosomu 21. wykazano, że u osób

of EGCG and decaffeinated green tea extract resulted in a 600% increase in bioavailability compared to baseline. Administration of the supplement at two 400 mg doses twice daily did not increase the bioavailability at the end of the study. The half-time of EGCG contained in decaffeinated formulation was 163.0 ± 56.2 minutes on the last day of the study, which indicates that there is no accumulation in the body.

Ullmann et al.⁽¹³⁾ analysed the effects of repeated administration of one EGCG capsule at doses of 0, 200, 400 and 800 mg daily in males and found a more dynamic increase in bioavailability for the highest dose. The authors observed a reversible increase in alanine aminotransferase activity in the patient receiving the maximum dose.

Naumovski et al.⁽¹⁴⁾ presented their data on the bioavailability of EGCG depending on whether administered on an empty stomach or with a meal. Three men and one woman received EGCG capsules at a dose of 2×250 mg with water (100 mL) on an empty stomach or with light breakfast (50 g of bread and 200 mL of milk) or consumed 500 mg of EGCG dissolved in 20 mL strawberry sorbet. The authors observed the highest EGCG serum levels in fasted patients receiving capsules with water. The maximum EGCG levels following capsule administration under fasting conditions were observed after 1 hour and were 824.2 ± 75.1 ng/mL, while the same levels after administration with breakfast or sorbet were 231.8 ± 134.3 ng/mL and 218.0 ± 160.0 ng/mL, respectively, and were observed after 2 hours.

IN VITRO STUDIES USING CULTURED CELLS

The effects of EGCG on mitochondrial function in fibroblasts and lymphoblasts from patients with Down syndrome

Although the mechanisms of CNS neuronal dysfunction in patients with Down syndrome are not fully understood, it was demonstrated in a number of animal models with an extra copy of the 21st chromosome^(15,16) that CNS mitochondrial dysfunction is one of the causes of increased oxidative stress, cognitive dysfunctions, mental retardation and premature ageing. Mitochondrial dysfunctions include ATP synthesis deficiency, decreased ADP/ATP translocase and adenyl kinase activity as well as structural abnormalities in electron transport chain complex I⁽³⁾.

Valenti et al.⁽³⁾ assessed the potential of EGCG in the modulation of oxidative phosphorylation by preventing its decrease and promoting mitochondrial biogenesis in the cells from patients with Down syndrome. The study used cultured cells, including fibroblasts and lymphoblasts with 20 μ M EGCG. The authors showed that 20 μ M EGCG increased the activity of electron transport chain complex V and I by improving oxidative phosphorylation and increasing ATP production. Decreased superoxide anion overproduction, increased hydrogen peroxide levels and the absence of changes in the activity of antioxidant enzymes,

w tej grupie jedną z przyczyn występującego nasilonego stresu oksydacyjnego, zaburzeń funkcji poznawczych, upośledzenia umysłowego i przedwczesnego procesu starzenia organizmu jest zaburzona praca mitochondriów w OUN. Zaburzenia funkcji mitochondriów obejmują deficyt syntezy ATP, deficyt w aktywności translokazy ADP/ATP i kinazy adenylowej oraz zaburzenia strukturalne w kompleksie I łańcucha oddechowego⁽³⁾.

Valenti i wsp.⁽³⁾ ocenili potencjał EGCG w regulacji procesu fosforylacji oksydacyjnej poprzez zapobieganie spadkowi jej wydajności oraz w promowaniu biogenezy mitochondrialnej w komórkach u osób z zespołem Downa. Badania były przeprowadzone na komórkach hodowlanych, w tym fibroblastach i limfoblastach, do których dodano 20 µM EGCG. Autorzy wykazali, że 20 µM EGCG powoduje wzrost aktywności kompleksu V i kompleksu I łańcucha oddechowego poprzez polepszenie procesu fosforylacji oksydacyjnej oraz wzrost produkcji ATP. Stwierdzono zmniejszenie nadprodukcji anionu nadtlenkowego, wzrost stężenia nadtlenu wodoru oraz brak zmian w aktywności enzymów antyoksydacyjnych, w tym MnSOD i Cu/ZnSOD. Badacze zaobserwowali, że EGCG neutralizuje zaburzenia w produkcji energii w mitochondriach, promuje biogenezę mitochondrialną, zapobiega nadprodukcji RFT oraz peroksydacji lipidów błon komórkowych.

Resweratrol (3,5,4'-trihydroksy-*trans*-stilben) jest polifenolem o budowie stilbenu, zaliczanym do fitoestrogenów. Powstaje w skórcie winogron oraz w naskórku liści w odpowiedzi na stres oksydacyjny wywołany uszkodzeniem tkanek, narażeniem na promieniowanie UV, niedoborem wody bądź w odpowiedzi na infekcje grzybicze^(17,18). Na skalę przemysłową resweratrol pozyskiwany jest między innymi przez wprowadzanie roślinnych szlaków metabolicznych do mikroorganizmów, np. bakterii *Escherichia coli* czy drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Ponadto bakterie *Escherichia coli* są zdolne do syntezy resweratrolu w podłożu z dodatkiem kwasu *p*-kumarowego bądź kwasu kawowego. Tak zmodyfikowane mikroorganizmy są zdolne zsyntetyzować ponad 100 mg/dm³ resweratrolu⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Resweratrol jest wchłaniany w jelicie cienkim. Odnacza się niską absorpcją, ze względu na szybki rozkład w świetle jelicita cienkiego i w wątrobie. Okres połowicznego rozpadu wynosi 8–14 minut. Związek ten jest przekształcany w wątrobie, przy udziale cytochromu P450, do piceatannolu (3,3',4',5'-tetrahydroksystilbenu) oraz tetrahydroksystilbenu o symbolu M1. Ostatecznymi jego metabolitami są związki sprzężone z kwasem siarkowym bądź glukuronowym, obecne we krwi do 9 godzin, a następnie wydalane z moczem oraz kałem⁽²²⁾.

Resweratrol wykazuje szereg właściwości biologicznych, w tym neuroprotektoryjne^(23,24), przeciwzapalne⁽²⁵⁾, antyoksydacyjne i kardioprotekcyjne^(26,27), jednakże dokładny mechanizm molekularny działania *in vivo* i *in vitro* nie jest do końca znany. Prawdopodobnie działanie tego bioaktywnego związku związane jest z modulowaniem procesów komórkowych, takich jak aktywowanie kinazy białkowej

including MnSOD and Cu/ZnSOD, were detected. The investigators observed that EGCG neutralises impaired mitochondrial energy production, promotes mitochondrial biogenesis as well as prevents ROS overproduction and membrane lipid peroxidation.

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-*trans*-stilbene) is a polyphenol with stilbene structure, classified into phytoestrogens. It is produced in the skin of grapes and in the leaf epidermis in response to oxidative stress caused by tissue damage, exposure to UV, water deficiency or in response to fungal infections^(17,18). On an industrial scale, resveratrol is obtained, among other things, by engineering plant metabolism into microbes, such as *Escherichia coli* or *Saccharomyces cerevisiae*. Furthermore, *Escherichia coli* is able to synthesise resveratrol in *p*-coumaric acid- or caffeic acid-enriched medium. These modified microbes are able to synthesise more than 100 mg/dm³ of resveratrol⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Resveratrol is absorbed in the small intestine. Its absorption is low due to rapid decomposition in the small bowel and liver. The half-life is 8–14 minutes. The compound is metabolised in the liver via the cytochrome P450 to piceatannol (3,3',4',5'-tetrahydroxystilbene) and tetrahydroxystilbene M1. Compounds conjugated with sulphuric or glucuronic acid, which remain in the bloodstream for up to 9 hours before excretion in the urine or faeces, are its final metabolites⁽²²⁾.

Resveratrol exhibits multiple biological properties, including neuroprotective^(23,24), anti-inflammatory⁽²⁵⁾, antioxidant and cardioprotective^(26,27) activities, however, the exact molecular mechanism of its *in vivo* and *in vitro* activity is not fully understood. Probably, the activity of this bioactive compound involves modulating cellular processes, such as activation of the AMP-activated protein kinase, i.e. kinase responsible for integration and modulation of the systemic and cellular energy status, sirtuin 1 (SIRT 1) and sirtuin 3 responsible for the regulation of energy and metabolic cellular processes as well as PGC-1α (peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α) protein, which plays a major role in the regulation of gluconeogenesis and hepatic β-oxidation of fatty acids^(28,29).

Almeida et al.⁽³⁰⁾ conducted a study in 2009 to evaluate the pharmacokinetics and safety of *trans*-resveratrol in healthy volunteers. Patients were divided into 4 groups (10 patients each) – each group included 2 patients receiving placebo and 8 patients receiving one of four *trans*-resveratrol doses: 25, 50, 100 or 125 mg 6 times daily for 13 weeks. The authors observed the highest bioavailability of *trans*-resveratrol in fasting patients. The mean half-life after ingestion of a single dose was 1–3 hours and 2–5 hours for subsequent doses. Adverse effects of supplementation were mild and affected only 3 of 8 patients, who experienced headache, dizziness and muscle pain in the lower limbs. Despite studies demonstrating the benefits of resveratrol in neurodegenerative diseases⁽³¹⁻³³⁾, Kumar et al.⁽⁴⁾ showed that the therapeutic effects of this substance are closely correlated with the administered dose. The authors found that resveratrol

aktywowanej przez AMP, tj. kinazy integrującej i regulującej systemowy i komórkowy stan energetyczny organizmu, enzymów sirtuina 1 (SIRT 1) i sirtuina 3 regulujących procesy energetyczne i metaboliczne w komórce oraz białka PGC-1 α (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α* – koaktywator receptora PRAR), który odgrywa główną rolę w regulacji glukoneogenezy i β -oksydacji kwasów tłuszczowych w wątrobie^(28,29).

Almeida i wsp.⁽³⁰⁾ przeprowadzili w 2009 roku badania farmakokinetyki i bezpieczeństwa stosowania *trans*-resweratrolu u zdrowych ochotników. Badanych podzielono na 4 grupy po 10 osób – w każdej dziesiątce 2 osoby otrzymywały placebo, a 8 jedną z czterech dawek *trans*-resweratrolu: 25, 50, 100 i 150 mg 6 razy dziennie przez 13 tygodni. Autorzy badania zaobserwowali, że najwyższa biodostępność *trans*-resweratrolu występowała na czczo. Średni okres półtrwania po spożyciu pojedynczej dawki wynosił 1–3 godzin i 2–5 godzin przy kolejno spożytych dawkach. Objawy uboczne suplementacji były łagodne i dotyczyły jedynie 3 z 8 osób, u których zaobserwowano bóle głowy, zawroty głowy, bóle dolnych mięśni kończyn. Mimo badań świadczących o korzyściach ze stosowania resweratrolu w chorobach neurodegeneracyjnych^(31–33) Kumar i wsp.⁽⁴⁾ wykazali, że efekty terapeutyczne tej substancji są ściśle skorelowane z przyjmowaną dawką. Autorzy badania stwierdzili, że przy dawce 1, 10, 20 μ M resweratrol stymuluje proliferację NPC (*neural progenitor cells* – progenitory neuronalne) w hipokampie oraz komórek macierzystych hipokampa szczurów. Wyższe dawki (50 i 100 μ M) wykazują działanie odwrotne – hamują proliferację komórek progenitorowych oraz komórek macierzystych. Spośród testowanych dawek największy wzrost komórek NPC zaobserwowano przy 10 μ M. Ponadto podanie resweratrolu w dawce 20 mg/kg m.c. szczurom istotnie zwiększa liczbę nowo wytworzonych komórek w hipokampie, zwiększając tym samym poziom czynnika transkrypcyjnego CREB (*cAMP response element-binding protein* – białko wiążące się z elementami odpowiedzi na cAMP) oraz SIRT 1 – białek zaangażowanych odpowiednio w przeżycie neuronów i przedłużenie długości życia.

W badaniu dotyczącym bezpieczeństwa stosowania *trans*-resweratrolu u szczurów Crowell i wsp.⁽³⁴⁾ wykazali, iż suplementacja resweratrolem w dawce 3 g/kg m.c./dobę przez okres 4 tygodni u zwierząt doświadczalnych powodowała spadek masy ciała oraz utratę apetytu. Innymi skutkami ubocznymi suplementacji były zwiększone stężenia kreatyniny, aminotransferazy alaninowej, fosfatazy alkalicznej, bilirubiny całkowitej oraz albuminy w surowicy krwi. Stwierdzono również zmniejszone stężenie hemoglobiny, hematokrytu, liczby erytrocytów i leukocytów. Suplementacja w dawkach przekraczających 3 g/kg m.c./dobę spowodowała oprócz powyższych skutków ubocznych także zmiany histopatologiczne w nerkach oraz pęcherzyku żółciowym o charakterze hiperplazji. Przy suplementacji resweratrolem w dawce 1 g/kg m.c./dobę przez okres 4 tygodni autorzy zaobserwowali jedynie spadek masy ciała u samic oraz leukocytozę u samców. Przy dawce 0,3 g/kg m.c./dobę nie odnotowano powyższych skutków ubocznych.

doses of 1, 10 and 20 μ M stimulate hippocampal neural progenitor cell (NPC) proliferation and hippocampal stem cell proliferation in rats. Higher doses (50 and 100 μ M) show a reverse effect – they inhibit progenitor and stem cell proliferation. Of the tested doses, the highest NPC growth was observed at 10 μ M. Furthermore, resveratrol at a dose of 20 mg/kg body weight significantly increased the number of newly generated cells in rat hippocampus, thus increasing the level of transcription factor known as cAMP response element-binding protein (CREB) and SIRT 1 – proteins involved in neuronal survival and prolongation of life-span.

Crowell et al.⁽³⁴⁾ showed in their study on the safety of *trans*-resveratrol in rats that resveratrol supplementation at a dose of 3 g/kg body weight for 4 weeks led to reduced body weight and a loss of appetite in the experimental animals. Other adverse effects of supplementation included increased serum levels of creatinine, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin and albumin. Also, decreased levels of haemoglobin, hematocrit, red blood cell and white blood cell count were observed. Supplementation of doses exceeding 3 g/kg body weight induced, in addition to the above mentioned adverse effects, hyperplastic histopathological lesions in the kidneys and the gallbladder. Resveratrol supplemented at a dose of 1 g/kg body weight for 4 weeks caused body weight reduction in females and leukocytosis in males, as reported by the authors. None of the above adverse effects were reported for a dose of 0.3 g/kg body weight per day.

Valenti et al.⁽³³⁾ administered EGCG and resveratrol in the progenitor cells (NPC) in the hippocampus obtained from Ts65Dn mice or wild-type mice (wt) and assessed the effects of these compounds on mitochondrial function. The doses were 20 μ M for EGCG and 10 μ M for resveratrol. The assessed parameters included ATP production in oxidative phosphorylation, NPC proliferation, electron transport chain complex activity and ROS generation in NPCs. The authors observed that resveratrol and EGCG prevented complex I and V dysfunction in the process of oxidative phosphorylation in Ts65Dn mice. Both EGCG and resveratrol induced enhanced NPC proliferation in Ts65Dn mice to the levels observed in wt mice after 24 hours. Furthermore, EGCG and resveratrol added to cell lines induced an increased activity of PGC-1 α coactivator, NRF-1 (nuclear respiratory factor 1) transcription factors and TAM (tamoxifen) involved in the mitochondrial biogenesis up to the levels reported for wt cells. The authors observed that resveratrol doses of 10 μ M or EGCG doses of 20 μ M supplemented in Ts65Dn mice caused similar therapeutic effects in the form of improved mitochondrial function.

Patients with Down syndrome are at an increased risk of Alzheimer's disease at a relatively young age. Increased risk of Alzheimer's disease is not observed in patients affected by disabilities, but without Down syndrome, which is due to an overexpression of *APP* (amyloid precursor protein) gene, which is located on chromosome 21. Early onset

Valenti i wsp.⁽³³⁾ podawali EGCG i resweratrol do komórek progenitorowych (NPC) w hipokampie pozyskanych od myszy Ts65Dn bądź od myszy dzikich (wt) i ocenili wpływ tych związków na funkcjonowanie mitochondriów. Dodawano 20 μM EGCG lub 10 μM resweratrolu. Ocenie poddano szybkość produkcji ATP w procesie fosforylacji oksydacyjnej, proliferację NPC, aktywność kompleksów łańcucha oddechowego, produkcję RFT w NPC. Autorzy badania zaobserwowali, iż resweratrol i EGCG całkowicie zapobiegają zaburzeniu funkcjonowania kompleksu I i kompleksu V w procesie fosforylacji oksydacyjnej u myszy Ts65Dn. Zarówno EGCG, jak i resweratrol po 24 godzinach indukowały nasilenie proliferacji komórek NPC u myszy Ts65Dn do poziomu zaobserwowanego w komórkach myszy dzikich wt. Ponadto EGCG i resweratrol dodawany do linii komórek spowodowały wzrost aktywności koaktywatora PGC-1 α oraz czynników transkrypcyjnych NRF-1 (*nuclear respiratory factor 1* – jądrowy czynnik oddechowy 1) i TAM (*tamoxifen*) biorących udział w biogenezie mitochondrialnej do poziomu zanotowanego w komórkach wt. Autorzy badania zaobserwowali, że suplementacja u myszy Ts65Dn resweratrolem w dawce 10 μM lub 20 μM EGCG powoduje podobne rezultaty terapeutyczne w postaci poprawy funkcjonowania mitochondriów.

U osób z zespołem Downa występuje podwyższone ryzyko rozwoju choroby Alzheimera w stosunkowo młodym wieku. Podwyższonego ryzyka tej choroby nie obserwuje się u osób z niepełnosprawnością bez zespołu Downa, co wynika z występującej nadekspresji genu *APP* (*amyloid precursor protein* – białko prekursorowe amyloidu) znajdującego się na chromosomie 21. Za wczesne otępienie starcze poniżej 40. roku życia u osób z zespołem Downa odpowiedzialna jest również mutacja w genach preseniliny 1 (PS1) oraz preseniliny 2 (PS2)^(35,36). Molekularne podstawy neurodegeneracji obejmują apoptozę neuronów, stres oksydacyjny, procesy zapalne oraz aktywację immunologiczną⁽³⁷⁾. Częstość występowania otępienia u osób z zespołem Downa między 35. a 49. rokiem życia wynosi 8%, między 50. a 59. rokiem życia – 50–55%, a powyżej 60. roku życia – 75%^(16,36). U osób z zespołem Downa występuje ponadto obniżony poziom homocysteiny w osoczu, co wiąże się z nadekspresją genu *CBS* (*β -cystathionine synthase* – syntaza β -cystationinowa) usytuowanego na 21. chromosomie i, tym samym, mniejszym ryzykiem miażdżycy tętnic mózgowych. Badania leków i związków bioaktywnych skupiają się więc wokół hamowania rozwoju choroby Alzheimera poprzez hamowanie m.in. stresu oksydacyjnego, zewnątrzkomórkowej agregacji β -amyloidu w postaci blaszek starczych, hiperfosforylacji oraz wewnątrzkomórkowej agregacji białka tau w postaci spletków neurofibrilarnych^(38,39).

Owoc granatu w hamowaniu procesu zapalnego oraz amyloidogenezy w linii komórek SK-N-SH

Velagapudi i wsp.⁽⁴⁰⁾ ocenili w badaniu potencjał granatu jako inhibitora stanu zapalnego i amyloidogenezy aktywowanej

dementia under the age of 40 years in patients with Down syndrome is also associated with mutations in presenilin 1 (PS1) and presenilin 2 (PS2) genes^(35,36). Molecular bases of neurodegeneration include neuronal apoptosis, oxidative stress, inflammatory processes and immune activation⁽³⁷⁾. The incidence of dementia in patients with Down syndrome is 8% in those aged between 35 and 49 years, 50–55% in those aged between 50 and 59 years, and 75% in those over the age of 60 years^(16,36). Furthermore, patients with Down syndrome have decreased serum levels of homocysteine, which is associated with an overexpression of *CBS* (β -cystathionine synthase), which is also located on chromosome 21, and thus a reduced risk of cerebral atherosclerosis. The development of bioactive medications and compounds is therefore focused on the inhibition of Alzheimer's disease though the inhibition of, among other things, oxidative stress, extracellular β -amyloid aggregation in the form of plaques, hyperphosphorylation, as well as intracellular tau protein aggregation in the form of neurofibrillary tangles^(38,39).

Pomegranate fruit in inhibiting inflammatory processes and amyloidogenesis in SK-N-SH cell line

Velagapudi et al.⁽⁴⁰⁾ assessed the potential of pomegranate in the inhibition of inflammation and IL-1 β (interleukin 1 β)-activated amyloidogenesis in human neuroblastoma cells (SK-N-SH). Lyophilized pomegranate juice with 80–85% punicalagin, added at doses of 25–200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was the study material. The study used human neuroblastoma cell line (SK-N-SH). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assess the levels of PGE2 (prostaglandin E2), BACE-1 (β -secretase 1) and β -amyloid. The obtained results indicate that lyophilised pomegranate juice added at doses of 25–200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to IL-1 β -induced in a dose-dependent manner SK-N-SH cells inhibited the production of PGE2, which increased levels are seen in patients with Alzheimer's disease. The authors observed that this effect results from inhibited COX-2 expression. Furthermore, lyophilised pomegranate juice added to SK-N-SH cell line at doses of 50, 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ abolished IL-1 β -induced IKK (inhibitor of κB kinase) and I κB (inhibitor of κB) phosphorylation as well as reduced β -amyloid and BACE-1 levels. The authors demonstrated that lyophilised pomegranate juice inhibits inflammation and amyloidogenesis in SK-N-SH cells induced by IL-1 β .

The use of curcumin and EGCG to prevent and delay Alzheimer's disease

Curcumin is a compound obtained from turmeric (*Curcuma longa* L.). The compound has a multidirectional biological activity. It can interact with multiple biomolecules, including proteins, such as transcription factors (NF- κB – nuclear factor κB), growth factors, receptors, cytokines (IL-1,

przez IL-1 β (*interleukin 1 β* – interleukina 1 β) w ludzkich komórkach neuroblastomy (SK-N-SH). Materiałem badawczym był liofilizowany sok z granatu o 80–85-procentowej zawartości punikalaginy, dodawany w ilościach 25–200 $\mu\text{g/ml}$. W badaniu wykorzystano linię komórkową ludzkiej neuroblastomy (SK-N-SH). Aby ocenić stężenie prostaglandyny PGE2 (*prostaglandin E2* – prostaglandyna E2), BACE-1 (*β -secretase 1* – β -sekretyza 1) oraz białka β -amyloidu, wykonano test immunoenzymatyczny ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Wyniki badań wykazały, iż liofilizowany sok z granatu dodawany w ilości 25–200 $\mu\text{g/ml}$ do komórek SK-N-SH indukowanych IL-1 β w sposób zależny od dawki hamował wytwarzanie PGE2, której podwyższone stężenie występuje u osób z chorobą Alzheimera. Autorzy badania zaobserwowali, że efekt ten wynika z hamowania ekspresji białka COX-2. Dodatek liofilizowanego ekstraktu z granatu do linii komórkowej SK-N-SH w ilości 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ znosi ponadto indukowaną IL-1 β fosforylację IKK (*inhibitor of κB kinase* – inhibitor kinazy κB), I κB (*inhibitor of κB* – inhibitor czynnika jądrowego κB), a także obniża stężenie białka β -amyloidu oraz BACE-1. Autorzy badania wykazali, iż liofilizowany sok z granatu hamuje stan zapalny oraz amyloidogenezę w komórkach SK-N-SH indukowanych IL-1 β .

Wykorzystanie kurkuminy i EGCG w profilaktyce i opóźnieniu rozwoju choroby Alzheimera

Kurkumina jest związkiem pozyskanym z kłączy ostryżu długiego (*Curcuma longa* L.), zwanego kurkumą bądź szafranem indyjskim. Związek ten wykazuje wielokierunkową aktywność biologiczną. Może oddziaływać na wiele białek, w tym na białka, takie jak czynniki transkrypcyjne (NF- κB , *nuclear factor κB* – czynnik jądrowy κB), czynniki wzrostu, receptory, cytokiny (IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18) i enzym cyklooksygenazę-2. Autorzy badań wskazują na możliwość skuteczności kurkuminy w zapobieganiu i leczeniu choroby Alzheimera^(41–43). Jednym z mechanizmów działania kurkuminy jest hamowanie reakcji zapalnych dzięki właściwościom przeciwutleniającym oraz obniżeniu ryzyka uszkodzeń wywołanych stresem oksydacyjnym. Inny mechanizm jej działania został wykazany w badaniu *in vitro*, które przeprowadzili Jiang i wsp.⁽⁵⁾, oceniając wpływ kurkuminy na indukowaną glinem agregację β -amyloidu zawierającego 42 aminokwasy (A β 42) i jej neurotoksyczność. Do badań użyto komórek szczurzego guza chromochłonnego (*pheochromocytoma*, PC12). Autorzy badania zaobserwowali hamujący wpływ dodatku kurkuminy na indukowaną glinem agregację A β 42 oraz przemodelowanie struktury toksycznego A β 42 w nisko toksyczny agregat amorficzny pod wpływem działania kompleksu Al(III)–kurkumina. Ponadto stwierdzono wyższą skuteczność działania kompleksu Al(III)–kurkumina niż czystej kurkuminy w procesie fibrylacji A β 42.

Podobne wyniki uzyskali w swoim badaniu *in vitro* Taylor i wsp.⁽⁴⁴⁾ – autorzy badali wpływ różnych typów

IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18) and cyclooxygenase-2. Authors point to the potential efficacy of curcumin in preventing and treating Alzheimer's disease^(41–43). Inhibition of inflammatory reactions due to antioxidant properties and decreasing the risk of damage caused by oxidative stress are one of the mechanisms of action of curcumin. Another mechanism of its action was demonstrated in an *in vitro* study conducted by Jiang et al.⁽⁵⁾ to evaluate both the effects of curcumin on aluminum-induced aggregation of amyloid-beta containing 42 amino acids (A β 42) as well as its neurotoxicity. The study used rat pheochromocytoma PC12 cells. The authors observed inhibitory effects of curcumin on aluminum-induced A β 42 aggregation and remodelling of the structure of toxic A β 42 into a less toxic amorphous aggregation mediated by Al(III)–curcumin complex. Furthermore, higher efficacy of Al(III)–curcumin complex vs. curcumin alone in the process of A β 42 fibrillation was demonstrated. Similar findings were presented by Taylor et al.⁽⁴⁴⁾, who investigated the effects of different types of curcumin-conjugated nanoliposomes on amyloid-beta aggregation (A β 1–42). It was found in the study that liposomal curcumin or its derivatives at a concentration of 40 μM inhibit the assembly of fibrous and/or oligomeric β -amyloid.

Walker et al.⁽⁴⁵⁾ also demonstrated the benefits of EGCG in delaying Alzheimer's disease. The study used transgenic TgCRND8 mice with *APP* overexpression causing early-onset Alzheimer's disease, as in the case of patients with Down syndrome. The study lasted 4 months, and the mice were administered EGCG at a dose of 50 mg/kg body weight per day. The animals had free access to a running wheel. The authors demonstrated decreased levels of soluble β -amyloid in the cerebral cortex and hippocampus, indicating the benefits of green tea catechin and exercise in delaying Alzheimer's disease.

Another study confirming the therapeutic properties of EGCG for the treatment of Alzheimer's disease lasted 8 months and used Tg2576 murine model. Giunta et al.⁽⁴⁶⁾ added 97% EGCG extract and fish oil into animal feed. The mice were divided into 5 groups. The first group received standard diet, the second group received fish oil-enriched diet, the third group – diet high in EGCG (100 mg/kg/day), the fourth group – diet low in EGCG (20 mg/kg body weight daily), and the fifth group – oil-enriched diet low in EGCG (12.5 mg/kg daily EGCG and fish oil 8 mg/kg/daily). The authors showed that only higher doses of EGCG reduced β -amyloid aggregation. It was also observed that EGCG combined with fish oil had synergistic inhibitory effects on hippocampal β -amyloid aggregation.

EGCG as a Dyrk1A kinase inhibitor in Ts65Dn, TgDyrk1A mice

In 2014, de la Torre et al.⁽⁴⁷⁾ assessed the effects of short-term EGCG supplementation in mice and patients with Down syndrome on the improvement of cognitive functions, memory processes in particular. The authors also attempted

nanoliposomów związanych z kurkumina na agregację β -amyloidu ($A\beta_{1-42}$). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż kurkumina liposomowa lub jej pochodne, w stężeniu 40 μ M, hamują tworzenie się włóknistego i/lub oligomerycznego β -amyloidu $A\beta$.

Do prac wskazujących na korzystny wpływ EGCG w opóźnieniu rozwoju choroby Alzheimera należy doniesienie Walker i wsp.⁽⁴⁵⁾ Grupą badaną były transgeniczne myszy TgCRND8 z nadekspresją genu *APP*, skutkującą – podobnie jak u osób z zespołem Downa – szybo rozwijającymi się objawami choroby Alzheimera. Badanie trwało 4 miesiące, myszy otrzymywały EGCG w dawce 50 mg/kg/m.c na dobę. Myszy miały także swobodny dostęp do kołowrotka. Autorzy badania wykazali obniżenie stężenia rozpuszczalnego β -amyloidu w korze mózgowej oraz hipokampie, co sugerowało korzystny wpływ katechiny z zielonej herbaty oraz ćwiczeń w opóźnieniu rozwoju choroby Alzheimera. Kolejne badanie potwierdzające właściwości terapeutyczne EGCG w leczeniu choroby Alzheimera trwało 8 miesięcy i było przeprowadzone na modelu mysim Tg2576. Giunta i wsp.⁽⁴⁶⁾ do paszy zwierząt dodawali 97-procentowy ekstrakt EGCG oraz olej rybi. Myszy zostały podzielone na 5 grup. Pierwsza otrzymywała standardową dietę, druga – dietę z dodatkiem oleju rybiego, trzecia – dietę z wysoką zawartością EGCG (100 mg/kg/dzień), czwarta – z niską zawartością EGCG (20 mg/kg/dzień), a piąta – z niską zawartością EGCG w połączeniu z olejem rybim (12,5 mg/kg/dzień EGCG i 8 mg/kg/dzień oleju rybiego). Autorzy badania wykazali, iż jedynie zastosowanie EGCG w wyższych dawkach przyczyniło się do obniżenia odkładania β -amyloidu. Zaobserwowano także, iż EGCG w połączeniu z olejem rybim wykazuje działanie synergistyczne polegające na hamowaniu odkładania się β -amyloidu w hipokampie.

EGCG jako inhibitor kinazy Dyrk1A u myszy Ts65Dn, TgDyrk1A

W 2014 roku de la Torre i wsp.⁽⁴⁷⁾ dokonali oceny wpływu krótkoterminowej suplementacji EGCG u myszy i osób z zespołem Downa na poprawę funkcji poznawczych, w szczególności na procesy zapamiętywania. Autorzy podjęli ponadto próbę identyfikacji biomarkera, którego zmiany stężenia odzwierciedlają działanie EGCG na kinazę Dyrk1A u myszy i ludzi z zespołem Downa. Do badania włączono myszy trisomiczne (Ts65Dn), transgeniczne (TgDyrk1A) i dzikie myszy z tego samego miotu (WT). Myszy podzielono na dwie grupy. Pierwsza z nich otrzymywała EGCG w stężeniu 90 mg/ml, natomiast druga – wodny roztwór glukozy. EGCG podawano myszom w wodzie pitnej przez okres 1 miesiąca co 3 dni. Aby zbadać wpływ EGCG na funkcje poznawcze, myszy poddano zadaniom uczenia się, zależnym od hipokampa. W doświadczeniu zastosowano labirynt wodny Morrisa i zadania rozpoznawania nowego obiektu. Autorzy badania odnotowali, że zarówno u myszy trisomicznych, jak i transgenicznych podawanie EGCG w dawce 90 mg/ml poprawiało funkcje poznawcze,

to identify a biomarker, the levels of which reflect EGCG effects on Dyrk1A kinase in mice and humans affected by Down syndrome. The study used trisomic (Ts65Dn), transgenic (TgDyrk1A) and wild-type mice from the same litter (WT). The animals were classified into two groups. The first group received 90 mg/mL EGCG, the other group received aqueous glucose solution. EGCG was administered in drinking water at 3-day intervals for 1 month. Mice were subjected to hippocampal-based learning tasks to evaluate the effects of EGCG on cognitive functions. Morris water maze and object recognition tasks were used in the experiment. The authors found that 90 mg/mL EGCG improved cognitive functions, object recognition ability and visual-spatial processes in both trisomic and transgenic mice. Such changes were not observed in wild-type mice. Furthermore, the investigators observed decreased serum homocysteine levels in trisomic and transgenic mice during supplementation, which correlated with reduced Dyrk1A kinase activity in the hippocampus. This correlation allows using homocysteine as a biomarker of the efficacy of EGCG supplementation in patients with Down syndrome.

The effects of choline supplementation on spatial learning processes and hippocampal neurogenesis in Ts65Dn murine model

Choline (B_4), which belongs to class B vitamins, is essential for the proper function of all cells. Choline and its metabolites play a crucial role in the structural integration of cell membranes, neurotransmission and membrane transport. It is the main source of methyl groups in the diet (betaine, which is choline metabolite, is involved in homocysteine methylation to form methionine), which primarily affects the normal interneuronal signalling as well as lipid transport and metabolism^(48,49). A number of studies evaluating the effects of choline dietary supplementation in experimental animals demonstrated beneficial effects on memory processes, mood improvement, enhanced cognitive functions and hippocampal neurogenesis⁽⁵⁰⁻⁵²⁾. These findings resulted in an attempt to use choline in trisomic pregnant and lactating mice to improve cognitive functions and stimulate hippocampal neurogenesis in their offspring. In 2013, Velazquez et al.⁽⁵³⁾ conducted a study to evaluate the effects of choline dietary supplementation on spatial learning and hippocampal neurogenesis in Ts65Dn murine model with Down syndrome. The investigated mice with Down syndrome were classified into two groups. A control diet containing 1.1 g choline chloride/kg diet was used in the first group, while the other group received diet enriched in choline chloride at a dose of 5.0 g choline/kg diet. Supplementation was initiated at mating and completed after birth. It was found that the offspring of mice supplemented with choline performed significantly better in water maze compared to mice who did not receive supplemental choline chloride. The obtained findings indicate improved cognitive function due to normalised hippocampal neurogenesis and improved spatial learning.

zdolności rozpoznawania nowych obiektów oraz procesy wzrokowo-przestrzenne. Powyższych zmian nie zaobserwowano u myszy dzikich. Ponadto badacze w trakcie suplementacji zanotowali u badanych myszy trisomicznych i transgenicznych obniżenie stężenia homocysteiny w osoczu, co korelowało ze spadkiem aktywności kinazy Dyrk1A w hipokampie. Powyższa zależność umożliwia zastosowanie homocysteiny jako biomarkera efektywności suplementacji EGCG u pacjentów z zespołem Downa.

Wpływ suplementacji choliną na procesy uczenia przestrzennego oraz neurogenezę hipokampa w modelu mysim Ts65Dn

Cholina – zaliczana do witamin z grupy B (B_4) – jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania wszystkich komórek. Cholina i jej metabolity odgrywają istotną rolę w strukturalnym integrowaniu błon komórkowych, neurotransmisji oraz transportu przez błony. Stanowi główne źródło grup metylowych w diecie (betaina – metabolit choliny – bierze udział w metylacji homocysteiny w celu utworzenia metioniny), co w głównej mierze wpływa na prawidłową sygnalizację międzykomórkową w neuronach oraz transport i metabolizm lipidów^(48,49). Przeprowadzono wiele badań dotyczących wpływu uzupełnienia diety w cholinę u zwierząt doświadczalnych, wykazując korzystny wpływ na procesy zapamiętywania, poprawę nastroju, poprawę funkcji poznawczych oraz neurogenezę hipokampa^(50–52). Powyższe badania skłoniły badaczy do podjęcia próby zastosowania choliny u trisomicznych samic w okresie ciąży i laktacji w celu poprawy funkcji poznawczych oraz stymulacji neurogenezę hipokampa u potomstwa.

Velazquez i wsp.⁽⁵³⁾ przeprowadzili w 2013 roku badania wpływu suplementacji diety choliną na procesy uczenia przestrzennego oraz neurogenezę hipokampa w modelu mysim Ts65Dn z zespołem Downa. Badane myszy z zespołem Downa zostały podzielone na dwie grupy. W pierwszej stosowano dietę kontrolną zawierającą 1,1 g chlorku choliny/kg diety, a w drugiej – dietę suplementowaną chlorkiem choliny w ilości 5,0 g choliny/kg diety. Podawanie suplementu rozpoczęto w dniu sparowania myszy i zakończono po urodzeniu potomstwa. Analiza badań wykazała, iż potomstwo myszy, którym podawano suplementy choliny, znacznie lepiej radziło sobie w labiryncie wodnym niż myszy, które nie otrzymywały suplementu w postaci chlorku choliny. Otrzymane rezultaty wskazują na poprawę funkcji poznawczych poprzez znormalizowanie neurogenezę hipokampa i polepszenie procesu kształtowania orientacji przestrzennej. Otrzymane rezultaty sugerują, iż uzupełnianie diety ciężarnych w cholinę ma znaczący potencjał w poprawie funkcji poznawczych u osób z zespołem Downa, jednakże potrzebne są dalsze badania w tej populacji.

Podobne badanie przeprowadzili Strupp i wsp.⁽⁵⁴⁾ – autorzy przeanalizowali wpływ suplementacji diety choliną na neurogenezę i procesy pamięci na modelu mysim Ts65Dn w okresie ciąży i laktacji. Połowa badanych myszy

The results suggest that dietary choline supplementation in pregnancy has a significant potential in the improvement of cognitive functions in patients with Down syndrome. However further studies in this population are necessary. A similar research was conducted by Strupp et al.⁽⁵⁴⁾, who analysed the effects of dietary choline supplementation on the neurogenesis and memory processes in Ts65Dn murine model during pregnancy and lactation. Half of the investigated mice received 4.5-times higher choline doses for 3 weeks during pregnancy and for 3 weeks during lactation. The other half was a control group. The authors demonstrated that dietary choline supplementation significantly contributed to improved concentration, spatial orientation, normalised hippocampal neurogenesis and cholinergic neuron protection in the basal part of the telencephalon in trisomic mice.

CONCLUSIONS

The presented paper does not exhaust the issue of dietary supplementation in patients with Down syndrome. Although the disease is genetic, the available literature indicates that dietary supplementation with the above discussed biologically active compounds may contribute to improved CNS function.

Conflict of interest

The authors do not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the content of this publication and/or claim authorship rights to this publication.

Acknowledgements

We would like to thank Associate Professor Robert Śmigiel, Professor Joanna Rosińczuk and Professor Mirosław Sopol for their inspiration regarding the discussed subject matter.

Piśmiennictwo / References

1. Wierzbka J (ed.): Zespół Downa i medycyna. Bardziej Kochani, Warszawa 2014.
2. Sadowska L, Mysiek-Prucnal M, Choińska AM et al.: Diagnostyka i terapia dzieci z zespołem Downa w świetle badań własnych i przeglądu literatury przedmiotu. *Prz Med Uniw Rzesz* 2009; 1: 8–30.
3. Valenti D, De Rasmio D, Signorile A et al.: Epigallocatechin-3-gallate prevents oxidative phosphorylation deficit and promotes mitochondrial biogenesis in human cells from subjects with Down's syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 542–552.
4. Kumar V, Pandey A, Jahan S et al.: Differential responses of *Trans*-Resveratrol on proliferation of neural progenitor cells and aged rat hippocampal neurogenesis. *Sci Rep* 2016; 6: 28142.
5. Jiang T, Zhi XL, Zhang YH et al.: Inhibitory effect of curcumin on the A β (III)-induced A β ₄₂ aggregation and neurotoxicity in vitro. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 1207–1215.
6. Hara K, Ohara M, Hayashi I et al.: The green tea polyphenol (–)-epigallocatechin gallate precipitates salivary proteins including alpha-amylase: biochemical implications for oral health. *Eur J Oral Sci* 2012; 120: 132–139.

otrzymywała 4,5-krotnie zwiększoną dawkę choliny przez 3 tygodnie w kresie ciąży i 3 tygodnie po rozwiązaniu ciąży. Druga połowa myszy stanowiła grupę kontrolną. Autorzy wykazali, że suplementacja diety choliną znacznie przyczyniła się do poprawy koncentracji, orientacji przestrzennej, normalizacji procesu neurogenetyki hipokampa oraz ochrony neuronów cholinergicznym w części podstawowej kresomózgowia u trisomicznych myszy.

PODSUMOWANIE

Przedstawiona w pracy problematyka nie wyczerpuje w całości zagadnienia związanego z suplementacją diety osób z zespołem Downa. Mimo że choroba ma podłoże genetyczne, z analizy dostępnego piśmiennictwa wynika, że suplementacja diety omówionymi w pracy związkami biologicznie aktywnymi może przyczynić się do poprawy funkcjonowania OUN.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Podziękowanie

Autorzy składają podziękowanie Drowi hab. Robertowi Śmigłowi, Prof. nadzw., dr hab. Joannie Rosińczuk oraz Prof. nadzw., dr hab. Mirosławowi Sopolowi za inspirację dotyczącą omawianej problematyki.

- Guedj F, Sèbrié C, Rivals I et al.: Green tea polyphenols rescue of brain defects induced by overexpression of *DYRK1A*. *PLoS One* 2009; 4: e4606.
- Coyle CH, Philips BJ, Morrisroe SN et al.: Antioxidant effects of green tea and its polyphenols on bladder cells. *Life Sci* 2008; 83: 12–18.
- Qin S, Alcorn JF, Craigo JK et al.: Epigallocatechin-3-gallate reduces airway inflammation in mice through binding to proinflammatory chemokines and inhibiting inflammatory cell recruitment. *J Immunol* 2011; 186: 3693–3700.
- Stagni F, Giacomini A, Emili M et al.: Short- and long-term effects of neonatal pharmacotherapy with epigallocatechin-3-gallate on hippocampal development in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neuroscience* 2016; 333: 277–301.
- Pons-Espinal M, Martinez de Lagran M, Dierssen M: Environmental enrichment rescues *DYRK1A* activity and hippocampal adult neurogenesis in *TgDyrk1A*. *Neurobiol Dis* 2013; 60: 18–31.
- Chow HH, Cai Y, Hakim IA et al.: Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3312–3319.
- Ullmann U, Haller J, Decourt JP et al.: A single ascending dose study of epigallocatechin gallate in healthy volunteers. *J Int Med Res* 2003; 31: 88–101.
- Naumovski N, Blades BL, Roach PD: Food inhibits the oral bioavailability of the major green tea antioxidant epigallocatechin gallate in humans. *Antioxidants (Basel)* 2015; 4: 373–393.
- Shukkur EA, Shimohata A, Akagi T et al.: Mitochondrial dysfunction and tau hyperphosphorylation in *Ts1Cje*, a mouse model for Down syndrome. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 2752–2762.
- Pagano G, Castello G: Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Down syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2012; 724: 291–299.
- Bavaresco L, Fregoni C, Cantù E et al.: Stilbene compounds: from the grapevine to wine. *Drugs Exp Clin Res* 1999; 25: 57–63.
- Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS et al.: Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2004; 24: 2783–2840.
- Lim CG, Fowler ZL, Hueller T et al.: High-yield resveratrol production in engineered *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77: 3451–3460.
- Wang Y, Halls C, Zhang J et al.: Stepwise increase of resveratrol biosynthesis in yeast *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering. *Metab Eng* 2011; 13: 455–463.
- Watts KT, Lee PC, Schmidt-Dannert C: Biosynthesis of plant-specific stilbene polyketides in metabolically engineered *Escherichia coli*. *BMC Biotechnol* 2006; 6: 22.
- Piver B, Fer M, Vitrac X et al.: Involvement of cytochrome P450 1A2 in the biotransformation of *trans*-resveratrol in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 773–782.
- Han YS, Zheng WH, Bastianetto S et al.: Neuroprotective effects of resveratrol against β -amyloid-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons: involvement of protein kinase C. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 997–1005.
- Huang TC, Lu KT, Wo YY et al.: Resveratrol protects rats from A β -induced neurotoxicity by the reduction of iNOS expression and lipid peroxidation. *PLoS One* 2011; 6: e29102.
- Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE et al.: Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287: L774–L783.
- Cao Z, Li Y: Potent induction of cellular antioxidants and phase 2 enzymes by resveratrol in cardiomyocytes: protection against oxidative and electrophilic injury. *Eur J Pharmacol* 2004; 489: 39–48.
- Olas B: Resveratrol jako dobroczynia w profilaktyce chorób układu krążenia. *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych* 2006; 55: 277–285.
- Shapshak P: Molecule of the month: miRNA and Down's syndrome. *Bioinformation* 2013; 9: 752–754.
- Nogueiras R, Habegger KM, Chaudhary N et al.: Sirtuin 1 and sirtuin 3: physiological modulators of metabolism. *Physiol Rev* 2012; 92: 1479–1514.
- Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcão A et al.: Pharmacokinetic and safety profile of *trans*-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53 Suppl 1: S7–S15.
- Atalay T, Gulsen I, Colcimen N et al.: Resveratrol treatment prevents hippocampal neurodegeneration in a rodent model of traumatic brain injury. *Turk Neurosurg* 2016. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.17249-16.2.
- Palomera-Avalos V, Griñán-Ferré C, Puigoriol-Ilamola D et al.: Resveratrol protects SAMP8 brain under metabolic stress: focus on mitochondrial function and Wnt pathway. *Mol Neurobiol* 2017; 54: 1661–1676.
- Valenti D, de Bari L, de Rasmio D et al.: The polyphenols resveratrol and epigallocatechin-3-gallate restore the severe impairment of mitochondria in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1862: 1093–1104.
- Crowell JA, Korytko PJ, Morrissey RL et al.: Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol Sci* 2004; 82: 614–619.
- Więdołcha M, Stańczykiewicz B, Jakubik M et al.: Wybrane mysie modele oparte na mutacji genów *APP*, *MAPT* oraz prenilin wykorzystywane w badaniach nad patogenezą choroby Alzheimera. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2012; 66: 415–430.
- Perluigi M, Butterfield DA: Oxidative stress and Down syndrome: a route toward Alzheimer-like dementia. *Curr Gerontol Geriatr Res* 2012; 2012: 724904.
- Cooper SA, Ademola T, Caslake M: Towards onset prevention of cognition decline in adults with Down syndrome (The TOP-COG study): a pilot randomised controlled trial. *Trials* 2016; 17: 370.

38. Zhao HF, Li N, Wang Q et al.: Resveratrol decreases the insoluble A β 1–42 level in hippocampus and protects the integrity of the blood–brain barrier in AD rats. *Neuroscience* 2015; 310: 641–649.
39. Chesser AS, Ganeshan V, Yang J et al.: Epigallocatechin-3-gallate enhances clearance of phosphorylated tau in primary neurons. *Nutr Neurosci* 2016; 19: 21–31.
40. Velagapudi R, Baco G, Khela S et al.: Pomegranate inhibits neuroinflammation and amyloidogenesis in IL-1 β -stimulated SK-N-SH cells. *Eur J Nutr* 2016; 55: 1653–1660.
41. Ji HF, Zhang HY: Multipotent natural agents to combat Alzheimer's disease. Functional spectrum and structural features. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 143–151.
42. Garcia-Alloza M, Borrelli LA, Rozkalne A et al.: Curcumin labels amyloid pathology *in vivo*, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. *J Neurochem* 2007; 102: 1095–1104.
43. Lim GP, Chu T, Yang F et al.: The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci* 2001; 21: 8370–8377.
44. Taylor M, Moore S, Mourtas S et al.: Effect of curcumin-associated and lipid ligand-functionalized nanoliposomes on aggregation of the Alzheimer's A β peptide. *Nanomedicine* 2011; 7: 541–550.
45. Walker JM, Klakotskaia D, Ajit D et al.: Beneficial effects of dietary EGCG and voluntary exercise on behavior in an Alzheimer's disease mouse model. *J Alzheimers Dis* 2015; 44: 561–572.
46. Giunta B, Hou H, Zhu Y et al.: Fish oil enhances anti-amyloidogenic properties of green tea EGCG in Tg2576 mice. *Neurosci Lett* 2010; 471: 134–138.
47. De la Torre R, De Sola S, Pons M et al.: Epigallocatechin-3-gallate, a DYRK1A inhibitor, rescues cognitive deficits in Down syndrome mouse models and in humans. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58: 278–288.
48. Zeisel SH: Choline: an essential nutrient for humans. *Nutrition* 2000; 16: 669–671.
49. Zeisel SH: Choline: needed for normal development of memory. *J Am Coll Nutr* 2000; 19 (Suppl): 528S–531S.
50. Cheng RK, MacDonald CJ, Williams CL et al.: Prenatal choline supplementation alters the timing, emotion, and memory performance (TEMP) of adult male and female rats as indexed by differential reinforcement of low-rate schedule behavior. *Learn Mem* 2008; 15: 153–162.
51. Glenn MJ, Gibson EM, Kirby ED et al.: Prenatal choline availability modulates hippocampal neurogenesis and neurogenic responses to enriching experiences in adult female rats. *Eur J Neurosci* 2007; 25: 2473–2482.
52. Wong-Goodrich SJ, Glenn MJ, Mellott TJ et al.: Spatial memory and hippocampal plasticity are differentially sensitive to the availability of choline in adulthood as a function of choline supply *in utero*. *Brain Res* 2008a; 1237: 153–166.
53. Velazquez R, Ash JA, Powers BE et al.: Maternal choline supplementation improves spatial learning and adult hippocampal neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 2013; 58: 92–101.
54. Strupp BJ, Powers BE, Valazquez R et al.: Maternal choline supplementation: a potential prenatal treatment for Down syndrome and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2016; 13: 97–106.