

## **Znaczenie kinazy sfingozy 1 oraz sfingozy-1-fosforanu w doświadczalnym modelu choroby Parkinsona oraz w farmakologicznej cytoprotekcji.**

Choroby neurodegeneracyjne takie jak Choroba Parkinsona (ChP) wysuwają się na pierwsze miejsce wśród zagrożeń zdrowotnych starzejącego się społeczeństwa Europy, w tym społeczeństwa Polski. ChP jest schorzeniem ośrodkowego układu nerwowego manifestującym się postępującymi zaburzeniami ruchowymi, prowadzącymi do całkowitej niepełnosprawności. Jest drugą co do częstości występowania po chorobie Alzheimera chorobą neurodegeneracyjną z rosnącym współczynnikiem zapadalności. W Polsce cierpi na nią 80 000–120 000 osób, przy czym każdego roku diagnozuje się około 8 000 nowych przypadków, co stanowi poważny problem zarówno kliniczny jak i ekonomiczno- społeczny. Z racji, iż współczesna terapia ChP jest leczeniem objawowym, przynoszącym niewielką poprawę kliniczną i obciążonym sporą ilością działań niepożądanych, zasadne jest poszukiwanie alternatywnej terapii, która spowolni postępujące obumieranie komórek nerwowych. Żywo dyskutowanym tematem badań ostatniej dekady stało się zagadnienie udziału sfingolipidów, a zwłaszcza protekcyjnych właściwości jednego z nich: sfingozy-1-fosforanu (S1P) w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak Choroba Alzheimera, niedotlenieniu/niedokrwieniu mózgu czy Stwardnienie Rozsiane. S1P pełni funkcję pro-życiową i jest niezbędny zarówno na etapie rozwoju embrionalnego jak i w dorosłym organizmie. Bierze on udział w regulacji procesów neurogenezy, różnicowania komórek oraz ich programowanej śmierci, wpływa na morfologię neuronów oraz sekrecję neuroprzekazników. Do chwili obecnej rola tego aktywnego sfingolipidu oraz enzymu go syntetyzującego - kinazy sfingozy (Sphk1) w patogenezie ChP jest niewyjaśnionym zagadnieniem, a przez to również obiecującym tematem badań. **Celem pracy jest zbadanie udziału kinazy sfingozy (Sphk1) oraz jej produktu sfingozy-1-fosforanu (S1P) w modelu ChP. Główny nacisk położony jest na ocenę neuroprotekcijnej roli ścieżki sygnalizacyjnej zależnej od receptorów dla S1P, która stanowić może zupełnie nowy punkt uchwytu w planowaniu strategii terapeutycznych ChP.**

Realizacja powyższego celu obejmuje 2 etapy: część badań *in vitro* oraz *in vivo*.

1) Pierwszym zakończonym już etapem były badania przesiewowe *in vitro*. Materiał do badań stanowiła ludzka linia komórek nerwowych *neuroblastoma* (SH-SY5Y), poddana działaniu toksyny 1-metylo-4-fenylopirydyny (MPP+), związku powszechnie używanego do wywołania zmian molekularnych znamienych dla ChP. Związek ten jest selektywnie transportowany do neuronów dopaminergicznych i powoduje ich uszkodzenie. Wyniki dotychczas prowadzonych przeze mnie badań wskazują na obniżoną aktywność i ekspresję Sphk1 oraz związane z nimi zaburzenie przekazywania sygnału przez receptory dla S1P, co stanowi istotny mechanizm prowadzący do śmierci neuronów. Ponadto stwierdzono, że S1P oraz jego trwalszy analog fingolimod wykazują efekt neuroprotekcijny w powyższych warunkach stresowych.

2) Drugi etap badań (*in vivo*) ma na celu weryfikację w zwierzęcym modelu ChP wyników uzyskanych w komórkowym modelu doświadczalnym. Zwierzęcy model ChP został wyindukowany u myszy przez dootrzewnowe podanie neurotoksyny 1-metylo-4-fenilo-1,2,3,6-tetrahydropirydyny (MPTP), która po przeniknięciu bariery krew-mózg jest metabolizowana do MPP+, wywołując objawy parkinsonizmu u myszy, małp i ludzi. W modelu tym badana jest odpowiedź mózgu na farmakologiczną modyfikację sygnału zależnego od pobudzenia receptorów dla S1P oraz receptorów dopaminergicznych. W tym celu myszom zostały podane następujące związki:

- agonista receptorów dla S1P1, S1P3, S1P4 i S1P5 – fingolimod (FTY720), który jest trwalszym analogiem S1P
- agonista receptorów dopaminergicznych D2/D3 pramipexol (PPX), który jest lekiem powszechnie stosowanym w terapii ChP

Na realizację postawionego w niniejszym projekcie *in vivo* celu składają się następujące cele szczegółowe:

- Zbadanie zmian molekularnych (ekspresji/aktywności enzymów syntetyzujących i degradujących S1P oraz białek pro i anti-apoptotycznych a także pro- i antyoksydacyjnych) w wybranych partiach mózgu myszy w modelu ChP.
- Identyfikacja powyższych zmian molekularnych w poszczególnych partiach mózgu myszy w modelu ChP po podaniu związków farmakologicznych (FTY720 i PPX).
- Wykazanie pozytywnego wpływu FTY720, PPX oraz obydwu związków stosowanych jednocześnie na poprawę aktywność motorycznej myszy w modelu ChP.

Pozytywne wyniki badań *in vivo* przyczynią się do identyfikacji zaburzeń metabolizmu i działania S1P jako potencjalny mechanizm śmierci komórek nerwowych w modelu ChP. Pozwolą tym samym sformułować teoretyczne podstawy do wykorzystania stymulacji receptorów dla S1P jako potencjalny punkt uchwytu w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych ChP.