

Wspólną cechą chorób neurodegeneracyjnych jest odkładanie się patologicznych agregatów białkowych takich jak β -amyloid i splątki neurofibrylarne w chorobie Alzheimera (AD), α -synukleina w chorobie Parkinsona (PD) czy dysmutaza ponadtlenkowa 1 w stwardnieniu zanikowym bocznym (ALS). Te białka aktywują komórki mikrogleju - komórki odpornościowe ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Mikroglej jest pierwszą linią obrony immunologicznej w chorobach mózgu i w odpowiedzi na czynnik stymulujący dochodzi do jego aktywacji, w wyniku której mikroglej może przyjąć fenotyp neurotoksyczny (M1) lub neuroprotektoryjny (M2). Pierwszy (M1) to klasycznie aktywowane komórki mikrogleju, które reprezentują fenotyp pro-zapalny charakteryzujący się uwalnianiem cytokin prozapalnych. Drugi M2, jest alternatywnie aktywowanym mikroglejem, który jest fenotypem przeciw-zapalnym. Modułacja fenotypów mikrogleju wydaje się być atrakcyjnym kierunkiem badań nad potencjalną terapią stanów zapalnych OUN. Szczególnie obecnie gdy obserwuje się coraz większe zainteresowanie rolą mikrogleju jako mediatora w rozwoju stanu neurozapalnego mózgu oraz neurodegeneracji indukowanej infekcją SARS-CoV-2.

Celem badań projektu jest poszerzenie wiedzy na temat potencjalnego neuroprotektoryjnego działania ligandów receptora GPR18. Receptor GPR18 jest receptorem sierocym. Receptory sieroce to receptory dla których nie opisano ani ich funkcji i roli w warunkach patofizjologicznych, ani nie zidentyfikowano dotąd endogennych ligandów. Mogą one stanowić nowe cele terapeutyczne oraz dawać szansę na wprowadzenie innowacyjnych metod terapii o nowym mechanizmie działania. Biorąc pod uwagę fakt, że receptor GPR18 jest aktywowany przez egzogeny fitokannabinoid Δ^9 -tetrahydrokannabinol (Δ^9 -THC), postuluje się, że GPR18 jest częścią układu endokannabinoidowego (ECS). ECS jest zaangażowany w wiele procesów fizjologicznych między innymi w aktywność immunologiczną i neuroprotektoryjną. Ekspresja i rozmieszczenie receptora GPR18 w komórkach i tkankach wskazuje na to, że jego aktywność jest związana z modulacją funkcji układu odpornościowego, ośrodkowego układu nerwowego, a co za tym idzie ze stanem zapalnym i neuroprotekcją. W przedkładanym projekcie planujemy ocenić rolę ligandów GPR18 w aktywności i polaryzacji podtypów M1/M2 mikrogleju, zdolność do indukowania fenotypu M2 oraz wybrać struktury wykazujące najwyższą aktywność tego typu. Jako narzędzia farmakologiczne będą używane ligandy GPR18. Nasza grupa badawcza we współpracy z zespołem badawczym prof. Christy Mueller z Instytutu Farmaceutycznego Uniwersytetu w Bonn przeprowadziła pionierskie prace badawcze, w wyniku których otrzymano i opisano po raz pierwszy małowiązących antagonistów i agonistów receptora GPR18. Połączenia te wykazują działanie przeciwzapalne *in vitro* oraz w zwierzęcym modelu stanu zapalnego jelit.

Najważniejszymi zadaniami prezentowanego projektu są: poszukiwanie bardziej aktywnych i selektywnych (niż dotychczas opisanych) ligandów receptora GPR18 oraz ocena roli GPR18 w **modulacji mikrogleju i stanu zapalnego**. Przeprowadzona będzie synteza nowych połączeń o potencjalnej aktywności wobec GPR18. Zostanie zbadana ich aktywność wobec GPR18 oraz innych zbliżonych receptorów. Nowe lub/ oraz poprzednio otrzymane najbardziej aktywne połączenia będą badane w testach *in vitro* na aktywność wobec komórek mysiego mikrogleju BV-2 o potwierdzonej ekspresji GPR18. W ramach projektu zostaną przeprowadzone następujące badania: ocena ekspresji GPR18 w spoczynkowym i aktywowanym mikrogleju, oznaczenie obecności mediatorów pro- i przeciw-zapalnych, oznaczenie fenotypów mikrogleju oraz zbadanie roli mikrogleju w modelu *in vitro* chorób neurodegeneracyjnych. Z uwagi na fakt, że istnieją różnice między komórkami immortalizowanymi BV-2 i pierwotnymi komórkami mikrogleju, zaplanowano porównanie wpływu ligandów GPR18 na odpowiedź przeciwzapalną BV-2 i komórek pierwotnych mikrogleju. Hodowle pierwotnych komórek mikrogleju bardzo dobrze odzwierciedlają funkcjonalną aktywność komórek endogennych (wydzielane czynniki, komórkowe markery powierzchniowe), dlatego są powszechnie stosowanym modelem w badaniach dotyczących stanów neurozapalnych. W ramach projektu zostanie oceniona zdolność badanych związków do penetracji błon biologicznych, neurotoksyczność oraz ich stabilność metaboliczna. Projekt będzie wykonywany we współpracy z naukowcami z Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie (izolacja i badania wpływu ligandów GPR18 na pierwotne komórki mikrogleju) oraz badaczy Instytutu Farmaceutycznego Uniwersytetu w Bonn (ocena aktywności otrzymanych połączeń wobec receptorów GPR18, GPR55, kannabinoidowych CB1, CB2 oraz receptorów adenozytowych A1, A2A, A2B, A3 ponieważ struktura agonistów GPR18 sugeruje możliwość interakcji z receptorami adenozytowymi).

Realizacja przedstawianego projektu pozwoli: otrzymać nowe bardziej aktywne i selektywne ligandy GPR18, które będą cennymi narzędziami farmakologicznymi, osiągnąć głębszą i bardziej szczegółową wiedzę na temat roli GPR18 w **modulacji mikrogleju i stanu zapalnego**. Ponadto umożliwi zaprojektowanie i otrzymanie dalsze związków o cennych właściwościach neuroprzeciwzapalnych, ważnych w innowacyjnych strategiach terapeutycznych takich szeroko rozpowszechnionych patologii jak choroby neurodegeneracyjne.