

## Czy za pośrednictwem sierocego receptora GPR18 można modulować fenotyp mikrogleju?

Komórki glejowe stanowią ponad połowę komórek mózgu, wśród których na szczególną uwagę zasługują komórki mikrogleju. Mikroglej to komórki układu odpornościowego, które są stale obecne w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) i uczestniczą w procesach ochrony przed patogenami, naprawy uszkodzonej tkanki lub usuwania obumierających neuronów. W wyniku uszkodzenia tkanki lub obecności czynnika zakaźnego, mikroglej staje się kompetentnymi komórkami układu odpornościowego – makrofagami mózgowymi. Proces ten nazywany aktywacją mikrogleju jest związany z produkcją i wydzielaniem różnych mediatorów zapalnych, takich jak cytokiny, reaktywne formy tlenu (ROS) lub prostaglandyny. Aktywacja mikrogleju jest zjawiskiem pożądanym w naprawie i regeneracji tkanek. Niemniej jednak, nadmierna lub przewlekła aktywacja może prowadzić do chronicznego stanu zapalnego. Komórki mikrogleju podlegają aktywacji na dwa różne sposoby, co prowadzi do powstania dwóch odmiennych fenotypów. Fenotyp prozapalny (M1) związany jest *in vivo* z odpowiedzią na neuroinfekcje oraz czynniki bezpośrednio uszkodzające tkankę nerwową. Fenotyp przeciwapalny (M2) wiąże się z funkcją neuroprotekcijną, wynikającą z pobudzania mechanizmów związanych z regeneracją tkanek. Z dotychczasowych badań wynika, że mikroglej pełni istotną rolę w chorobach neurodegeneracyjnych. Zatem modulacja fenotypów mikrogleju wydaje się być atrakcyjnym kierunkiem badań nad potencjalną terapią stanów zapalnych OUN.

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. Wzór ekspresji GPR18 w tkankach pełniących funkcje immunologiczne lub hematologiczne może sugerować immunomodulacyjną rolę GPR18. Ponadto ekspresja GPR18 została potwierdzona w mikrogleju, który jest przedmiotem badań prezentowanego projektu.

Dlatego też głównym celem badań proponowanych w tym projekcie jest wyjaśnienie roli receptora GPR18 w podstawowych mechanizmach regulacji polaryzacji mikrogleju (M1/M2). W odpowiedzi na to wyzwanie ocenimy aktywność przeciwapalną ligandów GPR18. Zbadane zostaną 3 struktury agonistów GPR18. Są to małowładczkowe związki nielipidowe, nowo odkryte i opisane przez nasz zespół badawczy (Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego) pod przewodnictwem prof. Katarzyny Kieć-Kononowicz we współpracy z prof. Christą Mueller z Instytutu Farmaceutycznego Uniwersytetu w Bonn. Jeden z tych ligandów w dotychczasowych badaniach wykazał działanie przeciwapalne w zwierzęcym modelu stanu zapalnego jelit, a drugi z nich wykazał znaczący efekt przeciwtleniający, co potwierdza zasadność jego dalszego badania w warunkach *in vivo*. W celu porównania aktywności, zostaną zbadane również struktury agonistów GPR18 dostępne komercyjnie:  $\Delta^9$ -THC i/lub NAGly. Planowane jest wykorzystanie mysich i szczurzych komórek mikrogleju z potwierdzoną ekspresją receptora GPR18 oraz szczurzego modelu neurozapalenia i demencji wywołanego dokomorową iniekcją streptozotocyny. Zostanie zbadana ekspresja genów i białek będących markerami mikrogleju M1/M2. Dodatkowo wykorzystując najnowszą technologię Luminex xMAP®, zostanie oznaczony panel cytokin prozapalnych i przeciwapalnych, a także zostanie przeanalizowana zmiana poziomu i aktywności białek zaangażowanych w kluczowe szlaki przekazywania sygnału w komórce w modelu neurozapalenia *in vitro* i *in vivo* po podaniu ligandów GPR18. Pozwoli to na opisanie mechanizmu aktywacji mikrogleju za pomocą ligandów GPR18.

Unikatowym tematem tego projektu są badania farmakologiczne łączące sygnalizację receptora GPR18 z polaryzacją mikrogleju. Tłumienie M1 i/lub zwiększenie wydzielania korzystnych cząsteczek przeciwapalnych z spolaryzowanych M2 komórek mikrogleju może stanowić cenne podejście terapeutyczne w leczeniu neurozapalenia. Nasze badania pozwolą, po raz pierwszy, na opracowanie nowych strategii terapeutycznych, które mogą przynieść znaczne korzyści dla zdrowia publicznego. Wiedza ta pozwoli na wykorzystanie ligandów GPR18 jako celu farmakologicznego w neurozapaleniu.