

## ROLA OSI NEUROTROFINY/RECEPTORY NEUROTROFINOWE W REGULACJI HOMEOSTAZY TKANKI NERWOWEJ

### ROLE OF NEUROTROPHINS/NEUROTROPHIN RECEPTORS AXIS IN REGULATION OF NEURONAL HOMEOSTASIS

Ewa PIUS-SADOWSKA, Bogusław MACHALIŃSKI

Katedra Fizjopatologii, Zakład Patologii Ogólnej,  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

*Streszczenie:* Rozwój badań nad czynnością OUN doprowadził do identyfikacji potencjału regeneracyjnego w obrębie tkanki nerwowej i jej zdolności do funkcjonalnego zastępowania uszkodzonych struktur mózgu w różnych stanach patofizjologicznych. Proces neurogenezy jest zjawiskiem złożonym, uzależnionym od współdziałania wielu czynników, których wzajemne relacje ilościowe i przestrzenna organizacja w obrębie nisz neurogennych mózgu determinuje optymalne warunki dla jego przebiegu. Aktywność sekrecyjna i integralność strukturalna mikrośrodowiska tkankowego, określają charakter, kierunek i wydajność zachodzących przemian biochemicznych. Do czynników, które na drodze humoralnej kontrolują czynność tkanki nerwowej, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych należą neurotroficzne czynniki wzrostu (NTs). Poprzez interakcję ze specyficznymi/niespecyficznymi receptorami (TrkA, TrkB, TrkC, NGFRp75, RET) NTs wywierają działanie neuroprotektoryjne/neuroregeneracyjne i warunkują utrzymanie homeostazy tkankowej, kontrolując m.in. proces proliferacji, migracji i różnicowania macierzystych/progenitorowych komórek pochodzenia nerwowego (NSC/NPC, ang. *Neural Stem/Progenitor Cells*). W niniejszej pracy omówiono zagadnienia związane z transdukcją sygnału w komórce nerwowej za pośrednictwem receptorów Trk, NGFRp75 oraz RET stanowiącą precyzyjną oś regulacyjną dla ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Dokładne poznanie roli interakcji NTs/receptory dla NTs, zwłaszcza w patogenezie schorzeń neurodegeneracyjnych może przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych.

*Słowa kluczowe:* neurotrofiny, receptory dla czynników neurotroficznych, transdukcja sygnału wewnątrzkomórkowego, homeostaza

*Summary:* Recent progress in the studies concerning the central nervous system (CNS) functional biology led to identification of regenerative potential in different pathophysiological conditions. Neurogenesis appears to be a complex process involving interaction of many endogenous bioactive factors. Their local biosynthesis and spatial distribution in neurogenic niches determine restrictive conditions

to support this process in the brain. Especially, the secretory activity and structural integrity of nervous tissue microenvironment are responsible for efficiency and character of the biochemical processes that occur in this tissue. Proteins, which are involved in autocrine and paracrine regulation of nervous tissue activity in physiological/pathological conditions are defined as neurotrophic factors (NTs). Neurotrophins possess strong neuroprotective properties and determine neuronal homeostasis inducing neural stem/progenitor cells (NSC/NPC) proliferation, migration and differentiation via specific/non-specific receptors interactions (TrkA, TrkB, TrkC, NGFRp75, RET). Therefore, the detailed aspects of signal transduction triggered by Trk, NGFRp75 and RET receptors, as a very complex and precise axis of CNS regulation, was extensively described in this study. Elucidation of signal transduction pattern in nervous tissue through the mediation of the above-mentioned receptors in distinct neurodegenerative disorders in humans may facilitate preparation of background for novel therapeutic strategies.

*Key words:* neurotrophins, neurotrophic factor receptors, intracellular signal transduction, homeostasis

*Wykaz stosowanych skrótów:* **AKT/PKB** (ang. *Protein Kinase B*) – kinaza białkowa B (serynowo-treoninowa); **ARMS** (ang. *Ankyrin Repeat-Rich Membrane-Spanning Protein*) – przez błonowe białko zawierające powtórzenia ankirynowe; **ARTN** (ang. *Artemin*) – artemina; **Bax** (ang. *Bcl-2 Associated X Protein*) – białko proapoptyczne; **Bcl-2** (ang. *B Cell Lymphoma*) – białko należące do rodziny białek antyapoptycznych; **BDNF** (ang. *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego; **cAMP** (ang. *cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate*) – cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan; **CNDF** (ang. *Cholinergic Nerve Differentiation Factor*) – czynnik stymulujący różnicowanie neuronów cholinergicznym; **CNTF** (ang. *Ciliary Neurotrophic Factor*) – rzęskowy czynnik neurotroficzny; **CRD** (ang. *Cysteine Rich Domain*) – motyw/domena bogata w cysteine; **CREB** (ang. *cAMP Response Element-Binding Protein*) – czynnik transkrypcyjny aktywowany na drodze fosforylacji przez PKA, reguluje ekspresję genów zależnych od cAMP; **CT-1** (ang. *Cardiotrophin 1*) – kardiotropina-1; **DD** (ang. *Death Domain*) – domena śmierci; **ECD** (ang. *Extracellular Domain*) – domena zewnątrzkomórkowa; **EGF** (ang. *Epidermal Growth Factor*) – czynnik neurotroficzny naskórka; **ERK** (ang. *Extracellular Signal-Regulated Kinase*) – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo; **FGF** (ang. *Fibroblast Growth Factor-2*) czynnik wzrostu fibroblastów; **FKHRL1** (ang. *Forkhead Transcription Factor*) – proapoptyczny czynnik transkrypcyjny; **FRS-2** (ang. *Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate-2*) – substrat receptora dla czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR), białko adaptorowe; **GAP** (ang. *GTPase-Activating Protein*) – białko stymulujące aktywność GTP-azową małych białek G; **GDNF** (ang. *Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor*) – neurotroficzny czynnik pochodzenia glejowego; **GDP** (ang. *Guanosine-5'-triphosphate*) – guanozylo-5'-difosforan; **GEF** (ang. *Guanine Nucleotide Exchange Factor*) – aktywator wymiany nukleotydów; **GFLs** (ang. *GDNF Family Ligands*) – neurotroficzne czynniki pochodzenia glejowego; **GFRa** (ang. *Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Receptor*) – receptor a dla czynników pochodzenia glejowego; **GPI** (ang. *Glycosyl-phosphatidylinositol*) – glikozylofosfatydyloinozytol; **GTP** (ang. *Guanosine-5'-Triphosphate*) – guanozylo-5'-trifosforan; **ICD** (ang. *Intracellular Domain*) – domena wewnątrzkomórkowa; **IGF-1** (ang. *Insulin-Like Growth Factor 1*) – insulinopodobny czynnik wzrostu 1; **IKK** (ang. *IkappaB Kinase*) – kinaza IκB; **IP<sub>3</sub>** (ang. *Inositol-1,4,5-Triphosphate*) – inozytolo-1,4,5-trifosforan (3-fosfoinozytol); **IRAK** (ang. *Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase*) – kinaza związana z receptorem interleukiny-1; **IκB** (ang. *Inhibitory Protein of NFκB*) – inhibitor czynnika jądrowego κB; **JNK/SAPK** (ang. *c-Jun N-Terminal/Stress-Activated Protein Kinase*) – kinaza aktywowana stresem, kinaza domeny N-końcowej białka Jun; **LIF** (ang. *Leukemia Inhibitory Factor*) – białaczkowy czynnik hamujący; **MAPK** (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinase*) – kinaza białkowa aktywowana mitogenem; **MEK** (ang. *ERK Activator Kinase*) – aktywator kinazy ERK; **MMP** (ang. *Metalloproteinase*) – metaloproteinaza; **mNT** (ang. *mature form of Neurotrophins*) –

forma dojrzała neurotrofin; **NADE** (ang. *NT-Associated Cell Death Executor*) – białko adaptorowe dla receptora NGFRp75 sprawujący zależną od neurotrofin funkcję wykonawczą apoptozy; **NFκB** (ang. *Nuclear Factor κB*) – czynnik transkrypcyjny κB; **NGF** (ang. *Nerve Growth Factor*) – czynnik wzrostu nerwów; **NGFRp75/p75<sup>NTR</sup>** (ang. *Low Affinity NGF Receptor, p75 Neurotrophin Receptor, neurotrophin receptor*) – receptor o niskim powinowactwie dla NGF, receptor dla neurotrofin; **NLS** (ang. *Nucleus Localization Signal*) – sygnał lokalizacji jądrowej; **NPC** (ang. *Neural Progenitor Cell*) – neuralna komórka progenitorowa; **NRAGE** (ang. *Neurotrophin Receptor NGFRp75 Interacting MAGE (melanoma-associated antigen) homologue*) – białko adaptorowe dla receptora NGFRp75 przynależące do rodziny białek MAGE (związanych z czerniakiem); **NRH2** (ang. *Neurotrophin Receptor Homolog 2*) – forma skrócona receptora NGFRp75; **NRIF** (ang. *Neurotrophin Receptor Interacting Factor*) – czynnik interakcji receptora neurotrofin; **NRTN** (ang. *Neurturin*) – neurturyna; **NSC** (ang. *Neural Stem Cell*) – neuralna komórka macierzysta; **NT/NTs** (ang. *Neurotrophin/Neurotrophins*) – neurotrofina/neurotrofiny; **NT3** (ang. *Neurotrophin 3*) – neurotrofina 3; **NT-Rs** (ang. *Neurotrophic Factor Receptors*) – receptory dla neurotrofin; **OSM** (ang. *Oncostatin M*) – onkostatyna M; **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **p38 MAPK** (ang. *Mitogen-Activated p38 Protein Kinase*) – kinaza białkowa p38 aktywowana mitogenem; **P75-CTF** (ang. *p75 C-(Carboxy)Terminal Fragment*) – C-koniec receptora NGFRp75; **PI3K** (ang. *Phosphatidylinositol 3 Kinase*) – kinaza 3-fosfatydiloinozytolu; **PIP2** (ang. *Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate*) – 4,5-difosforan fosfatydiloinozytolu; **PKC** (ang. *Protein Kinase*) – kinaza białkowa C; **PLCγ** (ang. *Phospholipase C*) – fosfolipaza C; **PSPN** (ang. *Persephin*) – persefina; **proNT** (ang. *precursor form of Neurotrophins*) – forma prekursorowa neurotrofiny; **PTB** (ang. *Phosphotyrosine Binding Domain*) – domena wiążąca fosfotyrozynę; **Rac** (ang. *Small Protein G From Family Rho*) – małe białko G z rodziny Rho; **Raf** (ang. *RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*) – białkowa kinaza serynowo-treoninowa; **Ras** (ang. *Small Protein G from Ras Family*) małe białko G kodowane przez protoonkogen ras; **RET** (ang. *RET proto-oncogene*) – protoonkogen, kodujący receptor błonowy o aktywności kinazy tyrozynowej; **Rho** (ang. *Small Protein G from Family Rho*) – małe białko G o aktywności GTPazy; **RIP** (ang. *Receptor-Interacting Protein*) – białko oddziałujące z receptorem FAS; **RTK** (ang. *Receptor Tyrosine Kinase*) – receptor o aktywności kinazy tyrozynowej; **SC-1** (ang. *Schwann Cell 1*) – białko adaptorowe dla receptora NGFRp75 regulujące cykl komórkowy; **SH2** (ang. *Src Homology-2*) – domena homologii z białkiem Src, rozpoznająca fosfotyrozynę; **SM** (ang. *Sphingomyelinase*) – sfingomielinaza; **SOS** (ang. *Son of Sevenless*) – aktywator wymiany nukleotydów guaninowych; **Src** (ang. *Sarcoma*) – niereceptorowa kinaza tyrozynowa (onkogen); **TGFβ** (ang. *Transforming Growth Factor*) – transformujący czynnik wzrostu typu beta; **TMD** (ang. *Transmembrane Domain*) – domena przezbłonowa; **TNF** (ang. *Tumor Necrosis Factor*) – czynnik martwicy guza, nekrozy nowotworów; **TNFR** (ang. *Tumor Necrosis Factor Receptor*) – receptor dla czynnika martwicy nowotworów; **TRAF** (ang. *TNF receptor Associated Factor*) – zależny od TNF czynnik aktywujący; **Trk** (ang. *Tyrosine Kinase Receptor; Tropomyosin-Related Kinase*) – receptor o aktywności kinazy tyrozynowej; **VEGF** (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*) – czynnik wzrostu śróbłonka naczyńowego

## NEUROTROFINY – NEUROTROFICZNE CZYNNIKI WZROSTOWE DLA KOMÓREK NERWOWYCH

Neurotrofiny (ang. *Neurotrophins*, NTs) to czynniki wzrostu należące do rodziny niskocząsteczkowych białek warunkujących prawidłowe funkcjonowanie ośrodkowego (OUN) i obwodowego układu nerwowego. Czynniki te charakteryzują

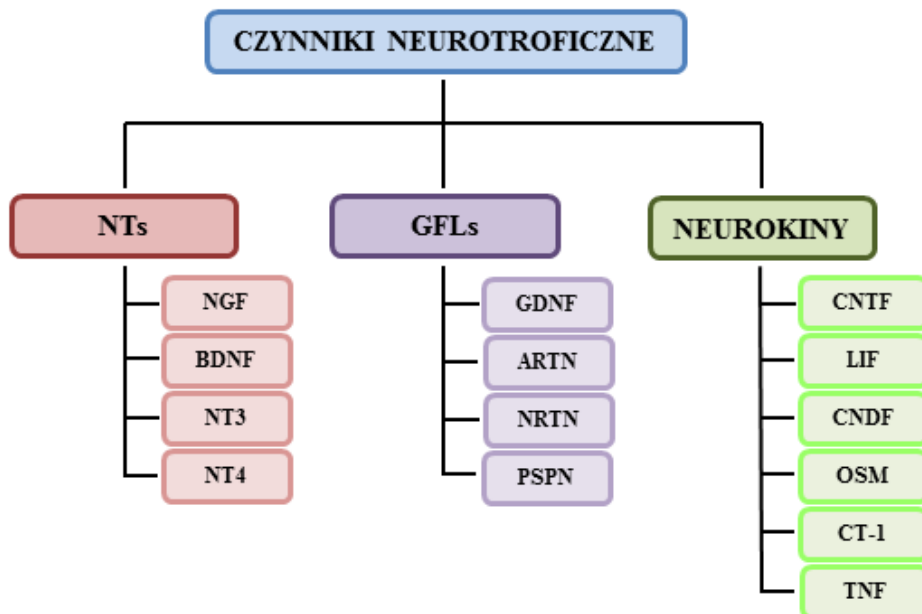
się, jak nazwa sugeruje, aktywnością neurotroficzną tzn. działaniem stymulującym i regulującym neurogenezę, wpływającym na rozwój neuronów poprzez wzrost nowych, jak i przeżywanie neuronów już istniejących [113]. Podczas rozwoju układu nerwowego w życiu płodowym neurotrofiny regulują liczbę neuronów mających dostęp do danego obszaru. Ilość syntetyzowanych i uwalnianych neurotrofin jest wystarczająca tylko dla określonej liczby neuronów, dlatego też, w procesie zaprogramowanej śmierci, część komórek nerwowych obumiera. Wskazuje się, że eliminacja części neuronów wynika z ograniczonej ilości substancji neurotroficzych, umożliwiających im przeżycie [111, 113]. W późniejszym okresie rozwoju OUN neurotrofiny odgrywają rolę w regulacji wzrostu dendrytów, modulują uwalnianie neuroprzekazników i ekspresję ich receptorów, pobudzają regenerację wypustek nerwowych, biorą udział w kształtowaniu obwodów neuronalnych, regulują proliferację, różnicowanie i plastyczność neuronalną [13, 46, 103]. Te rozpuszczalne białka, uwalniane do przestrzeni międzykomórkowej przez neurony, identyfikowane są także jako sygnały przyzywania komórek macierzystych do miejsca degeneracji [94], co stanowi o ich ważnej roli w sterowaniu procesami naprawczymi i może czynić je potencjalnie cennym i obiecującym narzędziem terapeutycznym w chorobach neurodegeneracyjnych. Doniesienia i badania ostatnich lat wskazują, iż brak lub upośledzenie transportu i sekrecji neurotrofin, bądź zaburzenia ekspresji receptorów dla tych białek bardzo silnie związane jest z patogenezą chorób demencyjnych [75, 111].

Neurotrofiny, mimo iż kodowane są przez różne geny, charakteryzuje duża homologia w budowie cząsteczki, a zarazem zróżnicowane i wielokierunkowe oddziaływanie, które zależne jest w dużym stopniu od wielu różnych czynników. Należą do nich m.in. wiązanie z konkretnym swoistym/nieswoistym receptorem o różnym stopniu powinowactwa, forma cząsteczki neurotrofiny (postać prekursorowa/dojrzała), konformacja (homo-/heterodimer), obecność bądź brak koreceptorów modyfikujących charakter i siłę oddziaływania na komórki docelowe oraz różnorodność izoform tych białek powstających na drodze alternatywnego składania (splicingu). Wszystkie te elementy przesądzają o ogromnym spektrum działania i potencjale neurotrofin, a zarazem wpływają na złożoność regulowanych przez nie procesów i utrudniają ich pełne zrozumienie.

Neurotrofiny są białkami występującymi najczęściej w postaci niekowalencyjnie związanych ze sobą homodimerów [46, 62, 85, 123], w pewnych sytuacjach zdolne są jednak do tworzenia również struktur heterodimerycznych [46, 70, 84], a zmiana konformacji może być jednym z mechanizmów warunkujących ich aktywność [113]. Białkowe produkty wszystkich genów kodujących neurotrofiny zawierają peptyd sygnałowy determinujący ich wydzielanie (pre-protein) oraz białko prekursorowe (pro-protein). Odcięcie hydrofobowego regionu cząsteczki sygnałowej pre-proneurotrofiny na N-końcu, skutkuje powstaniem cząsteczki prekursorowej – proNT (ang. *precursor form of Neurotrophin*) [13]. Aktywność

czynników neurotroficznych może być w związku z tym modulowana przez tzw. obróbkę potranslacyjną. Wszystkie neurotrofiny syntetyzowane są przez różne typy komórek, jako glikozylowane białka prekursorowe (pre-pro-protein), dimeryzowane po translacji [96], o ciężarze 30-35 kDa. Przekształcane są one następnie pod wpływem enzymów wewnątrzkomórkowych (furyna) w retikulum endoplazmatycznym i aparacie Golgiego, w formy dojrzałe, C-terminalne, biologicznie aktywne białka o masie cząsteczkowej 12-15 kDa, stanowiące właściwe homodimery [36, 64, 85, 97, 111]. Wykazano także, że prodomena neurotrofin odgrywa kluczową rolę w zapewnieniu właściwego składania i dimeryzacji powstających białek, podczas gdy domena warunkująca powstanie formy dojrzałej decyduje o zróżnicowanej, biologicznej aktywności NTs [36]. Wyniki najnowszych badań dowodzą, że prekursorowe substancje neurotroficzne, rozszczepiane są pozakomórkowo przez zewnątrzkomórkowe proteazy (plazmina) bądź selektywne metaloproteinazy (MMP7 i MMP3) [62, 111, 113]. O efekcie finalnego oddziaływania, jego nasileniu i kierunku, decyduje także rodzaj receptora wiążącego daną NT, a także forma NT reagująca z cząsteczką receptorową. Okazuje się bowiem, że w kwestii sygnalizacji ligand-receptor aktywność biologiczną posiadają zarówno formy prekursorowe, jak i dojrzałe neurotrofiny. Nie bez znaczenia jest również ewentualne, dodatkowe połączenie z odpowiednim koreceptorem, gdyż taka dodatkowa interakcja modyfikuje nasilenie odpowiedzi komórkowej. Bardzo ważnym aspektem odpowiedzi indukowanej przez NTs jest fakt, iż działanie na komórki docelowe w zależności od tego czy wiązany ligand to proNT (forma prekursorowa NT) czy mNT (forma dojrzała NT) jest przeciwstawne [97, 118]. ProNTs mają z reguły wysokie powinowactwo do receptora NGFRp75 (ang. *Low Affinity Nerve Growth Factor Receptor*) i indukują za jego pośrednictwem apoptozę neuronów, a mNTs charakteryzują się wyższym powinowactwem do receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej – Trk (ang. *Tyrosine Receptor Kinase*), promując tym samym przeżywalność komórek nerwowych [113].

Czynniki o aktywności neurotroficznej klasyfikuje się jako trzy główne rodziny: „klasyczne” neurotrofiny (NTs) [46, 68], neurotroficzne czynniki pochodzenia glejowego (ang. *Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor Family Ligands* GFLs) [2] oraz neuropoetyczne cytokiny (neurokiny) [14] (ryc. 1). Cechą łączącą te białka jest ich powinowactwo do transmembranowych receptorów sprzężonych z kinazą tyrozynową, bądź z innymi kinazami. Neurotropowy charakter oddziaływania wykazują także białka/czynniki wzrostu przynależące do innych rodzin, w obrębie których można wyróżnić: czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *Fibroblast Growth Factors*, FGF), insulinopodobny czynnik neurotroficzny (ang. *Insulin and Insulinlike Growth Factor*, IGF), czynnik neurotroficzny naskórka (ang. *Epidermal Growth Factor*, EGF), transformujący czynnik wzrostu typu beta (ang. *Transforming Growth Factor*, TGF $\beta$ ) oraz czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF).



**RYCINA 1.** Ogólna klasyfikacja czynników neurotroficznych. Podział czynników neurotroficznych na trzy główne rodziny: NTs – neurotrofiny, GFLs – neurotroficzne czynniki pochodzenia glejowego oraz neurokiny (cytokiny neuropoetyczne)

**FIGURE 1.** General classification of neurotrophic factors. Neurotrophic factors division on three main families: NTs – neurotrophins, GFLs – GDNF family ligands, neurokins (neuropoietic cytokines)

Białka troficzne wywierają zróżnicowany wpływ na różne subpopulacje neuronów, które poprzez komplementarne receptory i specyficzny program transkrypcyjny są zdolne odpowiadać na sygnały indukowane przyłączeniem opisanych ligandów. Oprócz sterowania procesami przeżywania i apoptozy, wykazują także zdolność do promowania migracji, różnicowania i dojrzewania neuronów, a także tworzenia nowych połączeń synaptycznych i regulacji procesu plastyczności synaptycznej. Kluczową jednak ich funkcją jest sterowanie procesami regeneracyjnymi komórek nerwowych po uszkodzeniu, w związku z czym potencjał ten może zostać wykorzystany w przyszłości do opracowania nowych strategii terapeutycznych w przypadku chorób demencyjnych i neurodegeneracyjnych. Do osiągnięcia tego celu niezbędne jest jednak dokładne poznanie szlaków przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego po aktywacji konkretnych receptorów dla czynników neurotroficznych. Przybliżenie aktualnego stanu wiedzy w tym obszarze stało się głównym przedmiotem niniejszej pracy.

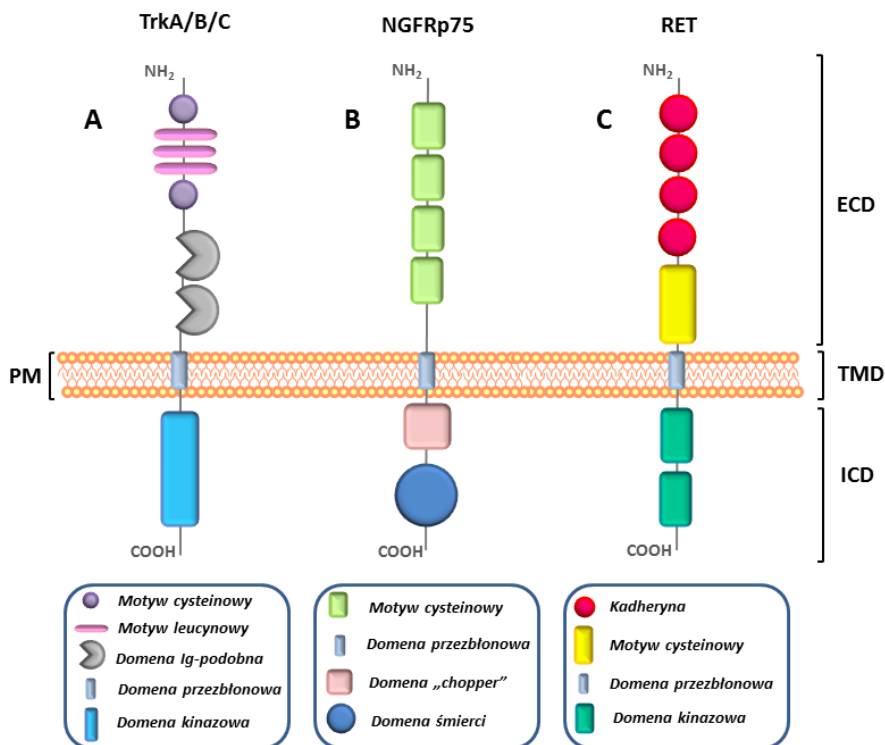


## INTERAKCJA NEUROTROFIN Z BIAŁKAMI RECEPTOROWYMI I TRANSDUKCJA SYGNAŁU WEWNĄTRZKOMÓRKOWEGO

### CHARAKTERYSTYKA RECEPTORÓW Trk (RTK)

RTK (ang. *Receptor Tyrosine Kinase*) charakteryzowane są jako powierzchniowe receptory wykazujące zdolność wiązania szerokiej grupy ligandów – polipeptydowych czynników wzrostu, cytokin, hormonów. Białka te katalizują reakcje mające decydujący i wielokierunkowy wpływ na regulację różnorodnych procesów fizjologicznych, takich jak proliferacja, różnicowanie, adhezja komórkowa, migracja, przeżycie, apoptoza. W ludzkim genomie zapisanych jest 58 RTK, zgrupowanych w 20 nadrodzin, w obrębie których sklasyfikowane zostały dwa typy receptorów wykazujących powinowactwo do nerwowych czynników troficznych [16, 104]. Jedną ze zidentyfikowanych grup transbłonowych glikoprotein, reprezentatywnych dla neurotrofin są receptory wykazujące aktywność kinazy tyrozynowej (ang. *Receptor Tyrosine Kinase*, Trk) i charakteryzujące się tzw. specyficznością substratową czyli zdolnością selektywnego wiązania komplementarnych ligandów. Pierwszy receptor tej kategorii został odkryty w 1989 r. jako protoonkogen, w którym tropomiozyna była przyłączana do domeny kinazy tyrozynowej TrkA (stąd też pierwotna nazwa tych receptorów to receptory z kinazą związaną z tropomiozyną), a dalsze badania wykazały, iż receptory te wchodzi w interakcję z czynnikami neurotroficznymi i posiadają aktywność kinazy tyrozynowej [6, 59, 71, 85]. Aktualnie znane są trzy receptory Trk, mianowicie TrkA wykazujący powinowactwo do cząsteczki NGF, TrkB – wiążący się preferencyjnie z BDNF i NT4 oraz TrkC – komplementarny względem NT3, chociaż neurotrofina ta może oddziaływać także poprzez receptory TrkB i TrkA [6, 46, 84, 85, 102, 104]. Dostępność receptorów Trk uwarunkowana jest działaniem wtórnych przekaźników (cAMP, Ca<sup>2+</sup>), które to wymuszają transport tych białek do plazmalemmy po indukowanym ligandem pobudzeniu, natomiast w stabilnych warunkach sekwestrowane są w wewnątrzkomórkowych pęcherzykach w neuronach OUN [46].

Receptory Trk charakteryzują się dużą homologią w budowie cząsteczki (ryc. 2A). Domena zewnątrzkomórkowa ECD (ang. *Extracellular Domain*) zbudowana jest z motywu bogatego w leucynę (domena nr 2) oflankowanego przez dwa motywy cysteinowe (domena nr 1 i 3, ang. *Cysteine Clusters*). Do struktur tych przylegają dwie domeny immunoglobulinopodobne typu C2 (domena 4 i 5, ang. *Ig-C2 domains*), a jedna z nich położona w bezpośrednim sąsiedztwie błony komórkowej [46, 85] odpowiada za selektywne rozpoznawanie i wiązanie ligandu [46, 59, 81, 85, 102]. Dodatkowo wykazana została rola tych domen w stabilizacji monomerycznej formy receptora Trk, poprzez ochronę przed jego spontaniczną dimeryzacją czy aktywacją przy braku neurotrofin. W dalszej kolejności od aminowego końca białka usytuowana



**RYCINA 2.** Budowa trzech receptorów dla czynników neurotroficznycch: Trk (A), NGFRp75 (B), RET (C). Szczegóły w tekście. Na podstawie [2, 6, 17, 59, 89], zmodyfikowane

**FIGURE 2.** Structure of three neurotrophin receptors: Trk (A), NGFRp75 (B), RET (C). Details in the text. According to [2, 6, 17, 59, 89], modified

jest domena transmebranowa (ang. *Transmembrane Domain*, TMD) lokująca i stabilizująca receptor w błonie, a C-koniec receptora stanowi najbardziej konserwatywna domena (85% podobieństwa) determinująca jego katalityczne właściwości, czyli domena o aktywności kinazy tyrozynowej [4, 6, 65, 104]. Dzięki obecności tyrozyn w domenie cytoplazmatycznej i zależnego od ich fosforylacji tworzenia miejsc wiązania dla cytoplazmatycznych czynników adaptorowych i enzymów, możliwa jest wewnątrzkomórkowa transdukcja sygnału [84].

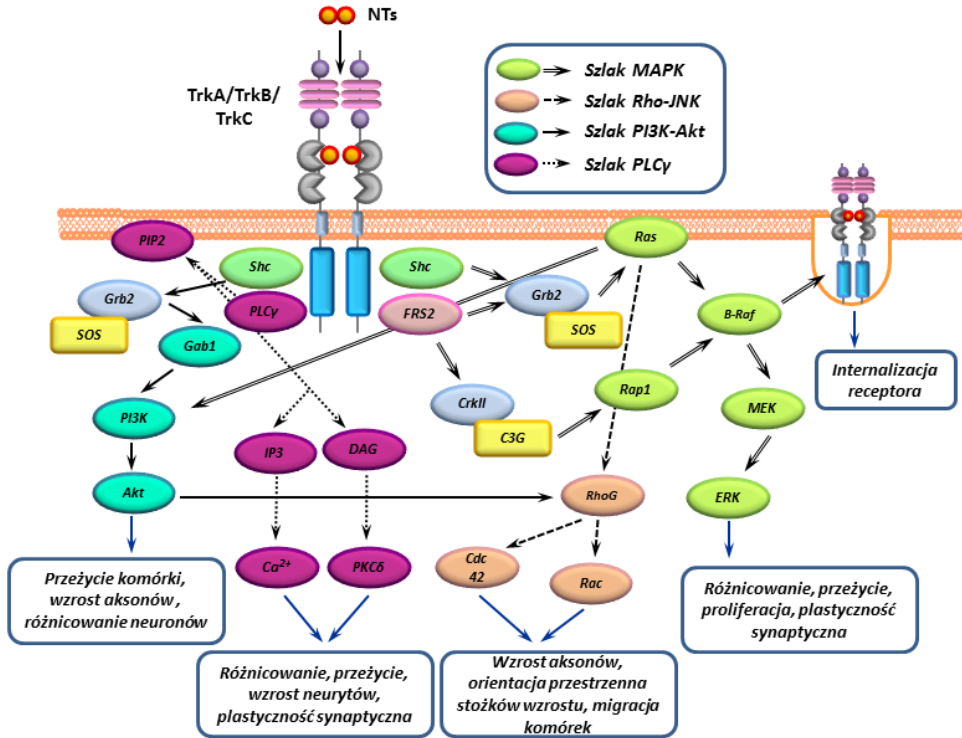
## TRANSDUKCJA SYGNAŁU W KOMÓRCIE PO AKTYWACJI RECEPTORA Trk

Propagacja sygnału w komórce jest procesem złożonym, angażującym wiele białek zarówno błonowych jak i cytoplazmatycznych. Reakcja ta ma charakter kaskadowy a inicjowana jest pobudzeniem właściwego receptora, który po połączeniu



z komplementarnym ligandem, stanowi główne ogniwo w skomplikowanym procesie przekazania informacji do jądra komórki. Od tej chwili wyspecjalizowane białka (kinazy) katalizują kolejne etapy reakcji wykorzystując mechanizm fosforylacji grup aminokwasowych jako główne narzędzie aktywacyjne. Zaktywowana cząsteczka fosforyluje z kolei białko znajdujące się poniżej w szlaku sygnalizacyjnym, a kolejno pobudzane białka pełnią funkcję przekaźników drugiego rzędu. Proces fosforylacji jest odwracalny (swoiste fosfatazy odłączają grupę fosforanową, defosforylacja) i stanowi mobilny system kontroli przebiegu reakcji, z możliwością jej zahamowania. Kinazy białkowe mogą przenosić grupę fosforanową na tyrozynę (kinazy tyrozynowe), bądź fosforylować serynę i treoninę w docelowych białkach (kinazy serynowo-treoninowe).

Związanie receptorów wykazujących aktywność kinazy tyrozynowej z właściwymi neurotrofinami prowadzi do dimeryzacji tych białek, fosforylacji reszt tyrozynowych w domenie cytoplazmatycznej, rekrutacji różnych cząsteczek adaptorowych/enzymów i następczej aktywacji różnych szlaków sygnałowych. Mechanizm ten jest wspólny dla wszystkich receptorów Trk, natomiast różnica polega na tworzeniu unikatowych miejsc dokujących dla konkretnych adaptorów i enzymów. Generuje to zróżnicowaną odpowiedź komórki nerwowej w zależności od związanej cząsteczki sygnałowej np. przeżycie, różnicowanie, proliferację, arboryzację dendrytów, tworzenie połączeń synaptycznych, modulację plastyczności synaptycznej, wzrost aksonów i orientację przestrzenną aksonów [6]. W obrębie domeny cytoplazmatycznej każdego z receptorów Trk wyróżnić można dziesięć ewolucyjnie konserwatywnych reszt tyrozynowych, z których trzy (670, 674, 675) stanowią tzw. pętlę autoregulacyjną odpowiadającą za aktywność katalityczną kinazy tyrozynowej [6, 46, 92]. Fosforylacja innych reszt tyrozynowych odpowiada za tworzenie specyficznych miejsc wiązania dla cytoplazmatycznych białek adaptorowych i enzymów wyposażonych w domeny SH2 (domena homologii z białkiem Src, ang. *Src Homology-2*) lub PTB (domena wiążąca fosfotyrozynę, ang. *Phosphotyrosine Binding Domain*) [6, 46, 59, 84]. Białka wykazujące aktywność enzymatyczną i wyposażone w domenę SH2 to np. kinaza tyrozynowa Src, fosfolipaza C, białka Ras-GAP, czy kinaza fosfatydyloinozytolu. Z kolei do białek adaptorowych o podobnej budowie strukturalnej zalicza się np. Grb2 czy Shc (rodzina białek łącznikowych), które pozbawione są aktywności enzymatycznej, a ich rola sprowadza się do kompleksowania elementów sygnałowych w indukowanej kaskadzie zdarzeń. Do dwóch głównych, mających kluczowe znaczenie w transdukcji sygnału, reszt tyrozynowych stanowiących miejsca endogennej fosforylacji, a nie odpowiadających za aktywację kinazy tyrozynowej receptora, należą tyrozyna 490 i 785 [46, 84, 92, 122]. Ufosforylowana tyrozyna 490 zapewnia miejsca dla przyłączenia białek Shc i FRS2, które stanowią rodzaj uchwytu między innymi dla białek Ras i kinazy PI3, z kolei fosfotyrozyna 785 zdolna jest rekrutować enzym PLC $\gamma$  [84]. Wśród poznanych szlaków sygnałowych aktywowanych przez receptory Trk w odpowiedzi na przyłączenie troficzných czynników dla neuronów wyróżnić można: Shc-Ras-MAPK, Rap-MAPK, PI3K-Akt oraz PLC $\gamma$  (fosfolipaza C gamma) – kinaza białkowa C (PKC) [6, 46, 47, 53, 84] (ryc. 3).



**RYCINA 3.** Kompleksowy model transdukcji sygnału w komórce po związaniu neurotrofin z receptorem z rodziny Trk (TrkA, TrkB, TrkC). Szczegóły w tekście. Na podstawie [6, 25, 31, 82, 84], zmodyfikowane.

**FIGURE 3.** A comprehensive model of cell signal transduction after neurotrophins binding to Trk receptors family (TrkA, TrkB, TrkC). Details in the text. According to [6, 25, 31, 82, 84], modified.

### Szlak sygnałowy Ras – MAPK/ERK2

Aktywacja tzw. małych białek G (białka Ras i in.), wykazujących zdolność wiązania guanozotrifosforanu (*ang. Guanosine-5'-Triphosphate, GTP*) w odpowiedzi na stymulację ze strony neurotrofin, jest pierwszym etapem sygnałowania i regulacji transkrypcyjnej promując przeżycie i różnicowanie komórek nerwowych. Moduluje również takie procesy wewnątrzkomórkowe jak organizacja struktury cytoszkieletu czy transport jądrowy [6, 69, 84, 85, 108]. Białko Ras zakotwiczone jest do wewnętrznej powierzchni błony cytoplazmatycznej komórki i tam funkcjonuje jako molekularny przełącznik, oscylując między formą aktywną (Ras-GTP) tzw. włączającą a nieaktywną (Ras-GDP) – wyłączającą system informacji [69, 108]. Kontrolę nad cyklicznymi przemianami GDP/GTP, pomiędzy formą aktywną białka a nieaktywną, sprawują białka regulatorowe m.in. aktywator wymiany nukleotydów GEFs (*ang. Guanine Nucleotide Exchange Factor*) oraz białko stymulujące aktywność GTP-azową małych białek G (*ang. GTPase-Activating Protein*) [6, 12, 39].

Aktywacja receptora Trk skutkuje interakcją domeny PTB pierwszego w kaskadzie białka adaptorowego Shc z ufosforylowaną tyrozyną 490 receptora [46, 53, 84, 92]. Zaktywowane białko Shc staje się następnie miejscem przyczepu kolejnego białka adaptorowego Grb2, które związane z aktywatorem wymiany nukleotydów tzw. czynnikiem SOS (GEF) przemieszcza się do błony komórkowej, stymulując tym samym proces wymiany GDP na GTP w białku Ras i włączenie jego aktywności [6, 45, 46, 84, 85, 92, 108]. Na tym etapie białko Ras aktywuje jeden ze specyficznych swoich efektorów – białka cytoplazmatyczne z rodziny białek Raf, które jako kinazy serynowo-treoninowe odpowiedzialne są za regulację procesów proliferacji, różnicowania i przeżycia neuronu [38, 108]. Kinazy Raf-1 i B-Raf, pobudzone za pośrednictwem Ras, biorą następnie udział w regulacji szlaków sygnalizacyjnych kinazy białkowej aktywowanej sygnałem zewnątrzkomórkowym ERK/kinazy białkowej aktywowanej mitogenem MAPK (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinase*) [6, 47, 84, 120]. Kaskada kinaz MAP pozwala na fosforylację kolejnych kinaz z tej rodziny [12] tzw. MEK1 i MEK2 (ang. *ERK Activator Kinase*), które z kolei aktywują kinazy ERK1 i ERK2 (ang. *Extracellular Signal-Regulated Kinase*), a te przenoszą sygnał do jądra komórkowego [60, 84, 108]. Szlak MAPK/ERK reguluje także zależną od syntezy białek plastyczność synaptyczną w przypadku oddziaływania z receptorem TrkB [120]. Taki kierunek stymulacji białka Ras promuje tylko krótkotrwałą (przejściową) aktywację kinaz MAP [6, 39, 46].

### Szlak sygnałowy Rap – MAPK

Neurotrofiny modułują dwie różne fazy aktywacji MAPK. Krótkotrwałą aktywacją (Shc-Grb2-SOS-Ras-B-Raf/Raf1-MAPK) opisana została powyżej, natomiast długotrwałą aktywacją kinazy ERK uzależniona jest od innych szlaków sygnałowych angażujących białko adaptorowe CrkII/CrkL, specyficzny GEF – C3G, małe białko G Rap1 oraz kinazę serynowo-treoninową B-Raf [6, 39, 46, 112]. Aktywacja receptora TrkA przy zaangażowaniu NGF prowadzi do aktywacji C3G poprzez przyłączenie do tworzącego się kompleksu białka adaptorowego CrkII/CrkL. Następnie C3G aktywuje Rap1, w konsekwencji czego pobudzane jest białko B-Raf wyzwalające efekt długotrwałej aktywacji MAPK. Ta ścieżka wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału wymaga internalizacji receptora Trk w formie endosomalnych pęcherzyków [6, 112] (ryc. 3).

Kwestią sporną pozostaje zagadnienie oddziaływania receptora TrkA poprzez białko CrkII/CrkL. Postuluje się, iż neurotrofiny mogą utrzymywać długotrwałą aktywację MAPK na drodze rekrutacji innego białka adaptorowego jak FRS-2 (substrat receptora dla czynnika wzrostu fibroblastów, ang. *Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate-2*), który konkuruje o miejsce wiązania z białkiem adaptorowym Shc w pozycji ufosforylowanej tyrozyny 490 receptora, ale także może wchodzić w interakcje z domeną SH2 białka CrkII [6, 46, 72, 84, 112]. Białko FRS-2 pobudzone aktywacją receptora Trk może wykazywać zdolność wiązania oprócz CrkII także innych bia-

łek adaptorowych, mianowicie Grb2, cytoplazmatycznej kinazy tyrozynowej Src czy białkowej fosfatazy SH-PTP-2 [46, 72, 84]. Inną z możliwych dróg sterowania odpowiedzią komórkową poprzez białko FRS-2, jest jego możliwość interakcji z kinazą Src, która aktywuje proces internalizacji receptora poprzez endocytozę [46].

Badania ostatnich lat wykazały, iż przekazywanie sygnału wzbudzanego neurotrofinami za pośrednictwem CrkL i C3G, może odbywać się z udziałem-przezbłonowego białka zawierające w swojej budowie powtórzenia ankirynowe (ang. *Ankyrin Repeat-Rich Membrane-Spanning Protein*, ARMS), wykazujące zdolność do gwałtownej i długotrwałej aktywacji po związaniu z domeną transbłonową receptora Trk [6, 7, 84]. Dodatkowo, interakcja pomiędzy ARMS, CrkL oraz C3G, stymulowana działaniem NGF, moduluje aktywność białka Rap1 prowadząc do zmniejszenia stopnia jego aktywacji i długotrwałej aktywności MAPK [5, 6, 7, 84]. W transdukcji sygnału wykorzystującej białko adaptorowe (linker) ARMS uczestniczy tyrozyna 1096, a szlak ten jest alternatywnym w stosunku do ścieżki wykorzystującej tyrozinę 490 [6, 83].

Wszystkie wymienione szlaki sygnałowe zmierzające do długotrwałej aktywacji kinaz MAP, mają na celu przekazanie sygnału do jądra komórki, gdzie oddziałują na rekrutację różnych czynników transkrypcyjnych (Rsk, Msk1), a za ich pośrednictwem na inicjację transkrypcji konkretnych genów, kontrolę cyklu i podziałów komórki. Kluczowym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym aktywność genów, których produkty oddziałują na przeżycie i różnicowanie neuronów jest CREB (białko regulujące ekspresję genów zależnych od cAMP, ang. *Cyclic Adenosine Monophosphate Response Element-Binding Protein*) [6, 20, 39, 46, 84].

### **Szlak sygnałowy Rho – JNK**

Szlak z udziałem białek Rho jest szczególnie ważny w przypadku komórek nerwowych, aczkolwiek wiele jest jeszcze niewiadomych w regulacji tego procesu. Białka Rho zaliczane są do nadrodziny białek Ras, czyli małych białek G (GTPaz) i podobnie jak one funkcjonują jako molekularne przełączniki, przechodząc z formy nieaktywnej w aktywną i odwrotnie [58]. Neurotrofiny mają zdolność aktywacji kilku białek z rodziny Rho, których zadaniem jest głównie organizacja cytoszkieletu (zmiana kształtu), regulowanie ruchliwości (migracji) komórki i jej wzrostu przez wydłużanie tzw. stożków wzrostu [84, 121], a także egzo- i endocytozy, tworzenie połączeń międzykomórkowych, czy kontrola cyklu komórkowego [58]. Do białek Rho aktywowanych przez neurotrofiny zaliczane są głównie Cdc42 i Rac, których rola sprowadza się głównie do regulacji procesu wzrostu aksonów, orientacji przestrzennej stożków wzrostu i migracji komórek [59, 84, 121]. Szlaki z wykorzystaniem tych białek obserwuje się zwłaszcza w komórkach Schwanna. Na skutek aktywacji receptora TrkC przez NT3 dochodzi w nich do ufosforylowania GEF [59, 84, 115] i następczej aktywacji kinazy JNK (N-końcowa kinaza c-Jun, ang. *c-Jun N-terminal Kinase*) (ryc. 3). Ta ścieżka sygnałowa odpowiada w głównej mierze za

migrację komórek Schwanna [59, 116]. W efekcie stymulacji neurotrofinami aktywowane jest również białko RhoG. Po przyłączeniu GTP, reaguje ono z czynnikiem Elmo, który z kolei wiąże się z GEF dla białka Rac – Dock180 – i skutkuje aktywacją Rac. Ten szlak sygnałowy jest niezbędny w stymulowaniu zależnego od NGF wzrostu neurytów w komórkach linii PC12 [84].

### Szlak sygnałowy PI3K – Akt

Oddziałując poprzez indukcję szlaku sygnałowego z udziałem kinazy-3-fosfatydyloinozytolu PI3K-Akt (PKB, kinaza białkowa B, ang. *Protein Kinase B*), neurotrofiny odgrywają kluczową rolę w regulacji procesów życiowych różnych populacji komórek nerwowych (np. pierwotne neurony, komórki neuroblastomy – [6]) w trakcie ontogenezy. PI3K klasy I wykazuje zdolność do aktywacji szlaków sygnałowych zależnych i niezależnych od Ras. Ma to szczególne znaczenie dla tych populacji neuronów, w których zależna od Ras aktywacja PI3K jest jedyną drogą zachowania funkcji życiowych [46, 84, 85].

Kaskada reakcyjna niezależna od Ras inicjowana jest klasycznie poprzez aktywację receptora Trk, co angażuje białko Shc, które asocjuje następnie z ufosforylowanym linkerem Grb2, wiążącym w dalszej kolejności białko Gab1 (ryc. 3). To ostatnie białko staje się miejscem przyłączenia PI3K i jej aktywacji [6, 44, 46, 53, 84, 85, 120]. Etap ten jest niezbędny zarówno dla samej aktywacji PI3K, jak i przesyłania za pośrednictwem Akt informacji do jądra.

W efekcie wzajemnego oddziaływania wymienionych białek, kinaza Akt może wywierać wpływ na swoje efekторы, a tym samym sterować procesami przeżycia bądź apoptozy komórki poprzez fosforylację adekwatnych czynników transkrypcyjnych, bądź białek zawiadujących tymi procesami [20, 46, 84]. Jednym z efektorów kinazy Akt jest proapoptotyczne białko Bad, należące do rodziny Bcl-2, którego aktywność jest hamowana w rezultacie tego oddziaływania [6, 46, 85]. Akt mediuje także działanie NFκB (transkrypcyjny czynnik jądrowy κB, ang. *Nuclear Factor κB*), który tworzy nieaktywny kompleks z cząsteczką inhibitorową κB (IκB, inhibitor czynnika jądrowego κB, ang. *Inhibitory Protein of NFκB*) i zatrzymywany jest w cytoplazmie. Ufosforylowanie przez Akt IκB powoduje jego oddysocjowanie i degradację, odsłonięcie sekwencji lokalizacji jądrowej (ang. *Nuclear Localization Signal*, NLS) i transport NFκB do jądra komórki. W jądrze czynnik ten zarządza transkrypcją adekwatnych genów (np. NF1, [6, 46, 85, 110]), np. odpowiedzialnych za przeżycie neuronów czuciowych [40, 84]. Podobne działanie Akt wykazane zostało w przypadku czynnika transkrypcyjnego FKHRL1 (ang. *Forkhead Transcription Factor*) mobilizowanego w odpowiedzi na przyłączoną neurotrofinę, którego fosforylacja znosi jego proapoptotyczną aktywność transkrypcyjną i zahamowuje transport z cytoplazmy do jądra komórki [6, 20, 46, 84, 85].

Dodatkowo, aktywacja PI3K determinuje procesy wzrostu aksonów i różnicowania neuronów. 3-fosfoinozytol powstający jako produkt aktywności PI3K rekrui-



tuje bowiem do błony komórkowej wiele białek sygnalizacyjnych, w których skład wchodzi głównie aktywatory wymiany nukleotydów guaninowych (GEFs) dla Cdc42, Rac i Rho. Procesy te mają znaczenie dla organizacji cytoszkieletu poprzez polaryzację F-aktyny i tłumaczą zjawisko sterowania orientacją przestrzenną stożków wzrostu nerwów w zależności od gradientu czynników troficznych [84, 121].

### Szlak sygnałowy PLC $\gamma$

Fosforylacja tyrozyny 785 położonej w obszarze C-końcowej domeny receptora Trk uczestniczy w procesie tworzenia miejsca wiązania PLC $\gamma$  (fosfolipaza C- $\gamma$ ) [85]. Przyłączenie fosfolipazy C- $\gamma$  rozpoczyna szlak, który obejmuje aktywację enzymów zaangażowanych w proces hydrolizy difosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP2), do dwóch produktów informacyjnych: 3-fosfoinozytolu (IP3) i diacyloglicerolu (DAG) [47, 84, 85, 120] (ryc. 3). IP3 podwyższa poziom wapnia w cytoplazmie (indukowany szlak przekazywania sygnałów zależny od jonów wapnia i kalmoduliny), podczas gdy DAG uczestniczy w aktywacji kinazy białkowej C $\delta$  (PKC $\delta$ ), która z kolei stymuluje wzrost neurytów, a w przypadku TrkB także i synaps [47, 76, 85, 108, 120]. Szlak angażujący enzym PLC $\gamma$  nie jest szlakiem nadrzędnym, ponieważ mutacja w miejscu tyrozyny 785 nie inhibuje neurytogenezy, co może świadczyć, iż istnieją inne mechanizmy kompensujące dysfunkcje regulacyjne [85].

## CHARAKTERYSTYKA RECEPTORA NGFRp75

Początek badań nad receptorem NGFRp75 – pierwotnie określanym jako receptor niskiego powinowactwa dla neurotroficznego czynnika wzrostu nerwów (ang. *Low Affinity NGF Receptor*) – przypada na rok 1986, kiedy to jego sekwencja została w pełni zidentyfikowana [24]. Odkrycie NGFRp75 pozwoliło sklasyfikować go, jako białko reprezentatywne dla nowej rodziny tzw. receptorów czynnika martwicy nowotworów (ang. *Tumor Necrosis Factor Receptor*; TNFR), w obrębie której można wyróżnić ok. 25 receptorów, takich jak np. TNFR1, TNFR2, Fas, RANK, CD40 [85, 103]. Gen dla NGFRp75 złożony jest z 10 egzonów i 9 intronów, a wielkość kodowanego produktu białkowego (75 kDa) znalazła odzwierciedlenie w nomenklaturze. Białko receptorowe NGFRp75, analogicznie jak reszta białek w tej rodzinie, jest domenową glikoproteiną transmembranową (typu I), złożoną z domeny zewnątrzkomórkowej (ECD), przezbłonowej (ang. *Transmembrane Domain*, TMD) i wewnątrzkomórkowej (ang. *Intracellular Domain*, ICD) [13, 26, 85, 103] (ryc. 2B).

Ujemnie naładowana domena ECD wyposażona jest w czterokrotnie powtórzony motyw bogaty w cysteinę (ang. *Cysteine Rich Ddomains*, CRD1-CRD4), a wydłużona struktura receptora uwarunkowana jest obecnością w każdym z tych motywów trzech międzyłańcuchowych mostków dwusiarczkowych [85]. Motywy CRD3 i CRD4 odpowiedzialne są za wiązanie neurotrofin, a ewentualny ich brak



znosi tę aktywność [26, 42, 84, 85, 91, 103]. Cechą różnicującą receptor NGFRp75 od pozostałych receptorów TNFR, jest jego powinowactwo do rozpuszczalnych ligandów homodimerskich (tworzonych głównie przez formy prekursorowe NTs), natomiast nie do związanych z błoną komórkową – homotrimerycznych [11, 23]. Dzięki temu powstaje asymetryczny kompleks (monomer NGFRp75 plus dimer neurotrofiny, stosunek stechiometryczny 1:2) zdolny do przyłączenia dodatkowego receptora (koreceptora). Taki mechanizm aktywacji sprzyja kompetycji między receptorem NGFRp75 a Trk, gdzie Trk jako niezależny dimer tworzy wysoko specyficzne miejsca wiązania neurotrofin a tym samym ogranicza aktywność receptora NGFRp75 [6, 10, 34, 42, 43, 78, 85, 90, 123]. Odzwierciedleniem takiego współzawodnictwa może być np. dominacja receptora TrkA promująca przeżycie nad hamującą, proapoptotyczną aktywnością receptora NGFRp75, w sytuacji gdy komórka wykazuje koekspresję tych dwóch białek receptorowych [85, 119]. Za sprawą takiej stechiometrii reakcji NGFRp75 może reagować także z innymi receptorami błonowymi jak np. LINGO, Nogo, czy sortylina [6, 10, 30, 77, 84, 114, 123], ujawniając złożony charakter regulacyjny.

W obrębie domeny wewnątrzkomórkowej (155 aminokwasów) na uwagę zasługują dwa regiony: przymembranowy – tzw. „chopper domain” (29 aminokwasów) oraz domena śmierci (ang. *Death Domain* – 80 aminokwasów, DD), które niezbędne są do indukcji zaprogramowanej śmierci komórki [85, 103]. Ważnym etapem jest palmitoilacja reszty cysteiny w regionie „chopper domain”, czego konsekwencją jest ułatwiona translokacja receptora NGFRp75 do dwuwarstwy membrany komórkowej w pobliżu rejonów bogatych w cholesterol i sfingolipidy i następcze wzbudzenie procesu apoptozy [28, 33, 43, 85, 90, 103]. Domena ICD nie wykazuje aktywności katalitycznej, charakteryzuje się natomiast zdolnością przyłączania cytoplazmatycznych białek adaptorowych, dzięki czemu możliwa jest sygnalizacja komórkowa [6, 26, 37, 43, 85, 97, 103]. Jedną z grup takich czynników są zależne od TNF czynniki aktywujące TRAF (ang. *TNFR Associated Factor*), które wiązane są przez sekwencje zlokalizowane w części przymembranowej domeny ICD [6, 11, 43, 56, 57, 85, 103].

### **IZOFORMY NGFRp75 A REGULACJA AKTYWNOŚCI RECEPTORA NGFRp75**

Jeszcze do niedawna panowało przekonanie, iż w przeciwieństwie do genów dla Trk, które w procesie splicingu (alternatywnego składania) generują zróżnicowane pod względem funkcji izoformy (np. w zakresie zdolności wiązania neurotrofin czy z niewykształconą domeną kinazową), w przypadku genu NGFRp75 możliwe jest utworzenie tylko jednej postaci białka – białka pełnej długości. Nowe doniesienia dotyczące biologii białek neurotroficznnych podważyły tę teorię, wskazując na istnienie tzw. skróconej formy NGFRp75 – s-NGFRp75, określanej jako

NRH2 (homolog 2 receptora dla neurotrofin, ang. *Neurotrophin Receptor Homolog 2*) [52, 84, 97]. Izoforma ta charakteryzuje się obecnością tylko jednego motywu CRD1 (brak egzonu 3 kodującego CRD2-CRD4) w domenie ECD, co rzutuje na upośledzenie funkcji wiązania neurotrofin [10, 23, 32, 43, 61, 85, 103, 106]. Oba warianty omawianego receptora ulegają ekspresji w komórkach nerwowych, jednak jej poziom w przypadku wariantu s-NGFRp75 jest wyraźnie niższy [103]. Myszy zmodyfikowane w kierunku zahamowania ekspresji obydwóch izoform receptora, wykazywały znaczną utratę neuronów czuciowych i komórek Schwanna, a dodatkowo charakteryzowały się defektem w procesie tworzenia dużych naczyń, w stosunku do myszy z brakiem tylko izoformy pełnej długości. Dokładny mechanizm regulacji tych procesów przez formę skróconą białka nie jest poznany. Postuluje się natomiast, że izoforma NRH2 może być zaangażowana w regulację aktywności receptorów kinazowych Trk, z racji uczestnictwa domeny przezbłonowej i cytoplazmatycznej NGFRp75 w procesie modulacji specyficzności i powinowactwa NTs do Trk [43, 85, 97, 106]. Ostatnio opisany został nowy, unikatowy mechanizm angażujący NRH2 w regulację zależnej od proneurotrofin indukcji apoptozy. Wykazano, że ekspresja NRH2 stymuluje relokacje wewnątrzkomórkowego białka sortyliny w kierunku powierzchni błony komórkowej, gdzie tworzy wraz z receptorem NGFRp75 kompleks zdolny do interakcji z proneurotrofinami, tym samym czyniąc neurony wrażliwe na odbiór sygnałów o śmierci komórki [30, 77, 96, 97, 105].

Skrócone formy NGFRp75 mogą być tworzone w dwojaki sposób: poprzez alternatywne składanie (co opisane zostało powyżej) i proteolizę. Pełnej długości produkt białkowy (full-length NGFRp75) może poddawany być ograniczonej proteolizie za sprawą alfa- i gamma-sekretazy, determinując tym samym aktywację szlaków sygnałowych w komórce [10, 19, 85, 90, 103]. Alfa-sekretaza odpowiedzialna jest za cięcie ektodomeny białka receptorowego, co prowadzi do zniesienia zależnej od liganda indukcji kaskady sygnalizacyjnej. Związany z błoną, pozostały fragment C-końcowy receptora NGFRp75 (ang. *p75-CTF – C-terminal Fragment*) jest natomiast wciąż zdolny do oddziaływania na aktywność troficzną receptorów Trk i promowania procesu przeżycia komórki (NGFRp75-ICD asocjuje z receptorem TrkA) [6, 43, 51, 52, 55, 78, 86, 103]. Po odcięciu, rozpuszczalna domena ECD może pełnić różne funkcje, m.in. może stanowić tzw. „receptor-pułapkę” oczyszczający z neurotrofin przestrzeń zewnątrzkomórkową, a przy zapewnieniu odpowiednich warunków ułatwiać zależną od NGFRp75 transdukcję sygnału śmierci komórki [43, 51, 52, 78]. Drugim enzymem sprawującym kontrolę nad ograniczoną proteolizą receptora jest gamma-sekretaza, której zadaniem jest odcinanie cytoplazmatycznej domeny ICD. Procesowi temu towarzyszy translokacja NGFRp75-ICD do jądra komórki [6, 10, 51, 52, 90, 106]. Koekspresja rozpuszczalnej domeny ICD oraz czynnika TRAF6 skutkuje aktywacją szlaku sygnalizacyjnego z udziałem jądrowego czynnika NFκB, który prowadzi komórkę na drogę przeżycia [37, 52, 56, 78, 103]. Ciekawostką jest fakt, iż NGF związany do NGFRp75 nie indukuje ak-

tywności gamma-sekretazy, a w konsekwencji hamuje obróbkę i jądrową translokację ICD [52, 78]. Modyfikacja enzymatyczna białka NGFRp75 z wyodrębnieniem fragmentu przezbłonowego i domenowego ICD cząsteczki, obserwowane jest na bardzo wysokim poziomie w trakcie rozwoju osobniczego, a także w przebiegu uszkodzenia obwodowych włókien nerwowych [73, 85].

## **WIELOFUNKCYJNY CHARAKTER AKTYWNOŚCI RECEPTORA NGFRp75 – EFEKT PLEJOTROPOWY**

Multifunkcyjny charakter receptora NGFRp75, przejawia się poprzez wpływ na różne procesy w komórce, a jego aktywność uzależniona jest od interakcji z różnymi ligandami i receptorami. W obszarze działania receptora NGFRp75 znajduje się między innymi: wzmacnianie bądź hamowanie aktywności receptorów Trk (jako koreceptor), autonomiczna aktywacja kaskad sygnałowych, których efektem jest wprowadzenie komórki na drogę przeżycia lub apoptozy, uczestnictwo w procesie regulacji cyklu komórkowego [10, 34, 35, 85, 103], inhibicja wzrostu aksonów poprzez oddziaływanie na glikoproteiny mieliny/mielinizacja (przy zaangażowaniu koreceptorów NogoR i Lingo-1) [6, 27, 30, 84, 90, 97, 116], a także modyfikacja plastyczności synaptycznej [97, 109, 117]. Los komórki nerwowej uzależniony jest od konfiguracji i wzajemnych, zmieniających się ilościowych proporcji ekspresji receptora NGFRp75 i receptora drugiego rodzaju – Trk, co ma silne odzwierciedlenie w wynikającej z tego oddziaływania odpowiedzi biologicznej [23]. Bardzo wyraźnie zaznacza się funkcja NGFRp75 w zależności od stadium rozwojowego organizmu – i tak na wczesnych etapach eliminuje na drodze apoptozy nadmiarową ilość wykształconych neuronów, a w trakcie dalszego rozwoju wraz z receptorami Trk promuje szlaki antyapoptotyczne, chroniąc neurony przed obumieraniem i degeneracją [37, 78].

Rezultatem współwystępowania (koekspresji) tych dwóch receptorów jest także ich współdziałanie, podczas którego NGFRp75 jako koreceptor wzmacnia siłę i specyficzność wiązania dojrzałych form neurotrofin przez Trk, stymulując przeżywanie komórek nerwowych i glejowych [10, 26, 85, 97]. W obecności NGFRp75 powinowactwo NGF do TrkA wzrasta 25-krotnie, w efekcie utworzenia wysoko specyficznych miejsc wiązania [85]. Tkanki obwodowe produkują mniej neurotrofin, adekwatnie jednak do zapewnienia właściwej przeżywalności komórek nerwowych i unerwienia danego narządu. Warunkiem homeostazy jest wszakże, by w proces ten zaangażowany był receptor NGFRp75, który moduluje powinowactwo receptorów Trk do limitującego stężenia czynników troficznych.

Interesującym zjawiskiem jest indukcja apoptozy przez cząsteczkę NGFRp75 [18], przy jednoczesnym braku bądź znikomej ekspresji receptora Trk [23] na powierzchni komórek glejowych – oligodendrocytów [11, 22, 26, 85, 119] i komórek

Schwanna [1, 85]. Wielokierunkowa aktywność receptora NGFRp75 uwarunkowana jest – jak zostało już wcześniej opisane – zdolnością do reagowania zarówno z formą prekursorową jak i dojrzałą neurotrofin. Neurotrofina w formie dojrzałej nie jest efektywnym aktywatorem receptora NGFRp75 w ścieżce indukcji apoptozy [10]. Odkrycie biologicznie aktywnych proneurotrofin w unerwianych tkankach przyczyniło się do wyjaśnienia wielu mechanizmów odpowiedzialnych za degenerację neuronów, a długo poszukiwany, specyficzny ligand dla receptora NGFRp75 został zidentyfikowany. NGFRp75 jako monomer wymaga interakcji z koreceptorem, jakim jest przezłonowe białko sortylina. W patofizjologicznej sekwencji zdarzeń zatem, domena zewnątrzkomórkowa sortyliny silnie wiąże się z prodomeną proNTs (proNGF, proBDNF, proNT3), a interakcja z białkiem NGFRp75 skierowuje komórkę na drogę zaprogramowanej śmierci [6, 10, 13, 34, 48, 77, 84, 96, 118]. Odzwierciedleniem tych zależności jest bardzo rozpowszechniona w wielu różnych tkankach ekspresja sortyliny, a zwłaszcza nasiloną w OUN w czasie jego rozwoju, w okresie starzenia czy degeneracji neuronów (neuropatia) w przebiegu różnych chorób [10], co koresponduje ze wzmożoną w takich warunkach apoptozą. Ten sam trend w ekspresji dotyczy również receptora NGFRp75, którego obecność bardzo silnie zaznaczona jest w motoneuronach i obwodowych mechanoreceptorach w przebiegu uszkodzenia nerwów kulszowych [85], w oligodendrocytach po uszkodzeniu rdzenia kręgowego [6, 41], w neuronach prądkowia i hipokampa po indukowanym, częściowym niedokrwieniu mózgu [85], w komórkach Schwanna w efekcie uszkodzenia neuronów, w neuronach korowych, hipokampa i przodomózgowia po ataku padaczkowym [36] a także w przebiegu wielu chorób przewlekłych, jak stwardnienie rozsiane, neuropatia cukrzycowa, choroba Alzheimerera i różnych nowotworach [43, 103, 107].

Indukcja apoptozy jest sztandarowym przykładem aktywności receptora NGFRp75. Wykazano jednak, iż w pewnych warunkach, np. w stanie hypoglikemii, receptor ten może również stymulować, niezależnie od Trk, procesy antyapoptotyczne [85].

### **TRANSDUKCJA SYGNAŁU W KOMÓRCIE PO AKTYWACJI RECEPTORA NGFRp75**

Wiele receptorów z rodziny TNFR jest bifunkcjonalnych, co oznacza, że mogą sterować zarówno procesem apoptozy, poprzez interakcje z domeną śmierci receptora, bądź promować przeżycie za pośrednictwem czynnika NFκB [6, 43, 46, 85]. Takie też właściwości wykazuje receptor NGFRp75 [40, 84].

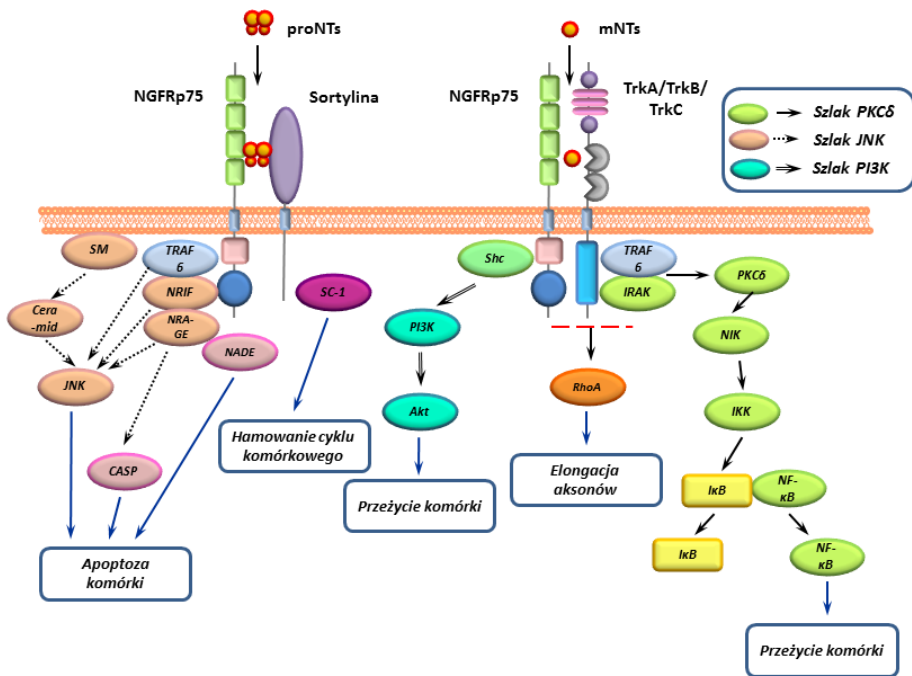
Receptor NGFRp75 zdolny jest do aktywacji szlaków prowadzących komórkę na drogę przeżycia, wykorzystując kinazy PI3K oraz Akt [85, 86] (ryc. 4). Szlak transdukcji sygnału kinazy PI3K włączany jest przez fosforylację reszt tyrozyny

337 i 366 w regionie przyblonowym domeny wewnętrznej receptora NGFRp75 [103]. Kinaza ta aktywuje kinazę Akt, która jest wewnątrzkomórkowym enzymem odpowiedzialnym za równowagę białek pro- i antyapoptotycznych Bcl-2 i promuje sygnał do przeżycia [20, 28, 103]. Z kolei proces aktywacji NFκB wymaga rekrutacji czynnika TRAF6 w kompleksie z kinazą związaną z receptorem interleukiny-1 (ang. *Interleukin-1 Receptor Associated Kinase* IRAK) [11, 43, 57]. Kompleks ten aktywuje następnie atypową kinazę białkową PKCδ, która przekazuje pobudzenie na kolejną w kaskadzie kinazę IKKβ (izoforma β kinazy, ang. *IκB Kinase β*, IκB). Ta ostatnia powoduje fosforylację inhibitora IκB i uwolnienie dimeru NFκB [43, 103, 110]. Uwolnienie czynnika jądrowego kappa może mieć również miejsce po przyłączeniu białka towarzyszącego RIP-2 (ang. *Receptor-Interacting Protein-2*) do wewnątrzkomórkowej domeny NGFRp75 i skutkują konwersją sygnału do apoptozy komórki na sygnał do przeżycia [6, 43, 56, 57, 84, 90, 103, 110]. Stymulacja czynnikami neurotroficznymi prowadzi także do aktywacji szlaku Ras/ERK w przypadku receptora NGFRp75 za sprawą fosforylacji dwóch reszt tyrozynowych w domenie śmierci receptora i z zaangażowaniem białek adaptorowych [26, 103]. Czas aktywacji tego szlaku po pobudzeniu receptora jest relatywnie krótki [103] i może stymulować proces proliferacji komórki [21, 103]. Interakcja neurotrofin z receptora NGFRp75 może modulować także proces wzrostu aksonów, poprzez indukowaną odłączeniem od NGFRp75 inaktywację białka RhoA, które sprzężone z NGFRp75 (na zasadzie odwrotnej regulacji) hamuje elongację aksonów [6].

Sygnał promujący apoptozę, generowany na skutek pobudzenia receptora NGFRp75, związany jest natomiast z dwoma strukturalnymi regionami tego receptora, mianowicie przymembranowym „chopper” oraz z domeną śmierci. Zaangażowanie tych struktur w procesy proapoptotyczne uwarunkowane jest możliwością wiązania TRAF6 jak również innych białek adaptorowych tj. NRAGE (ang. *Neurotrophin Receptor NGFRp75 Interacting MAGE (Melanoma-Associated Antigen) Homologue*), NRIF2, NRIF1 (ang. *Neurotrophin Receptor Interacting Factor*), NADE (ang. *NT-Associated Cell Death Executor*), SC-1 (ang. *Schwann Cell 1*) i aktywacją kinazy JNK [6, 11, 26, 74, 84, 103, 114], określanej także jako indukowana stresem kinaza białkowa SAPK (ang. *Stress-Activated Protein Kinase*) (ryc. 4). Model wymagający aktywacji JNK z następczą fosforylacją czynnika transkrypcyjnego c-Jun i uwolnieniem cytochromu C z mitochondrium, obserwowany był w przypadku oligodendrocytów [11, 22, 84, 85, 90, 119], neuronów współczulnych [103], neuronów hipokampalnych [35] i linii komórek PC12 [11, 86]. Alternatywnie, przyłączenie cząsteczki adaptorowej NRIF do wewnątrzkomórkowej doemny ICD receptora NGFRp75 powoduje rekrutację zależnego od TNF czynnika asocjującego 6 (TRAF6). Czynniki te steruje procesem poliubikwitynacji NRIF oraz jego przemieszczeniem w kompleksie z domeną ICD do jądra komórki, gdzie dochodzi do transkrypcji genów proapoptotycznych i syntezy białek o takiej samej funkcji jak Bax oraz Bad, a w konsekwencji aktywacji kaspaz inicjatorowych (kaspaza 9)

i wykonawczych (kaspazy 6 i 3) [29, 47, 56, 84, 103]. Warunkiem zainicjowania procesu apoptozy poprzez drugi region: „chopper” jest palmitoilacja reszty cysteiny cytoplazmatycznej przybliżonej części NGFRp75 [19, 28, 91, 103]. Region „chopper” determinuje śmierć komórek w sposób zależny od kaspaz [85]. Taka droga indukcji programowanej śmierci komórki, z zaangażowaniem receptora błonowego stymulowanego specyficznym ligandem definiuje tzw. zewnątrzpochodny szlak apoptozy, charakterystyczny dla rodziny białek TNF [93].

Jednym z modeli indukcji apoptozy przez receptor NGFRp75 obserwowanym na przykładzie oligodendrocytów, jest zaangażowanie fragmentu CTF receptora, powstającego na skutek proteolitycznego cięcia przez  $\alpha$ -sekretazę, jego



**RYCINA 4.** Kompleksowy model transdukcji sygnału w komórce po związaniu neurotrofin z receptorem NGFRp75. Ostateczna odpowiedź biologiczna komórki uzależniona jest od interakcji NGFRp75 z koreceptorem (sortylina, Trk) i od formy cząsteczkowej neurotrofiny (dojrzała, prekursorowa). Szczegóły w tekście. Na podstawie [6, 25, 31, 67, 84], zmodyfikowane

**FIGURE 4.** A comprehensive model of cell signal transduction after neurotrophins binding to NGFRp75 receptor. The final biological cell response depends on interaction NGFRp75 receptor with koreceptor (Trk, sortilin) and form of neurotrophin (mature or precursor form). Details in the text. According to [6, 25, 31, 67, 84], modified



translokacja w pobliże błony komórkowej i aktywacja białka Rac. W konsekwencji uwalniany jest fosfatydyloinozitol-4,5-bisfosforanu, który następnie aktywuje białko G (GRIK channel), a to prowadzi do powstania apoptosomów i aktywacji kaspaz 9 i 3 [29, 55, 85, 103].

Mechanizm receptorowy występuje również w szlaku sfingomilino-ceramidowym apoptozy, który uruchamiany jest po narażeniu komórki na działanie promieniowania jonizującego, deprivację czynników wzrostu czy infekcje wirusowe. Konsekwencją tego jest wzrost stężenia ceramidów w komórce, w następstwie aktywacja kwaśniej lub obojętnej sfingomielinazy (SM) [26, 84, 93]. Sfingomielinaza poprzez enzymatyczne cięcie (hydrolizę) sfingomieliny – błonowego lipidu – sprzyja powstawaniu produktów tej reakcji a mianowicie fosfocholiny i ceramidu [6, 11, 32, 85, 93], a ceramid spełnia funkcję cząsteczki sygnałowej drugiego rzędu i w zależności od jego stężenia w komórce stymuluje procesy różnicowania bądź apoptozy [11, 26, 85, 103].

### CHARAKTERYSTYKA KOMPLEKSU RECEPTOROWEGO GFR $\alpha$ 1-RET

GDNF (ang. *Glial-Derived Neurotrophic Factor*) zaliczany jest do nadrodziny czynników TGF $\beta$  ze względu na charakterystyczną lokalizację i obecność w cząsteczce siedmiu reszt cysteinowych [63, 87, 95]. GDNF klasyfikowany jest także jako białko podlegające aktywacji poprzez tworzenie struktury homodimerskiej [87, 88]. Cechą różniącą rodzinę neurotroficznych czynników pochodzenia glejowego GFL od innych białek wchodzących w skład rodziny TGF $\beta$  jest fakt, że nie reagują one z receptorowymi kinazami serynowo-treoninowymi, ale podobnie jak inne neurotrofiny – z receptorami o aktywności kinazy tyrozynowej (RTK), w tym przypadku z RET [3, 50, 63, 66, 88, 98, 99]. Ponadto, GFL łączą się w pierwszej kolejności z inną klasą białek zakotwiczonych w błonie komórkowej za pomocą glikozylofosfatydyloinozitolu (GPI), określanych mianem receptorów  $\alpha$  dla czynników pochodzenia glejowego – GFR $\alpha$ 1 i GFR $\alpha$ 2 (ang. *Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Receptor*). Odpowiadają one za specyficzność aktywacji białka RET [9, 15, 50, 88, 89, 95, 98, 99, 101]. Cząsteczka receptorowa GFR $\alpha$ 1 (zarówno monomer i dimer) wykazuje specyficzność substratową i duże powinowactwo w stosunku do dimerycznej formy GDNF, a utworzony kompleks aktywuje receptor RET poprzez jego homodimersację i autofosforylację [2, 3, 50, 87, 88, 89, 98]. Ta skomplikowana kaskada sygnałowa ma swoje odzwierciedlenie w stymulowanej odpowiedzi biologicznej. Na przykład, aktywacja receptora RET przy braku ligandu GDNF indukuje działanie proapoptotyczne, wzmacnione interakcją receptora GFR $\alpha$  [88]. RET generalnie występuje w koekspresji z białkami GFR $\alpha$ , co jest zazwyczaj komplementarne z ekspresją mRNA właściwego ligandu [3, 100].

W niektórych jednak tkankach ekspresja receptora GFR $\alpha$  obserwowana jest przy niewykrywalnej ekspresji receptora RET, np. w komórkach glejowych, Schwanna czy w różnych obszarach dojrzałego mózgu [3, 89], co wskazuje, iż GFR $\alpha$  może wchodzić w interakcję także z innym receptorem niż RET.

Receptor błonowy RET różni się od innych receptorów wykazujących aktywność kinazy tyrozynowej obecnością czterech cząsteczek adhezji komórkowej podobnych do kadheryny w miejscu domeny zewnątrzkomórkowej tego białka. Zbudowany jest z elementów charakterystycznych dla tej rodziny białek, m.in. zlokalizowanego blisko błony komórkowej regionu bogatego w cysteinę (CRD), domeny transbłonowej umiejscawiającej białko w błonie (TMD) oraz domeny cytoplazmatycznej determinującej aktywność katalityczną tej glikoproteiny (ICD) [87, 95] (ryc. 2C). Poprzez szlaki sygnalizacyjne wywiera działanie regulacyjne na przeżycie, różnicowanie, proliferację, migrację, chemotaksję, morfogenezę neuronów, wzrost aksonów oraz plastyczność synaptyczną [89].



**RYCINA 5.** Kompleksowy model transdukcji sygnału w komórce po związaniu GDNF ze specyficznym koreceptorem dla receptora RET – GFR $\alpha$ 1. Szczegóły w tekście. Na podstawie [2, 79], zmodyfikowane

**FIGURE 5.** A comprehensive model of cell signal transduction after GDNF binding to specific coreceptor for RET receptor – GFR $\alpha$ 1. Details in the text. According to [2, 79], modified

## TRANSDUKCJA SYGNAŁU W KOMÓRCIE PO AKTYWACJI RECEPTORA RET

Pierwszym etapem aktywacji receptora jest jego dimeryzacja i zmiana konformacji. Ważnym momentem tego procesu jest autofosforylacja i transfosforylacja reszt tyrozynowych wchodzących w skład domen katalitycznych sąsiadujących ze sobą receptorów tworzących dimer, a zaktywowana kinaza receptora stanowi miejsce wiązania dla białek sygnałowych, adaptorowych czy pomocniczych. W zależności od izoformy receptorowej kinazy białkowej RET, można wyróżnić od 16 do 18 reszt tyrozynowych, których fosforylacja indukuje zróżnicowaną odpowiedź komórkową zależną od aktywacji dalszych przekaźników informacji. RET wykazuje zdolność aktywacji różnych szlaków sygnałowych m.in. z udziałem kinazy ERK regulowanej zewnątrzkomórkowo, kinazy 3-fosfatyloinozytolu PI3K/Akt – serynowo-treoninowej kinazy białkowej będącej głównym przekaźnikiem sygnału w szlaku PI3K, kinazy białkowej p38 aktywowanej przez mitogen (ang. *Mitogen Activated Protein Kinase*, MAPK) oraz kinazy JNK (ang. *c-Jun N-terminal Kinase*) [3, 15, 49, 80, 95] (ryc. 5). Szlaki transdukcji sygnału poprzez Ras/ERK, PI3K/Akt, p38MAPK i JNK są skutkiem aktywacji tyrozyny 1062 [8, 15, 80], która stanowi miejsce wiązania cząsteczki adaptorowej Shc [8, 15, 63, 95]. Molekuła ta nie posiada aktywności enzymatycznej, pełni natomiast funkcję pomocniczą w gromadzeniu białek sygnałowych. W dalszej kolejności Shc łączy się z kolejnymi białkami adaptorowymi Gab1/2 i kompleksem Grb2/SOS, prowadząc do aktywacji szlaków PI3K/Akt i Ras/ERK [8, 15, 80]. Białko Gab1/2 bezpośrednio reaguje z podjednostką p85 PI3K, co skutkuje aktywacją tego enzymu [15, 95]. Aktywacja PI3K pociąga za sobą wzbudzenie kinazy białkowej Akt (ang. *Protein Kinase B*, PKB), która stanowi główny przekaźnik sygnału w szlaku PI3K [49] oraz ogrywa kluczową rolę w regulacji procesów związanych z przeżyciem i rozwojem komórki (neuronu) [3, 15, 49, 54]. GDNF aktywuje także szlak JNK poprzez małe GTP-azy Rho/Rac np. Cdc42 [3] i podobnie jak droga regulacji PI3K-Akt, JNK jest procesem determinującym zależne od czynników neurotroficznych przeżycie neuronów [3, 54].

Z dodatkowych białek pośredniczących w transdukcji sygnału po aktywacji receptora RET uwagę zwracają tzw. białka zakotwiczone (ang. *docking proteins*), które wspomagają przyłączanie się białek adaptorowych (jak Shc) w obrębie tworzącego się podblonowo kompleksu receptorowego. Należy do nich kompleks SNT/FRS2, wyposażony w fosfotyrozynową domenę wiążącą (PTB), który reaguje z tyrozyną 1062 receptora RET na drodze zależnej od neurokiny GDNF. Białko dokujące, wiążąc się z kompleksem Grb2/SOS pośredniczy w procesie indukcji szlaku sygnałowego Ras/ERK [95]. Postuluje się, iż właściwa lokalizacja białka RET w błonie komórkowej ma kluczowe znaczenie dla sygnalizacji sterowanej przyłączeniem glejopochodnych czynników neurotropowych [88]. Receptor RET wędrujący do błony komórkowej w efekcie pobudzenia ligandem (GDNF) wzmac-

nia sygnalizację poprzez szlak SNT/FRS2, podczas gdy receptor RET pobudzony zewnątrzkomórkowo aktywuje szlak Shc [95]. Białka receptorowe GFR $\alpha$  mogą reagować z formą rozpuszczalną receptora RET [3] bądź z formą trans, czyli połączoną w błonie komórkowej [3, 89, 100], a możliwa jest także droga sygnalizacji GDNF, w której receptor RET nie bierze udziału [3, 89]. Położenie receptora RET uzależnione jest od stopnia jego glikozylacji: formę częściowo glikolizowaną wykazano w cytoplazmie komórki (150 kDa), a formę całkowicie glikolizowaną (170 kDa) w błonie komórkowej, jako przezbłonowe RTK [63].

## PODSUMOWANIE

Neurotrofiny wywierają szerokie działanie i pełnią zróżnicowane funkcje, zmierzające do zachowania integralności strukturalnej i czynnościowej zarówno ośrodkowego, jak i obwodowego układu nerwowego. Podkreśla się ich rolę jako czynników protekcyjnych, decydujących o przeżyciu/apoptozie komórek nerwowych, wzroście aksonów i orientacji przestrzennej drzewka dendrytycznego neuronów, tworzeniu nowych połączeń synaptycznych i wpływie na tzw. plastyczność synaptyczną, a także na procesy proliferacji, migracji i różnicowania neuralnych komórek macierzystych/progenitorowych. Identyfikacja receptorów dla neurotroficznych czynników wzrostu, tj. Trk, NGFRp75 i RET, stanowiła ważny krok w kierunku szczegółowych badań nad charakterem interakcji między tymi cząsteczkami oraz indukcją poszczególnych szlaków sygnałowych w komórce po aktywacji kompleksu ligand/receptor. Poznanie roli czynników neurotroficznych, w zależności od ich konfiguracji oraz etapu rozwoju ontogenetycznego organizmu, okazało się niezwykle istotne dla współczesnej neurobiologii. Wiedza ta jednak jest ciągle niekompletna i niewystarczająca do pełnego zrozumienia procesów kontrolowanych poprzez interakcję NTs/NT-Rs (receptory dla neurotrofin, ang. *Neurotrophic Factor Receptors*), jak również roli wzbudzanych przez nie szlaków przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego w aspekcie fizjologicznym ale także patologicznym. Wzajemne relacje pomiędzy omawianymi cząsteczkami białkowymi są niezwykle ważne z punktu widzenia kierunku i natężenia stymulowanej odpowiedzi komórkowej, która uzależniona jest od formy cząsteczkowej neurotrofin (dojrzała/prekursorowa), konformacji cząsteczki (determinującej jej powinowactwo do receptora), proporcji poszczególnych białek w przestrzeni komórkowej, dostępności koreceptorów dla danego receptora, rodzaju izoformy adekwatnego białka, a także typu komórki nerwowej reagującej na tego rodzaju sygnalizację. Receptory są krytycznym ogniwem do zajścia reakcji indukowanej po przyłączeniu neurotrofin, dlatego określenie ich ekspresji wydaje się mieć duże znaczenie dla poznania potencjalnej skuteczności działania czynników neurotroficznych w warunkach stresu patofizjologicznego, co z kolei sprzyjać może

poznaniu endogennych mechanizmów naprawczych OUN z zaangażowaniem tych cząsteczek. Przedstawione w niniejszym artykule informacje dotyczące mechanizmów oddziaływania między opisywanymi białkami podkreślają złożoność przedstawionej tematyki i wskazują na potrzebę dalszych intensywnych badań, które w przyszłości mogą zaowocować opracowaniem nowych strategii terapeutycznych w leczeniu chorób o podłożu neurodegeneracyjnym.

## PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu nr 6865/B/P01/2011/40. Autorka pracy była stypendystką Naukowej Fundacji Polpharmy

## LITERATURA

- [1] Acharya MM, CHRISTIE LA, LAN ML, DONOVAN PJ, COTMAN CW, FIKE JR, LIMOLI CL. Rescue of radiation-induced cognitive impairment through cranial transplantation of human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 19150-19155.
- [2] AIRAKSINEN MS, SAARMA M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; **3**: 383-394.
- [3] AIRAKSINEN MS, TITIEVSKY A, SAARMA M. GDNF family neurotrophic factor signaling: four masters, one servant? *Mol Cell Neurosci* 1999; **13**: 313-325.
- [4] ARÉVALO JC, CONDE B, HEMPSTEAD BI, CHAO MV, MARTÍN-ZANCA D, PÉREZ P. A Novel mutation within the extracellular domain of TrkA causes constitutive receptor activation. *Oncogene* 2001; **20**: 1229-1234.
- [5] ARÉVALO JC, PEREIRA DB, YANO H, TENG KK, CHAO MV. Identification of a switch in neurotrophin signaling by selective tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 2006; **281**: 1001-1007.
- [6] ARÉVALO JC, WU SH. Neurotrophin signaling: many exciting surprises! *Cell Mol Life Sci* 2006; **63**: 1523-1537.
- [7] Arévalo JC, YANO H, TENG KK, CHAO MV. A unique pathway for sustained neurotrophin signaling through an ankyrin-rich membrane-spanning protein. *EMBO J* 2004; **23**: 2358-2368.
- [8] ARIGHI E, ALBERTI L, TORRITI F, GHIZZONI S, RIZZETTI MG, PELICCI G, PASINI B, BONGARZONE I, PIUTTI C, PIEROTTI MA, BORRELLO MG. Identification of Shc docking site on Ret tyrosine kinase. *Oncogene* 1997; **14**: 773-782.
- [9] BALOH RH, ENOMOTO H, JOHNSON EM JR, MILBRANDT J. The GDNF family ligands and receptors – implications for neural development. *Curr Opin Neurobiol* 2000; **10**: 103-110.
- [10] BARKER PA. p75NTR is positively promiscuous: novel partners and new insights. *Neuron* 2004; **42**: 529-533.
- [11] Barrett GL. The p75 neurotrophin receptor and neuronal apoptosis. *Prog Neurobiol* 2000; **61**: 205-229.
- [12] BARTCZAK M, SALAGACKA A, MIROWSKI M, BALCERCZAK E. Status genu *K-RAS* jako czynnik prognostyczny i predykcyjny w raku jelita grubego. *Nowotwory* 2010; **60**: 147-156.
- [13] BARTKOWSKA K, TURLEJSKI K, DJAVADIAN RL. Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp* 2010; **70**: 454-467.
- [14] BAUER S, KERR BJ, PATTERSON PH. The neuropoietic cytokine family in development, plasticity, disease and injury. *Nat Rev Neurosci* 2007; **8**: 221-232.

- [15] BESSET V, SCOTT RP, IBÁÑEZ CF. Signaling complexes and protein-protein interactions involved in the activation of the Ras and phosphatidylinositol 3-kinase pathways by the c-Ret receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem* 2000; **275**: 39159-39166.
- [16] BEYER EM, MACBEATH G. Cross-talk between receptor tyrosine kinase and tumor necrosis factor- $\alpha$  signaling networks regulates apoptosis but not proliferation. *Mol Cell Proteomics* 2012; **11**: 1-14.
- [17] BIBEL M, BARDE YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 2000; **14**: 2919-2937.
- [18] BREDESEN DE, YE X, TASINATO A, SPERANDIO S, WANG JJ, ASSA-MUNT N, RABIZADEH S. p75<sup>NTR</sup> and the concept of cellular dependence: seeing how the other half die. *Cell Death Differ* 1998; **5**: 365-371.
- [19] BRONFMAN FC. Metalloproteases and gamma-secretase: new membrane partners regulating p75 neurotrophin receptor signaling? *J Neurochem* 2007; **103** Suppl 1: 91-100.
- [20] BRUNET A, DATTA SR, GREENBERG ME. Transcription-dependent and - independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Curr Opin Neurobiol* 2001; **11**: 297-305.
- [21] CARGNELLO M, ROUX PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2011; **75**: 50-83.
- [22] CASACCIA-BONNEFIL P, CARTER BD, DOBROWSKY RT, CHAO MV. Death of oligodendrocytes mediated by the interaction of nerve growth factor with its receptor p75. *Nature* 1996; **383**: 716-719.
- [23] CASACCIA-BONNEFIL P, GU C, KHURSIGARA G, CHAO MV. p75 neurotrophin receptor as a modulator of survival and death decisions. *Microsc Res Tech* 1999; **45**: 217-224.
- [24] CHAO MV, BOTHWELL MA, ROSS AH, KOPROWSKI H, LANAHAN AA, BUCK CR, SEHGAL A. Gene transfer and molecular cloning of the human NGF receptor. *Science* 1986; **232**: 518-521.
- [25] CHAO MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 2003; **4**: 299-309.
- [26] CHEN Y, ZENG J, CHEN Y, WANG X, YAO G, WANG W, QI W, KONG K. Multiple roles of the p75 neurotrophin receptor in the nervous system. *J Int Med Res* 2009; **37**: 281-288.
- [27] COSGAYA JM, CHAN JR, SHOOTER EM. The neurotrophin receptor p75<sup>NTR</sup> as a positive modulator of myelination. *Science* 2002; **298**: 1245-1248.
- [28] COSTANTINI C, ROSSI F, FORMAGGIO E, BERNARDONI R, CECCONI D, DELLA-BIANCA V. Characterization of the signaling pathway downstream p75 neurotrophin receptor involved in beta-amyloid peptide-dependent cell death. *J Mol Neurosci* 2005; **25**: 141-156.
- [29] COULSON EJ, MAY LM, OSBORNE SL, REID K, UNDERWOOD CK, MEUNIER FA, BARTLETT PF, SAH P. p75 neurotrophin receptor mediates neuronal cell death by activating GIRK channels through phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *J Neurosci* 2008; **28**: 315-324.
- [30] CRAGNOLINI AB, FRIEDMAN WJ. The function of p75<sup>NTR</sup> in glia. *Trends Neurosci* 2008; **31**: 99-104.
- [31] CUNHA C, BRAMBILLA R, THOMAS KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci* 2010; **3**:1.
- [32] DECHANT G, BARDE YA. Signalling through the neurotrophin receptor p75<sup>NTR</sup>. *Curr Opin Neurobiol* 1997; **7**: 413-418.
- [33] DIARRA A, GEETHA T, POTTER P, BABU JR. Signaling of the neurotrophin receptor p75 in relation to Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; **390**: 352-356.
- [34] FENG D, KIM T, OZKAN E, LIGHT M, TORKIN R, TENG KK, HEMPSTEAD BL, GARCIA KC. Molecular and structural insight into proNGF engagement of p75<sup>NTR</sup> and sortilin. *J Mol Biol* 2010; **396**: 967-984.
- [35] FRIEDMAN WJ. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J Neurosci* 2000; **20**: 6340-6346.
- [36] FRIEDMAN WJ. Proneurotrophins, seizures, and neuronal apoptosis. *Neuroscientist* 2010; **16**: 244-252.
- [37] GENTRY JJ, BARKER PA, CARTER BD. The p75 neurotrophin receptor: multiple interactors and numerous functions. *Prog Brain Res* 2004; **146**: 25-39.
- [38] GOLLOB JA, WILHELM S, CARTER C, KELLEY SL. Role of Raf kinase in cancer: therapeutic potential of targeting the Raf/MEK/ERK signal transduction pathway. *Semin Oncol* 2006; **33**: 392-406.
- [39] GREWAL SS, YORK RD, STORK PJ. Extracellular-signal-regulated kinase signalling in neurons. *Curr Opin Neurobiol* 1999; **9**: 544-553.
- [40] HAMANOUE M, MIDDLETON G, WYATT S, JAFFRAY E, HAY RT, DAVIES AM. p75-mediated NF-kappaB activation enhances the survival response of developing sensory neurons to nerve growth factor. *Mol Cell Neurosci* 1999; **14**: 28-40.



- [41] HARRINGTON A, LEINER B, BLECHSCHMITT C, AREVALO J, LEE R, MORL K, MEYER M, HEMPSTEAD BL, YOON SO, GIEHL KM. Secreted proNGF is a pathophysiological death-inducing ligand after adult CNS injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 6226-6230.
- [42] HE XL, GARCIA KC. Structure of nerve growth factor complexed with the shared neurotrophin receptor p75. *Science* 2004; **304**: 870-875.
- [43] HEMPSTEAD BL. The many faces of p75NTR. *Curr Opin Neurobiol* 2002; **12**: 260-267.
- [44] HOLGADO-MADRUGA M., MOSCATELLO DK, EMLET DR, DIETERICH R, WONG AJ. Grb2-associated binder-1 mediates phosphatidylinositol 3-kinase activation and the promotion of cell survival by nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 12419-12424.
- [45] HU X, JIN L, FENG L. Erk1/2 but not PI3K pathway is required for neurotrophin 3-induced oligodendrocyte differentiation of post-natal neural stem cells. *J Neurochem* 2004; **90**: 1339-1347.
- [46] HUANG EJ, REICHARDT LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 2001; **24**: 677-736.
- [47] HUANG EJ, REICHARDT LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem* 2003; **72**: 609-642.
- [48] ICHIM G, TAUSZIG-DELAMASURE S, MEHLEN P. Neurotrophins and cell death. *Exp Cell Res* 2012; **318**: 1221-1228.
- [49] JIN G, OMORI N, LI F, SATO K, NAGANO I, MANABE Y, SHOJI M, ABE K. Activation of cell-survival signal Akt by GDNF in normal rat brain. *Brain Res* 2002; **958**: 429-433.
- [50] JING S, WEN D, YU Y, HOLST PL, LUO Y, FANG M, TAMIR R, ANTONIO L, HU Z, CUPPLES R, LOUIS JC, HU S, ALTROCK BW, FOX GM. GDNF-induced activation of the ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR-alpha, a novel receptor for GDNF. *Cell* 1996; **85**: 1113-1124.
- [51] JUNG KM, TAN S, LANDMAN N, PETROVA K, MURRAY S, LEWIS R, KIM PK, KIM DS, RYU SH, CHAO MV, KIM TW. Regulated intramembrane proteolysis of the p75 neurotrophin receptor modulates its association with the TrkA receptor. *J Biol Chem* 2003; **278**: 42161-42169.
- [52] KANNING KC, HUDSON M, AMIEUX PS, WILEY JC, BOTHWELL M, SCHECTERSON LC. Proteolytic processing of the p75 neurotrophin receptor and two homologs generates C-terminal fragments with signaling capability. *J Neurosci* 2003; **23**: 5425-5436.
- [53] KAPLAN DR, MILLER FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 2000; **10**: 381-391.
- [54] KAPLAN DR, MILLER FD. Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1997; **9**: 213-221.
- [55] KENCHAPPA RS, TEP C, KORADE Z, URRAS S, BRONFMAN FC, YOON SO, CARTER BD. p75 neurotrophin receptor-mediated apoptosis in sympathetic neurons involves a biphasic activation of JNK and up-regulation of tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme/ADAM17. *J Biol Chem* 2010; **285**: 20358-20368.
- [56] KHURSIGARA G, BERTIN J, YANO H, MOFFETT H, DISTEFANO PS, CHAO MV. A prosurvival function for the p75 receptor death domain mediated via the caspase recruitment domain receptor-interacting protein 2. *J Neurosci* 2001; **21**: 5854-5863.
- [57] KHURSIGARA G, ORLINICK JR, CHAO MV. Association of the p75 neurotrophin receptor with TRAF6. *J Biol Chem* 1999; **274**: 2597-2600.
- [58] KLIMASZEWSKA A, STENZEL A, NOWAK JM, GRZANKA A. Białka Rho – kluczowe regulatory cytoszkieletu w przebiegu mitozy i cytokinezy. *Postępy Hig Med*. Dosw 2011; **65**: 704-713.
- [59] KŁOPOTOWSKA D, STRZAŁA L. Rola receptora TrkC i neurotrofina 3 w rozwoju i funkcji komórek neuronalnych. *Postępy Hig Med Dosw* 2005; **59**: 517-522.
- [60] KOLCH W. Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/ Mek/Erk pathway by protein interaction. *Biochem J* 2000; **351**: 289-305.
- [61] LEE KF, LI E, HUBER LJ, LANDIS SC, SHARPE AH, CHAO MV, JAENISCH R. Targeted mutation of the gene encoding the low affinity NGF receptor p75 leads to deficits in the peripheral sensory nervous system. *Cell* 1992; **69**: 737-749.
- [62] LEE R, KERMANI P, TENG KK, HEMPSTEAD BL. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 2001; **294**: 1945-1948.
- [63] LEE RH, WONG WL, CHAN CH, CHAN SY. Differential effects of glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin in RET/GFRalpha1-expressing cells. *J Neurosci Res* 2006; **83**: 80-90.

- [64] LESSMANN V, GOTTMANN K, MALCANGIO M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog Neurobiol* 2003; **69**: 341-374.
- [65] LI E, HRISTOVA K. Role of receptor tyrosine kinase transmembrane domains in cell signaling and human pathologies. *Biochemistry* 2006; **45**: 6241-6251.
- [66] LIN LF, DOHERTY DH, LILE JD, BEKTESH S, COLLINS F. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurones. *Science* 1993; **260**: 1130-1132.
- [67] LONGO FM, MASSA SM. Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. *Nat Rev Drug Discov* 2013; **12**: 507-525.
- [68] LU B, PANG PT, WOO NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci* 2005; **6**: 603-614.
- [69] MACARA IG, LOUNSBURY KM, RICHARDS SA, MCKIERNAN C, BAR-SAGI D. The Ras superfamily of GT-Pases. *FASEB J* 1996; **10**: 625-630.
- [70] MACHALIŃSKI B, ŁĄŻEWSKI-BANASZAK P, DĄBKOWSKA E, PACZKOWSKA E, GOŁĄB-JANOWSKA M, NOWACKI P. Rola czynników neurotroficznych w procesach regeneracji układu nerwowego. *Neurol Neuroch Pol* 2012; **46**: 579-590.
- [71] MARTIN-ZANCA D, OSKAM R, MITRA G, COPELAND T, BARBACID M. Molecular and biochemical characterization of the human *trk* proto-oncogene. *Mol Cell Biol* 1989; **9**: 24-33.
- [72] MEAKIN SO, MACDONALD JI, GRYZ EA, KUBU CJ, VERDI JM. The signaling adapter FRS-2 competes with Shc for binding to the nerve growth factor receptor TrkA. A model for discriminating proliferation and differentiation. *J Biol Chem* 1999; **274**: 9861-9870.
- [73] MILLER FD, KAPLAN DR. Life and death decisions: a biological role for the p75 neurotrophin receptor. *Cell Death Differ* 1998; **5**: 343-345.
- [74] NIEWIADOMSKA G, MIETELSKA-POROWSKA A, MAZURKIEWICZ M. The cholinergic system, nerve growth factor and the cytoskeleton. *Behav Brain Res* 2011; **221**: 515-526.
- [75] NOTTERPEK L. Neurotrophins in myelination: a new role for a puzzling receptor. *Trends Neurosci* 2003; **26**: 232-234.
- [76] NUMAKAWA T, SUZUKI S, KUMAMARU E, ADACHI N, RICHARDS M, KUNUGI H. BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histol Histopathol* 2010; **25**: 237-258.
- [77] NYKJAER A, LEE R, TENG K, JANSEN P, MADSEN P, NIELSEN M, JACOBSEN C, KLIEMANNEL M, SCHWARZ E, WILLNOW TE, HEMPSTEAD BL, PETERSEN CM. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature* 2004; **427**: 843-848.
- [78] NYKJAER A, WILLNOW TE, PETERSEN CM. p75NTR--live or let die. *Curr Opin Neurobiol* 2005; **15**: 49-57.
- [79] OBERMAYR F, HOTTA R, ENOMOTO H, YOUNG HM. Development and developmental disorders of the enteric nervous system. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; **10**: 43-57.
- [80] OHIWA M, MURAKAMI H, IWASHITA T, ASAI N, IWATA Y, IMAI T, FUNAHASHI H, TAKAGI H, TAKAHASHI M. Characterization of Ret-Shc-Grb2 complex induced by GDNF, MEN 2A, and MEN 2B mutations. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; **237**: 747-751.
- [81] PÉREZ P, COLL PM, HEMPSTEAD BL, MARTÍN-ZANCA D, CHAO MV. NGF binding to the *trk* tyrosine kinase receptor requires the extracellular immunoglobulin-like domains. *Mol Cell Neurosci* 1995; **6**: 97-105.
- [82] POLLACK SJ, HARPER SJ. *Trk* Neurotrophin Receptor Activators. *Drug News Perspect* 2002; **15**: 268-277.
- [83] POSTIGO A, CALELLA AM, FRITZSCH B, KNIPPER M, KATZ D, EILERS A, SCHIMMANG T, LEWIN GR, KLEIN R, MINICHELLO L. Distinct requirements for TrkB and TrkC signaling in target innervation by sensory neurons. *Genes Dev* 2002; **16**: 633-645.
- [84] REICHARDT LF. Neurotrophin-regulated signaling pathways. *Phil Trans R Soc B* 2006; **361**: 1545-1564.
- [85] ROUX PP, BARKER PA. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Prog Neurobiol* 2002; **67**: 203-233.
- [86] ROUX PP, BHAKAR AL, KENNEDY TE, BARKER PA. The p75 neurotrophin receptor activates Akt (protein kinase B) through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001; **276**: 23097-23104.
- [87] SAARMA M, SARIOLA H. Other neurotrophic factors: glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). *Microsc Res Tech* 1999; **45**: 292-302.
- [88] SAARMA M. GDNF – a stranger in the TGF-beta super family? *Eur J Biochem* 2000; **267**: 6968-6971.

- [89] SARIOLA H, SAARMA M. Novel functions and signalling pathways for GDNF. *J Cell Sci* 2003; **116**: 3855-3862.
- [90] SCHOR NF. The p75 neurotrophin receptor in human development and disease. *Prog Neurobiol* 2005; **77**: 201-214.
- [91] SKELDAL S, MATUSICA D, NYKJAER A, COULSON EJ. Proteolytic processing of the p75 neurotrophin receptor: A prerequisite for signalling?: Neuronal life, growth and death signalling are crucially regulated by intra-membrane proteolysis and trafficking of p75(NTR). *Bioessays* 2011; **33**: 614-625.
- [92] STEPHENS RM, LOEB DM, COPELAND TD, PAWSON T, GREENE LA, KAPLAN DR. Trk receptors use redundant signal transduction pathways involving SHC and PLC-gamma 1 to mediate NGF responses. *Neuron* 1994; **12**: 691-705.
- [93] STEPIEŃ A, IZDEBSKA M, GRZANKA A. Rodzaje śmierci komórki. *Postępy Hig Med Dosw* 2007; **61**: 420-428.
- [94] SZCZYRBOWSKA M, LESZEK J. Wpływ neurotroficzných czynników wzrostu na komórki macierzyste i renowację uszkodzonych obszarów ośrodkowego układu nerwowego. *Rocz Psychogeriat* 2001; **4**: 43-56.
- [95] TAKAHASHI M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; **12**: 361-373.
- [96] TENG HK, TENG KK, LEE R, WRIGHT S, TEVAR S, ALMEIDA RD, KERMANI P, TORKIN R, CHEN Z, LEE FS, KRAEMER RT, NYKJAER A, HEMPSTEAD BL. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J Neurosci* 2005; **25**: 5455-5463.
- [97] TENG KK, FELICE S, KIM T, HEMPSTEAD BL. Understanding proneurotrophin actions: recent advances and challenges. *Dev Neurobiol* 2010; **70**: 350-359.
- [98] TREANOR JJ, GOODMAN L, DE SAUVAGE F, STONE DM, POULSEN KT, BECK CD, GRAY C, ARMANINI MP, POLLOCK RA, HEFTI F, PHILLIPS HS, GODDARD A, MOORE MW, BUJ-BELLO A, DAVIES AM, ASAI N, TAKAHASHI M, VANDLEN R, HENDERSON CE, ROSENTHAL A. Characterization of a multicomponent receptor for GDNF. *Nature* 1996; **382**: 80-83.
- [99] TRUPP M, ARENAS E, FAINZILBER M, NILSSON AS, SIEBER BA, GRIGORIOU M, KILKENNY C, SALAZAR-GRUESO E, PACHNIS V, ARUMÄE U. Functional receptor for GDNF encoded by the c-ret proto-oncogene. *Nature* 1996; **381**: 785-789.
- [100] TRUPP M, BELLUARDO N, FUNAKOSHI H, IBÁÑEZ CF. Complementary and overlapping expression of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), c-ret proto-oncogene, and GDNF receptor-alpha indicates multiple mechanisms of trophic actions in the adult rat CNS. *J Neurosci* 1997; **17**: 3554-3567.
- [101] Tsujino H, MANSUR K, KIRYU-SEO S, NAMIKAWA K, KITAHARA T, TANABE K, OCHI T, KIYAMA H. Discordant expression of c-Ret and glial cell line-derived neurotrophic factor receptor alpha-1 mRNAs in response to motor nerve injury in neonate rats. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; **70**: 298-303.
- [102] Ultsch MH, WIESMANN C, SIMMONS LC, HENRICH J, YANG M, REILLY D, BASS SH, DE VOS AM. Crystal structures of the neurotrophin-binding domain of TrkA, TrkB and TrkC. *J Mol Biol* 1999; **290**: 149-159.
- [103] URBANIAK A. Receptor p75<sub>NTR</sub> – rola w procesach wzrostu i śmierci komórki. *Post Hig Med. Dosw* 2012; **66**: 304-310.
- [104] VIGNESWARA V, KUNDI S, AHMED Z. Receptor tyrosine kinases: molecular switches regulating CNS axon regeneration. *J Signal Transduct* 2012; **2012**: 1-14.
- [105] VOLOSIN M, SONG W, ALMEIDA RD, KAPLAN DR, HEMPSTEAD BL, FRIEDMAN WJ. Interaction of survival and death signaling in basal forebrain neurons: roles of neurotrophins and proneurotrophins. *J Neurosci* 2006; **26**: 7756-7766.
- [106] Von Schack D, CASADEMUNT E, SCHWEIGREITER R, MEYER M, BIBEL M, DECHANT G. Complete ablation of the neurotrophin receptor p75NTR causes defects both in the nervous and the vascular system. *Nat Neurosci* 2001; **4**: 977-978.
- [107] WANG YJ, VALADARES D, SUN Y, WANG X, ZHONG JH, LIU XH, MAJD S, CHEN L, GAO CY, CHEN S, LIM Y, POLLARD A, SALEGIO EA, GAI WP, YANG M, ZHOU XF. Effects of proNGF on neuronal viability, neurite growth and amyloid-beta metabolism. *Neurotox Res* 2010; **17**: 257-267.

- [108] WICZYŃSKA B, ROLSKI J. Mechanizmy przesyłania sygnałów przy udziale receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej. *Współcz Onkol* 2007; **11**: 331-336.
- [109] WOO NH, TENG HK, SIAO CJ, CHIARUTTINI C, PANG PT, MILNER TA, HEMPSTEAD BL, LU B. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat Neurosci* 2005; **8**: 1069-1077.
- [110] WOOTEN MW, SEIBENHENER ML, MAMIDIPUDI V, DIAZ-MECO MT, BARKER PA, MOSCAT J. The atypical protein kinase C-interacting protein p62 is a scaffold for NF-kappaB activation by nerve growth factor. *J Biol Chem* 2001; **276**: 7709-7712.
- [111] WOSZCZYCKA-KORCZYŃSKA I, LEWIN-KOWALIK J, GÓRKA D. Neurotrofiny w biologii i medycynie. *Pol Merkuriusz Lek* 2006; **119**: 602-605.
- [112] WU C, LAI CF, MOBLEY WC. Nerve growth factor activates persistent Rap1 signaling in endosomes. *J Neurosci* 2001; **21**: 5406-5416.
- [113] WYSOKIŃSKI A, GRUSZCZYŃSKI W. Neurotrofiny aktualny stan wiedzy. *Post Psychiatr Neurol* 2008; **17**: 385-390.
- [114] Yamashita T, FUJITANI M, HATA K, MIMURA F, YAMAGISHI S. Diverse functions of the p75 neurotrophin receptor. *Anat Sci Int* 2005; **80**: 37-41.
- [115] YAMAUCHI J, CHAN JR, MIYAMOTO Y, TSUJIMOTO G, SHOOTER EM. The neurotrophin-3 receptor TrkC directly phosphorylates and activates the nucleotide exchange factor Dbs to enhance Schwann cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 5198-5203.
- [116] Yamauchi J, CHAN JR, SHOOTER EM. Neurotrophins regulate Schwann cell migration by activating divergent signaling pathways dependent on Rho GTPases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 8774-8779.
- [117] YANG F, JE HS, JI Y, NAGAPPAN G, HEMPSTEAD B, LU B. Pro-BDNF-induced synaptic depression and retraction at developing neuromuscular synapses. *J Cell Biol* 2009; **185**: 727-741.
- [118] YANO H, TORKIN R, MARTIN LA, CHAO MV, TENG KK. Proneurotrophin-3 is a neuronal apoptotic ligand: evidence for retrograde-directed cell killing. *J Neurosci* 2009; **29**: 14790-14802.
- [119] YOON SO, CASACCIA-BONNEFIL P, CARTER B, CHAO MV. Competitive signaling between TrkA and p75 nerve growth factor receptors determines cell survival. *J Neurosci* 1998; **18**: 3273-3281.
- [120] Yoshii A, CONSTANTINE-PATON M. Postsynaptic BDNF-TrkB signaling in synapse maturation, plasticity, and disease. *Dev Neurobiol* 2010; **70**: 304-322.
- [121] Yuan XB, JIN M, XU X, SONG YO, WU CP, POO MM, DUAN S. Signalling and crosstalk of Rho GTPases in mediating axon guidance. *Nat Cell Biol* 2003; **5**: 38-45.
- [122] ZAKHARENKO SS, PATTERSON SL, DRAGATIS I, ZEITLIN SO, SIEGELBAUM SA, KANDEL ER, MOROZOV A. Presynaptic BDNF required for a presynaptic but not postsynaptic component of LTP at hippocampal CA1-CA3 synapses. *Neuron* 2003; **39**: 975-990.
- [123] ZAMPIERI N, CHAO MV. The p75 receptor exposed. *Science* 2004; **304**: 833-834.

*Redaktor prowadzący – Michał Nowicki*

*Otrzymano: 30.12.2013*

*Przyjęto: 07.01.2014*

*Bogusław Machaliński*

*Katedra Fizjopatologii, Zakład Patologii Ogólnej*

*Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie*

*al. Powstańców Wlkp. 72*

*70-111 Szczecin*

*tel. +91 4661546*

*fax +91 4661548*

*e-mail: machalin@pum.edu.pl*