

Received: 12.04.2020
Accepted: 26.08.2020
Published: 07.12.2020

Czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego jako potencjalne narzędzie terapeutyczne w leczeniu schorzeń układu nerwowego

Brain-derived neurotrophic factor as a potential therapeutic tool in the treatment of nervous system disorders

Wioletta Kazana, Agnieszka Zabłocka

Laboratorium Immunobiologii Mikrobiomu, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie:

Czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF) pełni ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego. Reguluje wzrost i przeżycie komórek nerwowych, uczestniczy w procesach związanych z pamięcią, uczeniem się oraz plastycznością synaptyczną. Nieprawidłowości związane z dystrybucją i sekrecją białka BDNF towarzyszą wielu chorobom układu nerwowego, w przebiegu których obserwuje się istotny spadek jego poziomu w mózgu. Zaburzenia w transporcie BDNF mogą występować m.in. w przypadku wystąpienia polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w genie kodującym *Bdnf* (Val66Met), mogą się również pojawić z powodu zaburzeń w funkcjonowaniu białek zaangażowanych w transport wewnątrzkomórkowy, takich jak: huntingtyna (HTT), białko związane z huntingtyną 1 (HAP1), karboksypeptydaza E (CPE) czy sortilina 1 (SORT1). Jednym z celów terapeutycznych w leczeniu chorych ze schorzeniami układu nerwowego może być regulacja ekspresji i wydzielania białka BDNF przez komórki nerwowe. Potencjalne strategie terapeutyczne opierają się o bezpośrednią iniekcję białka do konkretnego obszaru mózgu, stosowanie wektorów wirusowych ekspresjonujących gen *Bdnf*, przeszczepianie komórek wytwarzających BDNF, stosowanie substancji pochodzenia naturalnego, stymulujących komórki układu nerwowego do wytwarzania BDNF lub użycie cząsteczek aktywujących główny receptor BDNF, jakim jest receptor kinazy tyrozynowej B (TrkB). Odpowiedni styl życia promujący aktywność fizyczną przyczynia się do podwyższenia poziomu BDNF w organizmie.

W artykule podsumowano obecną wiedzę na temat biologicznej roli białka BDNF oraz białek zaangażowanych w transport wewnątrzkomórkowy tej neurotrofiny. Ponadto przedstawiono współczesne trendy badawcze mające na celu opracowanie metod terapeutycznych prowadzących do zwiększenia poziomu białka BDNF w mózgu.

Słowa kluczowe:

czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego, BDNF, transport wewnątrzkomórkowy, choroby układu nerwowego, strategie terapeutyczne

Summary:

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays an important role in the proper functioning of the nervous system. It regulates the growth and survival of nerve cells, and is crucial in processes related to the memory, learning and synaptic plasticity. Abnormalities related to the distribution and secretion of BDNF protein accompany many diseases of the nervous system, in the course of which a significant decrease in BDNF level in the brain is observed. Impairments of BDNF transport may occur, for example, in the event of a single nucleotide polymorphism in the *Bdnf* (Val66Met) coding gene or due to the dysfunctions of the proteins involved in intracellular transport, such as huntingtin (HTT), huntingtin-associated protein 1 (HAP1), carboxypeptidase E (CPE) or sortilin 1 (SORT1). One of the therapeutic goals in the

treatment of diseases of the central nervous system may be the regulation of expression and secretion of BDNF protein by nerve cells. Potential therapeutic strategies are based on direct injection of the protein into the specific region of the brain, the use of viral vectors expressing the *Bdnf* gene, transplantation of BDNF-producing cells, the use of substances of natural origin that stimulate the cells of the central nervous system for BDNF production, or the use of molecules activating the main receptor for BDNF – tyrosine receptor kinase B (TrkB). In addition, an appropriate lifestyle that promotes physical activity helps to increase BDNF level in the body. This paper summarizes the current knowledge about the biological role of BDNF protein and proteins involved in intracellular transport of this neurotrophin. Moreover, it presents contemporary research trends to develop therapeutic methods, leading to an increase in the level of BDNF protein in the brain.

Keywords: brain-derived neurotrophic factor, BDNF, intracellular transport, nervous system diseases, therapeutic strategies

GICID 01.3001.0014.5678
DOI: 10.5604/01.3001.0014.5678
Word count: 10 488
Tables: 1
Figures: 3
References: 120

Adres autorki: Wioletta Kazana, Laboratorium Immunobiologii Mikrobiomu, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im. L. Hirszfelda we Wrocławiu, ul. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: wioletta.kazana@hirszfeld.pl

Wykaz skrótów: **Akt** – kinaza białkowa B (protein kinase B), **ALS** – stwardnienie zanikowe boczne (amyotrophic lateral sclerosis), **BDNF** – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (brain-derived neurotrophic factor), **CPE** – karboksypeptydaza E (carboxypeptidase E), **CREB** – czynnik transkrypcyjny aktywowany w odpowiedzi na cAMP (cAMP response element binding protein), **HAP1** – białko związane z huntingtyną-1 (huntingtin-associated protein 1), **HTT** – huntingtyna (huntingtin), **LDCVs** – duże pęcherzyki o gęstym rdzeniu (large dense-core vesicles), **LTM** – pamięć długotrwała (long-term memory), **LTP** – długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (long-term potentiation), **MAPK** – kinaza aktywowana mitogenami (mitogen-activated protein kinase), **m-BDNF** – dojrzały czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (mature brain-derived neurotrophic factor), **NGF** – czynnik wzrostu nerwów (nerve growth factor), **NT-3** – neurotrofina 3 (neurotrophin-3), **NT-4/5** – neurotrofina 4/5 (neurotrophin-4/5), **NT-6** – neurotrofina 6 (neurotrophin-6), **NT-7** – neurotrofina 7 (neurotrophin-7), **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy (central nervous system), **p75NTR/LNGFR** – receptor nerwowego czynnika wzrostu o niskim powinowactwie (low-affinity nerve growth factor receptor), **PI3K** – kinaza 3-fosfatidyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase), **PLC** – fosfolipaza C (phospholipase C), **pre-pro-BDNF/pro-BDNF** – niedojrzały czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (immature brain-derived neurotrophic factor), **SORT1** – sortilina 1 (sortilin 1), **Trk** – receptor z rodziny kinaz tyrozynowych (tyrosine kinase receptor).

WSTĘP

Mózg składa się prawie ze 100 miliardów neuronów tworzących gęstą sieć [32]. Każdy neuron odbiera sygnały od neuronów sąsiadujących, generując w odpowiedzi własny sygnał, który przekazuje dalej. Dzięki sprawnemu i zintegrowanemu działaniu sieci neuronalnej można odbierać bodźce z otaczającego nas świata, myśleć oraz podejmować właściwe działania. Za prawidłowe funkcjonowanie sieci neuronalnej centralnego układu nerwowego (OUN, CNS, central nervous system) są odpowiedzialne zarówno procesy kontrolujące powstawanie nowych komórek nerwowych, ich dojrzewanie oraz funkcjonowanie, jak również procesy kontrolujące apoptozę tych komórek

nerwowych, które utworzyły nieprawidłowe połączenia synaptyczne. Wadliwe działanie jednego z tych mechanizmów może zaburzyć funkcjonowanie centralnego układu nerwowego. Stąd procesy te podlegają bardzo precyzyjnej kontroli, w którą są zaangażowane m.in. neurotrofiny.

Neurotrofiny tworzą jedną z ważniejszych grup białek należących do rodziny czynników wzrostu, syntetyzowanych w obrębie centralnego oraz obwodowego układu nerwowego [75]. Nadrzędną rolą neurotrofin jest udział w procesach neurogenezy, takich jak różnicowanie, dojrzewanie czy przeżywalność neuronów. Istotne są także dla wzrostu aksonów, tworzenia rozgałęzień dendrytycznych,

synaptogenezy, plastyczności synaptycznej czy kontroli homeostazy komórkowej [30, 75]. Ich rola w regulacji tak wielu procesów możliwa jest poprzez aktywację różnych szlaków sygnałowych zależnych m.in.: od aktywacji kinaz aktywowanych mitogenami (MAPKs, mitogen-activated protein kinases), kinazy białkowej B (Akt, protein kinase B), kinazy 3-fosfatydilinozytolu (PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase) czy fosfolipazy C (PLC, phospholipase C) [60].

Do grupy neurotrofin zalicza się: czynnik wzrostu nerwów (NGF, nerve growth factor), czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), neurotrofinę 3 (NT-3, neurotrophin-3), neurotrofinę 4/5 (NT 4/5, neurotrophin-4/5), a także neurotrofinę 6 (NT-6, neurotrophin-6) i 7 (NT-7, neurotrophin-7) [33]. Mimo że poszczególne neurotrofiny są kodowane przez różne geny, ich struktury czwartorzędowe są bardzo podobne. Charakteryzują się ponad 50% homologią w sekwencji aminokwasowej, podobną wielkością (200–300 reszt aminokwasowych), podobnymi etapami dojrzewania (ekspresja w postaci pre-pro-białka) oraz tworzeniem trzech mostków disiarczkowych budujących węzeł cysteinowy, co czyni je znacznie stabilniejszymi w środowisku zewnątrzkomórkowym [4, 75]. Wspólną cechą neurotrofin jest również ich wysokie powinowactwo do receptorów z rodziny receptorów kinazy tyrozynowej (Trks, tyrosine kinase receptors) typu A, B oraz C. Neurotrofiny wiążą się również, lecz z mniejszym powinowactwem, z receptorem nerwowego czynnika wzrostu o niskim powinowactwie (p75^{NTR}/LNGFR, low-affinity nerve growth factor receptor), który należy do rodziny receptorów czynnika martwicy nowotworu [50].

CZNNIK NEUROTROFICZNY POCHODZENIA MÓZGOWEGO – CHARAKTERYSTYKA

Ekspresja

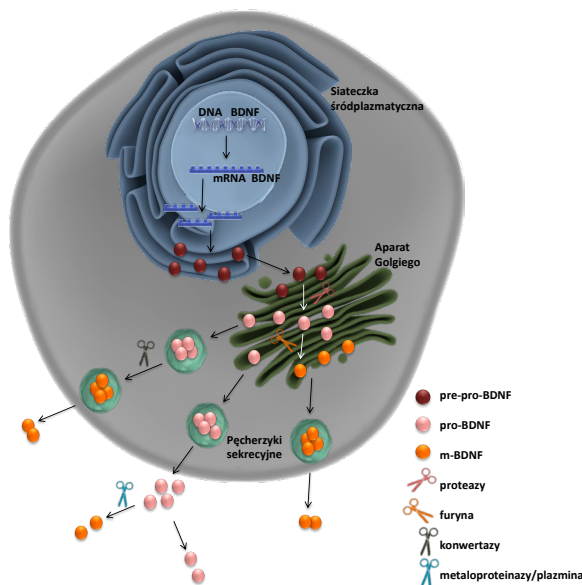
Czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF, brain-derived neurotrophic factor) jest drugą, po NGF, najlepiej poznaną neurotrofiną, wyizolowaną po raz pierwszy przez Barde i wsp. [7]. Ludzki gen *Bdnf* zidentyfikowali w 1991 r. Maisonpierre i wsp. [59] na krótkim ramieniu chromosomu 11p13, rok później skorygowano jego pozycję na 11p13-14 [31]. Gen *Bdnf* zbudowany jest z 11 eksonów, z których tylko jeden, ekson 9, zawiera sekwencję kodującą białko. Pozostałe eksony kodują promotory regulujące ekspresję regionalną i swoistą dla danego typu komórki [85]. Głębsza analiza ludzkiego wariantu genu *Bdnf* ujawniła istnienie dziewięciu promotorów, które znajdują się pod kontrolą czynników transkrypcyjnych, takich jak np. czynnik transkrypcyjny aktywowany w odpowiedzi na cAMP (CREB, cAMP response element binding protein), czynnik stymulujący-1/2 (USF-1/2, upstream stimulatory factor-1/2), białko wiążące metylo-CpG (MeCP2, metyl CpG binding protein 2), czynnik transkrypcyjny aktywowany w odpowiedzi na jony wapnia (CaRF, calcium-responsive transcription factor). Aktywacja tych czynników może się odbyć poprzez napływ jonów wapnia do komórki lub stymulację komórki przez czynniki wzrostu,

neurotrans-mitery lub hormony. W aktywacji biorą udział: receptor N-metylo-D-asparaginowy (NMDAR, N-methyl-D-aspartate receptor), kanały wapniowe bramkowane napięciem (L-VGCC, L-type voltage-gated calcium channels), receptory sprzężone z białkami G (GPCR, G protein-coupled receptor) oraz receptory z rodziny kinaz tyrozynowych (Trk) [2, 98, 115]. Dzięki alternatywnemu splicingowi możliwe jest powstanie co najmniej 17 transkryptów genu *Bdnf* [85], a ze względu na możliwość wykorzystania dwóch miejsc poliadenylacji w regionie 3'UTR, wyróżnia się krótkie oraz długie fragmenty transkryptów 5'UTR. Istnieją dowody wskazujące na to, iż krótki transkrypt pozostaje w ciele komórki, natomiast długi transkrypt kierowany jest do dendrytów, gdzie odgrywa ważną rolę w dojrzewaniu kolców dendrytycznych, regulacji plastyczności synaps, a także w procesach indukcji długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP, long-term potentiation) [5]. Krótki transkrypt jest odpowiedzialny za translację i utrzymanie podstawowego poziomu białka BDNF w neuronie spoczynkowym, natomiast w neuronach aktywowanych to właśnie długi transkrypt jest potrzebny do przeprowadzenia translacji zależnej od aktywacji komórki [49].

Białko BDNF po raz pierwszy zostało wyizolowane jako cząsteczka o właściwościach kontrolujących przeżycie neuronów czuciowych, a także wzrost włókien nerwowych [7]. Jego strukturę, typową dla rodziny neurotrofin, opisali po raz pierwszy Robinson i wsp. [87]. Spośród czynników neurotroficznych, BDNF wyróżnia się rolą w indukcji LTP, dzięki aktywacji dużej liczby szlaków sygnałowych. LTP jest postacią plastyczności synaptycznej związanej z procesem uczenia się i tworzenia pamięci długotrwałej [17]. U ssaków najwyższa ekspresja białka BDNF zachodzi w mózgu, w hipokampie i korze mózgowej (szczególnie w rejonach podstawnych przodomózgowia), a więc w obszarach, które odpowiadają za: pamięć, uczenie się oraz wyższe procesy psychiczne. Ponadto, inne obwodowe źródła BDNF obejmują: płuca, serce, śledzionę, wątrobę, grasicę, przewód pokarmowy, skórę oraz tkankę mięśniową gładką w naczyniach krwionośnych [8, 50]. Trudno określić, jaki jest prawidłowy poziom białka BDNF w organizmie ludzkim, ponieważ zależy to od wielu czynników m.in.: płci, stanu zdrowia, diety, ogólnego trybu życia [10]. Pomiar wykonany u zdrowych osób wykazały, że średnie stężenie białka BDNF w osoczu wynosiło około 92,5 pg/ml (8,0–927,0 pg/ml), jednak zakres ten wciąż wydaje się dosyć szeroki [8].

Synteza i uwalnianie białka

Synteza białka BDNF jest procesem wieloetapowym, który rozpoczyna się w retikulum endoplazmatycznym, gdzie powstaje postać pre-pro-BDNF. Tam też białko ulega fałdowaniu oraz procesom N-glikozylacji, które wpływają na jego stabilność podczas procesu dojrzewania i transportu [59, 68]. Pre-pro-BDNF transportowany jest do aparatu Golgiego, gdzie wewnątrzkomórkowe proteazy odcinają peptyd sygnałowy tworząc postać pro-BDNF o wielkości 32 kDa. Ta postać zawiera 129 aminokwasów w N-końcowej prodomenie i 118 aminokwasów w C-końcowej domenie



Ryc. 1. Synteza i dojrzewanie białka BDNF. Częsteczki mRNA po transkrypcji kierowane są do retikulum endoplazmatycznego, gdzie następuje synteza oraz fałdowanie białka i powstaje forma pre-pro-BDNF. Następnie białko transportowane jest do aparatu Golgiego, gdzie zostaje pozbawione peptydu sygnałowego przez wewnątrzkomórkowe proteazy, tworząc formę pro-BDNF. Pro-BDNF może zostać przekształcony w sieci trans aparatu Golgiego przez furynę do formy dojrzałej m-BDNF. Białko (pro-BDNF lub m-BDNF) pakowane jest do pęcherzyków wydzielniczych, w których forma pro-BDNF może być poddana działaniu wewnątrzkomórkowych konwertaz. W macierzy międzykomórkowej znajdują się metaloproteiny oraz plazmina, które również mogą brać udział w dojrzewaniu BDNF

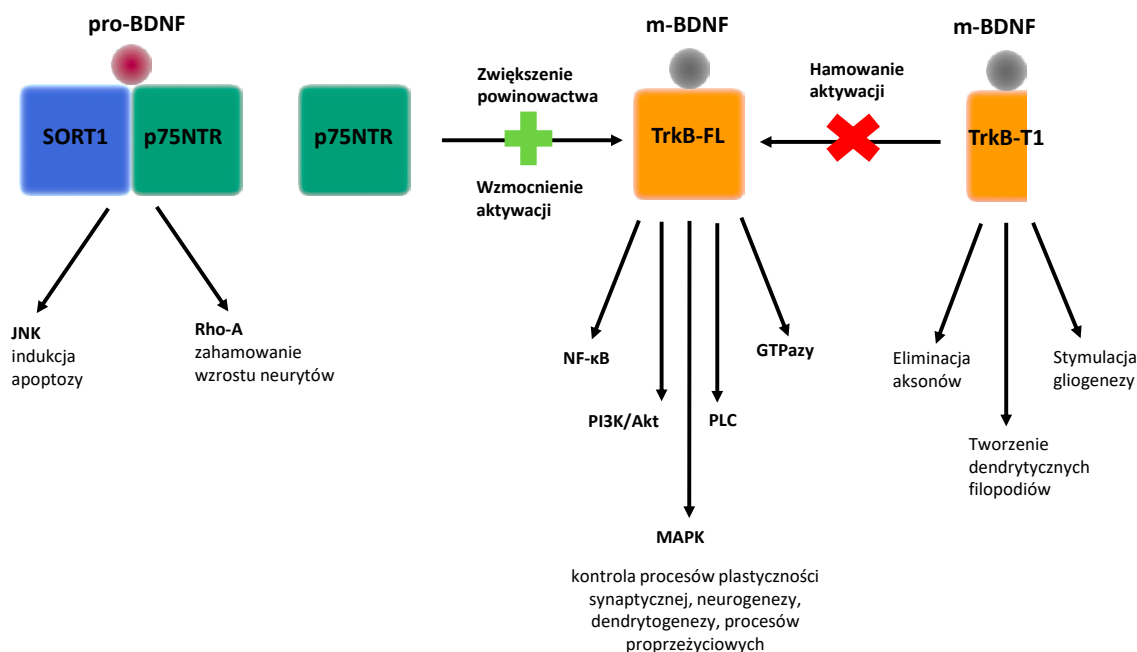
dojrzałej, w ludzkim wariantcie białka BDNF. W następnym etapie pro-BDNF może zostać przekształcony w dojrzałą postać BDNF (m-BDNF, mature BDNF) o masie cząsteczkowej 14 kDa, przez odcięcie prodomeiny. Przekształcenie to zachodzi w sieci trans aparatu Golgiego przez konstytutywnie uwalnianą furynę lub też w pęcherzykach sekrecyjnych, gdzie działają wewnątrzkomórkowe konwertazy [30, 46, 68]. Wykazano, że w retikulum endoplazmatycznym powstaje również niewielka ilość białka pro-BDNF o masie cząsteczkowej 28 kDa, zwanego także kadłubowym BDNF (t-BDNF, truncated BDNF). Jednak powstanie tej formy nie jest konieczne do uzyskania dojrzałego białka m-BDNF, a jego funkcja nie została jeszcze poznana [60]. Ostatecznie, komórka nerwowa wydziela do środowiska BDNF w postaci dojrzałej i niedojrzałej. Ponadto, w macierzy międzykomórkowej znajdują się enzymy, takie jak: metaloproteiny-2 i -9 (MMP2, metallo-proteinase-2; MMP9, metalloproteinase-9) oraz plazmina (plasmin), które również mogą przekształcać pro-BDNF do postaci dojrzałej m-BDNF [36, 77, 79]. Schemat syntezy i dojrzewania białka BDNF przedstawiono na ryc. 1.

Nowo zsyntetyzowany BDNF transportowany jest w pęcherzykach sekrecyjnych anterogradowo (odśrodkowo), od ciała komórki w stronę zakończeń aksonów lub dendrytów i wydzielany jest przez komórki w sposób konstytutywny

lub regulowany. Transport odśrodkowy jest bardzo istotny w regulacji plastyczności synaptycznej, pamięci i procesów uczenia się [30, 68]. Pęcherzyki wydzielane konstytutywnie to pęcherzyki małej wielkości (50–100 nm), które są transportowane w kierunku błony komórkowej neuronu zaraz po oddzieleniu się od sieci trans aparatu Golgiego. Tam ulegają fuzji z błoną komórkową, a ich zawartość jest uwalniana do macierzy zewnątrzkomórkowej konstytutywnie, bez dodatkowych czynników aktywujących. Pęcherzyki wydzielane w sposób regulowany są większe (100–300 nm) i mogą tworzyć tzw. duże pęcherzyki o gęstym rdzeniu (LDCVs, large dense-core vesicles). Ich zawartość jest uwalniana pod wpływem zmian w wewnątrzkomórkowym stężeniu jonów Ca^{2+} , a ich fuzja z błoną komórkową zachodzi w miejscach bogatych w cholesterol. Białko BDNF wydzielane jest przez komórki nerwowe konstytutywnie, lecz w małych ilościach. Dopiero bodźce zewnętrzne (aktywacja receptora, napływ jonów wapnia) aktywują regulowany system wydzielania białka i stymulują komórkę do sekrecji dużych ilości BDNF. Białko BDNF może działać autokrywnie, aktywując receptory komórki wydzielającej bądź parakrywnie, działając na receptory komórek sąsiednich [50].

Aktywacja receptora p75NTR i TrkB

Transport retrogradowy (dośrodkowy), czyli z zakończeń aksonów do ciała komórki, odgrywa ważną rolę w przekazywaniu sygnałów przez czynniki neurotroficzne, które wiążą się z receptorami. Receptory, z którymi związało się białko BDNF, mogą przekazywać sygnał z powierzchni komórki lub z endosomów, które internalizują kompleksy BDNF-receptor. Endosomy te, zwane endosomami sygnałowymi, to struktury dynamiczne, których skład zależy od przeznaczenia, np.: od aktywacji przez BDNF szlaków sygnałowych, zawrócenia BDNF z powrotem do błony plazmatycznej czy degradacji lizosomalnej kompleksu BDNF-receptor [37, 100]. W zależności od postaci (dojrzała lub niedojrzała), białko BDNF może się wiązać z różnymi receptorami, dzięki temu nadzoruje w komórce procesy kontrolujące przeżycie oraz procesy apoptozy (ryc. 2). I tak, cząsteczka pro-BDNF wiąże się preferencyjnie z receptorem nerwowego czynnika wzrostu o niskim powinowactwie (p75NTR/LNGFR, low-affinity nerve growth factor receptor), należącym do rodziny receptorów czynnika martwicy nowotworu (TNF, tumor necrosis factor), które wiążą nieswoiście wszystkie neurotrofiny. Receptor p75NTR nie ma domeny katalitycznej, umożliwiającej jego autoaktywację, stąd jego funkcje zależą od interakcji z innymi receptorami [18]. Zawiera natomiast tzw. domenę śmierci, która jest podobna do domeny śmierci receptorów z rodziny TNF. Receptor p75NTR może działać zarówno pro-, jak i antyapoptotycznie, w zależności od rodzaju związanego z nim receptora. Jednym z takich receptorów jest sortilina-1, która również bierze udział w regulowanym wydzielaniu pęcherzyków sekrecyjnych. Utworzenie kompleksu pro-BDNF/p75NTR/sortilina-1 może spowodować aktywację kinaz aktywowanych stresem (JNKs, c-Jun N-terminal kinases), co prowadzi do indukcji apoptozy lub aktywacji białka Rho-A, a to hamuje wzrost neurytów [46, 86, 99].



Ryc. 2. Szlaki komórkowe aktywowane w wyniku interakcji BDNF z różnymi receptorami

Dojrzałe białko m-BDNF oddziałuje natomiast z receptorem kinazy tyrozynowej B (TrkB, tyrosine receptor kinase B). Receptor ten jest białkiem błonowym, które zawiera zewnątrzkomórkowe domeny bogate w: powtórzenia leucynowe i cysteinowe, domeny immunoglobulinopodobne, domenę transmembranową oraz kinazy białkowej. W ludzkim mózgu są ekspresjonowane cztery izoformy receptora TrkB: receptor o pełnej długości (TrkB-FL), dwie formy skrócone niezawierające domeny kinazy białkowej (TrkB-T1, TrkB-Shc) oraz receptor TrkB-T-TK mający nieaktywną domenę katalityczną [76, 100]. Oddziaływanie receptora TrkB-FL z dojrzałą formą m-BDNF inicjuje dimeryzację i autofosforylację receptora, co prowadzi do aktywacji szlaków zależnych m.in. od: kinazy PI3K, kinaz MAPK, fosfolipazy PLC, jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF-κB (nuclear factor kappa B) oraz GTPaz z rodziny białek Rho. Aktywacja tych szlaków sygnałowych jest odpowiedzialna za: kontrolę procesów plastyczności synaptycznej, neurogenezę, dendrytogenezę oraz procesy kontrolujące przeżycie [8, 60, 84]. Receptor TrkB-FL jest aktywny jako dimer, jednak może tworzyć nie tylko homodimery, ale również heterodimery. W badaniach *in vivo* wykazano, że jedną z ważniejszych funkcji receptora p75NTR jest ułatwienie internalizacji receptora TrkB-FL. Heterodimer p75NTR/TrkB-FL zwiększa powinowactwo wiązania m-BDNF i powoduje wzmocnienie sygnału oraz aktywację tych samych szlaków kontrolujących przeżycie komórek, które są aktywowane przez ufosforylowany homodimer TrkB-FL [84, 86]. Receptor TrkB-T1 nie ma domeny katalitycznej i może działać hamująco lub aktywująco, w zależności od jego umiejscowienia w komórce. Nadekspresja TrkB-T1 indukuje tworzenie dendrytycznych filopodiów, czyli niedojrzałych kolców dendrytycznych w neuronach hipokampalnych, a utworzenie kompleksu m-BDNF/TrkB-T1

stymuluje gliogenezę i różnicowanie neuronalnych komórek progenitorowych w kierunku komórek glejowych [13, 76]. Powstanie heterodimeru TrkB-FL/TrkB-T1 powoduje natomiast to, że receptor pełnej długości jest nieaktywny, ponieważ białko m-BDNF zostaje związane przez receptor TrkB-T1, co hamuje autofosforylację TrkB-FL [76].

TRANSPORT WEWNĄTRZKOMÓRKOWY BDNF – ROLA BIAŁEK HTT, HAP1, CPE, SORT1

Nieprawidłowości związane z sekrecją i dystrybucją białka BDNF w obrębie ośrodkowego układu nerwowego towarzyszą wielu chorobom o podłożu neurodegeneracyjnym i neuropsychiatrycznym [106]. Wykazano, że zaburzenia w transporcie wewnątrzkomórkowym występują m.in. w przypadku wystąpienia polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w genie kodującym *Bdnf*. Substytucja waliny na metioninę w kodonie 66 (Val66Met) nie wpływa na ekspresję, dojrzewanie lub strukturę białka BDNF, lecz zaburza jego transport dendrytyczny oraz synaptyczny, a także wydzielanie białka w sposób regulowany. Występowanie polimorfizmu Val66Met jest powiązane ze zmianami strukturalnymi mózgu (mniejsza objętość hipokampa, kory przedczołowej i ciała migdałowatego) oraz ze zmianami funkcjonowania mózgu (upośledzenie pamięci epizodycznej, osłabienie procesów plastyczności synaptycznej) [23, 65].

Transport wewnątrzkomórkowy pęcherzyków zawierających BDNF odbywa się za pomocą kompleksu białek motorycznych: kinezy i dyneiny/dynaktyny, poruszających się po mikrotubulach rozmieszczonych w całym neuronie. Niedawne badania wykazały, że w transporcie tym znaczącą rolę odgrywają również inne białka, takie jak huntingtyna (HTT, huntingtin), białko związane

Tabela 1. Białka biorące udział w transporcie BDNF i ich funkcje

HTT	HAP1	SORT1	CPE
Regulowanie transkrypcji BDNF	Tworzenie pęcherzyków zawierających kompleks BDNF-receptor	Transportowanie BDNF pomiędzy siecią trans aparatu Golgiego, endosomami, lizosomami, pęcherzykami wydzielniczymi	Kierowanie BDNF na regulowaną ścieżkę wydzielania
Kontrolowanie prędkości pęcherzyków synaptycznych	Aktywowanie szlaków zależnych od kompleksu BDNF-TrkB	Kierowanie BDNF na regulowaną ścieżkę wydzielania	Niezbędna dla prawidłowej propagacji sygnałów przez układ BDNF-TrkB
Regulowanie kierunku transportu BDNF w zależności od fosforylacji	Zapobieganie degradacji lizosomalnej TrkB	Oddziaływanie z receptorem p75NTR i pro-BDNF (indukcja apoptozy, zahamowanie rozwoju stożka neuronalnego)	

z huntingtyną 1 (HAP1, huntingtin-associated protein 1), karboksypeptydaza E (CPE, carboxypeptidase E) czy sortilina-1 (SORT1, sortilin 1; tab. 1). Zaburzenia w funkcjonowaniu tych białek upośledzają transport wewnątrzkomórkowy i wydzielanie białka BDNF, a także propagację sygnałów indukowanych przez aktywny kompleks BDNF-TrkB [29, 78].

Huntingtyna

Huntingtyna (HTT, huntingtin) jest wielodomenowym białkiem, niezbędnym wyższym kręgowcom, umiejscowionym nie tylko w cytoplazmie, ale i jądrze [95]. Zaangażowana jest w procesy związane głównie z dynamiką komórki, takie jak: endocytoza, transport pęcherzyków i organelli czy budowa cytoskieletu [11]. W komórce pełni rolę rusztowania molekularnego, o czym świadczą jej wielkość (348 kDa) oraz duża stabilność. Huntingtyna łączy wiele białek w kompleksy, co pozwala na sterowanie procesami komórkowymi i regulowanie tego w czasie i przestrzeni. HTT jest istotna w procesie mitozy, podczas którego kierowana jest do biegunów wrzecion kariokinetycznych i pomaga w prawidłowej orientacji wrzeciona [95]. Ponadto, HTT jest zaangażowana w proces autofagocytozy, regulując indukcję autofagii, rozpoznanie ładunku cargo, dynamikę autofagosomów i lizosomów [20, 90]. HTT odgrywa również ważną rolę w regulacji procesu transkrypcji, gdyż może wiązać dużą liczbę czynników transkrypcyjnych, oddziałuje z transkrypcyjnymi aktywatorami i represorami oraz wiąże receptory jądrowe [95].

Patologiczne agregaty zmutowanej HTT są główną przyczyną choroby Huntingtona. Mutacja polega na wielokrotnym (36–250) powtórzeniu trypletu CAG, kodującym glutaminę (polyQ-HTT). Obecność zmutowanej postaci białka powoduje zwyrodnienie neuronów, czego skutkami są: zaburzenia działania kanałów jonowych, struktur komórkowych, szlaków sygnałowych, dysfunkcje mitochondriów oraz zaburzenie równowagi energetycznej komórki [47, 89]. W chorobie Huntingtona obserwuje się obniżone stężenie białka BDNF, co może wynikać z zaburzenia aktywności czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za transkrypcję *Bdnf* lub z zaburzenia transportu aksonalnego BDNF [120]. W 2001 r. Zuccato i wsp. [119] przedstawili wyniki badań przeprowadzonych na mysich neuronach

korowych *in vitro* oraz *in vivo*, w których wykazali, że białko HTT jest istotne dla transkrypcji genu *Bdnf*. Gauthier i wsp. [29] wykazali inną funkcję białka HTT, jaką jest udział w transporcie pęcherzyków zawierających białko BDNF. Zaobserwowali zwiększoną szybkość transportu pęcherzyków synaptycznych wzdłuż mikrotubul, w szczurzych-mysich neuronalnych komórkach hybrydoma NG108-15 oraz w mysich pierwotnych komórkach nerwowych wytwarzających prawidłową postać HTT, w porównaniu z transportem tych pęcherzyków w komórkach wytwarzających zmutowaną postać białka polyQ-HTT. Huntingtyna jest zaangażowana w transport pęcherzyków poprzez bezpośrednie oddziaływanie z dyneiną oraz białkiem HAP1, które przyłączają się do podjednostek dynaktyny i kinezy-1, tworzących kompleks białek motorycznych [106]. W przypadku zmutowanego białka HTT zaobserwowano obniżoną wydajność tego transportu, ze względu na to, iż zmutowane białko HTT oddziaływało dużo silniej z białkiem HAP1, zmniejszając tym samym asocjację kompleksu pozostałych białek motorycznych [29]. Colin i wsp. [15] wykazali po raz pierwszy, że fosforylacja pojedynczej reszty seryny w pozycji 421 w białku HTT usprawnia transport pęcherzyków zawierających BDNF w kierunku od ciała komórki nerwowej do zakończenia aksonu. Regulacja kierunku transportu pęcherzyków przez HTT może się odbywać przez rekrutację kinezy-1 do pęcherzyków i mikrotubul przez ufosforylowane HTT. W przypadku defosforylacji HTT, kinezy-1 odłącza się od kompleksu motorycznego i wtedy przeważa transport pęcherzyków w kierunku ciała komórki nerwowej.

Białko związane z huntingtyną 1

Białko związane z huntingtyną 1 (HAP1, huntingtin-associated protein 1) jest białkiem ekspresjonowanym głównie w neuronach, zwłaszcza w neuronach wydzielniczych podwzgórza. HAP1 jest białkiem cytoplazmatycznym o wielkości 75 kDa, obecnym w mikrotubulach, mitochondriach, endosomach, lizosomach oraz pęcherzykach synaptycznych [88]. W swojej budowie ma C-koniec bogaty w reszty glutaminianu oraz kilka α -helis w środkowej części struktury, dzięki którym może oddziaływać z wieloma białkami [102]. Wykazano, że białko HAP1 jest bardzo istotne dla przeżycia, gdyż delecja genu *Hap1* u myszy

prowadziła do zaburzeń odżywiania, opóźnionego wzrostu oraz wczesnej śmierci [34]. HAP1 oddziałuje z podjednostką dynaktyny – p150 Glued, z łańcuchem lekkim kinezy-1 oraz z huntingtyną, biorąc tym samym udział w transporcie pęcherzyków sekcyjnych wzdłuż mikrotubul [106]. Jednym z kompleksów transportowanych przez HAP1 jest kompleks receptor-BDNF, który powstaje po związaniu się białka BDNF z receptorem p75NTR lub TrkB na powierzchni zakończeń aksonów. Kompleks ten jest transportowany do ciała komórki, aby aktywować odpowiednie szlaki sygnałowe [52, 106]. Początkowo wykazano, że białko HAP1 oddziałuje tylko z niedojrzałą postacią białka BDNF (pro-BDNF) poprzez reszty aminokwasowe (między 65 a 90aa) zawarte w prodomecie [106, 109]. Jednak w późniejszych badaniach Lim i wsp. [52] wykazali, że białko HAP1 oddziałuje również z dojrzałą postacią białka BDNF (m-BDNF) i to jedynie z ulegającą internalizacji po przyłączeniu się do receptora, a nie z nowo syntetyzowaną. W neuronach korowych z delecją genu kodującego białko HAP1 (HAP1 KO), w odpowiedzi na BDNF, nie zaobserwowano aktywacji kinaz MAPK, Akt oraz fosfolipazy PLC. Natomiast efekt aktywacji zachodził w komórkach zawierających białko HAP1 [52]. Badania te wskazują na ważną rolę białka HAP1 w aktywacji szlaków aktywowanych przez kompleks BDNF/TrkB. Ponadto wykazano, że białko HAP1 oddziałując z receptorem TrkB, stabilizuje go i ułatwia jego ponowne wykorzystanie przez komórkę, zapobiegając jego degradacji lizosomalnej [51, 106].

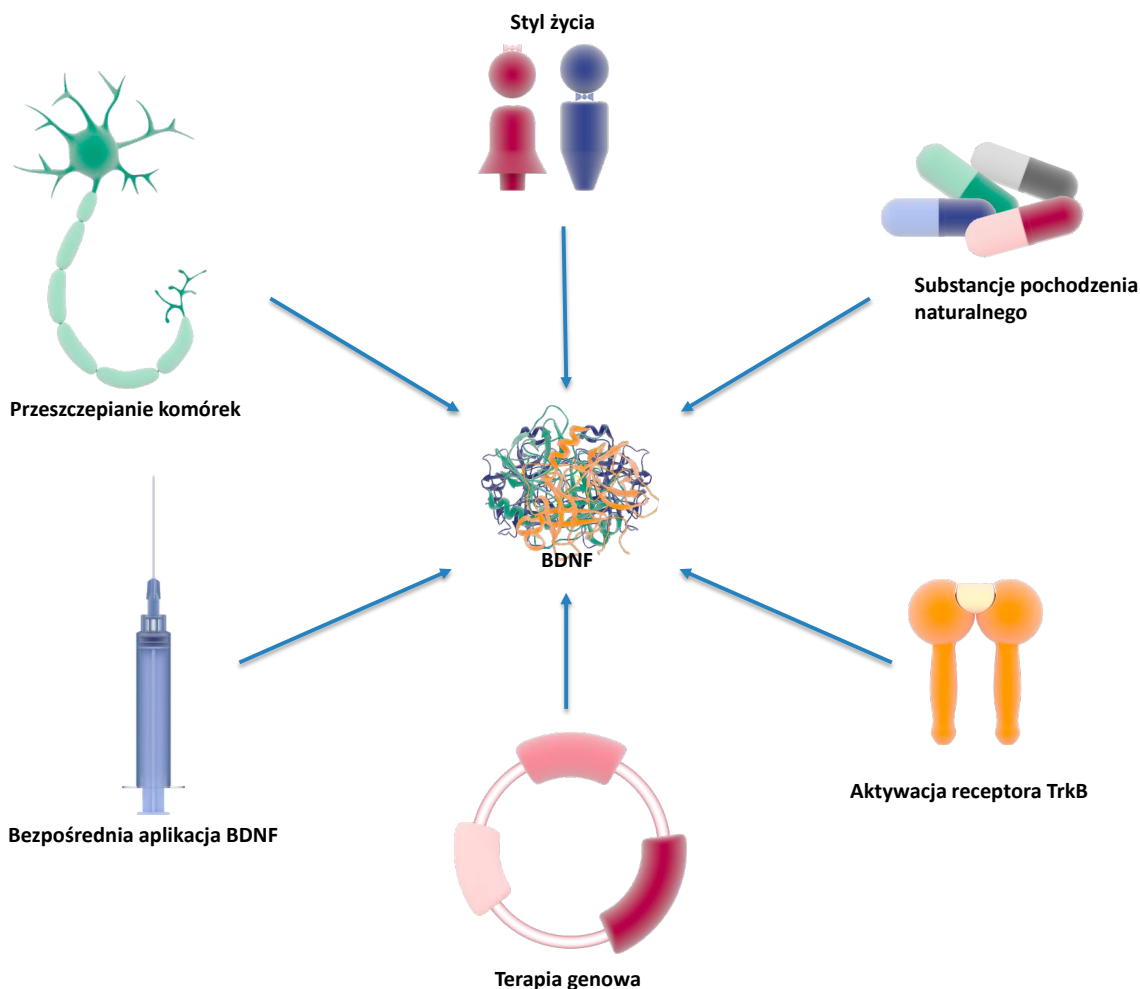
Sortilina-1 i karboksypeptydaza E

Yang i wsp. [109] wykazali, że białko HAP1 może tworzyć kompleks z sortiliną-1 (SORT1). Sortilina-1 jest ekspresjonowana na wysokim poziomie w komórkach nerwowych, znajduje się głównie w sieci trans aparatu Golgiego, a także na powierzchni komórki, gdzie spełnia rolę receptora sortującego [81, 109]. Sortilina zawiera zewnątrzkomórkową domenę, homologiczną do wakuolarnego białka sortującego białko 10 (VPS10p, vacuolar protein sorting-associated protein 10) występującego u drożdży [81]. Domena ta spełnia rolę wieloligandowego receptora, do którego mogą się przyłączać proneurotrofyny (pro-BDNF) oraz receptor p75NTR, z którymi tworzy kompleks [109]. Domena wewnątrzkomórkowa jest krótka i uczestniczy w wewnątrzkomórkowym transporcie białek, m.in. transporcie białka BDNF między siecią trans aparatu Golgiego, endosomami, lizosomami a pęcherzykami wydzielniczymi oraz błoną komórkową [72]. Pro-BDNF wiąże się z sortiliną-1 przez reszty aminokwasowe 44-102, zawarte w prodomecie. Zatem substytucja metioniny na walinę w kodonie 66 (powodująca zaburzenia w regulowanym wydzielaniu białka BDNF) dotyczy regionu prodomeiny BDNF, odpowiedzialnego za oddziaływanie z sortiliną. Wykazano również, że wyciszenie genu kodującego sortilinę-1 bądź ekspresja skróconej formy sortiliny-1 powodowała znaczące obniżenie ilości białka BDNF uwalnianego w sposób regulowany, przy jednoczesnym wzroście wydzielania BDNF w sposób konstytutywny [12]. Razem z sortiliną-1, w regulowanym transporcie białka BDNF bierze udział karboksypeptydaza E (CPE, carboxypeptidase E) [75]. CPE jest enzymem, który może występować

w postaci wolnej (rozpuszczalnej) lub związanej z membraną. Rozpuszczalna postać CPE (rCPE) działa jako egzopeptydaza, która hydrolizuje wiązania peptydowe tworzone przez zasadowe reszty aminokwasowe od strony C-końca białek, przekształcając cząsteczki prohormonów czy proneuropeptydów w ich aktywne postaci [28]. rCPE znana jest również jako neurotroficzny czynnik – $\alpha 1$ (NF $\alpha 1$, neurotrophic factor- $\alpha 1$), który wydzielany z komórek może działać autokrynnie lub parakrynnie i aktywuje w komórkach nerwowych szlaki sygnałowe odpowiedzialne za neuroprotekcję [14, 107]. C-końiec białka CPE zawiera amfifilową domenę zbudowaną z α -helisy oraz 6-aminokwasowego ogonu, które umożliwiają CPE oddziaływanie z membranami. CPE związana z membraną (mCPE) w sieci trans aparatu Golgiego działa jako receptor sortujący, który wiąże się z proneuropeptydami/prohormonami i kieruje je na regulowaną ścieżkę wydzielania. Cząsteczki te są pakowane w pęcherzyki wydzielnicze i transportowane wzdłuż mikrotubul w celu sekrecji [40]. mCPE zaangażowana jest w transport pęcherzyków wydzielniczych przez oddziaływanie z białkami cytoskieletu, takimi jak dynaktyna/dyneina i kinezy-2/kinezy-3 [78]. Po fuzji pęcherzyka z membraną, jego zawartość uwalniana jest z komórki, a mCPE jest odzyskiwana z błony komórkowej do sieci trans aparatu Golgiego dzięki GTPazie ARF6 (ADP-ribosylation factor 6) [40].

Badania Lou i wsp. [55] wykazały obecność aminokwasowego motywu sortującego w białku BDNF, którego prawidłowe rozpoznanie przez CPE warunkuje wydzielanie białka w sposób regulowany. Rentgenografia strukturalna wykazała, że są to reszty I₁₆, E₁₈, I₁₀₅, D₁₀₆, które znajdują się w obrębie domeny dojrzałej proBDNF. Wprowadzenie mutacji punktowej w obrębie motywu sortującego w cząsteczce BDNF, w komórkach mysich guza przysadki AtT-20, powodowało nieprawidłowe sortowanie białka i skierowanie go na konstytutywną ścieżkę wydzielania. U myszy z delecją genu kodującego białko CPE zaobserwowano: istotne zahamowanie regulowanego wydzielania BDNF, zaburzone wydzielanie glutaminianu oraz deficyty pamięci [55, 105, 116]. Badania te wskazują, że obecność enzymu CPE jest niezbędna mechanizmom regulowanego wydzielania białka BDNF, a także neurotransmitterom. Wykazano również, że CPE jest niezbędna do prawidłowej propagacji sygnałów przez układ BDNF-TrkB w hipokampie [107].

Lu i wsp. [57] zaproponowali ścieżkę wspólnego działania sortiliny-1 i karboksypeptydazy E w transporcie białka BDNF. W pierwszym etapie, zaraz po syntezie, BDNF wiąże się z sortiliną-1 umieszczoną w sieci trans aparatu Golgiego, by zapewnić prawidłowe fałdowanie domeny dojrzałej. Motyw sortujący obecny w domenie dojrzałej jest odpowiedzialny za wiązanie się z karboksypeptydazą E, co powoduje sortowanie białka BDNF do dużych pęcherzyków LDCV, które są komponentem regulowanej ścieżki wydzielania [55]. Pojawienie się nieprawidłowości w oddziaływaniu BDNF z CPE (wynikających np. z braku motywu sortującego lub jego złej konfiguracji) powoduje, że BDNF kierowany jest na konstytutywną ścieżkę wydzielania. Dla porównania, w przypadku białka NGF,



Ryc. 3. Potencjalne strategie terapeutyczne oparte o zwiększoną ekspresję lub dostarczenie białka BDNF

interakcja prodromy z sortiliną-1 powoduje prawidłowe sfałdowanie białka, ale brak motywu kierującego w domenie dojrzałej sprawia, że NGF jest uwalniany jedynie konstytutywnie [57]. Zatem, zarówno prodromy, jak i motyw sortujący w domenie dojrzałej potrzebne są do kierowania neurotrofin na regulowaną ścieżkę wydzielania. Wydzielanie białka BDNF w sposób regulowany jest istotnym mechanizmem, który zapewnia swoistą kontrolę aktywności synaps i odpowiedź na potrzeby komórek przez uwalnianie czynnika neurotroficznego w odpowiedzi na czynniki środowiskowe.

POTENCJALNE STRATEGIE UZUPEŁNIANIA NIEDOBORÓW BIAŁKA BDNF W ZABURZENIACH ZWIĄZANYCH Z CENTRALNYM UKŁADEM NERWOWYM

Obniżone stężenie mRNA lub białka BDNF w mózgu towarzyszy często wielu chorobom układu nerwowego [2]. Są to głównie choroby neurodegeneracyjne, ale nie tylko. Wyróżnia się wśród nich: chorobę Alzheimera [71], Huntingtona [117], Parkinsona [118], depresję [45], zaburzenia kognitywne [110], chorobę afektywną

dwubiegunową [25], schizofrenię [73], ADHD [112], stwardnienie rozsiane [74], stwardnienie zanikowe boczne [83], epilepsję [38], urazy rdzenia kręgowego [104], a nawet zaburzenia odżywiania [70]. Spadek poziomu BDNF w obrębie OUN może wynikać bezpośrednio ze zmniejszonej ekspresji *Bdnf*, ale również z zaburzonego transportu lub wydzielania tego białka. W niektórych chorobach BDNF stanowi jeden z wielu pomocnych biomarkerów informujących o postępie choroby. Ponadto, badania prowadzone zarówno na modelach komórkowych, jak i zwierzęcych wykazały, że przywrócenie właściwego poziomu BDNF w OUN hamuje progresję choroby i przywraca komórkom ich prawidłowe funkcjonowanie. Obecnie prowadzi się liczne badania naukowe, mające na celu opracowanie skutecznych narzędzi terapeutycznych, pozwalających na zwiększenie ekspresji oraz wytwarzania białka BDNF w tych obszarach mózgu, które funkcjonują nieprawidłowo lub objęte są stanem chorobowym. Potencjalne strategie uzupełniania niedoborów BDNF w zaburzeniach związanych z centralnym układem nerwowym przedstawiono na ryc. 3.

Bezpośrednia aplikacja białka

Terapia wykorzystująca bezpośrednią aplikację białka BDNF została zastosowana po raz pierwszy w stwardnieniu zanikowym bocznym (ALS, amyotrophic lateral sclerosis) [101]. Pacjentom podawano codziennie, przez 9 miesięcy, ludzki rekombinowany metionilo-BDNF w iniekcji podskórnej, w dawkach 25 µg (grupa 1) oraz 100 µg (grupa 2) białka BDNF na kg masy ciała. Uzyskane wyniki badań nie wykazały istotnego wpływu terapii białkiem BDNF na czas przeżycia badanych pacjentów z ALS. Jednak analizy *post hoc* wykazały, że dla grupy pacjentów z zaawansowaną postacią choroby i gorszym rokowaniem, otrzymujących 100 µg białka BDNF, terapia istotnie zwiększyła szansę przeżycia, w porównaniu z grupą otrzymującą placebo. W badaniach Schabitzta i wsp. [96] BDNF podawano dożylnie szczurom, u których wcześniej wystąpiło niedokrwienie mózgu o charakterze regionalnym. Podanie BDNF spowodowało istotną redukcję obszaru niedokrwienia, spadek stężenia białka proapoptotycznego Bax (Bcl-2-like protein 4) oraz wzrost poziomu białka antyapoptotycznego Bcl-2 (B-cell-lymphoma 2) w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt. W badaniach nad wpływem BDNF na trwałość pamięci długotrwałej (LTM, long-term memory) wykazano, że bezpośrednio dohipokampalne podanie tej neurotrofiny wywołało znaczącą redukcję deficytu LTM oraz istotną poprawę jej trwałości, przez przekształcanie nietrwałego śladu pamięci długotrwałej w ślad trwały [9]. BDNF jest cząsteczką nietrwałą, o krótkim okresie półtrwania wynoszącym około 10 min [92]. Stąd opracowanie strategii pozwalających na zwiększenie jego biodostępności dla komórek centralnego układu nerwowego jest bardzo istotne. Jednym ze sposobów zwiększających skuteczność dostarczania BDNF do mózgu jest tzw. metoda „konია trojańskiego”. Metoda polega na zastosowaniu nośnika, zdolnego do przekraczania bariery krew-mózg, który skoniugowany z białkiem BDNF przetransportuje je do centralnego układu nerwowego. Nośnikami mogą być cząsteczki, które są ligandami receptorów znajdujących się na powierzchni komórek śródbłonka naczyń krwionośnych lub przeciwciałami skierowanymi przeciwko tym receptorom. Zhang i Pardridge [113] skoniugowali białko BDNF z przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko transferynie, wykorzystując oddziaływanie awidyna-biotyna do połączenia koniugatu. Tak powstały kompleks podawano dożylnie szczurom z udarem niedokrwionym mózgu, co istotnie zredukowało obszar objęty udarem nawet o 65%. Natomiast iniekcja biodegradowalnych hydrożelowych mikrocząsteczek, które zawierały białko BDNF, zwiększała istotnie migrację astrocytów oraz hamowała stan zapalny w obrębie uszkodzonego obszaru mózgu [48]. Podanie białka BDNF w tej postaci, pozwalające na kontrolowane uwalnianie leku w czasie i przestrzeni, może być przydatne podczas regeneracji tkanek w mózgu bez wywoływania reakcji zapalnych spowodowanych interwencją chirurgiczną. Innym sposobem dostarczania białka BDNF do centralnego układu nerwowego jest aplikacja donosowa. Jest to metoda nieinwazyjna, szybka z minimalną ekspozycją na lek oraz możliwością wielokrotnego dawkowania. Metoda wykorzystuje związki, takie jak np. chitozan, powodujące przejściową permeabilizację błony

śluzowej jamy nosowej. Wykazano, że donosowe podawanie białka BDNF szczurom spowodowało wzrost jego stężenia w mięszszu mózgu w czasie 30 min od podania, a także aktywację receptora TrkB i kinazy Akt [3] oraz wywołało neuroprotekcynny efekt w przypadku udaru niedokrwionego mózgu wywołanego u szczurów [41].

Terapia genowa

Terapia genowa jest jedną z najnowocześniejszych potencjalnych metod uzupełniania niedoborów białka BDNF przez dostarczanie genu *Bdnf* komórkom nerwowym, w trybie ciągłym, za pomocą wektorów adenowirusowych i lentiwirusowych. Obecnie prowadzi się liczne badania naukowe mające na celu opracowanie bezpiecznych i skutecznych narzędzi pozwalających na jej zastosowanie w leczeniu chorób o podłożu neurologicznym u ludzi. Zala i wsp. [111] wykazali, że aplikacja wektorów lentiwirusowych kodujących *Bdnf* do szczurzych neuronów pierwotnych ekspresjonujących zmutowaną postać huntingtyny chroniła neurony przed apoptozą indukowaną przez polyQ-HTT. Zastosowanie adenowirusów w celu nadekspresji *Bdnf* złagodziło upośledzenie ruchowe i zredukowało stopień uszkodzenia prądkowia u szczurów potraktowanych toksycznym kwasem chinolinowym [43] oraz u transgenicznym myszy R6/2 o fenotypie choroby Huntingtona [6]. Iniekcja lentiwirusa zawierającego gen kodujący białko BDNF do komory bocznej mózgu transgenicznym myszy, z eksperymentalnym modelem choroby Alzheimera, zahamowała apoptozę komórek nerwowych kory mózgowej oraz zapobiegła pogorszeniu procesów uczenia się i pamięci [69]. W badaniach nad ataksją Friedreicha, objawiającą się zaburzeniami koordynacji ruchowej, zastosowanie herpeswirusa niosącego gen *Bdnf* skutecznie podniosło stężenie białka BDNF w mózgu, co zapobiegło rozwojowi zwyrodnienia mózdzku oraz rozwojowi cech typowych dla ataksji, zarówno w mysich komórkach neuronalnych *in vitro*, jak i w mysich komórkach mózdzku *in vivo* [42]. Istnieje kilka problemów związanych ze stosowaniem terapii genowej. Jedną z trudności jest brak możliwości regulacji ilości wydzielanego białka BDNF. Stosowanie wektorów wirusowych wiąże się również z ryzykiem mutagenyzy insercyjnej oraz ryzykiem toksyczności, co może doprowadzić do indukcji reakcji zapalnej [118]. Stosowanie terapii genowej w celu regulowania deficytów białka BDNF w mózgu pociąga za sobą konieczność opracowania wektora wirusowego, który nie będzie patogenny czy immunogeny.

Przeszczepianie komórek

Metodą alternatywną dla terapii genowej jest przeszczepianie komórek, zdolnych do stałej ekspresji i wydzielania BDNF. Pérez-Navarro i wsp. [80] wykonali transplantację wykorzystując do tego szczurze fibroblasty, wytwarzające białko BDNF, a także neurotrofinę NT-3 oraz NT-4/5 w systemie konstytutywnym. Fibroblasty wszczepiono do prądkowia szczurów z eksperymentalnym modelem choroby Huntingtona. Wykazano, że neurotrofiny BDNF, NT-3 oraz NT-4/5 wytwarzane przez te komórki wykazały działanie neuroprotekcynne na neurony projekcyjne prądkowia, zapobiegając ich neurodegeneracji. Inne badania

wykazały, że transplantacja ludzkich neuronalnych komórek macierzystych szczurom z eksperymentalnym modelem choroby Huntingtona, odwróciła proces zwyrodnienia neuronów i zaburzenia zachowania, co wiązało się ze zdolnością komórek macierzystych do ekspresji i wydzielania BDNF, a tym samym kompensowania niedoborów tej neurotrofiny [91]. Badania Dey i wsp. [21] z wykorzystaniem mysich mezenchymalnych komórek macierzystych wytwarzających BDNF wykazały, że wstrzyknięcie ich do prądkowia myszy YAC128, nadekspresjonujących ludzką wersję zmutowanego genu *HTT*, zwiększyło przeżywalność neuronów w prądkowiu oraz istotnie poprawiło aktywność motoryczną myszy. Badania Pollocka i wsp. [82] z użyciem ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych wytwarzających BDNF, przeprowadzono na mysim modelu YAC128, a także na mysim modelu R6/2, który ekspresjonuje toksyczny C-końcowy fragment huntingtyny z ekspansją powtórzeń CAG. Wszczepienie mezenchymalnych komórek macierzystych uwalniających BDNF do prądkowia, spowodowało zmniejszenie atrofii prądkowia, zredukowanie niepokoju towarzyszącego chorobie Huntingtona, indukcję aktywności neurogenezopodobnej oraz wydłużenie czasu przeżycia myszy R6/2. Wykorzystanie mezenchymalnych komórek macierzystych jako nośnika białka BDNF jest bardzo korzystne ze względu na to, iż komórki te samoistnie migrują w obszarze uszkodzenia i przyspieszają regenerację tkanek. Jednak stosowanie ksenogenicznych komórek wiąże się z ryzykiem odpowiedzi immunologicznej, odrzucenia przeszczepu bądź też może doprowadzić do rozwoju nowotworu [118]. W celu uniknięcia tego ryzyka można zastosować biomateriały opłaszczające wszczepiane komórki, co ułatwi przyjęcie ich przez organizm. W najnowszych badaniach Falcicchia i wsp. [24] wykorzystali enkapsulowane biourządzenia zawierające ludzką linię komórkową nabłonka barwnikowego siatkówki ARPE-19 wydzielającą BDNF i wszczepili je do hipokampa szczurom traktowanych pilokarpiną, która indukuje epilepsję. Wykazano, że spowodowało to znaczące obniżenie (o 80%) występowania spontanicznych drgawek epileptycznych, poprawę zdolności poznawczych oraz odwrócenie zmian histopatologicznych związanych z przewlekłą padaczką (zmniejszenie liczby komórek zwyrodnieniowych, normalizacja objętości hipokampa, zwiększenie liczby neuronów, wzmocnienie procesu neurogenety).

Aktywacja receptora TrkB

Jedną z potencjalnych strategii terapeutycznych, mających na celu zwiększenie stężenia białka BDNF w mózgu, opiera się na możliwości zastosowania cząsteczek zdolnych do aktywacji głównego receptora BDNF – TrkB. Wykazano, że cząsteczki, takie jak agoniści lub modulatory TrkB [39, 62], przeciwciała agonistyczne względem TrkB [64, 103] lub peptydomimetyki [22, 26] wykazują zdolność do aktywacji tego receptora. Głównymi ich zaletami jest duża biodostępność, zdecydowanie lepsza niż obserwowana dla cząsteczki BDNF (mającej ograniczoną zdolność pokonywania bariery krew-mózg oraz krótki okres półtrwania) oraz duża swoistość względem receptora TrkB, co pozwala na uniknięcie aktywacji receptora proapoptotycznego p75NTR, aktywowanego również przez białko pro-BDNF. Natomiast

wady to konieczność indukcji utworzenia dimeru TrkB, w celu jego aktywacji, działania niepożądane w postaci aktywowania dodatkowych niepożądanych szlaków, a także – w przypadku większych cząsteczek – problem z efektywnym dostarczeniem ich do układu nerwowego [56].

Substancje pochodzenia naturalnego

Możliwą strategią, pozwalającą na zwiększenie stężenia białka BDNF w mózgu, jest aktywowanie komórek nerwowych do ekspresji/sekrecji tej neurotrofiny przez egzogenne substancje. Obiecujące może być wykorzystanie związków pochodzenia naturalnego wykazujących właściwości neuroprotektoryjne. Biologicznie aktywne nutraceutyki o wielokierunkowym działaniu, zdolne do poprawy funkcji poznawczych, są bezpieczne, łatwo dostępne i tanie w porównaniu z metodami bioinżynieryjnymi, dlatego mogą być skutecznym środkiem terapeutycznym pozwalającym utrzymać mózg w dobrej kondycji.

Ważną grupą związków są polifenole roślinne, naturalne antyoksydanty wykazujące wiele właściwości terapeutycznych w leczeniu schorzeń układu nerwowego, krwionośnego, a także układu immunologicznego [67]. Badania Abd El-Fattah i wsp. [1] z użyciem resweratrolu (którego cennym źródłem są ciemne winogrona) oraz fumaranu dimetylu, przeprowadzone na szczurzym modelu zaburzeń depresyjnych, wykazały, że związki te działają antydepresyjnie przez hamowanie neurozapalenia, stresu oksydacyjnego, apoptozy, a także poprzez wzrost ekspresji hipokampalnego poziomu BDNF. Wzrost stężenia BDNF może wynikać z obserwowanego w badaniach Conti i wsp. [16] wzrostu poziomu serotoniny i jej wpływu na aktywację czynnika transkrypcyjnego CREB kontrolującego proces ekspresji białka BDNF w hipokampie. Podobny wynik uzyskano na szczurach z eksperymentalnym modelem depresji, którym podano kurkuminę, polifenol pochodzący z kurkumy długiej (łac. *Curcuma longa*). Jej długotrwałe podawanie zredukowało skutki chronicznego stresu przez aktywację czynnika CREB kontrolującego ekspresję białka BDNF w hipokampie [35, 108]. Jak wykazano dotychczas, ponad 50% chorych na chorobę Alzheimera doświadcza depresji bądź jej symptomów [97], stąd stosowanie preparatów o działaniu antydepresyjnym może istotnie wpływać na opóźnienie rozwoju choroby Alzheimera. Badania Zhao i wsp. [114] wykazały, że apigenina, będąca bioflawonoidem roślinnym pozyskiwanym głównie z owoców grejpfruta (łac. *Citrus paradisi*), korzystnie wpływa na procesy uczenia się oraz zapamiętywania u myszy z amyloidozą, a zmiany te wynikały z jej zdolności do aktywacji szlaku sygnałowego zależnego od kinaz MAPK oraz czynnika CREB, odpowiedzialnych za kontrolę ekspresji BDNF. Podobne działanie do apigeniny wykazywała rutyna, należąca do grupy glikozydów flawonoidowych pozyskiwanych z gryki zwyczajnej (łac. *Fagopyrum esculentum*), podana myszom traktowanym wcześniej toksycznym amyloidem β [66]. Badania wykazały, że kwas rozmarynowy uzyskiwany m.in. z rozmarynu lekarskiego (łac. *Rosmarinus officinalis*), znany z właściwości antyoksydacyjnych oraz przeciwzapalnych, ma również właściwości neuroprotektoryjne. Związek ten był zdolny do hamowania apoptozy neuronów oraz

wpływał korzystnie na wzrost ekspresji synaptofizyny i BDNF w hipokampie. Jego pozytywne działanie zaobserwowano w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera, Parkinsona czy też w niedokrwieniu mózgu [27]. Na zainteresowanie zasługuje również oroksylina A, będąca jednym z flawonoidów obecnych w tarczycy bajkalskiej (łac. *Scutellaria baicalensis*), która podobnie jak apigenina wpływała na wzrost ekspresji BDNF i aktywację czynnika CREB, a tym samym znacząco poprawiała funkcje pamięciowe [44].

Ważną grupą związków są terpeny, w badaniach na mysim modelu z zaburzeniami pamięci i wzrostem aktywności acetylocholinoesterazy wykazano pozytywny wpływ stosowania fukoksantyny. Fukoksantyna należy do grupy karotenoidów i jest wytwarzana przez rodzaj glonów – brunatnice (łac. *Phaeophyta*). Wykazano, że związek ten jest zdolny do hamowania aktywności acetylocholinoesterazy, zwiększania aktywności acetylotransferazy cholinylnej oraz do regulacji ekspresji białka BDNF [53]. Stąd fukoksantyna przez korzystne działanie może być stosowana w prewencji oraz leczeniu choroby Alzheimera. Innym związkiem jest kwas betulinowy, który należy do grupy trójterpenów i jest pochodną betuliny występującej w znacznych ilościach w korze brzozy (łac. *Betula*). Badania przeprowadzone na szczurach z eksperymentalnym modelem choroby Alzheimera wykazały, że kwas betulinowy działał przeciwzapalnie oraz regulował poziom ekspresji BDNF w hipokampie [94]. Bogatym źródłem terpenów jest również miłorząb japoński (łac. *Ginkgo biloba*). Uzyskane dotychczas wyniki badań wykazały, że glikozydy flawonowe i terpeny zawarte w liściach tej rośliny mają silne działanie neuroprotektoryjne, m.in. przez ich zdolność do regulacji metabolizmu energetycznego mózgu czy działania antyoksydacyjne. Ponadto wykazano, że ekstrakty terpenowe pozyskiwane z liści miłorzębu aktywowały komórki nerwowe do zwiększonego wytwarzania białka BDNF w hipokampie oraz korze przedczołowej. Łagodziły również skutki niedokrwienia mózgu, nadpobudliwość oraz wykazywały działanie antydepresyjne. Krocyna jest karotenoidem i głównym barwnikiem szafranu (łac. *Crocus sativus*), i jak wykazano, ma właściwości neuroprotektoryjne. Podawana dootrzewnowo przez 21 dni samcom szczurów zwiększyła ekspresję genu oraz syntezę białka BDNF, a także wywołała działanie antydepresyjne [93].

Styl życia

Wyniki badań ostatnich lat potwierdzają, iż odpowiednia dieta oraz ćwiczenia fizyczne mają istotny wpływ na zwiększone wytwarzanie BDNF w organizmie [19, 54, 61]. W badaniach przedklinicznych wykazano, że zdrowa dieta i wzbogacone środowisko (promujące ćwiczenia fizyczne i stymulację poznawczą) poprawiały ogólną kondycję mózgu, w tym procesy behawioralne i kognitywne w mysich modelach choroby Alzheimera, Parkinsona czy Huntingtona, w których podwyższone stężenie BDNF było jednym z wielu zaobserwowanych efektów [63, 117].

Metaanaliza danych z wyników badań przeprowadzonych u pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi, wykazała pozytywny wpływ ćwiczeń fizycznych na poziom obwodowego BDNF we krwi [58]. Natomiast Liu i wsp. [54] przedstawili dane potwierdzające zależność między ćwiczeniami fizycznymi, a ich wpływem na neurogenezę w hipokampie, identyfikując białko BDNF jako główną cząsteczkę pośredniczącą w tym procesie.

PODSUMOWANIE

Czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF) odgrywa ważną rolę w regulacji prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego. Białko to reguluje wzrost i przeżycie komórek nerwowych, jest kluczowe w procesach związanych z kontrolą procesów pamięci, uczenia się oraz plastyczności synaptycznej. Zaburzenia ekspresji, sekrecji oraz dystrybucji białka BDNF towarzyszą wielu chorobom układu nerwowego, zarówno tym o podłożu neurodegeneracyjnym, jak i o podłożu neuropsychiatrycznym. Dotychczasowe wyniki badań wykazały, że zaburzenia w transporcie białka BDNF mogą się pojawić w przypadku wystąpienia polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w genie kodującym *Bdnf* (Val66Met), ale również mogą się pojawić w wyniku zaburzeń w funkcjonowaniu białek zaangażowanych w transport wewnątrzkomórkowy tej neurotrofiny. Białkami związanymi z kompleksem motorycznym i istotnymi dla transportu BDNF są: huntingtyna, białko związane z huntingtyną-1, karboksypeptydaza E oraz sortilina-1. Oprócz regulacji procesu transportu BDNF, białka te odgrywają również bardzo ważną rolę w regulacji transkrypcji genu *Bdnf* i aktywacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, aktywowanych w wyniku utworzenia kompleksu BDNF-TrkB.

Wykazanie istotnego spadku poziomu mRNA/białka BDNF, towarzyszącemu rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Huntingtona, Alzheimera czy Parkinsona, pozwala przypuszczać, iż BDNF może być pomocnym biomarkerem, informującym o postępach wielu chorób związanych z centralnym układem nerwowym. Jednym z głównych celów terapeutycznych w leczeniu pacjentów z chorobami układu nerwowego jest poszukiwanie bezpiecznych metod pozwalających zarówno na zwiększenie stężenia, jak i biodostępności białka BDNF w mózgu. Jest to trudne wyzwanie choćby ze względu na krótki okres półtrwania tej neurotrofiny, jak i niewyjaśnioną jeszcze zdolność BDNF do pokonywania bariery krew-mózg. Metody aplikacji rekombinowanego białka BDNF, mimetyków bądź domózgowe przeszczepy komórek zdolnych do konstytutywnego wytwarzania BDNF, wciąż wymagają dopracowania, tak aby oprócz dużej skuteczności były również bezpieczne w stosowaniu. Istotnym rozwiązaniem terapeutycznym jest możliwość stosowania substancji pochodzenia naturalnego, które działają wielokierunkowo, są substancjami bezpiecznymi, łatwo dostępnymi i tanimi względem metod bioinżynieryjnych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abd El-Fattah A.A., Fahim A.T., Sadik N.A., Ali B.M.: Resveratrol and dimethyl fumarate ameliorate depression-like behaviour in a rat model of chronic unpredictable mild stress. *Brain Res.*, 2018; 1701: 227–236
- [2] Adachi N., Numakawa T., Richards M., Nakajima S., Kunugi H.: New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: Implications in brain-related diseases. *World J. Biol. Chem.*, 2014; 5: 409–428
- [3] Alcalá-Barraza S.R., Lee M.S., Hanson L.R., McDonald A.A., Frey W.H. 2nd, McLoon L.K.: Intranasal delivery of neurotrophic factors BDNF, CNTF, EPO, and NT-4 to the CNS. *J. Drug Target*, 2010; 18: 179–190
- [4] Al-Qudah M.A., Al-Dwairi A.: Mechanisms and regulation of neurotrophin synthesis and secretion. *Neurosciences*, 2016; 21: 306–313
- [5] An J.J., Gharami K., Liao G.Y., Woo N.H., Lau A.G., Vanevski F., Torre E.R., Jones K.R., Feng Y., Lu B., Xu B.: Distinct role of long 3' UTR BDNF mRNA in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons. *Cell*, 2008; 134: 175–187
- [6] Arregui L., Benítez J.A., Ruzgado L.F., Vergara P., Segovia J.: Adenoviral astrocyte-specific expression of BDNF in the striata of mice transgenic for Huntington's disease delays the onset of the motor phenotype. *Cell Mol. Neurobiol.*, 2011; 31: 1229–1243
- [7] Barde Y.A., Edgar D., Thoenen H.: Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.*, 1982; 1: 549–553
- [8] Bathina S., Das U.N.: Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Arch. Med. Sci.*, 2015; 11: 1164–1178
- [9] Bekinschtein P., Cammarota M., Katze C., Slipczuk L., Rosato J.I., Goldin A., Izquierdo I., Medina J.H.: BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 2711–2716
- [10] Bus B.A., Molendijk M.L., Penninx B.J., Buitelaar J.K., Kenis G., Prickaerts J., Elzinga B.M., Voshaar R.C.: Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor. *Psychoneuroendocrinology*, 2011; 36: 228–239
- [11] Caviston J.P., Holzbaur E.L.: Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking. *Trends Cell Biol.*, 2009; 19: 147–155
- [12] Chen Z.Y., Ieraci A., Teng H., Dall H., Meng C.X., Herrera D.G., Nykjaer A., Hempstead B.L., Lee F.S.: Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J. Neurosci.*, 2005; 25: 6156–6166
- [13] Cheng A., Coksaygan T., Tang H., Khatri R., Balice-Gordon R.J., Rao M.S., Mattson M.P.: Truncated tyrosine kinase B brain-derived neurotrophic factor receptor directs cortical neural stem cells to a glial cell fate by a novel signaling mechanism. *J. Neurochem.*, 2007; 100: 1515–1530
- [14] Cheng Y., Cawley N.X., Loh Y.P.: Carboxypeptidase E (NF- α 1): A new trophic factor in neuroprotection. *Neurosci. Bull.*, 2014; 30: 692–696
- [15] Colin E., Zala D., Liot G., Rangone H., Borrell-Pagès M., Li X.J., Saudou F., Humbert S.: Huntingtin phosphorylation acts as a molecular switch for anterograde/retrograde transport in neurons. *EMBO J.*, 2008; 27: 2124–2134
- [16] Conti A.C., Cryan J.F., Dalvi A., Lucki I., Blendy J.A.: cAMP response element-binding protein is essential for the upregulation of brain-derived neurotrophic factor transcription, but not the behavioral or endocrine responses to antidepressant drugs. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 3262–3268
- [17] Cunha C., Brambilla R., Thomas K.L.: A simple role for BDNF in learning and memory? *Front. Mol. Neurosci.*, 2010; 3: 1
- [18] De la Cruz-Morcillo M.A., Berger J., Sánchez-Prieto R., Saada S., Naves T., Guillaudeau A., Perraud A., Sindou P., Lacroix A., Descazeaud A., Lalloué F., Jauberteau M.O.: p75 neurotrophin receptor and pro-BDNF promote cell survival and migration in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget*, 2016; 7: 34480–34497
- [19] De la Rosa A., Solana E., Corpas R., Bartrés-Faz D., Pallàs M., Vina J., Sanfeliu C., Gomez-Cabrera M.C.: Long-term exercise training improves memory in middle-aged men and modulates peripheral levels of BDNF and cathepsin B. *Sci. Rep.*, 2019; 9: 3337
- [20] del Toro D., Alberch J., Lázaro-Diéguez F., Martín-Ibáñez R., Xifró X., Egea G., Canals J.M.: Mutant huntingtin impairs post-Golgi trafficking to lysosomes by delocalizing optineurin/Rab8 complex from the Golgi apparatus. *Mol. Biol. Cell*, 2009; 20: 1478–1492
- [21] Dey N.D., Bombard M.C., Roland B.P., Davidson S., Lu M., Rosignol J., Sandstrom M.I., Skeel R.L., Lescaudron L., Dunbar G.L.: Genetically engineered mesenchymal stem cells reduce behavioral deficits in the YAC 128 mouse model of Huntington's disease. *Behav. Brain Res.*, 2010; 214: 193–200
- [22] Edelbrock A.N., Álvarez Z., Simkin D., Fyrner T., Chin S.M., Sato K., Kiskinis E., Stupp S.I.: Supramolecular nanostructure activates TrkB receptor signaling of neuronal cells by mimicking brain-derived neurotrophic factor. *Nano Lett.*, 2018; 18: 6237–6247
- [23] Egan M.F., Kojima M., Callicott J.H., Goldberg T.E., Kolachana B.S., Bertolino A., Zaitsev E., Gold B., Goldman D., Dean M., Lu B., Weinberger D.R.: The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 2003; 112: 257–269
- [24] Falcicchia C., Paolone G., Emerich D. F., Lovisari F., Bell W. J., Fradet T., Wahlberg L. U., Simonato M.: Seizure-suppressant and neuroprotective effects of encapsulated BDNF-producing cells in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, 2018; 9: 211–224
- [25] Fernandes B.S., Molendijk M.L., Köhler C.A., Soares J.C., Leite C.M., Machado-Vieira R., Ribeiro T.L., Silva J.C., Sales P.M., Quevedo J., Oertel-Knöchel V., Vieta E., González-Pinto A., Berk M., Carvalho A.F.: Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: A meta-analysis of 52 studies. *BMC Med.*, 2015; 13: 289
- [26] Fletcher J.L., Wood R.J., Nguyen J., Norman E.M., Jun C.M., Prawdiuk A.R., Biemond M., Nguyen H.T., Northfield S.E., Hughes R.A., Gonsalvez D.G., Xiao J., Murray S.S.: Targeting TrkB with a brain-derived neurotrophic factor mimetic promotes myelin repair in the brain. *J. Neurosci.*, 2018; 38: 7088–7099
- [27] Fonteles A.A., de Souza C.M., de Sousa Neves J.C., Menezes A.P., Santos do Carmo M.R., Fernandes F.D., de Araújo P.R., de Andrade G.M.: Rosmarinic acid prevents against memory deficits in ischemic mice. *Behav. Brain Res.*, 2016; 297: 91–103
- [28] Fricker L.D.: Carboxypeptidase E and the identification of novel neuropeptides as potential therapeutic targets. *Adv. Pharmacol.*, 2018; 82: 85–102

- [29] Gauthier L.R., Charrin B.C., Borrell-Pagès M., Dompierre J.P., Rangone H., Cordelières F.P., De Mey J., MacDonald M.E., Lessmann V., Humbert S., Saudou F.: Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell*, 2004; 118: 127–138
- [30] Greenberg M.E., Xu B., Lu B., Hempstead B.L.: New insights in the biology of BDNF synthesis and release: Implications in CNS function. *J. Neurosci.*, 2009; 29: 12764–12767
- [31] Hanson I.M., Seawright A., van Heyningen V.: The human BDNF gene maps between FSHB and HVBS1 at the boundary of 11p13-p14. *Genomics*, 1992; 13: 1331–1333
- [32] Herculano-Houzel S.: The remarkable, yet not extraordinary, human brain as a scaled-up primate brain and its associated cost. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 10661–10668
- [33] Huang E.J., Reichardt L.F.: Neurotrophins: Roles in neuronal development and function. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2001; 24: 677–736
- [34] Huang P.T., Chen C.H., Hsu I.U., Salim S.A., Kao S.H., Cheng C.W., Lai C.H., Lee C.F., Lin Y.F.: Huntingtin-associated protein 1 interacts with breakpoint cluster region protein to regulate neuronal differentiation. *PLoS One*, 2015; 10: e0116372
- [35] Hurley L.L., Akinfiresoye L., Kalejaiye O., Tizabi Y.: Antidepressant effects of resveratrol in an animal model of depression. *Behav. Brain Res.*, 2014; 268: 1–7
- [36] Hwang J.J., Park M.H., Choi S.Y., Koh J.Y.: Activation of the Trk signaling pathway by extracellular zinc. Role of metalloproteinases. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 11995–12001
- [37] Ito K., Enomoto H.: Retrograde transport of neurotrophic factor signaling: implications in neuronal development and pathogenesis. *J. Biochem.*, 2016; 160: 77–85
- [38] Iughetti L., Lucaccioni L., Fugetto F., Predieri B., Berardi A., Ferrari F.: Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy: A systematic review. *Neuropeptides*, 2018; 72: 23–29
- [39] Jang S.W., Liu X., Yepes M., Shepherd K.R., Miller G.W., Liu Y., Wilson W.D., Xiao G., Bianchi B., Sun Y.E., Ye K.: A selective TrkB agonist with potent neurotrophic activities by 7,8-dihydroxyflavone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 2687–2692
- [40] Ji L., Wu H.T., Qin X.Y., Lan R.: Dissecting carboxypeptidase E: Properties, functions and pathophysiological roles in disease. *Endocr. Connect.*, 2017; 6: R18–R38
- [41] Jiang Y., Wei N., Lu T., Zhu J., Xu G., Liu X.: Intranasal brain-derived neurotrophic factor protects brain from ischemic insult via modulating local inflammation in rats. *Neuroscience*, 2011; 172: 398–405
- [42] Katsu-Jiménez Y., Loría F., Corona J.C., Díaz-Nido J.: Gene transfer of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents neurodegeneration triggered by FXN deficiency. *Mol. Ther.*, 2016; 24: 877–889
- [43] Kells A.P., Henry R.A., Connor B.: AAV-BDNF mediated attenuation of quinolinic acid-induced neuropathology and motor function impairment. *Gene Ther.*, 2008; 15: 966–977
- [44] Kim D.H., Jeon S.J., Son K.H., Jung J.W., Lee S., Yoon B.H., Choi J.W., Cheong J.H., Ko K.H., Ryu J.H.: Effect of the flavonoid, oroxylin A, on transient cerebral hypoperfusion-induced memory impairment in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2006; 85: 658–668
- [45] Kishi T., Yoshimura R., Ikuta T., Iwata N.: Brain-derived neurotrophic factor and major depressive disorder: Evidence from meta-analyses. *Front. Psychiatry*, 2018; 8: 308
- [46] Kowiański P., Lietzau G., Czuba E., Waśkow M., Steliga A., Moryś J.: BDNF: A key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2018; 38: 579–593
- [47] Laccone F., Christian W.: A recurrent expansion of a maternal allele with 36 CAG repeats causes Huntington disease in two sisters. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000; 66: 1145–1148
- [48] Lampe K.J., Kern D.S., Mahoney M.J., Bjugstad K.B.: The administration of BDNF and GDNF to the brain via PLGA microparticles patterned within a degradable PEG-based hydrogel: Protein distribution and the glial response. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2011; 96: 595–607
- [49] Lau A.G., Irier H.A., Gu J., Tian D., Ku L., Liu G., Xia M., Fritsch B., Zheng J.Q., Dingledine R., Xu B., Lu B., Feng Y.: Distinct 3'UTRs differentially regulate activity-dependent translation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 15945–15950
- [50] Lessmann V., Gottmann K., Malsangio M.: Neurotrophin secretion: Current facts and future prospects. *Prog. Neurobiol.*, 2003; 69: 341–374
- [51] Li Y., Chin L.S., Levey A.I., Li L.: Huntingtin-associated protein 1 interacts with hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate and functions in endosomal trafficking. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 28212–28221
- [52] Lim Y., Wu L.L., Chen S., Sun Y., Vijayaraj S.L., Yang M., Bobrovskaya L., Keating D., Li X.J., Zhou X.F.: HAP1 is required for endocytosis and signalling of BDNF and its receptors in neurons. *Mol. Neurobiol.*, 2018; 55: 1815–1830
- [53] Lin J., Huang L., Yu J., Xiang S., Wang J., Zhang J., Yan X., Cui W., He S., Wang Q.: Fucoxanthin, a marine carotenoid, reverses scopolamine-induced cognitive impairments in mice and inhibits acetylcholinesterase in vitro. *Mar. Drugs*, 2016; 14: 67
- [54] Liu P. Z., Nusslock R.: Exercise-mediated neurogenesis in the hippocampus via BDNF. *Front. Neurosci.*, 2018; 12: 52
- [55] Lou H., Kim S.K., Zaitsev E., Snell C.R., Lu B., Loh Y.P.: Sorting and activity-dependent secretion of BDNF require interaction of a specific motif with the sorting receptor carboxypeptidase E. *Neuron*, 2005; 45: 245–255
- [56] Lu B., Nagappan G., Guan X., Nathan P.J., Wren P.: BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2013; 14: 401–416
- [57] Lu B., Pang P.T., Woo N.H.: The yin and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2005; 6: 603–614
- [58] Mackay C.P., Kuys S.S., Brauer S.G.: The effect of aerobic exercise on brain-derived neurotrophic factor in people with neurological disorders: A systematic review and meta-analysis. *Neural Plast.*, 2017; 2017: 4716197
- [59] Maisonpierre P.C., Le Beau M.M., Espinosa R.3rd, Ip N.Y., Belluscio L., de la Monte S.M., Squinto S., Furth M.E., Yancopoulos G.D.: Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: Gene structures, distributions and chromosomal localizations. *Genomics*, 1991; 10: 558–568
- [60] Małczyńska P., Piotrowicz Z., Drabarek D., Langfort J., Chalimoniuk M.: Rola mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) w procesach neurodegeneracji oraz w mechanizmach neuroregeneracji wywołanej wzmożoną aktywnością fizyczną. *Postępy Biochem.*, 2019; 65: 2–8
- [61] Markiewicz R., Koziół M., Olajossy M., Masiak J.: Can brain-derived neurotrophic factor (BDNF) be an indicator of effective

rehabilitation interventions in schizophrenia? *Psychiatr. Pol.*, 2018; 52: 819-834

[62] Massa S.M., Yang T., Xie Y., Shi J., Bilgen M., Joyce J.N., Nehama D., Rajadas J., Longo F.M.: Small molecule BDNF mimetics activate TrkB signaling and prevent neuronal degeneration in rodents. *J. Clin. Invest.*, 2010; 120: 1774-1785

[63] Mattson M.P., Duan W., Guo Z.: Meal size and frequency affect neuronal plasticity and vulnerability to disease: Cellular and molecular mechanisms. *J. Neurochem.*, 2003; 84: 417-431

[64] Merkouris S., Barde Y.A., Binley K.E., Allen N.D., Stepanov A.V., Wu N.C., Grande G., Lin C.W., Li M., Nan X., Chacon-Fernandez P., DiStefano P.S., Lindsay R.M., Lerner R.A., Xie J.: Fully human agonist antibodies to TrkB using autocrine cell-based selection from a combinatorial antibody library. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018; 115: E7023-E7032

[65] Miranda M., Morici J.F., Zanoni M.B., Bekinschtein P.: Brain-derived neurotrophic factor: A key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. *Front. Cell. Neurosci.*, 2019; 13: 363

[66] Moghbelinejad S., Nassiri-Asl M., Farivar T.N., Abbasi E., Sheikhi M., Taghiloo M., Farsad F., Samimi A., Hajiali F.: Rutin activates the MAPK pathway and BDNF gene expression on beta-amyloid induced neurotoxicity in rats. *Toxicol. Lett.*, 2014; 224: 108-113

[67] Moosavi F., Hosseini R., Saso L., Firuzi O.: Modulation of neurotrophic signaling pathways by polyphenols. *Drug. Des. Devel. Ther.*, 2015; 10: 23-42

[68] Mowla S.J., Farhadi H.F., Pareek S., Atwal J.K., Morris S.J., Seidah N.G., Murphy R.A.: Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 12660-12666

[69] Nagahara A.H., Merrill D.A., Coppola G., Tsukada S., Schroeder B.E., Shaked G.M., Wang L., Blesch A., Kim A., Conner J.M., Rockenstein E., Chao M.V., Koo E.H., Geschwind D., Masliah E., Chiba A.A., Tuszynski M.H.: Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat. Med.*, 2009; 15: 331-337

[70] Nakazato M., Hashimoto K., Shimizu E., Niitsu T., Iyo M.: Possible involvement of brain-derived neurotrophic factor in eating disorders. *IUBMB Life*, 2012; 64: 355-361

[71] Ng T.K., Ho C.S., Tam W.W., Kua E.H., Ho R.C.: Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with Alzheimer's disease (AD): A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 20: 257

[72] Nielsen M.S., Madsen P., Christensen E.I., Nykjaer A., Gliemann J., Kasper D., Pohlmann R., Petersen C.M.: The sortilin cytoplasmic tail conveys Golgi-endosome transport and binds the VHS domain of the GGA2 sorting protein. *EMBO J.*, 2001; 20: 2180-2190

[73] Nieto R., Kukuljan M., Silva H.: BDNF and schizophrenia: From neurodevelopment to neuronal plasticity, learning, and memory. *Front. Psychiatry*, 2013; 4: 45

[74] Nociti V., Santoro M., Quaranta D., Losavio F.A., De Fino C., Giordano R., Palomba N.P., Rossini P.M., Guerini F.R., Clerici M., Caputo D., Mirabella M.: BDNF rs6265 polymorphism methylation in multiple sclerosis: A possible marker of disease progression. *PLoS One*, 2018; 13: e0206140

[75] Notaras M., van den Buuse M.: Brain-derived neurotrophic factor (BDNF): Novel insights into regulation and genetic variation. *Neuroscientist*, 2019; 25: 434-454

[76] Ohira K., Hayashi M.: A new aspect of the TrkB signaling pathway in neural plasticity. *Curr. Neuropharmacol.*, 2009; 7: 276-285

[77] Pang P.T., Teng H.K., Zaitsev E., Woo N.T., Sakata K., Zhen S., Teng K.K., Yung W.H., Hempstead B.L., Lu B.: Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. *Science*, 2004; 306: 487-491

[78] Park J.J., Cawley N.X., Loh Y.P.: A bi-directional carboxypeptidase E-driven transport mechanism controls BDNF vesicle homeostasis in hippocampal neurons. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2008; 39: 63-73

[79] Pastrana E., Moreno-Flores M.T., Avila J., Wandosell F., Minichiello L., Diaz-Nido J.: BDNF production by olfactory ensheathing cells contributes to axonal regeneration of cultured adult CNS neurons. *Neurochem. Int.*, 2007; 50: 491-498

[80] Pérez-Navarro E., Canudas A.M., Akerund P., Alberch J., Arenas E.: Brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4/5 prevent the death of striatal projection neurons in a rodent model of Huntington's disease. *J. Neurochem.*, 2000; 75: 2190-2199

[81] Petersen C.M., Nielsen M.S., Nykjaer A., Jacobsen L., Tommerup N., Rasmussen H.H., Røigaard H., Gliemann J., Madsen P., Moestrup S.K.: Molecular identification of a novel candidate sorting receptor purified from human brain by receptor-associated protein affinity chromatography. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 3599-3605

[82] Pollock K., Dahlenburg H., Nelson H., Fink K.D., Cary W., Hendrix K., Annett G., Torrest A., Deng P., Gutierrez J., Nacey C., Pepper K., Kalomoiris S., Anderson J.D., McGee J. i wsp.: Human mesenchymal stem cells genetically engineered to overexpress brain-derived neurotrophic factor improve outcomes in Huntington's disease mouse models. *Mol. Ther.*, 2016; 24: 965-977

[83] Pradhan J., Noakes P.G., Bellingham M.C.: The role of altered BDNF/TrkB signaling in amyotrophic lateral sclerosis. *Front. Cell Neurosci.*, 2019; 13: 368

[84] Prakash Y.S., Martin R.J.: Brain-derived neurotrophic factor in the airways. *Pharmacol. Therapeut.*, 2014; 143: 74-86

[85] Pruunsild P., Kazantseva A., Aid T., Palm K., Timmusk T.: Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*, 2007; 90: 397-406

[86] Reichardt L.F.: Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2006; 361: 1545-1564

[87] Robinson R.C., Radziejewski C., Stuart D.I., Jones E.Y.: Structure of the brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin 3 heterodimer. *Biochemistry*, 1995; 34: 4139-4146

[88] Rong J., Li S.H., Li X.J.: Regulation of intracellular HAP1 trafficking. *J. Neurosci. Res.*, 2007; 85: 3025-3029

[89] Ross C.A.: Polyglutamine pathogenesis: Emergence of unifying mechanisms for Huntington's disease and related disorders. *Neuron*, 2002; 35: 819-822

[90] Rui Y.N., Xu Z., Patel B., Chen Z., Chen D., Tito A., David G., Sun Y., Stimming E.F., Bellen H.J., Cuervo A.M., Zhang S.: Huntingtin functions as a scaffold for selective macroautophagy. *Nat. Cell Biol.*, 2015; 17: 262-275

[91] Ryu J.K., Kim J., Cho S.J., Hatori K., Nagai A., Choi H.B., Lee M.C., McLarnon J.G., Kim S.U.: Proactive transplantation of human neural stem cells prevents degeneration of striatal neurons in a rat model of Huntington disease. *Neurobiol. Dis.*, 2004; 16: 68-77

[92] Sakane T., Pardridge W.M.: Carboxyl-directed pegylation of brain-derived neurotrophic factor markedly reduces systemic

- clearance with minimal loss of biologic activity. *Pharm. Res.*, 1997; 14: 1085–1091
- [93] Sangiovanni E., Brivio P., Dell'Agli M., Calabrese F.: Botanicals as modulators of neuroplasticity: Focus on BDNF. *Neural Plast.*, 2017; 2017: 5965371
- [94] Sarkaki A., Farbood Y., Badavi M., Ghadiri A., Ghasemi Dehcheshmeh M., Mansouri E., Navabi S.P.: The protective effect of betulinic acid on microvascular responsiveness and protein expression in Alzheimer disease induced by cerebral micro-injection of beta-amyloid and streptozotocin. *Microcirculation*, 2018; 25: e12503
- [95] Saudou F., Humbert S.: The biology of Huntingtin. *Neuron*, 2016; 89: 910–926
- [96] Schäbitz W.R., Sommer C., Zoder W., Kiessling M., Schwaninger M., Schwab S.: Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2000; 31: 2212–2217
- [97] Starkstein S.E., Jorge R., Mizrahi R., Robinson R.G.: The construct of minor and major depression in Alzheimer's disease. *Am. J. Psychiatr.*, 2005; 162: 2086–2093
- [98] Su M., Hong J., Zhao Y., Liu S., Xue X.: MeCP2 controls hippocampal brain-derived neurotrophic factor expression via homeostatic interactions with microRNA-132 in rats with depression. *Mol. Med. Rep.*, 2015; 12: 5399–5406
- [99] Sun Y., Lim Y., Li F., Liu S., Lu J.J., Haberberger R., Zhong J.H., Zhou X.F.: ProBDNF collapses neurite outgrowth of primary neurons by activating RhoA. *PLoS One*, 2012; 7: e35883
- [100] Tejada G.S., Díaz-Guerra M.: Integral characterization of defective BDNF/TrkB signalling in neurological and psychiatric disorders leads the way to new therapies. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017; 18: 268
- [101] The BDNF Study Group: A controlled trial of recombinant methionyl human BDNF in ALS: The BDNF Study Group (Phase III). *Neurology*, 1999; 52: 1427–1433
- [102] The UniProt Consortium: UniProt: A worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res.*, 2019; 47: D506–D515
- [103] Todd D., Gowers I., Dowler S.J., Wall M.D., McAllister G., Fischer D.F., Dijkstra S., Fratantoni S.A., van de Bospoort R., Veenman-Koepke J., Flynn G., Arjomand J., Dominguez C., Munoz-Sanjuan I., Wityak J., Bard J.A.: A monoclonal antibody TrkB receptor agonist as a potential therapeutic for Huntington's disease. *PLoS One*, 2014; 9: e87923
- [104] Weishaupt N., Blesch A., Fouad K.: BDNF: The career of a multifaceted neurotrophin in spinal cord injury. *Exp. Neurol.*, 2012; 238: 254–264
- [105] Woronowicz A., Koshimizu H., Chang S.Y., Cawley N.X., Hill J.M., Rodriguiz R.M., Abebe D., Dorfman C., Senatorov V., Zhou A., Xiong Z.G., Wetsel W.C., Loh Y.P.: Absence of carboxypeptidase E leads to adult hippocampal neuronal degeneration and memory deficits. *Hippocampus*, 2008; 18: 1051–1063
- [106] Wu L.L., Fan Y., Li S., Li X.J., Zhou X.F.: Huntingtin-associated protein-1 interacts with pro-brain-derived neurotrophic factor and mediates its transport and release. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 5614–5623
- [107] Xiao L., Chang S.Y., Xiong Z.G., Selveraj P., Loh Y.P.: Absence of carboxypeptidase E/neurotrophic factor-A1 in knock-out mice leads to dysfunction of BDNF-TRKB signaling in hippocampus. *J. Mol. Neurosci.*, 2017; 62: 79–87
- [108] Xu Y., Ku B., Tie L., Yao H., Jiang W., Ma X., Li X.: Curcumin reverses the effects of chronic stress on behavior, the HPA axis, BDNF expression and phosphorylation of CREB. *Brain Res.*, 2006; 1122: 56–64
- [109] Yang M., Lim Y., Li X., Zhong J.H., Zhou X.F.: Precursor of brain-derived neurotrophic factor (proBDNF) forms a complex with Huntingtin-associated protein-1 (HAP1) and sortilin that modulates proBDNF trafficking, degradation, and processing. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 16272–16284
- [110] Yang Y., Liu Y., Wang G., Hei G., Wang X., Li R., Li L., Wu R., Zhao J.: Brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive impairments in first-episode and chronic schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2019; 273: 528–536
- [111] Zala D., Benchoua A., Brouillet E., Perrin V., Gaillard M.C., Zurn A.D., Aebischer P., Déglon N.: Progressive and selective striatal degeneration in primary neuronal cultures using lentiviral vector coding for a mutant huntingtin fragment. *Neurobiol. Dis.*, 2005; 20: 785–798
- [112] Zhang J., Luo W., Li Q., Xu R., Wang Q., Huang Q.: Peripheral brain-derived neurotrophic factor in attention-deficit/hyperactivity disorder: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.*, 2018; 227: 298–304
- [113] Zhang Y., Pardridge W.M.: Conjugation of brain-derived neurotrophic factor to a blood-brain barrier drug targeting system enables neuroprotection in regional brain ischemia following intravenous injection of the neurotrophin. *Brain Res.*, 2001; 889: 49–56
- [114] Zhao L., Wang J.L., Liu R., Li X.X., Li J.F., Zhang L.: Neuroprotective, anti-amyloidogenic and neurotrophic effects of apigenin in an Alzheimer's disease mouse model. *Molecules*, 2013; 18: 9949–9965
- [115] Zheng F., Zhou X., Moon C., Wang H.: Regulation of brain-derived neurotrophic factor expression in neurons. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.*, 2012; 4: 188–200
- [116] Zhu X., Wu K., Rife L., Cawley N.X., Brown B., Adams T., Teofilo K., Lillo C., Williams D.S., Loh Y.P., Craft C.M.: Carboxypeptidase E is required for normal synaptic transmission from photoreceptors to the inner retina. *J. Neurochem.*, 2005; 95: 1351–1362
- [117] Zuccato C., Cattaneo E.: Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Prog. Neurobiol.*, 2007; 81: 294–330
- [118] Zuccato C., Cattaneo E.: Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nat. Rev. Neurol.*, 2009; 5: 311–322
- [119] Zuccato C., Ciammola A., Rigamonti D., Leavitt B.R., Goffredo D., Conti L., MacDonald M.E., Friedlander R.M., Silani V., Hayden M.R., Timmusk T., Sipione S., Cattaneo E.: Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science*, 2001; 293: 493–498
- [120] Zuccato C., Liber D., Ramos C., Tarditi A., Rigamonti D., Tartari M., Valenza M., Cattaneo E.: Progressive loss of BDNF in a mouse model of Huntington's disease and rescue by BDNF delivery. *Pharmacol. Res.*, 2005; 52: 133–139

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.