

Paweł Woliński, Andrzej Głąbiński

Received: 16.07.2011

Accepted: 09.09.2011

Published: 30.12.2011

## Chemokiny i ich receptory na neuronach a proces neurodegeneracji i neuroprotekcji

Chemokines and their receptors on neurons in neurodegeneration and neuroprotection

Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, WSS im. M. Kopernika, ul. Pabianicka 62, 93-513 Łódź

Praca finansowana ze środków własnych

### Streszczenie

Pierwsze doniesienia potwierdzające ekspresję chemokin i ich receptorów w komórkach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) pojawiły się kilkanaście lat temu. Od tego czasu opublikowano wiele prac poszerzających naszą wiedzę na ten temat. Ostatnie doniesienia zwracają szczególną uwagę na zaangażowanie chemokin i receptorów chemokinowych w procesach neurodegeneracji i neuroprotekcji. Istnieją przesłanki świadczące o tym, że chemokiny mogą w sposób bezpośredni prowadzić do neurodegeneracji poprzez aktywację swoich receptorów na powierzchni komórek nerwowych, jak i w sposób pośredni poprzez aktywację mikrogleju, który następnie uwalnia związki neurotoksyczne uszkadzające neurony. Istnieją też dowody na obecność receptorów chemokinowych i chemokin odpowiedzialnych za proces neuroprotekcji. Jak dotąd odnotowano obecność tylko dwóch chemokin wytwarzanych konstytutywnie w OUN, są nimi: CX3CL1 (fraktalkina) i CXCL12 (*stromal-cell-derived factor 1*, SDF-1). Na powierzchni neuronów stwierdzono z kolei ekspresję znacznej liczby receptorów chemokinowych, takich jak: CXCR2, CXCR4, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR9/10, CX3CR1 i DARC. Na podstawie przedstawionych doniesień można wnioskować, że bezpośrednia interakcja między niektórymi receptorami chemokinowymi a chemokinami lub innymi ligandami dla tych receptorów może mieć duże znaczenie w procesach neurodegeneracji i/lub neuroprotekcji. Dokładne mechanizmy tych procesów są jednak wciąż niedostatecznie poznane. Świadczy o tym duża liczba sprzecznych informacji dostępnych w aktualnym piśmiennictwie, w związku z czym konieczne są dalsze badania tego interesującego zagadnienia.

**Słowa kluczowe:** chemokiny, receptory chemokinowe, neurodegeneracja, neuroregeneracja, zapalenie

### Summary

The first studies on expression of chemokines and their receptors in the central nervous system (CNS) appeared several years ago and since that time many papers were published increasing our knowledge in that field. Recent studies are concentrated mostly on involvement of chemokines and chemokine receptors in neurodegeneration and neuroprotection. There are evidences that chemokines may directly initiate neurodegeneration through activation of their receptors on the surface of neurons or indirectly through activation of microglia which in turn may secrete neurotoxic mediators damaging neuronal cells. There are also evidences suggesting that chemokines and chemokine receptors are also involved in neuroprotection. So far only two chemokines, CX3CL1 (fractalkine) and CXCL12 (SDF-1 – stromal cell-derived factor-1) have been shown to be expressed constitutively in the CNS. However, expression of many chemokine receptors including CXCR2, CXCR4, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR9/10, CX3CR1 i DARC has been detected on the surface of neuronal cell. Based on presented in this review studies it may be concluded that direct interaction between some chemokine receptors and chemokines or other chemokine receptor ligands may be important for development of

neurodegeneration and/or neuroprotection. The detailed mechanisms of those processes are still not well known. This is confirmed by the high number of inconsistent results in current scientific literature so the further studies are necessary in that field.

**Key words:** chemokines, chemokine receptors, neurodegeneration, neuroregeneration, inflammation

## WSTĘP

**C**hemokiny i ich receptory są białkami związanymi z szeroko rozpowszechnionymi procesami fizjologicznymi zachodzącymi w organizmach żywych, jak również z procesami patologicznymi. Pierwsze doniesienia potwierdzające ekspresję chemokin i receptorów chemokinowych w komórkach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) pojawiły się mniej więcej 15 lat temu i od tamtej pory opublikowano wiele prac poszerzających naszą wiedzę na ten temat. Do procesów fizjologicznych, w których chemokiny i ich receptory mają duże znaczenie, należą między innymi embriogeneza mózgu i narządów limfatycznych, angiogeneza i apoptoza. Do procesów patologicznych, w których biorą one udział, zalicza się głównie odpowiedź immunologiczną, inicjowanie reakcji zapalnej wywoływanej antygenami o pochodzeniu środowiskowym (wirusy, bakterie itp.), jak również autoantygenami (np. antygeny komórek nowotworowych)<sup>(1)</sup>.

Ostatnie doniesienia zwracają szczególną uwagę na zaangażowanie chemokin i ich receptorów w procesach neurodegeneracji i neuroprotekcji. Istnieją przesłanki świadczące o tym, że chemokiny mogą prowadzić do neurodegeneracji zarówno w sposób bezpośredni – poprzez aktywację swoich receptorów na powierzchni komórek nerwowych, jak i w sposób pośredni – poprzez aktywację mikrogleju, który następnie uwalnia związki neurotoksyczne<sup>(2,3)</sup>. Istnieją też dowody na obecność receptorów chemokinowych i chemokin odpowiedzialnych za proces neuroprotekcji<sup>(4-7)</sup>.

## EKSPRESJA CHEMOKIN I ICH RECEPTORÓW NA NEURONACH

Chemokiny mogą ulegać ekspresji w OUN w warunkach fizjologicznych, jednakże dotąd stwierdzono obecność tylko dwóch chemokin wydzielanych konstytutywnie przez OUN, są nimi: CX3CL1 (fraktalkina) i CXCL12 (*stromal-cell-derived factor 1*, SDF-1), które ulegają ekspresji na powierzchni neuronów (fraktalkina) i astrocytów (CXCL12)<sup>(8,9)</sup>.

Na powierzchni neuronów stwierdzono również ekspresję znacznej liczby receptorów chemokinowych, takich jak: CXCR2, CXCR4, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR9/10, CX3CR1 i DARC<sup>(6,10-13)</sup>. U ludzi rozmieszczenie receptorów chemokinowych na powierzchni neuronów jest bardzo podobne do tego, jakie występuje u gryzoni, wyjątkami są CCR1 i CX3CR1, których obecności na neuronach ludzkich nie zaobserwowano. CCR2, CCR3 i CXCR4 zlokalizowano w obrębie hipokampa, ciała migdałowatego, zakrętu jądra mózdzku<sup>(11,14)</sup>. Obecność receptora CCR1 stwierdzono na powierzchni neuronów

hipokampa myszy oraz mózdzku szczurów u osobników dorosłych, a także noworodków, co świadczy o funkcji tego receptora w czasie neurogenezy, szczególnie w czasie wzrostu neurytów i dojrzewania komórek<sup>(15,16)</sup>. U osób zakażonych wirusem HIV opisano obecność receptorów CCR2 i CCR3 na neuronach hipokampa oraz znacznie szerzej rozprzestrzenionego receptora CXCR4 opisanego na neuronach między innymi hipokampa, ciała migdałowatego, wzgórza, w jądrach mózdzku oraz w rejonach CA3 oraz CA4 mózgu<sup>(17,18)</sup>.

Obecność neuronów CXCR4-pozytywnych poza mózgiem dorosłych ludzi zdrowych odnotowano także w przypadku neuronów płodowych, jak również u ludzi z HIV oraz HIVE (*HIV encephalitis*)<sup>(19)</sup>. Oprócz tego receptor chemokinowy CCR3 zlokalizowano na neuronach pacjentów z chorobą Alzheimera<sup>(20)</sup>. CCR3, CXCR3 oraz CXCR4 opisano również na neuronach płodowych, gdzie pełniły one istotne funkcje w okresie embriogenezy<sup>(21)</sup>. Jak dotąd ekspresję CCR4 na neuronach udało się potwierdzić jedynie w przypadku szczurzej hodowli neuronalnej z komórek hipokampa<sup>(22)</sup>. Doniesienia literaturowe dotyczące obecności neuronów CCR5+ potwierdzają ich obecność w obrębie komórek nerwowych płodów, noworodków oraz osobników dorosłych gryzoni i makaków<sup>(23,24)</sup>. Zwiększoną ekspresję CCR5 zaobserwowano w mózgu makaków zakażonych SIVE (*simian immunodeficiency virus encephalitis*)<sup>(25)</sup> oraz na neuronach małp reżusów zdrowych i zainfekowanych wirusem HIV<sup>(24)</sup>. Lokalizacja ekspresji CCR5 w mózgu ludzkim nie jest jednoznacznie określona. Istnieje wiele sprzecznych prac dotyczących tego zagadnienia. Van der Meer i wsp. nie stwierdzili obecności tego receptora na neuronach hipokampa w żadnym z badanych przez siebie mózgow<sup>(17)</sup>, natomiast inna grupa naukowców, kierowana przez Rottmana, opisała obecność tego receptora na neuronach mózdzku i hipokampa<sup>(26)</sup>. Obecność CCR5 stwierdzono również na ludzkich neuronach w fazie embrionalnej i u dojrzałych zdrowych osobników (wraz z CCR1)<sup>(27,28)</sup>. Obecność CCR9 i CCR10 potwierdzono na komórkach nerwowych w hodowli hipokampalnej<sup>(22)</sup>. Ekspresję receptora CXCR1 stwierdzono *in vitro* w mysim modelu do badań nad połączeniami synaptycznymi, gdzie wraz z receptorem CXCR2 regulują one funkcjonowanie synaps w mózgu<sup>(29)</sup>. Silną ekspresję receptora CXCR2 udało się także potwierdzić w różnych regionach ludzkiego mózgu (hipokamp, jądra mózdzku, miejsce sinawe, jądra pnia mózgu) oraz w rdzeniu kręgowym w rogu przednim, kolumnie środkobocznej oraz w jądrze grzbietowym. Słabszą ekspresję CXCR2 obserwowano także w korze nowej, korze wzrokowej, prążkowi i jądrze migdałowatym<sup>(30)</sup>. Obecność receptora CXCR2 została także potwierdzona na powierzchni dojrzałych i płodowych neuronów Purkiniego, a także na powierzchni

komórek pochodzących z ludzkiej linii neuronalnej hNT<sup>(11,14)</sup>. Konstytutywną ekspresję CXCR3 opisywano ponadto w neuronach ludzkiego mózgu.

Obecność neuronów CXCR3+ odnotowano w różnych korowych i podkorowych regionach mózgu, między innymi w hipokampie oraz w regionach CA neuronów piramidowych. W mózdku opisano neurony CXCR3+ w obrębie warstwy molekularnej, granularnej oraz w komórkach warstwy Purkiniego. W rdzeniu kręgowym wysoka ekspresja CXCR3 została odnotowana na neuronach istoty galaretowatej oraz na niektórych neuronach ruchowych alfa<sup>(21,31)</sup>.

W celu oceny rozmieszczenia receptorów chemokinowych na powierzchni komórek neuronalnych przeprowadzone zostały też liczne badania z użyciem różnych hodowli komórkowych, takich jak ludzka płodowa linia komórek neuronalnych NT2.N i ludzka linia komórek neuronalnych NTera 2/cl.D1<sup>(12)</sup>. W obu hodowlach neuronalnych stwierdzono obecność receptorów chemokinowych CCR2, CXCR2, CXCR3 i CXCR4. W barwieniach podwójnych ujawniono silną kolokalizację receptorów CXCR3 i CXCR4 zarówno na wypustkach dendrytycznych, jak i aksonalnych, a także słabszą ekspresję CXCR2 i CCR2<sup>(12)</sup>. Dane o immunohistochemicznej lokalizacji receptorów chemokinowych wykonane na ww. liniach zostały potwierdzone na poziomie RNA z użyciem RT-PCR (*reverse transcription PCR*). Ponadto stwierdzono, że hodowla tych linii z dodatkową warstwą astrocytów nie zmieniała ich profilu chemokinowego<sup>(12)</sup>.

### EKSPRESJA CHEMOKIN I ICH RECEPTORÓW A NEURODEGENERACJA

W przypadku badań *in vitro* zaobserwowano neuroprotektynne działanie CCL2 na mieszaną hodowlę mysich korowych komórek nerwowych (*mixed cortical culture*) inkubowanych z NMDA<sup>(6)</sup>. W innych badaniach zwierzęta pozbawione genu CCL2 wykazywały zmniejszoną migrację komórek zapalnych do miejsc uszkodzonych oraz zmniejszoną liczbę obumarłych neuronów<sup>(32)</sup>. W trakcie badań z użyciem mutantów z wyłączonym genem dla CCL2 (CCL2<sup>-/-</sup>) stwierdzono, że zwierzęta takie są bardziej odporne na indukcję aktywnego eksperymentalnego autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego (*experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE) w porównaniu z typem dzikim. Wykazują one znacznie mniejszą infiltrację OUN przez komórki zapalne oraz charakteryzują się łagodniejszym przebiegiem EAE<sup>(33,34)</sup>. Inni badacze wykazali neuroprotektynne własności CCL2 w mieszannej hodowli ludzkich neuronów wystawionych na neurodegeneracyjne działanie NMDA i białka HIV-tat<sup>(35)</sup>.

Kalehua i wsp. zaobserwowali w badaniach *in vitro* i *in vivo* zależny od kaspaz neurodegeneracyjny wpływ CCL2 i CXCL2 na neurony hipokampa, natomiast w hodowli astrocytarnej inkubowanej z CCL2 i CXCL2 badacze ci stwierdzili produkcję bFGF działającego neurotroficznie. Wykazali oni, że ekspresja CCL2 i CXCL2 po 2-4 godzinach od iniekcji kwasu kainowego (KA) towarzyszyła wyraźna neurodegeneracja. Z kolei po 21-45 dniach od iniekcji KA obserwowano ekspresję CCL2 i CXCL2 na astrocytach, której nie towarzyszyły już objawy

neurodegeneracji, co może być spowodowane obecnością czynników neurotroficznych produkowanych przez astrocyty, a indukowanych przez chemokiny<sup>(36)</sup>. Wyniki badań, które przedstawili Brenneman i wsp., wskazują, że chemokina CCL3 jest konieczna dla utrzymania żywotności mieszanej hodowli szczurzych neuronów korowych wystawionych na neurodegeneracyjne działanie białka GP120. Ponadto inkubacja tej samej hodowli z surowicą przeciw CCL3 wywoływała uszkodzenia porównywalnie z uszkodzeniami wywołanymi przez GP120. Dodanie do tej hodowli CCL3 znosiło neurodegeneracyjne własności surowicy anti-CCL3<sup>(4,37)</sup>. W innych badaniach przedstawionych przez Bruno i wsp. nie odnotowano wpływu CCL3 na uszkodzenia wywołane NMDA lub białkiem GP120<sup>(6)</sup>.

Dotychczas opublikowane prace wskazują również na możliwe zaangażowanie chemokiny CCL5 w procesy neurodegeneracji i neuroprotekcji. Brenneman i wsp. donoszą o neuroprotektynnym wpływie CCL5 na hodowlę mieszaną neuronów *in vitro*, w której neurodegenerację indukowano poprzez inkubację z białkiem GP120<sup>(37)</sup>. W innych badaniach *in vitro* udokumentowano neuroprotektynny charakter CCL5 w czystej hodowli neuronalnej, a także w hodowli mieszanej, gdzie neurodegenerację wywoływało białkiem GP120 oraz NMDA<sup>(6)</sup>. Gamo i wsp. zaproponowali istnienie interakcji neuronów z komórkami glejowymi poprzez receptor chemokinowy CCR5<sup>(38)</sup>. Autorzy ci zaobserwowali jednoczesny wzrost ekspresji receptora chemokinowego CCR5 na komórkach mikrogleju oraz jego ligandów (CCL3, CCL4 i CCL5) na neuronach po ich uszkodzeniu. Jednoczesny wzrost ekspresji receptora na komórkach mikrogleju oraz jego ligandów na komórkach nerwowych sugeruje udział tego układu w interakcjach zachodzących między tymi dwoma typami komórek w sytuacji, gdy dochodzi do uszkodzenia neuronów. Ponadto neurodegeneracja wywołana przez uszkodzenie neuronów u myszy CCR5<sup>-/-</sup> była silniejsza niż u myszy kontrolnych<sup>(38)</sup>. W badaniach *in vitro* Gamo i wsp. wykazali, że CCL5 hamuje ekspresję takich czynników prozapalnych, jak IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , oraz indukowalnej syntetazy tlenu azotu (iNOS) w komórkach mikrogleju wystawionych na działanie LPS. Dodatkowo w komórkach mikrogleju myszy CCR5<sup>-/-</sup> chemokina CCL5 nie obniżała już ekspresji tych czynników<sup>(38)</sup>. Sugeruje to, że CCR5, a także jego ligandy, których podwyższoną ekspresję obserwuje się w trakcie EAE, mogą bezpośrednio wpływać na żywotność neuronów. Dane z piśmiennictwa dotyczące receptora CCR5 świadczą o tym, że receptor ten może być zaangażowany zarówno w procesy neurodegeneracyjne, jak i neuroprotektynne. W eksperymentach z użyciem specjalnie zmodyfikowanej linii nowotworowej *neuroblastoma* (SH-SY5Y), która na swojej powierzchni ma spośród receptorów chemokinowych grupy  $\beta$  jedynie receptor CCR5, zaobserwowano, że w obecności liganda dla CCR5, jakim jest chemokina CCL5, następowała indukcja sygnału prowadzącego do apoptozy tych komórek. Nie następowała natomiast taka neurodegeneracja w linii kontrolnej, nieposiadającej receptora CCR5<sup>(10)</sup>. Wydaje się prawdopodobne, że mechanizm neurodegeneracji oparty był w tym przypadku na aktywacji przez CCR5 kaspazy-3 i akumulacji jonów Ca<sup>2+</sup>. Dodatkowo procesowi apoptozy można było zapobiec, stosując inhibitory

kaspazy-3, co świadczy, że receptor CCR5 może pełnić funkcję receptora śmierci dla linii komórek neuronalnych<sup>(10)</sup>. Innym dowodem potwierdzającym możliwy udział receptora CCR5, a także receptorów CCR1 i CCR3 w procesie neurodegeneracji, są badania przeprowadzone na myszach ME7 (mysi model scrapie). Scrapie jest ciężką chorobą prionową o charakterze neurodegeneracyjnym. Wykazano, że u myszy z modelem scrapie w obszarach mózgu zajętych chorobą następowała silna ekspresja chemokiny CCL5, a także wzmożona ekspresja receptora CCR5 na komórkach mikrogleju<sup>(13)</sup>. Zaobserwowano także wzmożoną ekspresję receptorów CCR1, CCR3 i CCR5 na reaktywnych astrocytach w uszkodzonych obszarach mózgu. Badania te pozwalają wnioskować, że CCL5 wraz ze swoimi receptorami CCR1, CCR3, CCR5 może brać udział w amplifikacji odpowiedzi zapalnej i indukowaniu procesu neurodegeneracji w mózgach zwierząt chorych na scrapie<sup>(13)</sup>. Z innych badań wynika ponadto, że za zaangażowaniem receptora CCR5 w procesie neurodegeneracji lub neuroprotekcji może przemawiać fakt, iż po iniekcji do szczurzego hipokampa czynnika neurotoksycznego (NMDA) wzrasta ekspresja tego receptora na neuronach danego obszaru mózgu<sup>(39)</sup>.

W badaniach przeprowadzonych przez Xia i wsp. zaobserwowano wyjątkowo silną ekspresję CXCR2 na neuronach w obrębie dystroficznych neurytów otaczających złogi  $\beta$ -amyloidu w mózgach pacjentów z chorobą Alzheimera. Stwierdzono również zwiększoną ekspresję chemokiny CXCL1 oraz IL-8 na niektórych subpopulacjach neuronów w mózgach zarówno osób zdrowych, jak i z chorobą Alzheimera. Może to sugerować udział szlaku ERK1/2 oraz kinazy PI-3 aktywowanych przez CXCR2 w procesie neurodegeneracji obserwowanej w tej chorobie<sup>(40)</sup>.

Protekcynny dla neuronów hipokampa wpływ CXCL2 opisywano w mysiej hodowli neuronalnej wystawionej na neurodegeneracyjne działanie białka  $\beta$ -amyloidu, uszkadzającego neurony w chorobie Alzheimera<sup>(7)</sup>, a także w przypadku hodowli neuronów mózdkowych wrażliwych na wahania jonów  $K^+$ <sup>(41)</sup>. Wykazano, że neuroprotekcynne działanie CXCL2 zachodzi z udziałem receptora CXCR2 oraz szlaków MEK1-ERK1/2, a także PI3K-Akt, gdyż użycie inhibitorów tych szlaków zniżyło protekcynne własności CXCL2<sup>(7)</sup>. W innych badaniach De Paola i wsp. przedstawili odmienne dane, wykazujące – zależne od dawki – neurotoksyczne własności CXCL2 względem szczurzej hodowli neuronalnej pochodzącej z 14-dniowych embrionów i posiadającej na powierzchni neuronów receptor CXCR2. Neurotoksyczny wpływ CXCR2/CXCL2 potwierdzono z użyciem inhibitora CXCR1/2 oraz hodowli neuronalnej pochodzącej od zwierząt z zablokowanym genem dla CXCR2<sup>(42)</sup>. W innym doniesieniu sugerowano podwójną rolę chemokiny CXCL2. Wzrost ekspresji tej chemokiny w miejscu uszkodzenia powoduje zmniejszenie ekspresji receptora CXCR2 na powierzchni neuronów, co czyni je bardziej wrażliwymi na neurodegenerację, z kolei CXCL2 dzięki aktywacji tego samego receptora CXCR2 na komórkach układu krwiotwórczego aktywuje ich chemotaksję do miejsca uszkodzenia, różnicowanie do komórek o charakterze glejowym, promując tym samym procesy neuroprotekcynne i naprawcze<sup>(43)</sup>.

Poza CCR5 jednym z ważniejszych receptorów chemokinowych, któremu przypisuje się prawdopodobny udział w procesie neurodegeneracji, jest receptor CXCR4. CXCR4 odgrywa bardzo ważną rolę w procesie embriogenezy sieci neuronalnej<sup>(44)</sup>. Mutanty CXCR4<sup>-/-</sup> i CXCL12 (ligand dla CXCR4) charakteryzują się silnymi zaburzeniami rozwojowymi i najczęściej giną w okresie płodowym lub w ciągu godziny od urodzenia<sup>(45)</sup>. Prawdopodobne zaangażowanie CXCR4, a także CCR5, w proces neurodegeneracji zostało potwierdzone podczas badań nad inwazyjnością wirusa HIV-1, który w dużej części przypadków wywołuje u osób zakażonych silne otępienie<sup>(46)</sup>. W badaniach tych stwierdzono, że obecność receptora CXCR4 jest konieczna do infekcji wirusów M-tropowych, a receptora CCR5 – do infekcji wirusów T-tropowych. Ponadto zaobserwowano, że białko otoczki wirusa HIV-1 o nazwie gp120 (które jest homologiczne do chemokiny CXCL12) jest zdolne do wywołania apoptozy komórek nerwowych poprzez interakcje z receptorem CXCR4. Badania te zostały przeprowadzone z użyciem ludzkiej linii neuronalnej hNT<sup>(46)</sup>. Doniesienia literaturowe szeroko potwierdzają ważną rolę chemokiny CXCL12 w rozwoju i funkcjonowaniu OUN. Jest ona jedyną chemokiną poza CX3CL1 konstytutywnie wydzielaną przez neurony, ponadto brak zarówno CXCL12, jak i jego receptora CXCR4 wywołuje nieprawidłowości morfologiczne w OUN noworodków<sup>(47)</sup>. W innych badaniach Bezii i wsp. przedstawili szczegółowe dowody zaangażowania CXCR4 oraz CXCL12 w komunikację między komórkami mikrogleju/astrocytami a neuronami i ich wpływu na neurodegenerację wywołaną produkcją glutaminy przez astrocyty<sup>(48)</sup>. Niejednoznaczne są niestety doniesienia dotyczące bezpośredniego wpływu CXCL12 na neurony. W innej pracy Kaul i wsp. stwierdzili, że CXCL12 nie tylko nie chroni neuronów przed degeneracją wywołaną białkiem GP120, lecz podczas jego nieobecności sama indukuje proces apoptozy. Ponadto neurodegeneracja wywołana przez CXCL12/CXCR4 następowała z wyłączeniem komórek mikrogleju i opierała się na bezpośredniej interakcji z neuronami i/lub astrocytami. Wykazano także, że neurodegeneracja ta zachodziła z udziałem szlaku MAPK, gdyż użycie jego inhibitorów hamowało proces neurodegeneracji indukowany białkiem GP120 bądź CXCL12<sup>(5)</sup>. Wyniki te stają w całkowitej sprzeczności z badaniami przedstawionymi przez Bruno i wsp., którzy zaprezentowali neuroprotekcynne właściwości CXCL12 względem uszkodzeń w mieszanym hodowlach neuronalnych wywołanych przez NMDA<sup>(6)</sup> lub też białkiem GP120<sup>(49)</sup>. W innej pracy wykazano, że CXCL12 i CXCR4 działają neuroprotekcynnie przez aktywację białka *retinoblastoma* (*retinoblastoma protein*, RB) posiadającego supresorowe właściwości dla komórek nowotworowych, a neuroprotekcja nie jest uzależniona od obecności komórek glejowych<sup>(50)</sup>. Wykazano też, że CXCL12 w kombinacji z kilkoma innymi czynnikami wzrostu może różnicować embrionalne komórki neuronalne do dojrzałych neuronów dopaminergicznych<sup>(51)</sup>. Innym receptorem związany z neurotoksycznością białka gp120(IIIb) (fragment otoczki wirusa HIV-1) stanowi receptor CX3CR1, którego ligandem jest CX3CL1 – jedyna znana chemokina wydzielana przez neurony OUN w warunkach fizjologicznych. Istnieją doniesienia, że CX3CL1, jedyny ligand dla CX3CR1,

może działać protekcyjnie na neurony hipokampa w obecności białka gp120(IIIB), które – jak zostało opisane wcześniej – w przypadku CXCR4 ma silne właściwości neurodegeneracyjne. Mechanizm protekcyjny wiąże się najprawdopodobniej z blokowaniem przez CX3CL1 receptora CX3CR1, o czym mogą świadczyć prace, w których zastosowanie przeciwciała anti-CX3CR1 znosiło neurotoksyczność białka gp120(IIIB)<sup>(52)</sup>. Eksperymenty z użyciem fosfolipidowego aktywatora AKT oraz inhibitorów kinazy fosfatydylo3-inozytolu, jednego z głównych enzymów biorących udział w przekaźnictwie sygnałów z receptorów chemokinowych, wydają się potwierdzać udział CX3CR1 w procesie neuroprotekcji zależnym od CX3CL1<sup>(52)</sup>.

Chemokiny posiadają niejednoznaczną rolę w patogenezie chorób OUN. Obecność różnych form procesu zapalnego jest obserwowana w układzie nerwowym w przebiegu takich chorób, jak SM, choroba Alzheimera, a nawet w niedokrwiennym udarze mózgu. Wielokrotnie wykazywano, że nasilający się proces zapalny w OUN jest odpowiedzialny za pogorszenie stanu zdrowia chorych, tak więc chemokiny jako ważne mediatory zapalne mogą być czynnikami pośrednio odpowiedzialnymi za uszkodzenie neuronów. Przeprowadzono badania *in vivo* świadczące o bezpośrednim neurodegeneracyjnym wpływie niektórych chemokin, np. CCL2 i CXCL2 po ich podaniu domózgowym<sup>(56)</sup>. Wydaje się, że chemokiny ulegające ekspresji w początkowych etapach choroby i biorące udział w inicjacji zapalenia mogą pośrednio poprzez proces zapalny lub też niezależnie od zapalenia prowadzić do rozwoju neurodegeneracji. Istnieje szereg doniesień potwierdzających, że przedłużający się stan zapalny prowadzi do neurodegeneracji poprzez długotrwałe narażenie neuronów na działanie cytokin prozapalnych, wolnych rodników czy nadmierną aktywację niektórych receptorów na ich powierzchni<sup>(2,3)</sup>. Jednakże istnieje również wiele dowodów, głównie opierających się na badaniach *in vitro*, wskazujących na bezpośredni protekcyjny charakter niektórych chemokin oraz ich receptorów<sup>(4,7)</sup>. Taką hipotezę dwójakiej roli chemokin potwierdzają między innymi badania przedstawione przez Kalehua i wsp.<sup>(56)</sup> Plejotropowe działanie wydaje się także posiadać chemokina CXCL10, w przypadku której odnotowywano dwufazowy wzrost jej ekspresji po indukcji MCAo – modelu udaru niedokrwiennego mózgu (zaciśnięcie tętnicy środkowej mózgu, *middle cerebral artery occlusion*)<sup>(53)</sup>. Pierwszą fazę wzrostu ekspresji CXCL10 odnotowano po 3 godzinach, z maksymalną ekspresją po 6 godzinach od indukcji MCAo, natomiast druga faza następowała po upływie 10-15 dni. Barwienia immunohistochemiczne wykazały obecność w obrębie ogniska niedokrwienia CXCL10-pozytywnych neuronów od 3 do 12 godzin oraz CXCL10-pozytywnych komórek astrogleju od 6 godzin do 15 dni od momentu wywołania MCAo<sup>(53)</sup>. Dwufazowy przebieg wzrostu ekspresji CXCL10 może świadczyć o plejotropowej funkcji tej chemokiny. We wczesnej fazie może ona odpowiadać za migrację komórek do ogniska niedokrwienia, a później wpływać na neowaskularyzację, aktywację i migrację komórek gleju oraz remodelowanie uszkodzonej tkanki<sup>(53)</sup>.

Na podstawie powyższych doniesień można wnioskować, że bezpośrednia interakcja między niektórymi receptorami chemokinowymi a chemokinami lub innymi ligandami dla tych

receptorów niebędącymi chemokinami może mieć duże znaczenie w procesach neurodegeneracji i/lub neuroprotekcji. Dokładne mechanizmy tych procesów są jednak wciąż niedostatecznie poznane. Świadczy o tym liczba sprzecznych informacji dostępnych w aktualnym piśmiennictwie, w związku z czym konieczne są dalsze badania tego interesującego zagadnienia.

#### PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Bajetto A., Bonavia R., Barbero S., Schettini G.: Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: physiopathological implications. *J. Neurochem.* 2002; 82: 1311-1329.
2. Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M.A.: Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* 1999; 22: 391-397.
3. Yeh T.H., Hwang H.M., Chen J.J. i wsp.: Glutamate transporter function of rat hippocampal astrocytes is impaired following the global ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2005; 18: 476-483.
4. Breneman D.E., Hauser J., Spong C.Y. i wsp.: VIP and D-alanine T-amide release chemokines which prevent HIV-1 GP120-induced neuronal death. *Brain Res.* 1999; 838: 27-36.
5. Kaul M., Lipton S.A.: Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96: 8212-8216.
6. Bruno V., Copani A., Besong G. i wsp.: Neuroprotective activity of chemokines against N-methyl-D-aspartate or beta-amyloid-induced toxicity in culture. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 399: 117-121.
7. Watson K., Fan G.H.: Macrophage inflammatory protein 2 inhibits beta-amyloid peptide (1-42)-mediated hippocampal neuronal apoptosis through activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *Mol. Pharmacol.* 2005; 67: 757-765.
8. Harrison J.K., Jiang Y., Chen S. i wsp.: Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 10896-10901.
9. Streit W.J., Conde J.R., Harrison J.K.: Chemokines and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 2001; 22: 909-913.
10. Cartier L., Dubois-Dauphin M., Hartley O. i wsp.: Chemokine-induced cell death in CCR5-expressing neuroblastoma cells. *J. Neuroimmunol.* 2003; 145: 27-39.
11. Cartier L., Hartley O., Dubois-Dauphin M., Krause K.H.: Chemokine receptors in the central nervous system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2005; 48: 16-42.
12. Coughlan C.M., McManus C.M., Sharron M. i wsp.: Expression of multiple functional chemokine receptors and monocyte chemoattractant protein-1 in human neurons. *Neuroscience* 2000; 97: 591-600.
13. Lee H.P., Jun Y.C., Choi J.K. i wsp.: The expression of rantes and chemokine receptors in the brains of scrapie-infected mice. *J. Neuroimmunol.* 2005; 158: 26-33.
14. Horuk R.: Chemokine receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001; 12: 313-335.
15. Cowell R.M., Silverstein F.S.: Developmental changes in the expression of chemokine receptor *ccr1* in the rat cerebellum. *J. Comp. Neurol.* 2003; 457: 7-23.
16. Cowell R.M., Xu H., Galasso J.M., Silverstein F.S.: Hypoxic-ischemic injury induces macrophage inflammatory protein-1alpha expression in immature rat brain. *Stroke* 2002; 33: 795-801.

17. van der Meer P., Ulrich A.M., Gonzalez-Scarano F., Lavi E.: Immunohistochemical analysis of *ccr2*, *ccr3*, *ccr5*, and *cxcr4* in the human brain: potential mechanisms for hiv dementia. *Exp. Mol. Pathol.* 2000; 69: 192-201.
18. Petito C.K., Roberts B., Cantando J.D. i wsp.: Hippocampal injury and alterations in neuronal chemokine co-receptor expression in patients with aids. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 377-385.
19. Sanders V.J., Pittman C.A., White M.G. i wsp.: Chemokines and receptors in HIV encephalitis. *AIDS* 1998; 12: 1021-1026.
20. Xia M.Q., Qin S.X., Wu L.J. i wsp.: Immunohistochemical study of the beta-chemokine receptors *ccr3* and *ccr5* and their ligands in normal and alzheimer's disease brains. *Am. J. Pathol.* 1998; 153: 31-37.
21. Goldberg S.H., van der Meer P., Hesselgesser J. i wsp.: *Cxcr3* expression in human central nervous system diseases. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2001; 27: 127-138.
22. Meucci O., Fatatis A., Simen A.A. i wsp.: Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 14500-14505.
23. Klein R.S., Williams K.C., Alvarez-Hernandez X. i wsp.: Chemokine receptor expression and signaling in macaque and human fetal neurons and astrocytes: implications for the neuropathogenesis of aids. *J. Immunol.* 1999; 163: 1636-1646.
24. Westmoreland S.V., Alvarez X., deBakker C. i wsp.: Developmental expression patterns of *ccr5* and *cxcr4* in the rhesus macaque brain. *J. Neuroimmunol.* 2002; 122: 146-158.
25. Westmoreland S.V., Rottman J.B., Williams K.C. i wsp.: Chemokine receptor expression on resident and inflammatory cells in the brain of macaques with simian immunodeficiency virus encephalitis. *Am. J. Pathol.* 1998; 152: 659-665.
26. Rottman J.B., Ganley K.P., Williams K. i wsp.: Cellular localization of the chemokine receptor *ccr5*. Correlation to cellular targets of hiv-1 infection. *Am. J. Pathol.* 1997; 151: 1341-1351.
27. Torres-Muñoz J.E., Van Waveren C., Keegan M.G. i wsp.: Gene expression profiles in microdissected neurons from human hippocampal subregions. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2004; 127: 105-114.
28. Boutet A., Salim H., Leclerc P., Tardieu M.: Cellular expression of functional chemokine receptor CCR5 and CXCR4 in human embryonic neurons. *Neurosci. Lett.* 2001; 311: 105-108.
29. Puma C., Danik M., Quirion R. i wsp.: The chemokine interleukin-8 acutely reduces  $Ca^{2+}$  currents in identified cholinergic septal neurons expressing CXCR1 and CXCR2 receptor mRNAs. *J. Neurochem.* 2001; 78: 960-971.
30. Horuk R., Martin A.W., Wang Z. i wsp.: Expression of chemokine receptors by subsets of neurons in the central nervous system. *J. Immunol.* 1997; 158: 2882-2890.
31. Xia M.Q., Bacskai B.J., Knowles R.B. i wsp.: Expression of the chemokine receptor CXCR3 on neurons and the elevated expression of its ligand IP-10 in reactive astrocytes: in vitro ERK1/2 activation and role in Alzheimer's disease. *J. Neuroimmunol.* 2000; 108: 227-235.
32. Sheehan J.J., Zhou C., Gravanis I. i wsp.: Proteolytic activation of monocyte chemoattractant protein-1 by plasmin underlies excitotoxic neurodegeneration in mice. *J. Neurosci.* 2007; 27: 1738-1745.
33. Huang D.R., Wang J., Kivisakk P. i wsp.: Absence of monocyte chemoattractant protein 1 in mice leads to decreased local macrophage recruitment and antigen-specific T helper cell type 1 immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* 2001; 193: 713-726.
34. Elhofy A., Wang J., Tani M. i wsp.: Transgenic expression of CCL2 in the central nervous system prevents experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 77: 229-237.
35. Eugenin E.A., D'Aversa T.G., Lopez L. i wsp.: MCP-1 (CCL2) protects human neurons and astrocytes from NMDA or HIV-tat-induced apoptosis. *J. Neurochem.* 2003; 85: 1299-1311.
36. Kalebica A.N., Nagel J.E., Whelchel L.M. i wsp.: Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-2 are involved in both excitotoxin-induced neurodegeneration and regeneration. *Exp. Cell Res.* 2004; 297: 197-211.
37. Brenneman D.E., Hauser J., Spong C.Y., Phillips T.M.: Chemokines released from astroglia by vasoactive intestinal peptide. Mechanism of neuroprotection from HIV envelope protein toxicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 921: 109-114.
38. Gamo K., Kiryu-Seo S., Konishi H. i wsp.: G-protein-coupled receptor screen reveals a role for chemokine receptor CCR5 in suppressing microglial neurotoxicity. *J. Neurosci.* 2008; 28: 11980-11988.
39. Galasso J.M., Harrison J.K., Silverstein F.S.: Excitotoxic brain injury stimulates expression of the chemokine receptor CCR5 in neonatal rats. *Am. J. Pathol.* 1998; 153: 1631-1640.
40. Xia M., Hyman B.T.: GROalpha/KC, a chemokine receptor CXCR2 ligand, can be a potent trigger for neuronal ERK1/2 and PI-3 kinase pathways and for tau hyperphosphorylation-a role in Alzheimer's disease? *J. Neuroimmunol.* 2002; 122: 55-64.
41. Limatola C., Ciotti M.T., Mercanti D. i wsp.: The chemokine growth-related gene product beta protects rat cerebellar granule cells from apoptotic cell death through alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 6197-6201.
42. De Paola M., Buanne P., Biordi L. i wsp.: Chemokine MIP-2/CXCL2, acting on CXCR2, induces motor neuron death in primary cultures. *Neuroimmunomodulation* 2007; 14: 310-316.
43. Vallès A., Grijpink-Ongering L., de Bree F.M. i wsp.: Differential regulation of the CXCR2 chemokine network in rat brain trauma: implications for neuroimmune interactions and neuronal survival. *Neurobiol. Dis.* 2006; 22: 312-322.
44. Nagasawa T., Hirota S., Tachibana K. i wsp.: Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature* 1996; 382: 635-638.
45. Zou Y.R., Kottmann A.H., Kuroda M. i wsp.: Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 1998; 393: 595-599.
46. Aggoun-Zouaoui D., Charriaud-Marlangue C., Rivera S. i wsp.: The HIV-1 envelope protein gp120 induces neuronal apoptosis in hippocampal slices. *Neuroreport* 1996; 7: 433-436.
47. Ma Q., Jones D., Borghesani P.R. i wsp.: Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 9448-9453.
48. Bezzi P., Domercq M., Brambilla L. i wsp.: CXCR4-activated astrocyte glutamate release via TNFalpha: amplification by microglia triggers neurotoxicity. *Nat. Neurosci.* 2001; 4: 702-710.
49. Catani M.V., Corasaniti M.T., Navarra M. i wsp.: Gp120 induces cell death in human neuroblastoma cells through the CXCR4 and CCR5 chemokine receptors. *J. Neurochem.* 2000; 74: 2373-2379.
50. Khan M.Z., Brandimarti R., Shimizu S. i wsp.: The chemokine CXCL12 promotes survival of postmitotic neurons by regulating Rb protein. *Cell Death Differ.* 2008; 15: 1663-1672.
51. Vazin T., Becker K.G., Chen J. i wsp.: A novel combination of factors, termed SPIE, which promotes dopaminergic neuron differentiation from human embryonic stem cells. *PLoS One* 2009; 4: e6606.
52. Meucci O., Fatatis A., Simen A.A., Miller R.J.: Expression of CX3CR1 chemokine receptors on neurons and their role in neuronal survival. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 8075-8080.
53. Wang X., Ellison J.A., Siren A.L. i wsp.: Prolonged expression of interferon-inducible protein-10 in ischemic cortex after permanent occlusion of the middle cerebral artery in rat. *J. Neurochem.* 1998; 71: 1194-1204.