

Neurotrofinas I: Aspectos moleculares

A. Zazpe y J. Del Río

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra.

RESUMEN: Los factores neurotróficos son proteínas necesarias para la supervivencia y el desarrollo neuronal. Entre ellos cabe destacar la neurotrofina NGF (nerve growth factor), por haber sido aislada y caracterizada en primer lugar. Otras neurotrofinas relacionadas estructural y funcionalmente son el BDNF (brain-derived neurotrophic factor) y las neurotrofinas NT-3, NT-4/5 y NT-6. Las neurotrofinas se unen con alta afinidad a receptores transmembrana tirosina-quinasa específicos (trk), con capacidad intrínseca de fosforilación. Hasta el momento se han descrito tres subtipos de receptores, denominados trk A, trk B y trk C, que interaccionan de manera preferencial con NGF, BDNF y NT-3 respectivamente. Además, todas las neurotrofinas se unen a otro receptor de baja afinidad llamado p75. En general, las neurotrofinas se sintetizan y liberan en células diana, y tras su fijación a receptores localizados en las terminales nerviosas, son transportadas retrógradamente hasta el núcleo donde regulan la expresión de genes. Los estudios de delección génica han permitido una caracterización adicional del papel de las neurotrofinas en el desarrollo, observándose profundas alteraciones fenotípicas en ratones que no expresan alguno de los receptores trk.

SUMMARY: Neurotrophic factors are proteins necessary for neuronal development and survival. The first isolated and characterized neurotrophin was nerve growth factor (NGF). Other structurally related neurotrophins are brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the neurotrophins NT-3, NT-4/5 and NT-6. The neurotrophins bind to specific tyrosine-kinase (trk) receptors, which are transmembrane proteins with intrinsic phosphorylating activity. Three trk receptor subtypes are known at present, trk A, trk B and trk C, which preferentially bind NGF, BDNF and NT-3 respectively. All of the neurotrophins bind to another low-affinity receptor called p75. The neurotrophins are generally synthesized in target cells and, after receptor binding, are transported retrogradely from the nerve terminal to the nucleus where they regulate gene ex-

pression. The role of neurotrophins in development has been further characterized by means of gene disruption studies that show profound phenotype alterations in mice lacking any of the trk receptors.

(Rev Med Univ Navarra 1997; 41: 35-41).

Palabras clave

Neurotrofinas; NGF, BDNF, Receptor trk, Delección génica

Key words

Neurotrophins, NGF, BDNF, trk receptor, Gene targeting

Introducción

Los factores neurotróficos son sustancias presentes tanto a nivel del sistema nervioso central (SNC), como del sistema nervioso periférico (SNP), a las que se atribuye un papel crucial en el desarrollo, diferenciación y supervivencia neuronal. La concepción actual de los factores neurotróficos tiene su origen en el descubrimiento de la muerte neuronal que ocurre naturalmente durante el desarrollo del SNP de los vertebrados (Beck y col., 1993), así como en la identificación en 1954 por Rita Levi-Montalcini y colaboradores (Cohen y col., 1954) del prototipo de los factores tróficos: el factor de crecimiento nervioso (nerve growth factor: NGF). Dada la relativa facilidad con la que se pueden obtener cantidades importantes de este factor trófico purificado a partir de fuentes naturales (glándula salivar de ratón), se ha realizado una extensa caracterización de su estructura y acciones biológicas. En estudios realizados a partir de cultivos celulares, y más recientemente en estudios "in vivo", se ha puesto de manifiesto que el NGF es esencial en el desarrollo y mantenimiento de neuronas simpáticas, de distintas subpoblaciones de neuronas sensoriales y a nivel del SNC es necesario para las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal (Lindsay, 1994).

La restringida acción trófica del NGF sobre estas poblaciones neuronales específicas, motivó la búsqueda de nuevos factores con efectos a nivel de otros sistemas neuronales. En los últimos veinte años se han identificado y caracterizado numerosos factores neurotróficos como el factor neurotrófico cerebral (brain-derived neurotrophic factor: BDNF), el factor neurotrófico ciliar (ciliary neurotrophic factor: CNTF) ó el factor neurotrófico glial (glial cell line-derived neurotrophic factor: GDNF) entre varios otros. El clonaje del BDNF puso de manifiesto la estrecha relación estructural entre este polipéptido y el NGF, sugiriendo la existencia de una familia de factores neurotróficos a los que genéricamente se ha denominado neurotrofinas. Hasta la fecha se han descrito cinco miembros de esta familia que incluye los ya mencionados NGF, BDNF y los identificados posteriormente como neurotrofina 3 (NT-3), neurotrofina 4 (NT-4, también denominado NT-4/5) y el último miembro descubierto llamado neurotrofina 6 (NT-6).

Neurotrofinas

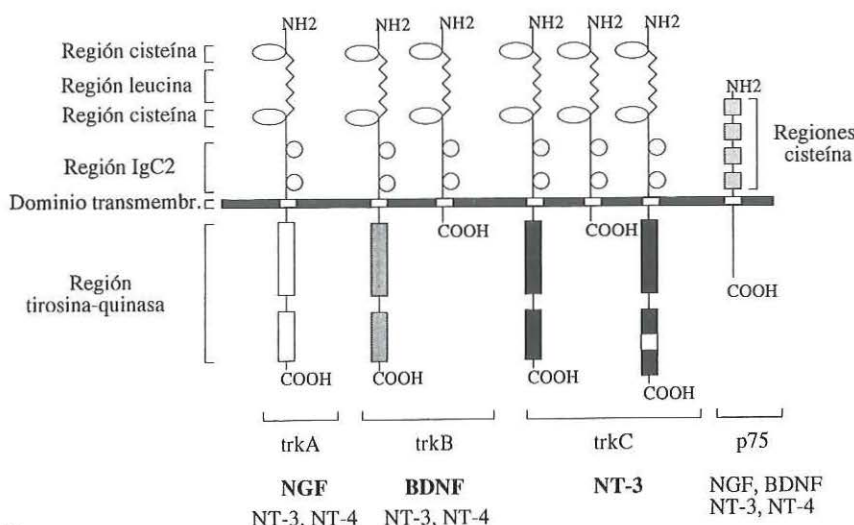
Son proteínas de carácter fuertemente básico (punto isoelectrico 9-10,5), con un tamaño molecular aproximado de 27 kD que les impide atravesar la barrera hematoencefálica. La proteína madura y activa biológicamente se origina a partir de precursores de gran lon-

gitud y actúa funcionalmente como un homodímero, aunque no se descarta que naturalmente pueda existir formando heterodímeros. Los tres puentes disulfuro originalmente identificados en la estructura del NGF se mantienen en todas las neurotrofinas, así como los seis residuos cisteína flanqueados por regiones de alta homología (Lindsay, 1994). Los distintos miembros que componen esta familia presentan una alta homología en la secuencia aminoacídica (en torno al 50-60%) y un alto grado de conservación entre especies.

Receptores de neurotrofinas

Las neurotrofinas ejercen sus efectos tróficos a través de receptores específicos de membrana, distinguiéndose receptores de alta y baja afinidad. Los receptores de alta afinidad ($K_d=10^{-11}M$), pertenecen a la familia de receptores transmembrana con actividad tirosina-quinasa y están codificados por miembros de una familia de genes denominados *trk*. Hasta el momento se han descrito tres tipos de receptores de alta afinidad llamados *trk A*, *trk B* y *trk C*, observándose que cada uno de estos receptores interactúa de manera preferencial con una neurotrofina: NGF, BDNF y NT-3 respectivamente. Los factores NT-3 y NT-4 muestran capacidad para unirse a los receptores *trk A* y *trk B*, aunque con menor afinidad que los ligandos prefe-

Fig. 1



Receptores de neurotrofinas.

Los receptores *trk* presentan varias regiones estructurales altamente conservadas. A nivel extracelular se distinguen tres regiones repetidas ricas en leucina, flanqueadas por dos regiones cisteína, y dos regiones tipo C2 de inmunoglobulina (IgC2). En el dominio citoplasmático del receptor está localizada la región catalítica tirosina-quinasa. Los genes *trk B* y *trk C* codifican isoformas carentes de la región catalítica y en el caso del receptor *trk C* existen isoformas que incluyen fragmentos de longitud variable en dicha región. El receptor *p75* posee extracelularmente cuatro regiones repetidas ricas en cisteína. Las neurotrofinas que interactúan preferentemente con cada receptor aparecen indicadas en neurita.

renciales de estos receptores (Chao, 1992). En cuanto a NT-6, por el momento se desconoce el receptor específico con el que interacciona.

El receptor de baja afinidad ($K_d=10^{-9}M$) denominado p75, pertenece a una familia de proteínas localizadas en la superficie celular que incluye dos receptores de factores de necrosis tumoral y diferentes antígenos celulares (Chao, 1992). Todas las neurotrofinas interactúan con este receptor aunque cada factor exhibe ligeras diferencias en su unión al receptor p75 (Rodríguez-Tebar y col., 1992).

Estructura

La estructura molecular de todos los receptores con actividad enzimática tirosina-quinasa está constituida por tres partes principales: un dominio extracelular conectado por un único dominio transmembrana a un dominio citoplasmático. La porción extracelular del receptor es la responsable de interactuar con el ligando y transmitir la señal biológica al dominio citoplasmático que provoca la activación de proteínas intracelulares que actúan como segundos mensajeros. A nivel citoplasmático también se localizan residuos tirosina, serina y treonina susceptibles de ser fosforilados y que constituyen secuencias reguladoras del receptor.

Los receptores trk (Figura 1) poseen una serie de regiones estructurales conservadas en sus dominios extracelulares y citoplasmáticos, que definen una nueva clase de receptores tirosina-quinasa (Chao, 1992). En concreto, se han descrito a nivel extracelular tres regiones repetidas ricas en leucina, probablemente implicadas en interacciones proteína-proteína y quizás en la dimerización del receptor, unidas a dos zonas con un alto contenido en cisteína. La posibilidad de que los receptores trk participen en interacciones proteína-proteína se ve incrementada por la presencia de dos regiones similares a los dominios C2 característicos de las inmunoglobulinas (IgC2) y semejantes a los encontrados en moléculas de adhesión celular. A nivel del dominio citoplasmático, la región catalítica tirosina-quinasa del receptor está fragmentada en dos porciones unidas por la inserción de una cadena de catorce aminoácidos. La corta longitud de la región carboxi-terminal (15 aminoácidos) supone también una diferencia adicional de los receptores trk respecto a otros receptores tirosina-quinasa (Chao, 1992).

Una característica llamativa de los genes trk es que codifican diferentes receptores como consecuencia del procesamiento alternativo de sus RNAs mensajeros;

existen por ejemplo dos formas de trk A, una de las cuales incluye un pequeño fragmento de 6 aminoácidos en el dominio extracelular codificado por un exón alternativo específico de neuronas. Los genes trk B y trk C codifican receptores completos y también otros que carecen de la región tirosina-quinasa, a los que se denomina formas truncadas del receptor. La ausencia de actividad enzimática les impide desencadenar la respuesta biológica tras la unión de la neurotrofina y hasta el momento se desconoce el papel fisiológico que pueden desempeñar estos receptores. Por último, en el caso de trk C existen formas que incluyen fragmentos de longitud variable en sus regiones catalíticas, lo que les confiere actividades biológicas diferentes. El procesamiento alternativo de los RNAs mensajeros de los receptores trk podría constituir un importante mecanismo para regular la respuesta celular a las neurotrofinas (Garner y Large, 1994).

En cuanto al receptor de baja afinidad p75, es una glicoproteína transmembrana que presenta a nivel extracelular cuatro regiones repetidas y cargadas negativamente, con un alto contenido en residuos cisteína. A nivel citoplasmático está constituido por una única región altamente conservada entre especies. Este receptor también presenta una forma truncada generada por una modificación postranscripcional (Barcker y col., 1991).

Distribución

a) Receptores trk

En consonancia con la restringida acción trófica del NGF, los receptores trk A aparecen localizados en unas pocas poblaciones neuronales tanto a nivel periférico como central (Holtzman y col., 1992). Por el contrario los RNA mensajeros de los receptores trk B y trk C presentan una amplia distribución (Klein y col., 1991a; Merlio y col., 1992), expresándose en numerosas poblaciones neuronales, con una densidad mucho más alta que la de los receptores trk A. La distribución de los receptores trk B y trk C se asemeja a la extensa distribución de las neurotrofinas que actúan más específicamente sobre ellos (Maisonpierre y col., 1990), lo que sugiere que las acciones inducidas por BDNF y NT-3 en el SNC deben ser mucho más variadas que las inducidas por NGF, teniendo en cuenta el mayor número de sistemas de neurotransmisión que podrían verse implicados.

Las formas truncadas de los receptores trk B y trk C muestran también unos niveles de expresión muy al-

tos en el SNC, pero a diferencia de los receptores de cadena completa localizados exclusivamente sobre elementos neuronales, las formas truncadas trk B aparecen predominantemente sobre células no neuronales: astrocitos, células endoteliales y plexo coroideo (Frisén y col., 1993). La alta expresión de estos receptores truncados ha sugerido varias interpretaciones acerca de su funcionalidad, puesto que como ya se ha comentado anteriormente la ausencia de la región catalítica les impide la activación de segundos mensajeros que desencadenen la respuesta trófica. Algunos autores plantean la posibilidad de que constituyan un mecanismo para modular la acción del BDNF y NT-3 tras liberarse desde sus lugares de síntesis (Frisén y col., 1993), o bien un mecanismo para restringir la distribución de estas neurotrofinas (Morse y col., 1993). Estudios "in vivo", realizados para valorar la capacidad de penetración de distintas neurotrofinas en el tejido cerebral, ponen de manifiesto una mayor capacidad de difusión del NGF con respecto al BDNF tras su infusión en un ventrículo lateral. Posiblemente esto se deba a la alta densidad de receptores trk B y sobre todo a los trk B truncados que se expresan en elementos no neuronales que tapizan el ventrículo lateral (Anderson y col., 1995). La expresión de estos receptores sobre astrocitos podría conducir a la inactivación del BDNF tras previa internalización y degradación de la neurotrofina, función análoga a la que desempeñan los sistemas específicos de recaptación de neurotransmisores (Lindsay y col., 1994).

b) Receptor p75

En lo que respecta al receptor de baja afinidad, presenta un patrón de distribución muy amplio, localizándose en numerosas poblaciones neuronales (Chao y Hempstead, 1995), algo esperado teniendo en cuenta su capacidad para interactuar con todas las neurotrofinas. Una observación interesante es que la mayoría de neuronas sensibles a la acción del NGF coexpresan los receptores trk A y p75, a diferencia de las células que expresan los receptores trk B o trk C (Miranda y col., 1993). También se ha descrito una localización independiente de receptores p75 y de las distintas isoformas de los receptores trk (Chao y Hempstead, 1995).

Dado que los niveles que alcanzan las neurotrofinas fisiológicamente son muy bajos, del orden subpicomolar (Meakin y Shooter, 1992), parece lógico pensar que las neuronas deben disponer de un sistema de alta afinidad para interactuar con estos factores y asegurar su supervivencia durante el desarrollo. Algunos auto-

res han señalado un papel muy importante del receptor p75 contribuyendo a la formación de estados de alta afinidad para el NGF (Meakin y Shooter, 1992; Mahadeo y col., 1994). La expresión del p75 induciría un cambio conformacional en el receptor trk A en ausencia del ligando, incrementando la afinidad de este receptor por el NGF. Otra posibilidad sugerida es que el receptor p75 se asociaría de manera rápida a la neurotrofina, incrementando localmente la concentración del ligando disponible para el receptor de alta afinidad (Chao y Hempstead, 1995). Sin embargo, existe bastante controversia al respecto, ya que para otros autores la interacción de alta afinidad del NGF con su receptor no requiere la participación del p75 (Klein y col., 1991b). Discrepancias similares aparecen reflejadas en la bibliografía al valorar en qué medida el receptor p75 participa en la señal biológica inducida por NGF (Ibañez y col., 1992; Baker y Shooter, 1994). Otras posibles funciones que se han descrito para el receptor de baja afinidad incluyen su participación en la internalización y posterior transporte retrógrado del NGF, el incremento de la capacidad discriminativa de los receptores trk por las distintas neurotrofinas, la inducción de la hidrólisis de esfingomielina o la participación en mecanismos apoptóticos (Chao y Hempstead, 1995).

Mecanismos de activación

Aunque existe controversia acerca de los componentes moleculares de los receptores de alta afinidad, los receptores trk son necesarios para desencadenar las diferentes respuestas celulares inducidas por las neurotrofinas. Tras la interacción del ligando con estos receptores se observa una inmediata dimerización de los mismos, que conduce a la autofosforilación de la región citoplasmática tirosina-quinasa en múltiples sitios. La activación del receptor se traduce en la creación de sitios de alta afinidad para diferentes sustratos intracelulares que actúan como segundos mensajeros. En el caso de los receptores trk A, estos sustratos de naturaleza proteica pueden tener intrínsecamente actividad catalítica (fosfolipasa C), o comportarse como moduladores de subunidades catalíticas de diferentes enzimas (péptido p85, modulador de la subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3'-quinasa). Todos ellos se caracterizan por contener en su secuencia un dominio de reconocimiento denominado SH2 que les permite interactuar con los sitios de alta afinidad generados tras la activación del receptor (Soltoff y col., 1992). En algunos trabajos se ha observado que la afinidad

que presentan estos sustratos por los diferentes receptores tirosina-quinasa es distinta, y además, también se ha observado la interacción simultánea de distintas proteínas intracelulares con un mismo receptor trk. Se ha sugerido que estos mecanismos podrían modular

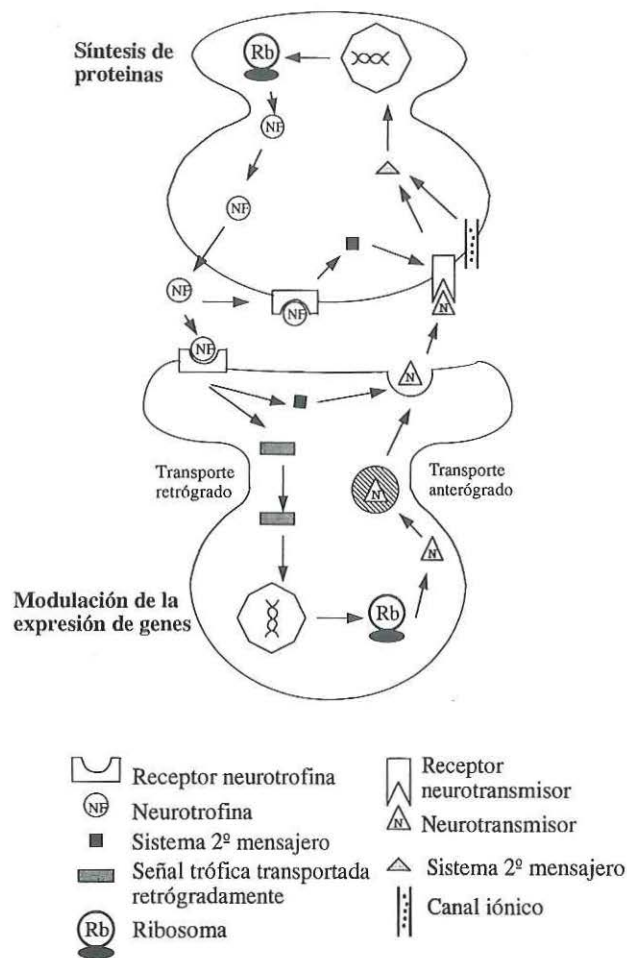
de alguna manera el tipo de respuesta biológica generada tras la interacción con las neurotrofinas (Obermeier y col., 1993).

Función paracrina/autocrina de las neurotrofinas

Basada fundamentalmente en la biología del NGF, existe la concepción clásica de que las neurotrofinas desempeñan su función trófica actuando como factores derivados de células diana (Figura 2). Según esta concepción, los factores neurotróficos son sintetizados y liberados en cantidades limitadas en regiones diana, y posteriormente captados a nivel sináptico por las aferentes neuronales que llegan a dichas regiones. Las neuronas que no realizan las conexiones adecuadas, no reciben el aporte necesario de factores tróficos y mueren de forma natural durante el desarrollo del sistema nervioso. De esta manera, se produce una selección natural de aquellas neuronas que establecen sinapsis funcionales con las regiones diana correctas (Ross y col., 1994). Aunque recientemente se han descrito efectos agudos de las neurotrofinas en la transmisión sináptica (Levine y col., 1995), sus acciones tróficas se asocian principalmente a efectos a largo plazo regulando la expresión de diferentes genes. Para ello, es necesario internalizar y transportar retrógradamente la señal trófica desde la terminal sináptica hasta el núcleo. Numerosos trabajos describen el transporte retrógrado de las neurotrofinas en diferentes poblaciones neuronales (DiStefano y col., 1992; Tuszynski y Gage, 1994). Estudios farmacológicos demuestran que en este transporte es imprescindible la fijación previa de las neurotrofinas a sus receptores (DiStefano y col., 1992), aunque por el momento se desconoce de forma más precisa cuáles pueden ser las moléculas que determinan en última instancia la señal trófica (Ross y col., 1994).

Mediante estudios de hibridación "in situ" se ha puesto de manifiesto la expresión de BDNF en neuronas sensibles a esta neurotrofina. Un caso particular son las neuronas sensoriales que integran los ganglios de la raíz dorsal, donde es difícil explicar una acción paracrina del BDNF puesto que estas neuronas no reciben aferentes (Lindsay, 1994). De forma análoga, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra de rata expresan receptores trk B y trk C y producen niveles relativamente altos de BDNF y NT-3. Sin embargo, los niveles de estas neurotrofinas son casi indetectables en el estriado de animales adultos. Estos resultados sugieren una acción trófica autocrina y podría

Fig. 2



Las neurotrofinas liberadas en regiones diana interactúan con receptores específicos de las aferencias neuronales. La señal trófica transportada retrógradamente hasta el núcleo, modula la expresión de genes implicados en procesos de crecimiento y supervivencia neuronal. Los neurotransmisores segregados por neuronas aferentes modulan la funcionalidad celular en las regiones diana. A nivel sináptico, las neurotrofinas regulan la liberación de neurotransmisores y la sensibilidad de receptores postsinápticos.

constituir un mecanismo de supervivencia neuronal tras la selección natural que ocurre durante el desarrollo (Lindsay y col., 1994)

Estudios de delección génica

El conocimiento del papel de las neurotrofinas en el desarrollo se ha ampliado considerablemente al haberse conseguido obtener mediante mutaciones génicas ratones que no expresen alguno de estos factores tróficos o los correspondientes receptores trk. Esta clase de estudios ha puesto de manifiesto, por ejemplo, la necesidad de NGF para la supervivencia de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal, lo que ya se había demostrado años atrás mediante anticuerpos específicos frente a NGF. En ratones que carecen de trk A, los déficits en distintas poblaciones neuronales son mucho más importantes que en los animales que carecen de NGF. La delección del gen para trk A produce una amplia pérdida de neuronas sensoriales y simpáticas así como de proyecciones colinérgicas desde el prosencéfalo basal a hipocampo y corteza y la supervivencia de los ratones raramente sobrepasa el mes de edad (Smeyne y col., 1994). En general, la delección de genes para los otros receptores trk produce también defectos más marcados que los encontrados en ausen-

cia de BDNF, NT-3 ó NT-4. Así, los ratones que carecen de trk B presentan una amplia pérdida neuronal en distintos ganglios sensoriales y en el núcleo motor del facial y mueren postnatalmente debido a su incapacidad para ingerir alimento, mientras que los animales deficientes en trk C muestran movimientos anormales muy llamativos que probablemente denotan una pérdida de la propiocepción debida a la pérdida de las aferencias musculares a las motoneuronas espinales (Barbacid, 1994). En cambio, los ratones deficientes en BDNF presentan un fenotipo mucho menos alterado que los que carecen de trk B, lo que parece indicar que el receptor trk B puede ser activado por otras neurotrofinas además del BDNF; incluso otros factores neurotróficos no relacionados tales como el GDNF, que es capaz de prevenir la degeneración de distintas poblaciones neuronales (Tomic y col., 1995), podría activar el receptor trk B. En ratones que carecen tanto de BDNF como de NT-4 hay una pérdida apreciable de neuronas sensoriales pero ni siquiera esta doble mutación afecta las motoneuronas (Conover y col., 1995; Liu y col., 1995). La ausencia de NT-3 también produce importantes déficits en neuronas sensoriales y simpáticas sin que se altere el desarrollo de las motoneuronas o del sistema nervioso entérico (Fariñas y col., 1994).

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson K.D., Alderson R.F., Altar C.A., Distefano P.S., Corcoran T.L., Lindsay R.M., Wiegand S.J. Differential distribution of exogenous BDNF, NGF and NT-3 in the brain corresponds to the relative abundance and distribution of high-affinity and low-affinity neurotrophin receptors. *J Comp Neurol* 357; (1995); 296-317.

2. Barbacid M. The trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol* 25; (1994); 1386-1403.

3. Barker P.A., Miller F.D., Large T.H., Murphy R.A. Generation of the truncated form of the NGF receptor by rat schwann cells: evidence for post-translational processing. *J Biol Chem* 266; (1991); 19113-19119.

4. Barker P.A., Shooter E.M. Disruption of NGF binding to the low affinity neurotrophin receptor p75^{LNRT} reduces NGF binding to trk A on PC12 cells. *Neuron* 13; (1994); 203-215.

5. Beck K.D., Knüssel B., Hefti F. The nature of the trophic action of brain-derived neurotrophic factor, des(1-3)-insulin-like growth factor-1, and basic fibroblast growth factor on mesencephalic dopaminergic neurons developing in culture. *Neuroscience* 52; (1993); 855-866.

6. Cohen S., Levi-Montalcini R., Hamburger V. A nerve-growth-stimulating factor isolated from snake venom. *Proc Natl Acad Sci USA* 40; (1954); 1014-1018.

7. Conover J.C., Erickson J.T., Katz D.M., Bianchi L.M., Poueymirou W.T., McClain J., Pan L., Helgren M., Ip N.Y., Boland P., Friedman B., Wiegand S., Vejsada R., Kato A.C., DeChiara T.M., Yancopoulos G.D. Neuronal deficits, not involving motor neurons, in mice lacking BDNF and/or NT4. *Nature* 375; (1995); 235-238.

8. Chao M.V. Neurotrophin receptors: a window into neuronal differentiation. *Neuron* 9; (1992); 583-593.

9. Chao M.V., Hempstead B.L. p75 and Trk: a two-receptor system. *Trends Neurosci* 8; (1995); 321-326.

10. Distefano P.S., Friedman B., Radziejewski C., Alexander C., Boland P., Schick C.M., Lindsay R.M., Wiegand S.J. The neurotrophins BDNF, NT-3 and NGF display distinct patterns of retrograde axonal transport in peripheral and central neurons. *Neuron* 8; (1992); 983-993.

11. Fariñas I., Jones K.R., Backus C., Wang X.-Y., Reichardt L.F. Severe sensory and sympathetic deficits in mice lacking neurotrophin-3. *Nature* 369; (1994); 658-661.

12. Frisén J., Verge V.M.K., Fried K., Risling M., Persson H., Trotter J., Hökfelt T., Lindholm D. Characterization of glial trk B receptors: differential response to injury in the central and peripheral nervous systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 90; (1993); 4971-4975.

13. Garner A., Large T.H. Isoforms of the avian TrkC receptor: a novel kinase insertion dissociates transformation and process outgrowth from survival. *Neuron* 13; (1994); 457-472.

14. Holtzman D.M., Li Y., Parada L.F., Kisman S., Chen C.K., Valletta J.S., Zhou J., Long J.B., Mobley W.C. p140trk mRNA marks NGF-responsive forebrain neurons: evidence that trk gene expression is induced by NGF. *Neuron* 9; (1992); 465-478.

15. Ibañez C.F., Ebendal T., Barbang G., Murray-Rust J., Blundell T.L., Persson H. Disruption of the low affinity receptor-binding site in NGF allows neuronal survival and differentiation by binding to the trk gene product. *Cell* 69; (1992); 329-341.

16. Klein R., Jing S., Nanduri V., O'Rourke E., Barbacid M. The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* 65; (1991b); 189-197.

17. Klein R., Nanduri V., Jing S., Lamballe F., Tapley P., Bryant S., Cordon-Cardo C., Jones K. R., Reichardt L. F., Barbacid M. The trk B tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *Cell* 66; (1991a); 395-403.

18. Levine E.S., Dreyfus C.F., Black J.B., Plummer M.R. Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances synaptic transmission in hippocampal neurons via postsynaptic tyrosine kinase receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 92; (1995); 8074-8077.

19. Lindsay R.M. Neurotrophins and receptors. *Progr Brain Res* 103; (1994); 3-14.

20. Lindsay R.M., Wiegand S.J., Altar

C.A., Distefano P.S. Neurotrophic factors: from molecule to man. *Trends Neurosci* 17; (1994); 182-190.

21. Liu X., Ernfors P., Wu H., Jaenisch R. Sensory but not motor neuron deficits in mice lacking NT4 and BDNF. *Nature* 375; (1995); 238-241.

22. Mahadeo D., Kapla L., Chao M.V., Hempstead B.L. High affinity nerve growth factor binding display a faster rate of association than p140trk binding. *J Biol Chem* 269; (1994); 6884-6891.

23. Maisonpierre P.C., Belluscio L., Friedman B., Alderson R.F., Wiegand S.I., Furth M.E., Lindsay R.M., Yancopoulos G.D. NT-3, BDNF and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron* 5; (1990); 501-509.

24. Meakim S.O., Shooter E.M. The nerve growth factor family of receptors. *Trends Neurosci* 15; (1992); 323-331.

25. Merlio J. P., Ernfors P., Jaber M., Persson H. Molecular cloning of the rat trk C and distribution of the cells expressing messenger RNAs for members of the trk family in the rat central nervous system. *Neuroscience* 51; (1992); 513-532.

26. Miranda R., Sohrabji F., Torand-Allerand C.D. Neural colocalization of mRNAs for neurotrophins and their receptors in the developing central nervous system suggests a potential for autocrine interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 90; (1993); 6439-6443.

27. Morse J.K., Wiegand S.J., Anderson K.A., Yon Y., Cai N. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) increases the survival of basal forebrain cholinergic neurons

following a fimbria-fornix transection. *J Neurosci* 13; (1993); 4146-4156.

28. Obermier A., Lammers R., Weismüller K.H., Jung G., Schlessinger J., Ullrich A. Identification of trk binding sites for SMC and phosphatidylinositol 3'kinase and formation of a multimeric signaling complex. *J Biol Chem* 268; (1993); 22963-22966.

29. Rodríguez-Tebar A., Dechant G., Barde Y.A. Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *EMBO J* 11; (1992); 917-922.

30. Ross A., Lachyankar M.B., Poluha D.K., Loy R. Axonal transport of the trkA high-affinity NGF receptor. *Progr Brain Res* 103; (1994); 15-21.

31. Smeyne R.J., Klein R., Schnapp A., Long L.K., Bryant S., Lewin A., Lira S.A., Barbacid M. Severe sensory and sympathetic neuropathies in mice carrying a disrupted Trk/NGF receptor gene. *Nature* 368; (1994); 246-249.

32. Soltoff S.P., Rabin S.L., Cantley L.C., Kaplan D.R. Nerve growth factor promotes the activation of phosphatidylinositol 3-kinase and its association with the trk tyrosine kinase. *J Biol Chem* 267; (1992); 17472-17477.

33. Tomac A., Lindqvist E., Lin L.-F. H., Ögren S.O., Young D., Hoffer B.J., Olson L. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo. *Nature* 373; (1995); 335-339.

34. Tuszynski M.H., Gage F.M. Neurotrophic factors and neuronal loss. *Alzheimer Disease* 103; (1994); 405-417.