

Factor neurotrófico derivado de la glía: una promesa terapéutica para la enfermedad de Parkinson

RESUMEN

El factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) es un potente factor trófico que promueve la supervivencia, el mantenimiento y la reparación de las neuronas dopaminérgicas (DA) en el sistema nervioso maduro. Estas propiedades han fundamentado la propuesta de aplicarlo en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP) dado que la causa de ésta es la degeneración progresiva de las neuronas DA de la *substantia nigra* que inervan al núcleo estriado y otras estructuras de los ganglios basales. Si bien el tratamiento farmacológico con L-DOPA y los trasplantes fetales de neuronas DA o células cromafines diferenciadas en cultivo, han sido de gran ayuda para controlar los síntomas incapacitantes de la enfermedad al incrementar los niveles del neurotransmisor en los blancos de inervación, dichos tratamientos no detienen la degeneración de las neuronas sobrevivientes. La búsqueda de factores tróficos que detengan la degeneración, aumenten la supervivencia y la capacidad funcional de las neuronas DA remanentes se ha convertido en una tarea primordial para la investigación moderna en el campo de las neurociencias.

Palabras clave: GDNF, dopamina, enfermedad de Parkinson.

Glial-derived neurotrophic factor: a therapeutic promise for Parkinson's disease

ABSTRACT

Glial derived neurotrophic factor (GDNF) constitutes a strong cellular trophic factor that promotes survival, maintenance and restoration of dopaminergic neurons in the mature central nervous system. These properties have supported the idea of co-administering GDNF and conventional pharmacological treatment of Parkinson's disease (PD), since the etiology of this pathology is characterized by the progressive loss of dopaminergic neurons that provide innervations to basal ganglia, affecting the control of motor functions. Although conventional treatment with L-DOPA and cellular transplants (fetal dopaminergic neurons or differentiated chromafin cells) have been helpful to increase the dopaminergic transmission and control disabling PD symptoms, these treatments have failed to stop the progressive cell degeneration. Consequently, current research efforts in neuroscience are aimed to find such trophic factors that help to stop the progressive cell destruction and facilitate the survival of dopaminergic neurons, as well as the increase of the functional activity of the remaining dopamine neurons.

Keywords: GDNF, Dopamine, Parkinson's disease.

Celia Piña Leyva¹
Manuel Lara Lozano²
Hayde Nallely Moreno Sandoval³
José Luis Merino García⁴
María del Rocío Thompson Bonilla⁵
Guillermina Rosas Sandoval⁶
Gabina Calderón Rosete⁷
Sergio Israel Rangel Guerrero Pasante⁸
Esmeralda Morán Mendoza Pasante⁹
Jorge Rodríguez Gallegos¹⁰
Juan Antonio González Barrios¹¹

⁵⁻⁶⁻¹¹ Doctor en Ciencias

¹⁻²⁻³⁻⁷ Maestro en Ciencias

⁴ Químico

⁸⁻⁹⁻¹⁰ Pasante de la carrera de Química

¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵⁻⁶⁻¹¹ Laboratorio de Medicina Genómica, Hospital Regional 1° de Octubre ISSSTE.

³ Laboratorio de Virología, Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Hospital de Pediatría, CMN SXXI.

⁷ Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina UNAM.

¹⁰ Facultad de Química, UNAM.

⁸⁻⁹ Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM.

Recibido: octubre 2013

Aceptado: enero 2014

Correspondencia

Dr. Juan Antonio González Barrios
Hospital Regional 1o de Octubre
Avenida IPN No. 1669
Colonia Magdalena de las Salinas
CP. 07760, México, D.F.
Tel: 01 (55) 51415300 Ext. 16605
jantgonzalez@issste.gob.mx

Este artículo debe citarse como

Piña Leyva C, Lara Lozano M, Moreno Sandoval HN, Merino García JL, Thompson Bonilla MR, Rosas Sandoval G. Factor neurotrófico derivado de la glía: una promesa terapéutica para la enfermedad de Parkinson. Rev Esp Med Quir 2014;19:88-95.

La enfermedad de Parkinson (EP) ocupa el segundo lugar entre las enfermedades neurodegenerativas¹ y afecta a un millón de americanos;² es una enfermedad crónica y progresiva para la cual, hasta el momento, no hay cura. La característica celular de esta enfermedad es la pérdida de neuronas dopaminérgicas (DA) nigroestriales¹ que provoca déficit motor caracterizado por temblor, bradicinesia y rigidez.² Por eso se han propuesto varias alternativas terapéuticas dirigidas al restablecimiento y protección de estas células y contrarrestar los síntomas de la EP. Varias investigaciones han mostrado que el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) es un potente factor de protección de las neuronas DA; es considerado como una buena promesa neuroprotectora en la EP.

Estructura del gen y la proteína del GDNF

El GDNF es un miembro distante de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). Fue encontrado por primera vez en el medio de cultivo de la línea celular B49 de rata³ y fue identificado como un polipéptido homodimérico de 211 aminoácidos (aa), altamente conservado (93% de homología entre el gen de la rata con el humano).³ En el ser humano el GDNF se encuentra en la región cromosómica 5p12-p13.1.⁴ La estructura del gen GDNF consta de 3 exones pequeños (20 pb, 178 pb y 498 pb) y 2 intrones de gran tamaño (4.8 kb y 8 kb) (Figura 1A).⁵ El segundo exón presenta un sitio de procesamiento (*splicing*) alternativo en su extremo 3' que origina los mensajeros para las 2 isoformas del GDNF.⁴ En el procesamiento alternativo se eliminan 78 pb comprendidas entre la Lys²⁶ y la Ser⁵¹ en la preproteína.⁵ El polipéptido activo resulta de la unión de dos monómeros idénticos de 134 aa cada uno.⁶ El homodímero sufre diferente grado de glucosilación que determina su peso molecular (40 a 45 kDa).⁷ El GDNF tiene un patrón conservado de cisteínas Cys⁶⁸-Cys¹³¹, Cys⁷²-Cys¹³³ y Cys⁴¹-Cys¹⁰² que participa

en la unión y conformación tridimensional del dímero.⁷ La estructura del monómero incluye dos regiones β -plegadas denominadas *dedos* y una cadena α -hélice (Figura 1B). La región β -plegada participa en la unión al receptor GFR α 1, por lo que es esencial para la acción biológica del GDNF. La región aminoacídica 76-91 de la α -hélice es fundamental para su actividad neurotrófica. Los últimos 17 aa del extremo carboxi terminal intervienen en la estabilidad estructural del GDNF.⁷

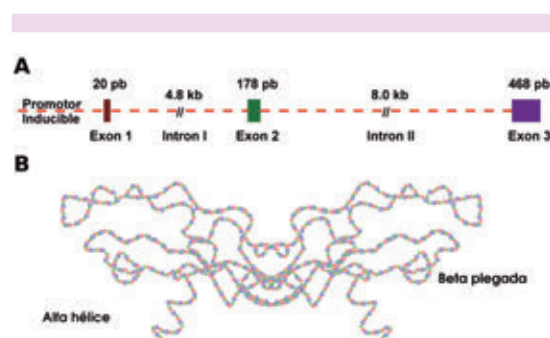


Figura 1. A) Representación esquemática de la estructura del gen que codifica para el factor neurotrófico derivado de la glía. **B)** Representación esquemática del dímero de GDNF.

Ligandos de la familia del GDNF (GFLs) y sus receptores (GFR α)

La familia de ligandos asociados al GDNF (GFLs) tiene 4 miembros: 1) el GDNF, neurturina (NRTN), artemina (ARTN) y persepina (PSPN) (Figura 2). Los GFLs son sintetizados como precursores (preproGFL), a los que se remueve posteriormente la secuencia señal durante el proceso de secreción.⁸ Se ha demostrado que los GFLs tienen actividad biológica por diferentes mecanismos de acción; por ejemplo, el ProNGF es reconocido por el receptor p75 que desencadena apoptosis en neuronas *in vitro* y al receptor TrkA que activa a las vías de diferenciación y supervivencia celular.⁹

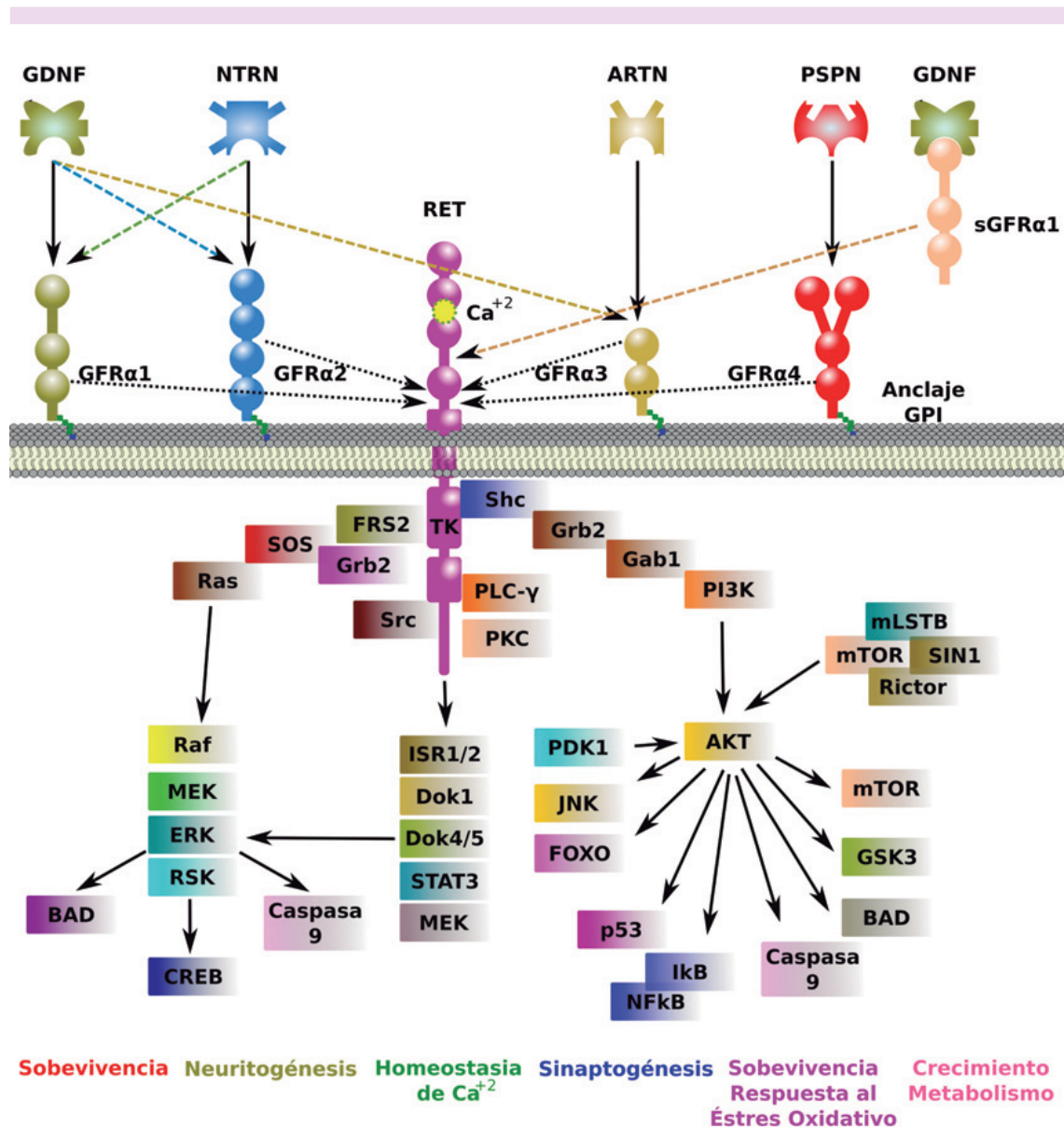


Figura 2. Miembros que conforman la familia de ligandos del factor neurotrófico derivado de la glía (GFLs) y sus receptores. Los receptores de GFLs son proteínas ancladas a la membrana por un GPI, que requieren de la presencia de calcio unido a RET para que se forme el complejo GFL-GFR α -RET. Los GFLs interactúan de forma cruzada con más de uno de los receptores GFR α y posteriormente activan al dominio tirosina cinasa del receptor RET. **GFL:** familia ligada a GDNF. **GDNF:** factor neurotrófico derivado de la glía, **NRTN:** neurturina, **ARTN:** artemina, **PSPN:** persepina, **GFR α 1:** familia de receptores GDNF alfa 1. **GFR α 2:** familia de receptores GDNF alfa 2 **GFR α 3:** familia de receptores GDNF alfa 3, **GFR α 4:** familia de receptores GDNF alfa 4, **RET:** del inglés "Rearranged during transfection", **TK:** tirosina cinasa. (Piña).

El GDNF ejerce sus efectos biológicos a través de la unión y activación al receptor GFR α 1, aunque también puede unirse con menor afinidad a los receptores GFR α 2 y GFR α 3, cuyos ligandos naturales son la NRTN^{10,11} y la ARTN,¹² respectivamente (Figura 2), la PSPN no activa a los GFR α en mamíferos pero se une al GFR α 4 en el pollo.¹³ Se ha demostrado interacción cruzada de baja afinidad entre NRTN-GFR α 1, ARTN-GFR α 1 y GDNF-GFR α 2 (Figura 2). Para el caso del GFR α 1 se han descrito dos sitios de unión del GDNF, uno de alta afinidad ($K_d = 2.3$ pM) que determina la interacción con RET por lo que pertenece a la familia de los receptores Trk, y dos sitios de baja afinidad ($K_d = 170$ pM) que favorecen la interacción con el receptor de la familia p75.¹⁴ Los genes que codifican para los receptores GFR α 1, GFR α 2, GFR α 3 y para GFR α 4 en humanos, han sido localizados en la posición cromosómica 10q24-10q26,¹⁵ 8q21,¹⁶ 5q31.1-5q31.3¹⁷ y 20q31.1-20q31.3,¹⁸ respectivamente. Se han caracterizado dos isoformas de GFR α 1, una de ellas se encuentra anclada a la membrana celular mediante un glicosil-fosfatidilinositol (GPI) mientras que la otra isoforma es soluble. La presencia de las dos isoformas en la misma célula dio origen a las hipótesis de activación en *cis* y en *trans*¹⁸ (Figura 3).

Mecanismo de acción del GDNF

La unión de GDNF a GFR α 1 induce la formación del complejo GDNF-GFR α 1-RET que señala a través de dos vías intracelulares que conducen a la supervivencia y a la diferenciación de las neuronas DA.¹⁸ La formación del complejo promueve la unión de la proteína adaptadora SHC al residuo tirosina 1062 de RET¹⁹ y enseguida inician 2 vías de señalización intracelular: por un lado la proteína GRB2 sigue la vía de Ras (activación en *cis*)²⁰ y en la segunda vía la proteína GAB1/2 sigue la vía de PI3-K (activación en *trans*)¹⁸ (Figura 3). GAB1/2 se une a la subunidad p85 de PI3-K que favorece la unión de su otra subunidad, la p110, lo

cual es esencial para la fosforilación de AKT para que se active NF κ B y se lleve a cabo la expresión de los genes que favorecen la supervivencia y la proliferación, otros investigadores han mostrado que PI3-K estimula la neuritogénesis a través de RAC.²⁰ SCH también asocia al complejo GRB2-SOS para producir, por la vía de señalización Ras/Erk, la fosforilación de CREB.²¹ La forma activa de CREB regula la actividad de ELK-1 a través de ERKs²⁶ para que se lleve a cabo la expresión de los genes que favorecen la supervivencia y la proliferación. La activación de la vía Ras/Erk es necesaria para el crecimiento y diferenciación de las neuronas DA inducidos por GDNF y es de suma importancia para promover supervivencia en esas neuronas durante la vida adulta del individuo. Se ha descrito también que a partir de SHC se activen JNK²² y p38MAPK para inducir crecimiento celular.¹⁹

Expresión del GDNF en el cerebro

La teoría neurotrófica postula que un factor de supervivencia neuronal debe de ser producido y liberado por la célula blanco de innervación, activar a su receptor en la terminal nerviosa e inducir señales de transducción que dan como resultado la supervivencia neuronal y ser internalizado, además de ser transportado de forma retrograda hacia el soma celular.²³ El GDNF cumple con todos los requisitos para ser un factor trófico de supervivencia; por ejemplo, es producido por las células gliales del núcleo estriado, blanco de la innervación de las neuronas DA de la *substantia nigra*, activa a sus receptores en el soma y terminales de las neuronas DA;¹⁸ se ha descrito el transporte retrogrado por endocitosis mediada por GFR α 1, éste mecanismo está involucrado en el efecto neuroprotector y de supervivencia celular en las neuronas DA²⁴ y en las motoneuronas espinales.²⁵

El GDNF también fue aislado de astrocitos tipo 1 (astrocitos fibrosos) del mesencéfalo de embri-

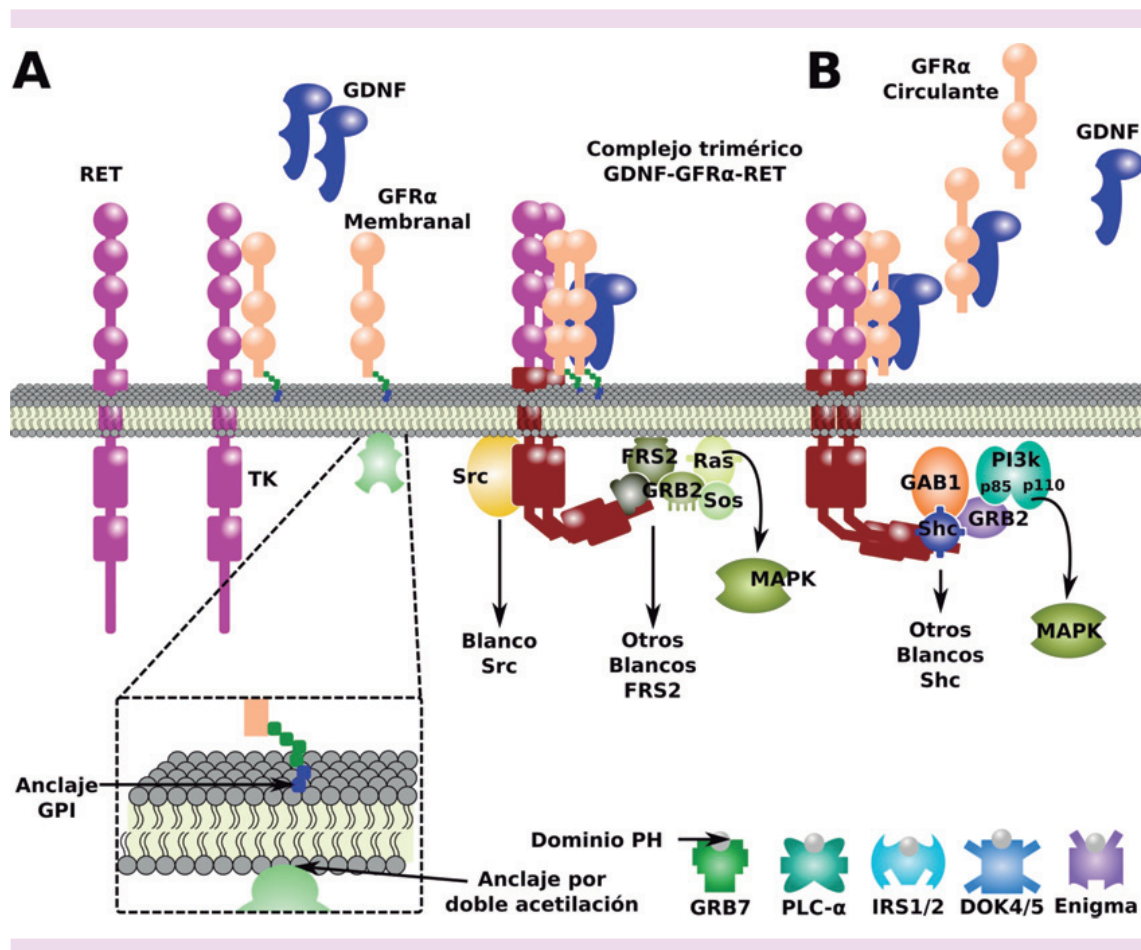


Figura 3. Representación esquemática de la señalización de GFRα1 activado en **A) cis** y **B) trans** por GFLs. Los GFLs activan receptores GFRα anclados a la membrana celular (**A**) o solubles (**B**) generando múltiples vías de señalización intracelular. Ambas vías desencadenan la activación de genes tempranos de diferenciación y crecimiento celular. **RET**: del inglés "Rearranged during transfection", **GFL**: familia ligada a GDNF, **GFRα**: Familia de receptores GDNF alfa, **TK**: tirosina cinasa (Piña).

nes de rata de 16 días y de astrocitos del cuerpo estriado y de la *substantia nigra* en el primer día posnatal, lo que sugiere que el GDNF juega un papel neurotrófico en las neuronas DA. El GDNF también es expresado por las células gliales del globo pálido, del tálamo, de la materia blanca subependimal, del cuerpo calloso, de la corteza cerebral y del hipocampo. Otros tipos celulares diferentes a la glía donde se ha demostrado la expresión de GDNF en el SNC son: las células

ependimales del ventrículo lateral, tanacitos del tercer ventrículo, células del compartimiento subaracnoideo y células piales. Se ha demostrado que hay poblaciones neuronales que pueden expresar GDNF durante los estadios iniciales de la vida posnatal. Estas neuronas se localizan en la quinta capa de la corteza parietal, en la corteza piriforme, en el núcleo talámico dorsolateral, en el núcleo hipotalámico paraventricular y en el núcleo estriado.²⁶

Funciones tróficas y sinápticas del GDNF

El GDNF favorece la supervivencia de las neuronas DA y de las células diana de su innervación.²⁷ Se ha demostrado que la administración de la proteína GDNF recombinante humana produce efectos similares a la proteína nativa; es decir, incrementa la supervivencia de las neuronas tirosina-hidroxilasa inmunorreactivas (TH-IR), estimula el crecimiento de las neuritas y promueve la liberación y captación de DA.²⁸ La inyección de GDNF en la *substantia nigra* o en el estriado protege a las neuronas dopaminérgicas de los efectos tóxicos del MPTP, sugiriendo su posible utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.²⁴ También se ha reportado clínicamente que en la administración intraputamina crónica de GDNF persisten sus efectos benéficos 3 años después del cese de la infusión en pacientes con enfermedad de Parkinson.²⁹ Otros investigadores han propuesto la terapia génica como tratamiento de la EP, estas estrategias terapéuticas involucran el uso de vectores que permitan la liberación de la proteína GDNF en el SNC. Se han utilizado primates no humanos para administrarles en el talamo un vector viral (AAV2) que codifica a la proteína GDNF, la evaluación del seguimiento de expresión GDNF fue echo a través de IRM acoplada a un agente de contraste llamado gadoteridol para evaluar la distribución precisa de AAV2-GDNF por largos periodos de tiempo.³⁰

Investigaciones recientes han demostrado que la liberación de otros factores neurotróficos como NRTN proveen una recuperación estructural y funcional en modelos de roedores o primates no humanos con EP. La neurturina es neuroprotectora y neurorregeneradora sobre las neuronas dopaminérgicas pero su uso como tratamiento ha sido limitado por su liberación en el cerebro. Herzon y sus colaboradores, en 2009, estudiaron la expresión a largo plazo, la actividad biológica, la seguridad y la tolerabilidad de CERE-120 de NTN, mediante la utilización de un vector viral tipo 2 asociado con adenosina (AAV2) que

codifica para NTN humana, inyectado en el estriado de macacos Rhesus.³¹ Se han reportado otras investigaciones enfocadas en el tratamiento de la EP en las que se propone la utilización de productos herbolarios que contienen moléculas que inducen el incremento de factores tróficos como el GDNF. Se ha demostrado que el uso de pulichalconoid B, presente en las plantas *Pulicaria incisa*³² y *Salvia miltiorrhiza*,³³ causa el incremento transcripcional de GDNF en cultivos de astrocitos y en la materia gris de ratas.

En modelos animales de hemiparkinsonismo se ha demostrado que la transfección del GDNF mediado por endocitosis, por el receptor de neurotensina, aumenta la transcripción y traducción temporal del GDNF en las neuronas DA (Figura 4); es capaz de inducir neuroprotección y reinervación dopaminérgica del núcleo estriado disminuyendo en su totalidad los síntomas hemiparkinsonianos.^{34,35}

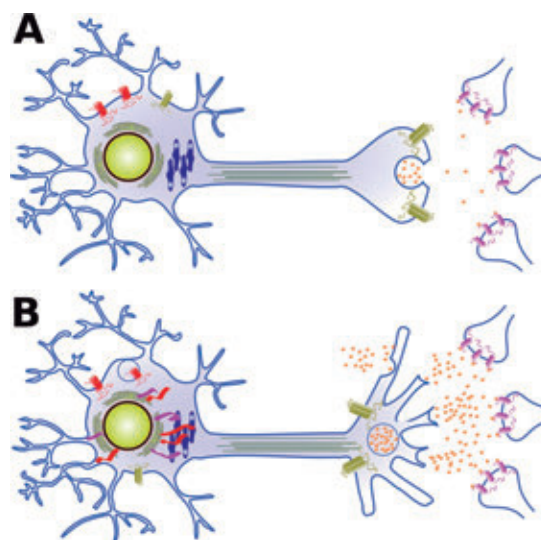


Figura 4. Representación esquemática del efecto terapéutico del GDNF. En la enfermedad de Parkinson hay pérdida de neuronas dopaminérgicas del núcleo estriado (A) y de sus conexiones sinápticas en los ganglios basales, las cuales son reinstauradas por la transfección del GDNF en las neuronas dopaminérgicas de la *substantia nigra pars compacta* (B).

En modelos animales de lesión en motoneuronas espinales y del nervio facial se ha demostrado la capacidad del GDNF para bloquear los mecanismos que conducen a la muerte apoptótica y los mecanismos involucrados en la degeneración walleriana.²⁵ Recientemente se ha demostrado que la liberación de GDNF encapsulado en microesferas, inyectado en la médula espinal de ratas lesionadas con laminectomía en T9-103,⁴ y en ratas con lesión nigroestriatal con 6-HDA,³⁶ mejora la plasticidad y favorece la recuperación celular.

EL GDNF tiene otras funciones como promotor del crecimiento neurítico, como orientador de la innervación dopaminérgica hacia las áreas blanco y participa en la actividad neuronal dependiente de la plasticidad sináptica.³⁷ Estudios realizados mediante la estimulación de las neuronas DA mesencefálicas con GDNF mostraron incremento en la liberación de su neurotransmisor.³⁸ Además, se ha demostrado que el GDNF potencia el influjo de Ca^{2+} a través de los canales tipo HVA,³⁹ es el mecanismo por el cual el GDNF incrementa la liberación de DA. En forma aguda, el GDNF modula los canales de K^+ tipo A.⁴⁰

CONCLUSIONES

Varios estudios han documentado que el GDNF y los GFLs tienen funciones tróficas sobre las neuronas dopaminérgicas. Estudios *in vitro* o *in vivo* con modelos animales parkinsonianos, en donde se han administrado GDNF y GFLs, han demostrado una mejora en la recuperación de las neuronas dopaminérgicas. Por lo tanto, representan una alternativa terapéutica para contrarrestar los efectos neurodegenerativos que se presentan en la EP. Sin embargo, hacen falta más estudios clínicos que demuestren los beneficios, la eficiencia y la seguridad de la administración de GDNF y GFLs. Con todo esto varios investigadores continúan desarrollando investigaciones para evaluar la efectividad de la terapia con GDNF y con GFLs.

REFERENCIAS

1. Li L, chen H, chen F, li F, wang M, wang L, li Y, Gao D. Effects of glial cell line-Derived neurotrophic factor on microrna expression in A 6-Hydroxydopamine-Injured dopaminergic cell line. *J Neural Transm* 2013.
2. Kordower Jh, Bjorklund A. Trophic factor gene Therapy for parkinson's Disease. *Mov Disord* 2013;28:96-109.
3. Lin Lf, Zhang Tj, Collins F, Armes Lg. Purification And Initial Characterization Of Rat B49 Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *J Neurochem* 1994;63:758-68.
4. Schindelhauer D, Schuffenhauer S, Gasser T, Steinkasserer A, Meitinger T. The Gene Coding For Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor (GDNF) Maps To Chromosome 5p12-P13.1. *Genomics* 1995;28:605-7.
5. Grimm L, Holinski-Feder E, Teodoridis J, Scheffer B, Schindelhauer D, Meitinger T, Ueffing M. Analysis Of The Human Gdnf Gene Reveals An Inducible Promoter, Three Exons, A Triplet Repeat Within The 3'-Utr And Alternative Splice Products. *Hum Mol Genet* 1998;7:1873-86.
6. Hui Jo, Woo G, Chow Dt, Katta V, Osslund T, Haniu M. The Intermolecular Disulfide Bridge Of Human Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor: Its Selective Reduction And Biological Activity Of The Modified Protein. *J Protein Chem* 1999;18:585-93.
7. Haniu M, Hui J, Young Y, Le J, Katta V, Lee R, et al. Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor: Selective Reduction Of The Intermolecular Disulfide Linkage And Characterization Of Its Disulfide Structure. *Biochemistry* 1996;35:16799-805.
8. Airaksinen Ms, Saarma M. The Gdnf Family: Signalling, Biological Functions And Therapeutic Value. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:383-94.
9. Fahnstock M, Yu G, Michalski B, Mathew S, Colquhoun A, Ross Gm, Coughlin Md. The Nerve Growth Factor Precursor Prongf Exhibits Neurotrophic Activity But Is Less Active Than Mature Nerve Growth Factor. *J Neurochem* 2004;89:581-92.
10. Jing S, Wen D, Yu Y, Holst Pl, Luo Y, Fang M, et al. Gdnf-Induced Activation Of The Ret Protein Tyrosine Kinase Is Mediated By Gdnfr-Alpha, A Novel Receptor For Gdnf. *Cell* 1996;85(7):1113-24.
11. Jing S, Yu Y, Fang M, Hu Z, Holst Pl, Boone T, et al. Gfralpha-2 And Gfralpha-3 Are Two New Receptors For Ligands Of The Gdnf Family. *J Biol Chem* 1997;272(52):33111-7.
12. Klein Rd, Sherman D, Ho Wh, Stone D, Bennett Gl, Moffat B, et al. A Gpi-Linked Protein That Interacts With Ret To Form A Candidate Neurturin Receptor. *Nature* 1997;387:717-21.
13. Masure S, Cik M, Hoefnagel E, Nosrat Ca, Van Der Linden I, Scott R, et al. Mammalian Gfralpha-4, A Divergent Member Of The Gfralpha Family Of Coreceptors For Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Family Ligands, Is A Receptor For The Neurotrophic Factor Persephin. *J Biol Chem* 2000;275:39427-34.

14. Wang X. Structural Studies Of gdnf Family ligands With Their receptors-Insights Into Ligand Recognition And Activation Of Receptor Tyrosine Kinase Ret. *Biochim Biophys Acta* 2013;1834:2205-12.
15. Angrist M, Jing S, Bolk S, Bentley K, Nallasamy S, Halushka M, et al. Human Gfra1: Cloning, Mapping, Genomic Structure, And Evaluation As A Candidate Gene For Hirschsprung Disease Susceptibility. *Genomics* 1998;48:354-62.
16. Vanhorne Jb, Gimm O, Myers Sm, Kaushik A, Von Deimling A, Eng C, Mulligan Lm. Cloning And Characterization Of The Human Gfra2 Locus And Investigation Of The Gene In Hirschsprung Disease. *Hum Genet* 2001;108:409-15.
17. Nomoto S, Ito S, Yang Lx, Kiuchi K. Molecular Cloning And Expression Analysis Of Gfr Alpha-3, A Novel Cdna Related To Gdnfr Alpha And Ntnr Alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;244:849-53.
18. Kholodilov N, Kim Sr, Yarygina O, Kareva T, Cho JW, Baohan A, Burke Re. Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor receptor A1 expressed in striatum in trans regulates development and injury response of dopamine Neurons of The substantia Nigra. *J Neurochem* 2011;116:486-98.
19. Hayashi H, Ichihara M, Iwashita T, Murakami H, Shimono Y, et al. Characterization Of Intracellular Signals Via Tyrosine 1062 In Ret Activated By Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Oncogene* 2000;19:4469-75.
20. Fukuda T, Kiuchi K, Takahashi M. Novel Mechanism Of Regulation Of Rac Activity And Lamellipodia Formation By Ret Tyrosine Kinase. *J Biol Chem* 2002;277:19114-21.
21. Trupp M, Scott R, Whittemore Sr, Ibanez Cf. Ret-Dependent And -independent Mechanisms Of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Signaling In Neuronal Cells. *J Biol Chem* 1999;274:20885-94.
22. Chiariello M, Visconti R, Carlomagno F, Melillo RM, Bucci C, de Franciscis V, et al. Signalling of the Ret receptor tyrosine kinase through the c-Jun NH2-terminal protein kinases (JNKs): evidence for a divergence of the ERKs and JNKs pathways induced by Ret. *Oncogene* 1998;16:2435-45.
23. Von Bartheld Cs, Wang X, Butowt R. Anterograde Axonal Transport, Transcytosis, And Recycling Of Neurotrophic Factors: The Concept Of Trophic Currencies In Neural Networks. *Mol Neurobiol* 2001;24:1-28.
24. Tomac A, Lindqvist E, Lin Lf, Ogren So, Young D, Hoffer Bj, Olson L. Protection And Repair Of The Nigrostriatal Dopaminergic System By Gdnf In Vivo. *Nature* 1995;373:335-9.
25. Henderson Ce, Phillips Hs, Pollock Ra, Davies Am, Lemeulle C, Armanini M, et al. Gdnf: A Potent Survival Factor For Motoneurons Present In Peripheral Nerve And Muscle. *Science* 1994;266:1062-4.
26. Choi-Lundberg Dl, Bohn Mc. Ontogeny And Distribution Of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) Mrna In Rat. *Brain Res Dev Brain Res* 1995;85:80-8.
27. Schaar Dg, Sieber Ba, Dreyfus Cf, Black Ib. Regional And Cell-Specific Expression Of Gdnf In Rat Brain. *Exp Neurol* 1993;124:368-71.
28. Hoane Mr, Gulwadi Ag, Morrison S, Hovanesian G, Lindner Md, Tao W. Differential In Vivo Effects Of Neurturin And Glial Cell-Line-Derived Neurotrophic Factor. *Exp Neurol* 1999;160:235-43.
29. Patel Nk, Pavese N, Javed S, Hotton Gr, Brooks Dj, Gill Ss. Benefits Of Putaminal gdnf infusion In Parkinson Disease Are Maintained After gdnf Cessation. *Neurology* 2013;24:1176-8.
30. Su X, Kells Ap, Dalegio Ea, Richardson Rm, Hadaczek P, Beyer J, et al. Real-Time Mr Imaging With Gadoteridol Predicts Distribution Of Transgenes After Convection-Enhanced Delivery Of Aav2 Vectors. *Mol Ther* 2010;18:1490-5.
31. Herzog Cd, Brown L, Gammon D, Kruegel B, Lin R, Wilson A, et al. Expression, Bioactivity, And Safety 1 Year After Adeno-Associated Viral Vector Type 2-Mediated Delivery Of Neurturin To The Monkey Nigrostriatal System Support Cere-120 For Parkinson's Disease. *Neurosurgery* 2009;64:602-12.
32. Elmann A, Telerman A, Erlank H, Mordechai S, Rindner M, Ofir R, Kashman Y. Protective And Antioxidant Effects Of A Chalconoid From *Pulicaria incisa* On Brain Astrocytes. *Oxid Med cell longev* 2013;2013:1-10.
33. Wei L, Zhang L. Effects Of Danshen Injection On glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor mrna Of Acute Spinal Cord Injury Rats And Its Mechanisms. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 2013;33:933-937.
34. Gonzalez-Barrios JA, Lindahl M, Bannon MJ, Anaya-Martínez V, Flores G, Navarro-Quiroga I, et al. Neurtensin polyplex as an efficient carrier for delivering the human GDNF gene into nigral dopamine neurons of hemiparkinsonian rats. *Mol Ther* 2006;14:857-65.
35. Martinez-Fong D, Bannon MJ, Trudeau LE, Gonzalez-Barrios JA, Arango-Rodríguez ML, Hernandez-Chan NG, et al. NTS-Polyplex: a potential nanocarrier for neurotrophic therapy of Parkinson's disease. *Nanomedicine* 2012;8:1052-69.
36. Ansorena E, De Berdt P, Ucar B, Simón-Yarza T, Jacobs D, Schakman O, et al. Injectable Alginate Hydrogel Loaded With gdnf promotes Functional Recovery In A Hemisection Model Of Spinal Cord Injury. *Int J Pharm* 2013;15:148-58.
37. Herrán E, Ruiz-Ortega Ja, Aristieta A, Igartua M, Requejo C, Lafuente Jv, et al. In vivo administration of vegf- And gdnf Releasing biodegradable polymeric microspheres in A severe lesion model of parkinson's disease. *Eur J Pharm Biopharm* 2013;2013:1-8.
38. Poo, M. M. Neurotrophins As Synaptic Modulators. *Nature Rev. Neurosci* 2001;2:24-32.
39. Wang J, Chen G, Lu B, Wu Cp. Gdnf Acutely Potentiates Ca(2+) Channels And Excitatory Synaptic Transmission In Midbrain Dopaminergic Neurons. *Neurosignals* 2003;12:78-88.
40. Yang F, Feng L, Zheng F, Johnson Sw, Du J, Shen L, et al. Gdnf Acutely Modulates Excitability And A-Type K(+) Channels In Midbrain Dopaminergic Neurons. *Nat Neurosci* 2014:1071-8.