

W PŁYW PRODUKTÓW ROZPADU ELASTYNY NA KOMÓRKI UKŁADU NERWOWEGO

Effect of elastin derived peptides on cells of the nervous system

Konrad Szychowski, Bartosz Skóra (Rzeszów)

Streszczenie

Elastyna jest jednym z głównych białek odpowiedzialnych za sprężystość tkanek i tworzących macierz zewnątrzkomórkową. Dodatkowo elastyna wraz z innymi białkami, np. lamininą, tworzy zrąb dla komórek układu nerwowego. Podczas fizjologicznego procesu starzenia oraz różnych procesów patologicznych w organizmie człowieka pojawiają się peptydy będące efektem rozpadu elastyny. Najczęściej występującym produktem degradacji elastyny jest powstanie heksapeptydu o sekwencji Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG). Liczne badania wykazały, że peptyd VGVAPG poprzez pobudzenie swoistego receptora wykazuje działanie biologiczne w różnych typach komórek, tkanek i całych organizmach. Mimo, że obecność produktów rozpadu elastyny w układzie nerwowym wykazano już w 2008 roku, badania dotyczące ich roli są nieliczne. Niniejsza praca podsumowuje aktualny stan wiedzy na ten temat.

Abstract

Elastin is one of the main proteins responsible for the elasticity of tissues and forming the extracellular matrix. In the brain, elastin forms the framework for cells in the nervous system, along with other proteins, such as laminin. During the physiological aging process and various pathological processes, elastin-derived peptides appear in the human body as a result of elastin degradation. The most common product of elastin degradation is a hexapeptide with the sequence Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG). Currently, numerous studies have shown that, by stimulating a specific receptor, the VGVAPG peptide exhibits biological activity in various types of cells, tissues and whole organisms. Although the presence of elastin degradation products in the nervous system was demonstrated as early as in 2008, studies on the role of the VGVAPG peptide and elastin degradation products in the nervous system are scarce. This paper summarizes the current state of knowledge regarding the role of peptides resulting from elastin breakdown in the nervous system.

Wprowadzenie

Elastyna jest jednym z głównych białek odpowiedzialnych za sprężystość tkanek i tworzących macierz zewnątrzkomórkową (ECM, ang. *extracellular matrix*). W mózgu elastyna wraz z innymi cząsteczkami – glikoaminoglikanami, mieliną, kolagenami typu I, III, IV oraz lamininą tworzy zrąb (*łac. stroma*) dla komórek. ECM (tworzona przez komórki mózgu) jest środowiskiem, w którym występują różne populacje

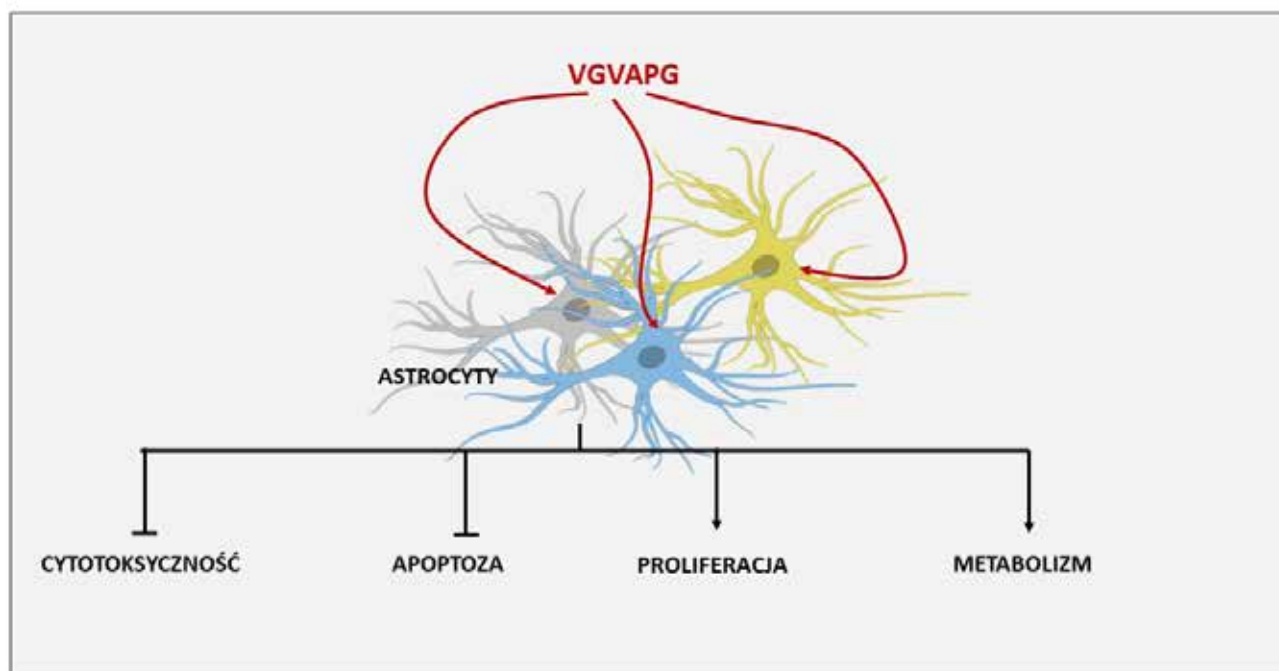
komórek układu nerwowego: neurony i komórki makrogleju (astrocyty i oligodendrocyty) pochodzące z ektodermy oraz komórki mikrogleju pochodzenia mezodermalnego. Neurony z powodu swojego istotnego znaczenia w aktywności bioelektrycznej mózgu oraz wrażliwości na czynniki szkodliwe są w istotnym stopniu zależne od różnych populacji komórek makrogleju. Zadaniem komórek makrogleju jest zaopatrywanie neuronów w substancje odżywcze (i inne niezbędne do ich metabolizmu) oraz usuwa-

nie produktów przemiany materii, a w przypadku ich uszkodzenia – naprawa. Dotychczas liczne badania wykazały obecność peptydów powstałych w wyniku enzymatycznej degradacji elastyny (EDPs, ang. *elastin-derived peptides*) w układzie nerwowym. EDPs są wykrywane w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF, ang. *cerebrospinal fluid*) zarówno u zdrowych ludzi, jak i u pacjentów po udarze krwotocznym oraz niedokrwiennym [12]. Co więcej, stężenie EDPs w CSF rośnie wraz z wiekiem badanych osób [22].

Heksapeptyd Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG) jest sekwencją wielokrotnie powtarzającą się w cząsteczce elastyny (lub EDPs), który łatwo się uwalnia

wacja wymienionych kinaz prowadzi do zróżnicowanych efektów biologicznych – nasilenia proliferacji i migracji (w przypadku nowotworów – inwazyjności) oraz wywołania/nasilenia reakcji zapalnej. Ponadto niedawno opublikowany artykuł sugeruje ważną rolę białek macierzy zewnątrzkomórkowej, zwłaszcza pochodzących z rozpadu elastyny, w rozwoju choroby Alzheimera [11].

Celem niniejszego artykułu jest podsumowanie aktualnej i niestety bardzo ograniczonej wiedzy na temat działania i roli peptydów powstających w wyniku rozpadu elastyny w układzie nerwowym.



Ryc. 1. Wpływ peptydu Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG) na astrocyty w warunkach *in vitro*.

z ECM, zarówno w warunkach fizjologicznych (wskutek działania białek o aktywności enzymatycznej), jak i patologicznych (np. wskutek białek zapalenia). Wiadomo, że sekwencja VGVAPG (samodzielnie lub jako część EDPs) ma duże powinowactwo do białka wiążącego elastynę (EBP, ang. *elastin-binding protein*), znajdującego się na powierzchni każdej komórki, które powstaje w wyniku procesu alternatywnego składowania genu *GLBI*. EBP jest głównym receptorem dla EDPs i/lub VGVAPG, lecz zidentyfikowano także inne potencjalne receptory dla EDP, o mniejszym znaczeniu. Są nimi galektyna-3 oraz integryny $\alpha\beta 3$ i $\alpha\beta 5$. Ponadto wykazano, że po aktywacji receptorów na powierzchni komórki dochodzi do aktywacji białek G, otwarcia kanałów wapniowych typu L i sekwencyjnej aktywacji kinaz tyrozynowych takich jak np.: FAK, c-Src, PDGF-R, MEK1/2 czy ERK1/2 [10]. W zależności od typu badanych komórek akty-

Wpływ peptydu VGVAPG na proliferację komórek

Wpływ peptydu VGVAPG oraz EDPs na proliferację różnych typów komórek jest dobrze udokumentowany. Niestety, badania uwzględniające komórki układu nerwowego są nieliczne i sugerują odmienne działanie zależnie od typu komórek. Dotychczasowe eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG nie jest cytotoksyczny oraz nie aktywuje procesu apoptozy w prawidłowych mysich astrocytach [21], co więcej, peptyd VGVAPG stymuluje ich proliferację [17,19]. Podobne zjawisko nasilenia proliferacji obserwowano w różnych liniach glejaków (U87, MG, U251 MG, U343 MG-A, U373 MG, SF126, SF188, SF539) [6,7]. Natomiast w niezróżnicowanych, proliferujących komórkach ludzkiej linii neuroblastoma (SH-SY5Y) badany peptyd wykazywał przeciwnie działanie i hamował proliferację komórek oraz indukował

zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*) [20]. Co ciekawe, komórki linii SH-SY5Y, mimo iż wywodzą się z nowotworu, posiadają wiele cech komórek macierzystych i możliwe jest ich różnicowanie w neurony. Powyższe fakty mogą sugerować istotną rolę EDPs w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, dla których częstym zjawiskiem jest występowanie stresu oksydacyjnego, generowanego również przez VGVAPG, czy zmniejszenia liczby komórek macierzystych.

Wpływ peptydu VGVAPG na macierz zewnątrzkomórkową

Wiadomo, że metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs, ang. *matrix metalloproteinases*) i tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs, ang. *tissue inhibitors of metalloproteinases*) pełnią istotną funkcję podczas udaru niedokrwionego oraz krwotocznego mózgu, szczególnie podczas fazy poudarowej, neoangiogenezy i przywracania mózgowego przepływu krwi. Przyjmuje się powszechnie, że jedną z ważniejszych funkcji pełnionych przez MMP-2 i MMP-9 jest degradacja kolagenu typu IV, głównego składnika błon podstawnych, w tym także naczyniowej błony podstawnej. Zdolność do degradacji białek ECM pozwala komórkom regulować migrację oraz aktywnie uczestniczyć w procesie miejscowego wzrostu nowotworu, angiogenezie i powstawaniu przerzutów, a także niszczeniu bariery krew-mózg. Ponadto proteoliza składników ECM przez MMPs nie sprowadza się wyłącznie do niszczenia fizycznych barier. Degradując białka macierzy MMPs biorą również udział w przekazywaniu sygnałów z ECM do komórki. Do tej pory u kręgowców odkryto 4 rodzaje tkankowych inhibitorów metaloproteinaz oznaczonych jako TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz wpływają hamująco na aktywność MMPs, czego skutkiem może być np. rola TIMP-1, TIMP-2 oraz TIMP-3 w redukcji wzrostu guza w procesach nowotworzenia. Ponadto TIMP-2 może ograniczać wzrost komórek śródbłonka. TIMPs biorą także udział w regulacji procesu apoptozy. Dowiedziano, że TIMP-3 ma aktywność proapoptotyczną, w przeciwieństwie do TIMP-1 i TIMP-2, które działają antyapoptotycznie. Dotychczas wykazano, że peptyd VGVAPG stymuluje migrację różnych typów glejaków (linie komórkowe U87 MG, U251 MG i U373 MG), co koreluje ze zwiększoną aktywnością MMPs [6]. Natomiast badania przeprowadzone na prawidłowych astrocytach wykazały obniżenie ekspresji MMP-9 i MMP-2 oraz zwiększenie ekspresji TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4. Uzyskane wyniki sugerują,

że VGVAPG może „przygotowywać” komórki glejowe w warunkach *in vitro* na odbiór sygnałów apoptotycznych lub prozapalnych. Nie można jednak wykluczyć, że zwiększona ekspresja mRNA *Timp-2*, *Timp-3* i *Timp-4* również ułatwia naprawę mózgu po udarze poprzez zwiększenie proliferacji i/lub różnicowania komórek [21].

Wpływ peptydu VGVAPG na poziom reaktywnych form tlenu

Zarówno tlenek azotu (NO, ang. *nitric oxide*), jak i ROS biorą udział w uszkodzeniu reperfuzyjnym (po przywróceniu przepływu krwi w niedokrwionym narządzie) mięśnia sercowego lub w uszkodzeniach układu nerwowego po udarze niedokrwionym albo krwotocznym. Dodatkowo obie wspomniane cząsteczki są istotne w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych. NO powstaje w dwustopniowej reakcji katalizowanej przez syntazę tlenku azotu (NOS, ang. *nitric oxide synthase*). Aktualnie znane są trzy izoformy tego enzymu, kodowane przez trzy różne geny: śródbłonkowa syntaza tlenku azotu (eNOS, ang. *endothelial nitric oxide synthase*), indukowalna syntaza tlenku azotu (iNOS, ang. *inducible nitric oxide synthase*) i neuronalna syntaza tlenku azotu (nNOS, ang. *neuronal nitric oxide synthase*). Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że peptyd VGVAPG zmniejsza ekspresję mRNA i białka dla eNOS, iNOS i nNOS w astrocytach w warunkach *in vitro*. Ponadto peptyd VGVAPG zmniejsza również wytwarzanie NO, zwiększając produkcję ROS [16]. Należy zaznaczyć, że w komórkach wspomnianej już neuroblastomy SH-SY5Y peptyd ten zwiększa ekspresję i aktywność peroksydazy glutationowej (GPx, ang. *glutathione peroxidase*), równocześnie zmniejszając ekspresję katalazy (CAT, ang. *catalase*), co w efekcie prowadzi do zwiększenia ilości ROS w komórkach [20]. Co więcej, autorzy cytowanej pracy wykazali, że zastosowanie „zmiataacza wolnych rodników” N-acetylo-L-cysteiny (NAC), oprócz redukcji poziomu ROS w komórkach, niwelowało również antyproliferacyjne działanie peptydu VGVAPG w stosunku do komórek SH-SY5Y. Wyniki te są niezwykle istotne, gdyż w trakcie procesu starzenia ilość komórek macierzystych i tempo ich proliferacji ulega obniżeniu. Natomiast powstający ROS jest jednym z wielu czynników sprzyjających starzeniu się komórek macierzystych. W konsekwencji zarówno spadek ilości komórek macierzystych, jak i wzrost produkcji ROS mogą prowadzić do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych i przyspieszonego starzenia układu nerwowego.

Wpływ peptydu VGAVPG na proces zapalny

Liczne prace wskazują na istotną rolę mechanizmów zapalnych w różnych stanach neurologicznych zazwyczaj nie klasyfikowanych jako zapalne. Ponadto dobrze udokumentowane jest zaangażowanie procesu zapalnego w rozwój chorób neurodegeneracyjnych. Opisano zjawisko aktywacji przez EDPs procesu zapalnego z zaangażowaniem NF- κ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) w różnych typach komórek. NF- κ B jest czynnikiem aktywowanym podczas stresu oksydacyjnego, jak również wskutek działania różnych białek będących cytokinami prozapalnymi. Wykazano również, że EDPs są czynnikami chemotaktycznymi dla monocytów, wykazując liczne cechy cytokin [5]. Co ciekawe, przeprowadzone dotychczas eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG w prawidłowych mysich astrocytach zwiększa aktywność kaspazy-1, jednocześnie zmniejszając uwalnianie interleukiny IL-1 β (jeden z markerów procesu zapalnego) do pożywki hodowlanej. Wykazano również, że peptyd VGVAPG zmniejsza ekspresję białek IL-1 β R1, CAT i NF- κ B [18]. Uzyskane wyniki sugerują, że peptyd VGVAPG nie aktywuje procesu zapalnego.

Wpływ peptydu VGAVPG na równowagę hormonalną mózgu

Astrocyty odgrywają wiele różnych funkcji w układzie nerwowym, m.in. zapewniając strukturalne wsparcie dla neuronów i utrzymanie integralności bariery krew-mózg. Oprócz funkcji podporowej i odżywczej opisano również zaangażowanie astrocytów w produkcję neurosteroidów. Obecnie wiadomo, że hormony steroidowe wykazują szerokie spektrum działania w centralnym i obwodowym układzie nerwowym, działając jako czynniki troficzne, wpływając na różnicowanie komórek lub plastyczność synaptyczną. W steroidogenezie astrocyty odgrywają kluczową rolę w syntezie cholesterolu, progesteronu, testosteronu i estradiolu. Dotychczas przeprowadzone doświadczenia wykazały, że peptyd VGVAPG zwiększa produkcję progesteronu w astrocytach, czego konsekwencją był wzrost produkcji i wydzielania testosteronu w badanych komórkach (jest to główny neurosteroid syntetyzowany i wydzielany przez astrocyty). Natomiast synteza estradiolu (powstającego z testosteronu) nie zmieniała się [19]. Opisane eksperymenty mogą sugerować bardzo istotną rolę peptydów powstających po rozpadzie elastyny w utrzymaniu równowagi hormonalnej mózgu.

Wpływ peptydu VGAVPG receptory PPAR γ oraz AhR

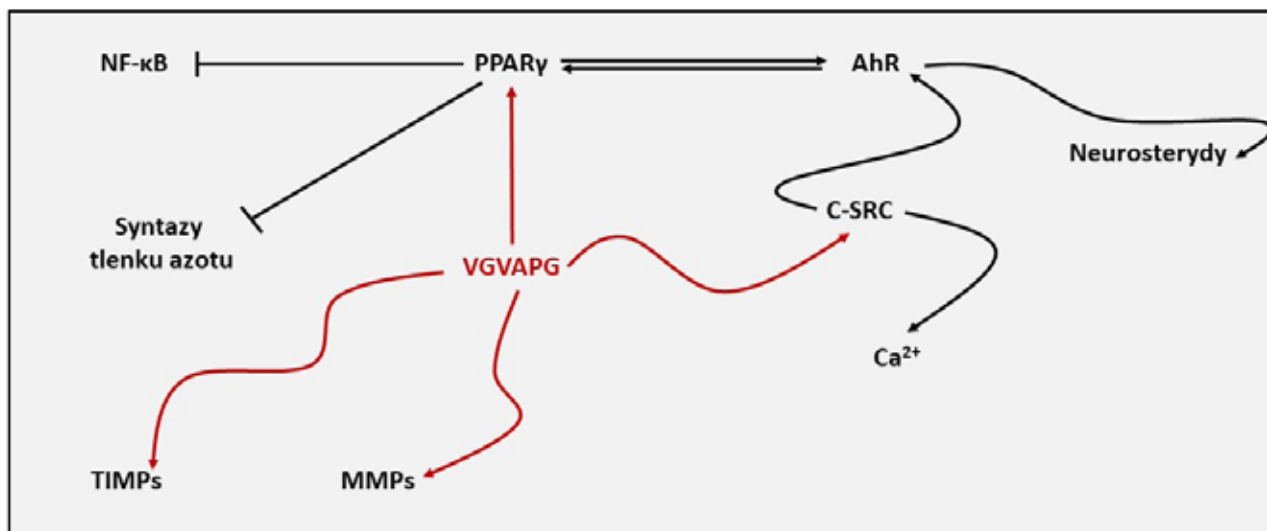
Mechanizm działania EDPs czy peptydu VGVAPG w układzie nerwowym nie jest w pełni wyjaśniony. Dotychczas opublikowane prace wyraźnie pokazują zaangażowanie kilku szlaków molekularnych mogących tłumaczyć obserwowany wpływ peptydu VGVAPG na proces proliferacji, ekspresję MMPs i TIMPs, produkcję ROS, proces zapalny czy syntezę neurosteroidów. Kluczowe wydają się być receptory komórkowe, takie jak receptory aktywowane proliferatorami peroksisomów (PPARs, ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) czy receptor węglowodorów arylowych (AhR, ang. *aryl hydrocarbon receptor*).

PPARs są czynnikami transkrypcyjnymi, które należą do rodziny jądrowych receptorów hormonów. Główną ich rolą jest regulacja metabolizmu – insulinooporności, metabolizmu kwasów tłuszczowych oraz utrzymanie homeostazy glukozowej. PPAR- γ (PPAR γ) jest najlepiej zbadanym receptorem z rodziny PPARs. Naturalnym endogennym ligandem dla PPAR γ są wielonienasycone kwasy tłuszczowe (m.in. kwas linolowy, arachidonowy, eikozapentaenowy), ich pochodne, np. kwasy 12- i 15-hydroksyeikozatetraenowe czy 9- i 13-hydroksyoctadekadienowe oraz związki związane z prostaglandynami, jak 15-deoxy-delta12-14-PGJ2. PPAR γ jest zaangażowany m.in. w stymulację różnicowania preadipocytów w insulinowrażliwe adipocyty. Ponadto, zależnie od typu komórek, PPAR γ może stymulować bądź hamować proces apoptozy. Dodatkowo aktywowany PPAR γ wpływa na ekspresję transportera glukozy GLUT4 w adipocytach (komórkach budujących tkankę tłuszczową), co wpływa korzystnie na transport glukozy. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG wpływa na ekspresję mRNA i białka receptora PPAR γ . Ponadto zastosowanie siRNA oraz agonistów (rosiglitazon i pioglitazon) PPAR γ wykazało, że receptor ten jest odpowiedzialny za syntezę neurosteroidów i proliferację astrocytów stymulowaną obecnością peptydu VGVAPG [17,14]. Aktywacja szlaku PPAR γ hamowała ekspresję NF- κ B, łagodząc reakcję zapalną komórek. Przeprowadzone doświadczenia z agonistami PPAR γ sugerują, że w astrocytach myszy peptyd VGVAPG działa z nimi synergistycznie.

Receptor węglowodorów arylowych (AhR) jest aktywowanym ligandem czynnikiem transkrypcyjnym funkcjonującym jako mediator komórkowej odpowiedzi na ksenobiotyki [4]. Po aktywacji przez ligand receptor AhR oddysocjowuje od białek opiekuńczych, migruje do jądra komórkowego

i dimeryzuje z białkiem ARNT (ang. *AhR nuclear translocator*) [1]. Wykazano, że receptor AhR, obecny w wielu tkankach, reguluje także geny odpowiedzialne za proliferację, wzrost i różnicowanie komórek [13]. Ponadto liczne badania wykazały, że aktywacja tego receptora może również indukować proces apoptozy w komórkach kory nowej i hipokampa mózgu myszy *in vitro* [9,8].

oraz ich proliferacji w odpowiedzi na działanie peptydu VGVAPG [15]. Odkrycia ostatnich lat wykazały, że kinaza c-Src jest niezbędna do prawidłowej transdukcji sygnału przez receptor AhR [2]. Rysuje to spójny obraz działania peptydów powstających w wyniku rozpadu elastyny na komórki pochodzące z układu nerwowego.



Ryc. 2. Oddziaływanie peptydu Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG) na różne szlaki i receptory komórkowe w układzie nerwowym. AhR – receptor węglowodorów arylowych (ang. *aryl hydrocarbon receptor*); MMPs – metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *matrix metalloproteinases*); NF-κB - czynnik transkrypcyjny NF kappa B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*); TIMPs - tkankowe inhibitory metaloproteinaz (ang. *tissue inhibitors of metalloproteinases*); PPARγ – receptor aktywowany proliferatorami peroksyosomów (ang. *peroxisome proliferator-activated receptors gamma*).

Dotychczas przeprowadzone eksperymenty wykazały, że AhR (podobnie jak PPARγ) zaangażowany jest w proces proliferacji astrocytów [17]. Co ciekawe, wykazano, że reakcja komórek zależy nie tylko od obecności bądź braku danego receptora (PPARγ, AhR czy EBP), ale również od zawartości surowicy w medium hodowlanym. Wykonane doświadczenia wykazały, że usunięcie receptora AhR zwiększa proliferację astrocytów oraz obniża produkcję estradiolu, niezależnie od użytego stężenia surowicy, co sugeruje kluczową rolę tego receptora [17,19]. Dobrze opisano zjawisko, w którym AhR, podobnie jak PPARγ, bierze udział w różnicowaniu komórek macierzystych w neurony lub astrocyty oraz w ich dojrzewaniu. W przypadku wyciszenia ekspresji AhR przy pomocy siRNA, peptyd VGVAPG zwiększa ilość białka S100B - markera dojrzewających astrocytów.

Najnowsze badania wykazały, że w przekazywanie sygnału pochodzącego od receptora peptydów EBP zaangażowana jest również kinaza c-Src (ang. *proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src*). Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że po zastosowaniu inhibitora kinazy c-Src obserwowano zahamowanie napływu jonów wapniowych (Ca^{2+}) do astrocytów

Podsumowanie i perspektywy

Do tej pory wykazano, że efekt peptydów pochodzących z elastyny (EDPs) zależy od rodzaju komórek układu nerwowego, na które oddziałuje. Opublikowane wyniki badań dostarczają dowodów, że EDPs oraz peptyd VGVAPG biorą udział w aktywacji szlaków wspierających przeżycie astrocytów. Ponadto wykazano, że EDPs zakłócają proces zapalny w prawidłowych komórkach układu nerwowego. Niestety, EDPs zwiększają również proliferację i inwazyjność glejaków, co daje złe rokowanie w przypadku nowotworów układu nerwowego. Z drugiej strony, w niezróżnicowanych komórkach neuroblastomy SH-SY5Y (które mogą być niedoskonałym modelem komórek macierzystych), EDPs zmniejszają proliferację komórek w sposób zależny od ROS. Można zatem wnioskować, że rosnąca ilość EDP w starzejącym się układzie nerwowym może powodować wiele chorób neurodegeneracyjnych charakteryzujących się obniżeniem poziomu neurogenezy i wzrostem glejozy.

Co ciekawe, obecnie jako nośnik dla dostarczania doksorubicyny (znany cytostatyk) próbuje się stosować

polipeptydy elastynopodobne (ELP, ang. *elastin-like polypeptide*) [3]. Opisano, że ELP sprzężone z doxorubicyną poprawiają penetrację tego leku do komórek glejaka, co zmniejsza stężenie wymagane do wywołania pożądanego efektu farmakologicznego. Opracowanie takiego nośnika leku może znacznie polepszyć obecne podejścia terapeutyczne do leczenia nowotworów mózgu poprzez zwiększenie specyficzności i skuteczności leczenia oraz zmniejszenie cytotoksyczności w normalnych tkankach. Aby jednak w pełni wyjaśnić mechanizm działania EDPs i/lub

peptydu VGVAPG w układzie nerwowym potrzebne są dalsze badania w tej dziedzinie. W przyszłości EDP powinny stać się ważnym tematem badań neuronaukowych. Testy te powinny zostać potwierdzone badaniami przeprowadzonymi na hodowli neuronów, a w kolejnym etapie na modelach zwierzęcych i ludzkich.

Bibliografia:

1. Beischlag T. V, Luis Morales J., Hollingshead B.D., Perdew G.H. (2008). The aryl hydrocarbon receptor complex and the control of gene expression., *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 18:207–250.
2. Bock K.W. (2020). Aryl hydrocarbon receptor (AHR)-mediated inflammation and resolution: Non-genomic and genomic signaling, *Biochem. Pharmacol.* 182:114220.
3. Dragojevic S., Mackey R., Raucher D. (2019). Evaluation of elastin-like polypeptides for tumor targeted delivery of doxorubicin to glioblastoma, *Molecules.* 24:3242.
4. Eriksson P., Talts U. (2000). Neonatal exposure to neurotoxic pesticides increases adult susceptibility: a review of current findings., *Neurotoxicology.* 21:37–47.
5. Hance K.A., Tataria M., Ziporin S.J., Lee J.K., Thompson R.W. (2002). Monocyte chemotactic activity in human abdominal aortic aneurysms: Role of elastin degradation peptides and the 67-kD cell surface elastin receptor, *J. Vasc. Surg.* 35:254–261.
6. Jung S., Hinek A., Tsugu A., Hubbard S.L., Ackerley C., Becker L.E., Rutka J.T. (1999). Astrocytoma cell interaction with elastin substrates: Implications for astrocytoma invasive potential, *Glia.* 25:179–189.
7. Jung S., Rutka J.T., Hinek A. (1998). Tropoelastin and Elastin Degradation Products Promote Proliferation of Human Astrocytoma Cell Lines, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 57:439–448.
8. Kajta M., Wójtowicz A. K., Maćkowiak M., Lasoń W. (2009). Aryl hydrocarbon receptor-mediated apoptosis of neuronal cells: a possible interaction with estrogen receptor signaling., *Neuroscience.* 158:811–22.
9. Kajta M., Litwa E., Rzemieniec J., Wnuk A., Lason W., Zelek-Molik A., Nalepa I., Grzegorzewska-Hiczwa M., Tokarski K., Golas A., Guzik E., Grochowalski A., Szychowski K., Wojtowicz A. (2014). Isomer-nonspecific action of dichlorodiphenyltrichloroethane on aryl hydrocarbon receptor and G-protein-coupled receptor 30 intracellular signaling in apoptotic neuronal cells., *Mol. Cell. Endocrinol.* 392:90–105.
10. Le Page A., Khalil A., Vermette P., Frost E.H., Larbi A., Witkowski J.M., Fulop T. (2019). The role of elastin-derived peptides in human physiology and diseases, *Matrix Biol.* 84:81–96.
11. Ma J., Ma C., Li J., Sun Y., Ye F., Liu K., Zhang H. (2020). Extracellular matrix proteins involved in Alzheimer's disease, *Chem. - A Eur. J.* 26:12101–12110.
12. Nicoloff G., Tzvetanov P., Christova P., Baydanoff S. (2008). Detection of elastin derived peptides in cerebrospinal fluid of patients with first ever ischaemic stroke, *Neuropeptides.* 42: 277–282.
13. Puga A., Tomlinson C.R., Xia Y. (2005). Ah receptor signals cross-talk with multiple developmental pathways, *Biochem. Pharmacol.* 69:199–207.
14. Szychowski K.A., Gmiński J. (2019). Impact of elastin-derived VGVAPG peptide on bidirectional interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar γ) and beta-galactosidase (β -Gal) expression in mouse cortical astrocytes in vitro, *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 392:405–413.
15. Szychowski K.A., Gmiński J. (2019). Specific role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in elastin-derived VGVAPG peptide-dependent calcium homeostasis in mouse cortical astrocytes in vitro, *Sci. Rep.* 9:20165.
16. Szychowski K.A., Gmiński J. (2019). The VGVAPG Peptide Regulates the Production of Nitric Oxide Synthases and Reactive Oxygen Species in Mouse Astrocyte Cells In Vitro, *Neurochem. Res.* 44:1127–1137.

17. Szychowski K.A., Gmiński J. (2020). Elastin-derived peptide VGVAPG affects the proliferation of mouse cortical astrocytes with the involvement of aryl hydrocarbon receptor (Ahr), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar γ), and elastin-binding protein (EBP), *Cytokine*. 126:154930.
18. Szychowski K.A., Gmiński J. (2020). The Elastin-Derived Peptide VGVAPG Does Not Activate the Inflammatory Process in Mouse Cortical Astrocytes In Vitro, *Neurotox. Res.* 37:136–145.
19. Szychowski K.A., Pomianek T., Gmiński J. (2020). Elastin-Derived Peptide VGVAPG Affects Production and Secretion of Testosterone in Mouse Astrocyte In Vitro, *Neurochem. Res.* 45:385–394.
20. Szychowski K.A., Rombel-Bryzek A., Dołhańczuk-Śródka A., Gmiński J. (2019). Antiproliferative Effect of Elastin-Derived Peptide VGVAPG on SH-SY5Y Neuroblastoma Cells, *Neurotox. Res.* 36:503–514.
21. Szychowski K.A., Wójtowicz A.K., Gmiński J. (2009). Impact of Elastin-Derived Peptide VGVAPG on Matrix Metalloprotease-2 and -9 and the Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, -2, -3 and -4 mRNA Expression in Mouse Cortical Glial Cells In Vitro, *Neurotox. Res.* 35:100–110.
22. Tzvetanov P., Nicoloff G., Rousseff R., Christova P. (2008). Increased levels of elastin-derived peptides in cerebrospinal fluid of patients with lacunar stroke, *Clin. Neurol. Neurosurg.* 110:239–244.