

## KINAZA PŁYTEK PRZYLEGANIA W BIOLOGII OSTEOLASTÓW\*

### FOCAL ADHESION KINASE IN OSTEOLAST BIOLOGY

Joanna LESZCZYŃSKA, Piotr MRÓWKA, Agnieszka MIKULSKA,  
Jacek PRZYBYLSKI, Edyta WRÓBEL

Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Streszczenie:** Kinaza płytek przylegania – FAK (*focal adhesion kinase*) należy do grupy niereceptorowych białkowych kinaz tyrozynowych. Występuje w cytoplazmie większości komórek, w tym osteoblastów. W momencie jej aktywacji, związanej z oddziaływaniem integryn z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej, inkorporowana jest do płytek przylegania. Obecność kinazy FAK w tychże strukturach jest ściśle związana z funkcją, jaką odgrywa ona w procesach komórkowych, takich jak: adhezja, migracja czy proliferacja. Komórki z niedoborem FAK wykazują znacznie wolniejszy wzrost oraz zmniejszoną ruchliwość. Kinaza uruchamia szereg różnych ścieżek przekazywania sygnału w komórce, prowadzących m.in. do różnicowania komórek. Regulując aktywność kinaz należących do grupy MAPK (kinazy białkowe aktywowane mitogenami), wpływa na dojrzewanie i różnicowanie komórek w kierunku osteoblastów w warunkach *in vitro*. Stymuluje pośrednio aktywację genów charakterystycznych dla fenotypu prawidłowych osteoblastów: *Runx2* i *Osterix*. Brak genu kodującego kinazę uniemożliwia różnicowanie komórek w kierunku osteoblastycznym. W niniejszej pracy starano się wykazać rolę, jaką pełni kinaza FAK w biologii komórki, ze szczególnym uwzględnieniem osteoblastów.

**Słowa kluczowe:** kinaza płytek przylegania (FAK), różnicowanie, migracja, proliferacja, apoptoza, osteoblasty.

**Summary:** Focal adhesion kinase (FAK) is a non-receptor protein tyrosine kinase that is expressed in the cytoplasm of many cell types, including osteoblasts. FAK is activated when integrin receptors interact with proteins of the extracellular matrix and is then recruited to focal adhesion complexes. The presence of kinase in these structures is strictly associated with its function in cell processes such as adhesion, migration and proliferation. FAK-deficient cells spread more slowly and exhibit reduced migration. Kinase activates various intracellular signaling pathways, including those leading to cell differentiation. When regulating mitogen activating protein kinase (MAPK), FAK influences *in vitro* cell maturation and differentiation into osteoblasts. The expression of genes characteristic for osteoblast phenotype, such as *Runx2* and *Osterix*, is stimulated by FAK activation, whereas FAK gene deficiency prevents differentiation into osteoblastic cells. This review describes the role that FAK plays in cell biology, with particular attention to osteoblasts.

**Key word:** focal adhesion kinase (FAK), differentiation, migration, proliferation, apoptosis, osteoblasts.

\*Grant numer 3T08A 001 30 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; Projekty młodego badacza Rektora WUM o symbolach NZME/WB1 oraz NZME/WB2.

## WSTĘP

Białkowa kinaza FAK (*Focal Adhesion Kinase*) należy do rodziny niereceptorowych kinaz tyrozynowych – PTK (*protein tyrosine kinase*) pełniących funkcje regulatorów ścieżki sygnałowej z udziałem integryn. Proces fosforylacji cząsteczki kinazy prowadzi do jej aktywacji, co z kolei wpływa na regulację kilku podstawowych funkcji biologicznych komórki. Z drugiej strony, brak regulacji w obrębie ścieżki sygnałowej związanej z kinazą FAK może prowadzić do transformacji nowotworowej komórek, jak również do pojawienia się procesów patologicznych, jakie mogą zachodzić w komórkach i tkankach [6].

Kinaza białkowa FAK występuje w cytoplazmie w miejscach adhezji komórek do podłoża [8]. Zjawisko adhezji komórek do białek macierzy zewnątrzkomórkowej pełni kluczową rolę dla większości procesów zachodzących w osteoblastach. Miejscami adhezji komórek do podłoża są struktury zwane płytkami przylegania. Obecność kinazy FAK w płytkach adhezji jest ściśle związana z funkcją, jaką odgrywa ona w procesach komórkowych, takich jak: adhezja, migracja komórek, proliferacja, proces różnicowania i osiągnięcia dojrzałego fenotypu komórkowego czy też apoptoza [2, 53]. Transdukcja sygnału za pośrednictwem kinazy FAK wiąże się z oddziaływaniem tego enzymu z wieloma białkami sygnałowymi oraz cytoszkieletowymi, do których należą m.in. kinazy z rodziny Src, kinaza fosfatydyloinozytolowa, białko Grb-2 czy paksylina.

Podwyższony poziom ekspresji FAK zaobserwowano w wielu typach komórek nowotworowych oraz guzach [50, 54], co wskazuje na udział tej kinazy w procesie proliferacji i rozwoju ludzkich nowotworów. Oczywiście wydaje się zatem stwierdzenie, że ścieżki transdukcji sygnału pośredniczące w procesie adhezji są niezmiernie istotnym elementem procesu proliferacji i różnicowania się komórek. FAK jako cząsteczka sygnałowa wpływa w istotny sposób zarówno na proces przylegania, jak i na zachowanie się komórek *in vitro* w reakcji na określone podłoże [28]. W obserwacjach prowadzonych między innymi na komórkach Saos-2, hodowanych na wybranych biomateriałach, dowiedziono, że topografia powierzchni (zarówno w skali mikro-, jak i nanometrów) ma wpływ na regulację ekspresji cząsteczki kinazy FAK w komórkach osteoblastycznych pochodzących z różnych źródeł [21]. Poznanie roli tego enzymu ma szczególne znaczenie dla optymalizacji procedur klinicznych w chirurgii odtwórczej tkanki kostnej. W niniejszej pracy autorzy, opierając się na doniesieniach z dziedziny inżynierii tkankowej i biologii regeneracyjnej, przedstawili badania nad znaczeniem białkowej kinazy FAK w ludzkich osteoblastach.

## BUDOWA CZĄSTECZKI BIAŁKOWEJ KINAZY FAK

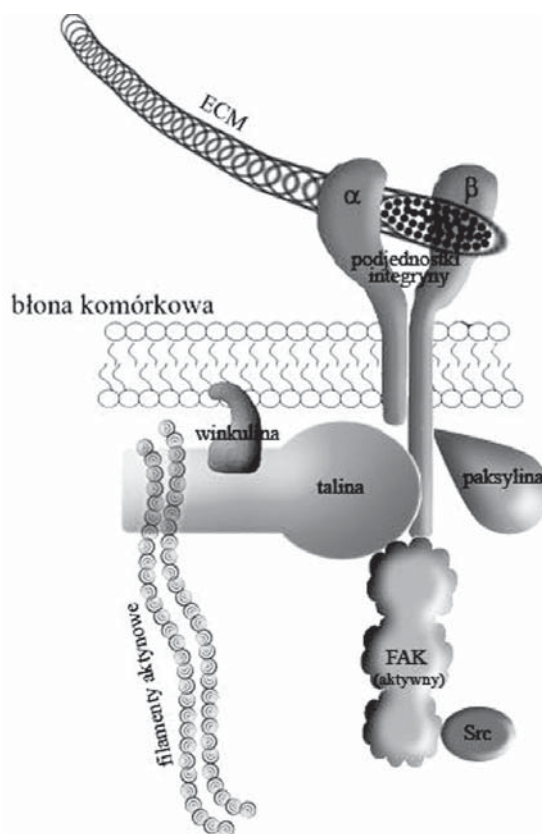
Kinaza FAK została zidentyfikowana podczas badania reakcji fosforylacji z udziałem onkogenu *v-src* i po raz pierwszy opisana w 1992 roku [31]. Gen ludzkiej kinazy FAK – *PTK2*, zlokalizowany na 8 chromosomie, koduje białko o masie molowej 125 kDa. Odwołując się do pomiarów migracji na żelu, kinazę FAK określa

się jako p125<sup>FAK</sup> [53]. Dane literaturowe wskazują, że pierwotnie białkowa kinaza FAK była identyfikowana jako substrat dla onkogennej kinazy tyrozynowej pp60<sup>v-src</sup>. Dopiero z czasem została udokumentowana jej rola jako kluczowego ogniwa ścieżki sygnałowej z udziałem receptorowych białek, zwanych integrzynami.

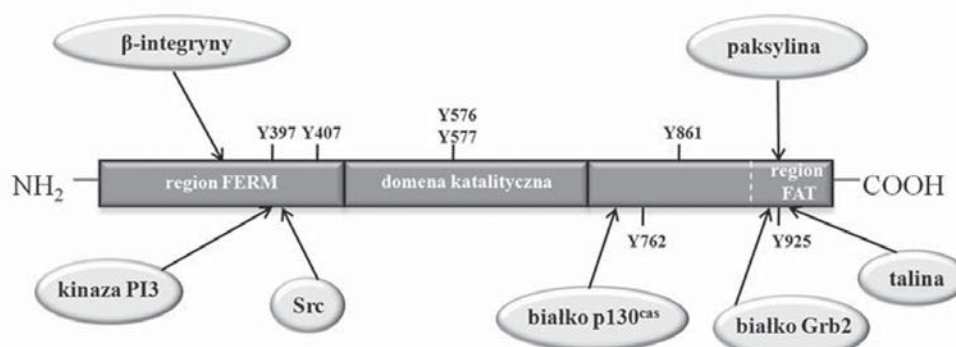
Kinaza FAK występuje w cytoplazmie komórki i przemieszcza się w momencie jej aktywacji do struktur określanych jako płytki przylegania – FA (*focal adhesions*) (ryc. 1). FA są kompleksem białek biorącym udział w adhezji komórek oraz pośredniczącym w przekazywaniu informacji pomiędzy cytoplazmą a środowiskiem zewnętrznym komórki. Kinaza FAK od strony cytoplazmy łączy się z wewnątrzkomórkowymi domenami podjednostki  $\beta$ -integryny.

Białkowa kinaza FAK występuje w większości komórek i tkanek. Obecna jest w wielu ludzkich komórkach, między innymi w komórkach mezenchymalnych, neuronach, limfocytach i erytrocytach [6]. Jest białkiem wysoce konserwatywnym. Wykazano 90% podobieństwa ludzkiej kinazy FAK do kinazy ptasiej, mysiej i pochodzącej od *Xenopus*. Homolog kinazy FAK o nazwie *DFak56*, występujący u *Drosophila*, w ok. 33% jest identyczny z ludzką kinazą FAK, a jego domena tyrozynowa wykazuje aż 63% podobieństwa do niej [36]. Obecność kinazy FAK w komórkach jest niezbędna dla życia organizmów. Mutacja w obrębie jej genu jest letalna i prowadzi do śmierci już na poziomie embrionalnym, głównie z powodu defektów w tworzeniu się mezodermy.

Kinaza FAK zawiera w środkowej części cząsteczki domenę katalityczną, która otoczona jest z obu stron przez domeny niekatalityczne (ryc. 2), składające się z około 400 reszt aminokwasowych każda. Ma ona 6 miejsc fosforylacji reszt tyrozyny, które są zdolne przyłączyć inne białka bądź aktywować katalityczne domeny kinazy [6, 52]. Główne miejsce autofosforylacji to reszta tyrozynowa w pozycji 397 (Y397), zlokalizowana w bezpośrednim sąsiedztwie domeny katalitycznej. Jednocześnie jest ona miejscem wiązania białek zawierających domenę SH2 (*Src homology 2*) niereceptorowej kinazy tyrozynowej Src [36]. Ta reszta tyrozynowa stanowi podstawę biologicznego i bioche-



RYCINA 1. Struktura płytki przylegania (opis w tekście)  
FIGURE 1. Focal adhesion structure (description in the text)



RYCINA 2. Budowa cząsteczki białkowej kinazy FAK (opis w tekście)  
 FIGURE 2. Structure of focal adhesion kinase – FAK (description in the text)

micznego funkcjonowania kinazy FAK. Pozostałe pięć miejsc również ulega fosforylacji po związaniu FAK z kinazami Src.

Domena N-końcowa wykazuje w swojej sekwencji homologię względem rodziny białek zawierających tzw. domenę FERM stanowiącą kompleks białkowy ezryna-radiksyna-miozyna [49], istotną dla prawidłowego funkcjonowania kinazy FAK. Białka mające tę domenę łączą transbłonowe glikoproteiny z cytoszkieletem aktynowym. Stwierdzono, że domena FERM łączy się z cytoplazmatyczną domeną podjednostki integryny  $\beta 3$ , a przez to pośredniczy w jej aktywacji. N-końcowa domena pośredniczy również w oddziaływaniu z receptorami czynników wzrostu [52]. Tak więc domena ta może kierować kinazę FAK w stronę receptorów integryn oraz czynników wzrostu i tym samym regulować ich oddziaływanie z innymi białkami.

W regionie zlokalizowanym po stronie C-terminalnej domeny kinazy FAK znajduje się sekwencja aminokwasów o nazwie FAT (*Focal Adhesion Targeting*), która pośredniczy w umiejscowieniu kinazy FAK w obrębie białek adhezji [36]. Sekwencja FAT ma miejsca umożliwiające bezpośrednie wiązanie białek, takich jak paksylina czy talina. Paksylina to białko, które jest również zaangażowane w wiązanie komponentu płytek przylegania – winkuliny. W obrębie FAT występują dwie sekwencje, które są homologiczne względem tej występującej w winkulinie. Sądzi się zatem, że oba te białka odgrywają ważną rolę w lokalizacji kinazy FAK w obszarze płytek przylegania. Nie można jednak wykluczyć istnienia również innego mechanizmu i udziału dodatkowych cząsteczek łączących kinazę FAK z płytkami przylegania. Wykorzystanie krystalografii rentgenowskiej oraz analizy widm NMR domeny FAT pozwoliło odkryć występowanie poczwórnej prawoskrętnej helisy, która przypomina struktury występujące w innych białkach adhezji, takich jak np. winkulina, Cas czy  $\alpha$ -katenina. Pomiedzy sekwencją FAT a domeną katalityczną usytuowane są dwie domeny bogate w reszty proliny, które pośredniczą w oddziaływaniu z domeną SH3 będącą miejscem wiązania różnego rodzaju białek, np. p130<sup>cas</sup> [46]. Ten region kinazy FAK zawiera także niekatalityczną domenę FRNK (*FAK related non-kinase*). W niektórych typach komórek ulega ona ekspresji jako autonomiczne białko. Rola tej domeny nie została dotychczas do końca poznana. Sugeruje się

zatem, że FRNK może stanowić naturalny konkurencyjny inhibitor kinazy FAK lub wzmacniać jej funkcję niekatalityczną [49].

Istnieją doniesienia, że kinaza FAK zlokalizowana jest również w jądrze komórkowym. Zakłada się, że cząsteczka kinazy FAK wyposażona jest w mechanizm umożliwiający transport z jądra do cytoplazmy. Zidentyfikowane zostały dwie prawdopodobne sekwencje sygnałowe – NES (*nuclear export signal*): jedna w obrębie FERM, zaś druga w obrębie cząsteczki kinazy [45].

### AKTYWACJA CZĄSTECZKI KINAZY FAK

Istnieje wiele czynników aktywujących kinazę płytek przylegania. Wzrost aktywności kinazy białkowej FAK następuje w komórkach pod wpływem czynników wzrostu, neuropeptydów, ligandów pobudzających receptory związane z białkiem G, a także bodźców mechanicznych, szczególnie ważnych z punktu widzenia prawidłowego rozwoju układu kostnego [12, 19, 36, 44, 47], w tym także ultradźwięków [43].

Najbardziej charakterystyczny mechanizm prowadzący do aktywacji kinazy FAK związany jest z sygnałami przekazywanymi przez integryny. Sygnały te powstają podczas oddziaływania integryn z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej – ECM (*extracellular matrix*) oraz formowania płytek przylegania w czasie adhezji komórek do podłoża. Receptory takich czynników wzrostu, jak: zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów – bFGF (*basic fibroblast growth factor*), płytkopochodny czynnik wzrostu – PDF (*platelet-derived growth factor*), nabłonkowy czynnik wzrostu – EGF (*epidermal growth factor*) mogą stanowić komponenty płytek przylegania, gdzie ulegają fosforylacji i aktywacji [1]. Czynniki wzrostowe związane z różnicowaniem osteoblastów, takie jak: morfogenetyczne białka kości BMP-2 i BMP-4 (*Bone Morphogenetic Proteins*), aktywują FAK i inicjują przez nią ścieżkę sygnałową prowadzącą do różnicowania i dojrzewania komórek [27, 44]. W wielu przypadkach bodźce płynące z oddziaływania integryn z ECM i receptorów czynników wzrostu działają synergistycznie [1]. Nie jest dokładnie wyjaśnione, w jaki sposób bodźce mechaniczne zamieniane są w biochemiczne sygnały regulujące procesy różnicowania komórek osteogennych. Jednym z kandydatów związanych z tym mechanizmem jest kanał potasowy o wysokiej przewodności. Kanał ten jest otwierany zarówno w wyniku depolaryzacji błony, jak i wzrostu  $Ca^{2+}$  we wnętrzu komórki. Wewnątrzplazmatyczna domena podjednostki hSlo- $\alpha$  tego kanału oddziałuje z kinazą FAK. Agregacja białek wchodzących w skład FA zwiększa się po otwarciu tego kanału. Zjawisko to obserwowano w komórkach osteosarkoma i ludzkich osteoblastach [33].

Dzięki sekwencji FAT kinaza FAK kierowana jest do obszaru płytek przylegania. Etap ten jest niezbędny do aktywacji kinazy [36]. W płytkach przylegania tworzony jest kompleks skupiający integryny, białka cytoszkieletu, takie jak: paksylina, winkulina czy talina oraz FAK. Proces ten inicjowany jest łączeniem się ze sobą integryn i tworzeniem przez nie charakterystycznych skupisk w błonie komórkowej. FAK



natomiast bezpośrednio wiąże się z elementami cytoszkieletu, które oddziałują z wewnątrzplazmatyczną C-końcową domeną podjednostek integryn, takich jak:  $\beta 1$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 5$ . W wyniku tego procesu dochodzi do aktywacji FAK, która polega na wzajemnej autofosforylacji dwóch oddziałujących cząsteczek na tyrozynie w pozycji Y397. Mechanizm tego procesu nie jest dokładnie poznany. Interakcja kinazy FAK z białkami cytoszkieletu wydaje się niezbędna, aby nastąpił proces aktywacji. Czynnikiem, który odgrywa ważną rolę w regulacji aktywacji FAK są również białka z rodziny Rho. Opisano ich wpływ na formowanie się płytek przylegania oraz regulację procesu autofosforylacji i aktywacji FAK [36].

Kinaza FAK funkcjonuje w kompleksie z niereceptorową kinazą Src. Dzięki autofosforylacji FAK tworzy się miejsce wiązania dla domeny SH2 białek rodziny kinaz tyrozynowych Src i białka adaptorowego Shc. Połączenie FAK i Src zmienia konformację drugiej z kinaz aktywując ją, co prowadzi do powstania aktywnego enzymatycznie kompleksu FAK-Src [38]. Wewnątrz kompleksu może dojść do fosforylacji kolejnych sześciu tyrozyn w obrębie cząsteczki FAK. Y576 i Y577 położone są w pętli aktywującej domeny kinazowej, zaś Y762, Y861 i Y925 znajdują się w C-końcowej części kinazy [30]. Tworzy to miejsca wiązania dodatkowych białek regulatorowych i adaptorowych, takich jak Grb2 (w Y925). Natomiast skutek fosforylacji w pozycji Y407, która leży we fragmencie FERM, nie jest jak dotąd zbadany. Fosforylacji mogą ulegać również inne aminokwasy łańcucha peptydowego FAK: P371-374, P712-715, S843, P878-881, S910 [5-7, 38]. Wykazano, że fosforylacja w S843 i S910 zmniejsza aktywność FAK [7].

Możliwe są również dwie inne drogi wstępnej aktywacji obu kinaz i powstania kompleksu FAK-Src. Kinaza Src może być aktywowana niezależnie od FAK, dlatego też może ona inicjować tworzenie kompleksu, wiążąc nieaktywną FAK i fosforylując w miejscu pętli aktywującej domeny kinazowej. Prowadzi to do fosforylacji sąsiadujących cząsteczek FAK w Y397 i rekrutacji Src do kompleksu. Możliwa jest również niezależna aktywacja obu kinaz przed stworzeniem kompleksu, aczkolwiek interakcja z Src jest konieczna do pełnej aktywacji FAK [36].

## SZLAKI PRZEKAZYWANIA SYGNAŁÓW AKTYWOWANE PRZEZ FAK

FAK oddziałuje na komórkę plejotropowo, uruchamiając szereg różnych ścieżek przekazywania sygnałów. Pośród nich wymienić należy białka związane z drogami sygnałów wewnątrzkomórkowych, takie jak: kinaza fosfatidyloinozytolu-3 – PI3K (*phosphatidylinositol-3 kinase*), fosfolipaza C- $\gamma$  – PLC $\gamma$  (*phospholipase C- $\gamma$* ), kinazy białkowe aktywowane mitogenami – MAPK (*mitogen activated protein kinase*) i kinaza Akt [4, 12, 17]. Obserwuje się również aktywację fosfolipazy A2 czy kinazy białkowej C – PKC (*protein kinase C*) pod wpływem FAK. Ponadto transdukcja sygnału może polegać na fosforylacji białek adaptorowych FAK, takich jak paksylina czy p130<sup>cas</sup>, co prowadzi do rekrutacji dodatkowych cząsteczek do kompleksu kinazowego (np. Crk, Nck, C3G), modyfikacji i przekazywania sygnału

[48]. Miejsce wiązania domeny SH2 kinazy FAK jest miejscem kotwiczenia nie tylko kinazy Src, ale również innych czynników zawierających domenę SH2. Wykazano, że białka zaangażowane w przekazywanie sygnałów, takie jak: PI3K, PLC $\gamma$ , Grb7, łączą się z FAK przez SH2 [36]. Związanie i aktywacja PI3K, PLC $\gamma$  prowadzi do generowania wtórnych przekazywaczy w postaci fosfoinozytolo-3,4,5-trifosforanu – PI(3,4,5)P<sub>3</sub> (*phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate*), diacyloglicerolu – DAG (*diacyl glycerol*) i inozytolo-1,4,5-trifosforanu – IP<sub>3</sub> (*inositol 1,4,5-triphosphate*). Wykazano związek aktywacji FAK i PI3K z różnicowaniem komórek progenitorowych w kierunku osteoblastów i związanym z tym procesem mineralizacji ECM [18].

Szlak sygnałów prowadzący przez MAPK jest prawdopodobnie najważniejszą drogą oddziaływania na komórkę wzbudzaną przez FAK. Zaobserwowano, że obecność FAK zwiększa aktywację MAPK stymulowaną adhezją komórek do podłoża [29]. Równocześnie zablokowanie FAK zmniejsza aktywację MAPK wywołaną tą drogą. Istnieje kilka mechanizmów, w których FAK oddziałuje na kinazy MAPK. Fosforylacja Y925 FAK tworzy miejsce wiązania dla białka Grb2 i umożliwia przyłączenie się kompleksu Grb2/SOS (*Son of Sevenless*). Prowadzi to do aktywacji białka Ras i w konsekwencji kinazy MAPK. Białko Grb2 może zostać włączone do kompleksu również dzięki ufosforylowanemu białku Shc. Shc ma domenę SH2 i ulega fosforylacji po połączeniu z FAK. Inna ścieżka stymulacji prowadzi poprzez p130<sup>cas</sup>, Crk i Nck. Dwa ostatnie białka wiążą SOS, co może spowodować pobudzenie ścieżki prowadzącej przez Ras i kinazę MAPK.

Różne grupy MAPK mogą być aktywowane za pośrednictwem kinazy FAK. Pierwszą stanowią kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym – ERK (*extracellular signal-regulated kinases*). Są one ważnym punktem w transdukcji sygnałów prowadzących do wzrostu, proliferacji i różnicowania się komórek [11, 18, 23, 26, 44]. Aktywacja ścieżki prowadzącej przez FAK i ERK1/2 bierze udział w procesie różnicowania komórek macierzystych szpiku w kierunku osteoblastów pod wpływem stymulacji czynnikami zewnętrznymi, np. w momencie kontaktu komórek z kolagenem typu I [51]. Aktywność FAK i ERK1/2 potrzebna jest do fosforylacyjnej aktywacji podstawowych czynników transkrypcyjnych istotnych dla osiągnięcia fenotypu osteoblastów przez komórki progenitorowe, takich jak Runx2/Cbfa1 i Osterix [16, 19, 34, 35]. Odgrywają one kluczową rolę w koordynowaniu wielu sygnałów zaangażowanych w proces różnicowania osteoblastów i ich aktywacja jest dla tego procesu niezbędna [20, 25]. Opisano, że aktywacja ścieżki FAK/Ras/ERK w odpowiedzi na sygnały z BMP i integryn wiążących kolagen prowadzi do wzrostu aktywności transkrypcyjnej Smad1 [40, 42], innego ważnego czynnika związanego z różnicowaniem i dojrzewaniem komórek osteogennych.

Kolejne grupy MAPK, które mogą podlegać regulacji poprzez FAK, stanowią izoformy białka p38, będące mediatorami sygnałów prowadzących do różnicowania komórek osteogennych [11]. Kinazy należące do grupy JNK (*c-Jun N-terminal kinases*), określane też jako kinazy aktywowane stresem – SAPK (*stress-activated protein kinases*), [12] również odgrywają ważną rolę w kontrolowaniu procesów różnicowania osteoblastów [10]. Ich interakcje z FAK w komórkach kostnych nie

są tak dobrze znane, jak te z ERK. Wiadomo natomiast, że BMP-2 oddziałuje na komórkę przez ścieżkę sygnałową związaną z aktywacją FAK i prowadzącą przez SAPK2 $\alpha$ /p38. Jej zablokowanie interferuje z fosforylacyjną aktywacją Smad1 [27].

Istnieją również prace, w których podkreśla się, że kinazy Akt, należące do kinaz białkowych B (*protein kinase B*), odgrywają pewną rolę w procesach transdukcji sygnałów, angażujących kinazę FAK [14, 43]. Akt biorą między innymi udział w różnicowaniu osteoblastów indukowanym ultradźwiękami [43].

## ROLA KINAZY FAK W REGULACJI CYKLU KOMÓRKOWEGO ORAZ MIGRACJI KOMÓREK

Na związek pomiędzy FAK a zjawiskiem proliferacji komórek zwrócił uwagę Schlaepfer, wysuwając tezę dotyczącą aktywacji szlaku kinazy MAP w wyniku fosforylacji FAK po związaniu się jej z białkiem Grb2.

Obecnie kinaza FAK jest uznawana za pozytywny regulator cyklu komórkowego. Potwierdzeniem tego są badania oparte na wprowadzeniu domeny FRNK do komórek, co w efekcie powoduje spadek syntezy DNA związany prawdopodobnie z hamowaniem kinazy FAK [41]. Regulacja cyklu komórkowego wiąże się z aktywnością dwóch klas cząsteczek regulatorowych: cyklin i kinaz zależnych od cyklin – Cdk (*cyklin dependent kinase*). Kinazy zależne od cyklin po związaniu z cyklinami ulegają aktywacji i fosforylują białka docelowe, co prowadzi do aktywacji lub inaktywacji tych białek. Istotną rolę w przejściu komórek z fazy G1 do fazy S w cyklu komórkowym odgrywa cyklina D1. Cyklina ta pobudza proliferację komórek poprzez tworzenie kompleksów z zależnymi od cyklin kinazami. Ekspresja cykliny jest regulowana poprzez kaskadę sygnalizacyjną Ras/Erk kontrolowaną przez FAK.

Nadekspresja kinazy FAK przyspiesza przejście komórek z fazy G1 do fazy S. Natomiast ekspresja kinazy w mutantach z brakiem FAK hamuje postęp w cyklu komórkowym poprzez zmiany w ekspresji cykliny D1 oraz ekspresji inhibitora kinaz zależnych od cyklin. W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* wykazano, że nagromadzenie cykliny D1 powoduje skrócenie fazy G1 cyklu komórkowego i zapobiega zatrzymaniu cyklu komórkowego u mutantów z brakiem FAK. Z drugiej strony brak wspomnianej cykliny może prowadzić do wydłużenia fazy G1 przez ograniczenie fosforylacji białka pRb (białko retinoblastomy), z którym wiąże się cyklina D1. Ponadto, kinaza FAK zaangażowana jest w regulację cykliny D3. Kinaza, pośrednicząc w ścieżce sygnałowej PKC i kinazy PI3K, stymuluje proliferację komórek. Kinaza FAK wpływa także na ekspresję inhibitora Cdk, p21 [4].

Dane literaturowe ostatnich lat wskazują, że kinaza FAK jest zaangażowana także w regulację procesu migracji komórek. Komórki z niedoborem FAK wykazują znacznie wolniejszy wzrost oraz cechuje je niewielka liczba płytek adhezji i tylko w niewielkim stopniu ulegają one migracji w odpowiedzi zarówno na sygnały chemo-taktyczne, jak i haptotaktyczne [31]. Potwierdzeniem tego wniosku są badania przeprowadzone przez Schobera wskazujące, iż migracja komórek z obniżoną



ekspresją FAK jest znacznie wolniejsza w porównaniu z komórkami z prawidłową ekspresją tego białka. Zmodyfikowane komórki zawierające FAK z upośledzonym wiązaniem białka p130<sup>cas</sup> cechuje zmniejszona ruchliwość. Ponadto nadekspresja białka p130<sup>cas</sup> wpływa na osłabienie migracji komórek, w którą zaangażowana jest kinaza FAK. Dlatego też Cas wydają się pełnić funkcje ważnych mediatorów dla sygnalizacji w procesie migracji poprzez wiązanie do domeny SH2/SH3. Nadekspresja Cas lub Crk oraz tworzenie kompleksów Cas/CRK stymuluje migrację komórek [39].

Proces migracji komórek jest ściśle związany z dynamiczną reorganizacją cytoszkieletu aktynowego. Komórki ulegają migracji w odpowiedzi na bodźce z otoczenia, które aktywują odpowiednie szlaki sygnałowe. Rolą kinazy FAK jest aktywacja kinazy JNK, która pełni funkcję przekaźnika sygnału w komórce. Kinaza FAK, tworząc kompleks z kinazami z rodziny Src i białkiem p130<sup>cas</sup>, prowadzi do aktywacji JNK. Zaktywowana kinaza JNK powoduje wzrost produkcji metaloproteinaz, odpowiedzialnych za degradację wielu białek macierzy zewnątrzkomórkowej, ułatwiając tym samym migrację komórek [9]. Bezpośredni wpływ kinazy FAK na konformację włókien aktynowych i stabilizację cytoszkieletu w komórce związany jest z fosforylacją kinazy [38]. Jak już wcześniej wspomniano, aktywacja FAK jest związana z ufosforylowaniem tyrozyny w pozycji Y-397 i następuje na skutek związania integryny z domeną FAT kinazy, za pośrednictwem paksyliny i taliny. W wyniku aktywacji FAK utworzony zostaje kompleks Grb2/SOS, który stymuluje kaskadę sygnałową Ras/MAP wiążącą się z procesem migracji oraz proliferacji komórek [3].

## **ROLA KINAZY TYROZYNOWEJ FAK W PROCESIE APOPTOZY I RÓŻNICOWANIA OSTEObLASTÓW**

Adhezja do macierzy zewnątrzkomórkowej jest dla osteoblastów, podobnie jak dla większości komórek, warunkiem prawidłowego wzrostu, proliferacji oraz osiągnięcia przez komórki prawidłowego dojrzałego fenotypu. Brak kontaktu pomiędzy komórką a białkami macierzy pozakomórkowej jest przyczyną programowanej śmierci komórek, tzw. apoptozy. Zaobserwowano, iż we wczesnej fazie apoptozy następuje proteolityczny rozpad FAK, w który zaangażowane są główne enzymy z grupy kaspaz. Sugeruje się zatem, że kinaza FAK jest substratem dla proteolitycznych białek kontrolujących proces apoptozy. Defosforylacja tyrozyn w cząsteczce FAK powoduje zniszczenie połączeń z białkami z grupy Src, to zaś uniemożliwia przekazywanie sygnałów w komórce [13]. Wynikiem degradacji cząsteczki kinazy FAK jest jej brak w płytkach przylegania, co uwidacznia się w postaci zmiany kształtu komórek na charakterystyczny dla komórek apoptotycznych [37].

W wyniku rozpadu kinazy FAK powstaje polipeptyd FRNK (*FAK-related non-kinase*), uważany za inhibitor współzawodniczącego cząsteczki kinazy. Aktywacja FRNK wpływa na spadek adhezji i proliferacji komórek. Natomiast zahamowanie

ekspresji FAK powoduje wzrost apoptozy, podczas gdy nadekspresja FAK skutkuje dokładnie efektem odwrotnym – zapobiega apoptozie. Udowodniono także, że nasilona ekspresja FAK zwiększa aktywność białek antyapoptotycznych, takich jak: c-IAP, c-IAP2, X-IAP, które są inhibitorami kaspaz, a co za tym idzie, powodują zahamowanie procesu apoptozy [36].

Ścieżka sygnałowa związana z przeżyciem komórki, w której pośredniczy FAK, najprawdopodobniej działa przez aktywację szlaku kinazy PI-3K bądź też przez kaskadę sygnałową z udziałem kinaz Src [37]. Aktywacja PI-3K uruchamia szlak prowadzący do zahamowania ekspresji białek apoptotycznych, m. in. p21<sup>WAF</sup>, FKHR czy Bad. Doniesienia z piśmiennictwa wskazują, że FAK zapobiega apoptozie komórek także poprzez udział w ścieżkach sygnalizacyjnych, w które zaangażowana jest fosfolipaza A2, PKC czy też białko p53 [4].

Rola kinazy FAK w procesie tworzenia, przebudowy i odnowy kości w warunkach *in vivo* nie jest dotychczas dokładnie poznana. Aczkolwiek regulacja procesów, w które zaangażowana jest kinaza FAK, takich jak: proliferacja czy różnicowanie, przekłada się bezpośrednio na procesy związane z aktywnością osteoblastów, czyli na tworzenie czy odbudowę kości. Proces odbudowy kości związany jest z interakcją komórek kościotwórczych z białkami macierzy kostnej, w zjawisko adhezji zaś istotnie zaangażowana jest białkowa kinaza FAK [41].

Udział kinazy FAK w procesie różnicowania osteoblastów potwierdzają doniesienia Jae-Beom Kim i wsp. [15], mówiące o tym, że przeważająca większość mysich komórek szpikowych pozbawiona genu kodującego kinazę (*FAK null*) nie ma zdolności różnicowania w kierunku osteoblastycznym w warunkach *in vitro*. Pozwala to wnioskować, iż obecność FAK w komórkach jest niezbędna do ich różnicowania. Sugeruje się także, że obecność kinazy FAK w osteoblastach wpływa na ich zdolność do właściwego organizowania wytwarzanej przez nie macierzy kolagenowej.

Yin-Kun Liu i wsp. [22] badając wpływ osteopontyny, jednego z białek macierzy zewnątrzkomórkowej, na różnicowanie osteoblastycznej linii komórkowej UMR 106-6, wykazali korelację pomiędzy ekspresją mRNA fosfatazy alkalicznej – ALP (*alkaline phosphatase*), wczesnego markera różnicowania osteoblastów, a aktywnością kinazy FAK w warunkach *in vitro*. Osteopontyna może wyzwać ekspresję genu alkalicznej fosfatazy poprzez aktywację FAK za pośrednictwem integryn. Udowodniono także, iż wzrost fosforylacji FAK w komórkach mezenchymalnych szpiku, spowodowany stymulacją cyklopeptydów, koreluje ze wzrostem markerów specyficznych dla osteoblastów, m.in. osteokalcyny, oraz ze wzrostem procesu mineralizacji. Aktywacja FAK jako wstępny etap szlaku związanego z kinazą MAP, wpływa pośrednio na aktywację specyficznych dla osteoblastów czynników transkrypcyjnych m.in. Runx2, co potwierdza udział kinazy FAK w różnicowaniu komórek osteogennych [29].

Aktywacja kinazy FAK wpływa zarówno na fenotyp osteoblastów, jak i ich podstawowe procesy komórkowe. Perinpanayagam z zespołem [32] dowiedli, że poziom fosforylacji kinazy tyrozynowej FAK spada w osteoblastach osteoporotycznych w stosunku do komórek zdrowych, nieosteoporotycznych. Osteoblasty pochodzące z miejsc osteoporotycznych znacznie słabiej przylegają i wolniej rosną, a także mają mniejsze i trudne do rozpoznania płytki przylegania jak również zmiany

w cytoszkielecie aktynowym. Hydroliza fosfotyrozyny w cząsteczce FAK, nawet gdy obecne są płytki przylegania i zorganizowany cytoszkielet aktynowy, może prowadzić do aktywacji szlaków zależnych od FAK prowadzących do apoptozy. To z kolei może prowadzić do późniejszej utraty przez osteoblasty zdolności do inaktywacji ścieżek sygnalizacyjnych związanych z procesem wzrostu a następnie z rozwojem osteoporozy [32].

Dotychczasowe badania dotyczące komórek zróżnicowanych [24, 32] sugerują, że FAK jest częścią systemu przekazującego sygnał do dojrzewania prawidłowych osteoblastów oraz osteoblastycznych linii komórkowych [35]. Salaszynk i wsp. [34] wykazali, iż laminina 5, należąca do białek macierzy zewnątrzkomórkowej, stymuluje aktywację genów charakterystycznych dla fenotypu osteoblastów: Runx2 i Osterix. Dowodzi to, iż laminina 5 jest w stanie indukować proces osteogenezy. Zablokowanie aktywności FAK wpływa hamująco na ekspresję tych genów. Wykazano zatem, że laminina 5 poprzez stymulację FAK pobudza różnicowanie komórek w kierunku osteogennym w warunkach *in vitro*.

Na zakończenie należy podkreślić, że jak dotąd nie ma doniesień, jak kinaza FAK funkcjonuje *in vivo*. Jedynie na podstawie badań w hodowli *in vitro*, należy wnosić, że zahamowanie ekspresji FAK może uniemożliwiać prawidłowe tworzenie kości *in vivo*.

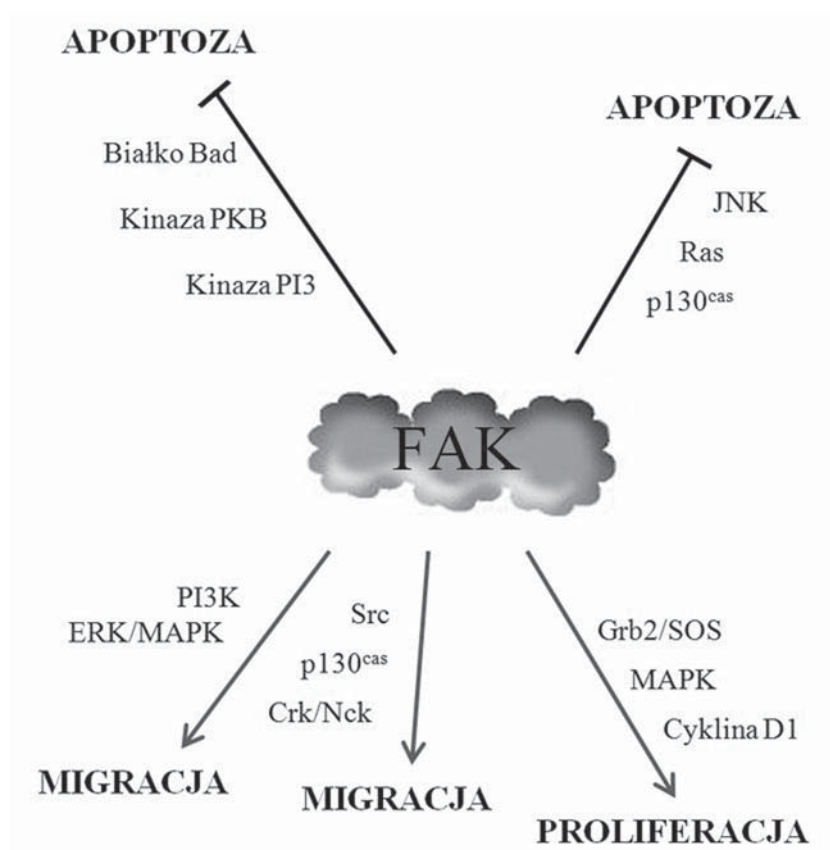
Wykazane dotychczas znaczenie kinazy FAK dla różnicowania osteoblastów wskazuje, iż należy zwrócić uwagę na rolę tego białka w badaniach nad komórkami osteogennymi, wykorzystywanymi do transplantacji w chirurgii odtwórczej kości.

TABELA 1. Rola kinazy FAK w osteogenezie i biologii osteoblastów

TABLE 1. Role of focal adhesion kinase in osteogenesis and osteoblast biology

Proces	Zaangażowany czynnik	Uwagi
Adhezja	*	Komponent płytek przylegania
Apoptoza	Kaspazy c-IAP, c-IAP2, X-IAP inhibitory kaspaz	Wczesna apoptoza związana z proteolitycznym rozpadem FAK, w wyniku którego powstaje FRNK Zahamowanie apoptozy przy nadekspresji FAK
Proliferacja i różnicowanie	*	Konieczna obecność FAK w komórce. Wpływ FAK na tworzenie macierzy kolagenowej, ekspresję ALP i osteokalcyny (markery różnicowania osteoblastów) Bezpośredni wpływ na tworzenie, przebudowę oraz odnowę kości
Dojrzewanie prawidłowych osteoblastów	*	Wpływ FAK na ekspresję czynników transkrypcyjnych: Runx2 i Osterix
Osteoporoza	*	Zmniejszona ekspresja FAK w osteoblastach osteoporotycznych

\* czynniki zaangażowane w ścieżki transdukcji sygnału za pośrednictwem FAK (szczegółowe informacje w tekście)



RYCINA 3. Szlaki przekazywania sygnału, w których pośredniczy kinaza FAK, prowadzące do proliferacji, migracji i różnicowania komórek (opis w tekście)  
 FIGURE 3. Signaling pathways mediated by FAK, that regulate proliferation, migration and cell differentiation (description in the text)

### PODSUMOWANIE

Ścieżka sygnałowa z udziałem kinazy FAK wpływa na regulację kilku podstawowych funkcji komórki, takich jak: adhezja, proliferacja, różnicowanie, migracja czy też ochrona przed apoptozą (ryc. 3).

Procesy te odgrywają istotną rolę w strukturze, funkcjonowaniu, a także prawidłowej odbudowie komórek i tkanek. Z punktu widzenia znaczenia FAK dla różnicowania osteoblastów ważne jest, że aktywacja cząsteczki FAK skutkuje pośrednio ekspresją specyficznych dla osteoblastów czynników transkrypcyjnych, takich jak Runx2 czy Osterix. Można zatem przypuszczać, że kinaza FAK jest częścią systemu przekazującego sygnał do dojrzewania prawidłowych ludzkich osteoblastów oraz osiągnięcia dojrzałego fenotypu komórek kości dla osteoblastycznych linii komórkowych. Podsumowanie roli FAK w procesie osteogenezy i biologii osteoblastów przedstawiono w tabeli zamieszczonej wyżej.

Perspektywy zastosowań klinicznych z wykorzystaniem ludzkich osteoblastów w medycynie regeneracyjnej skłaniają do poszerzania wiedzy dotyczącej procesu adhezji oraz roli kinazy FAK w biologii osteoblastów.

### PODZIĘKOWANIA

Pragniemy podziękować dr hab. Małgorzacie Lewandowskiej-Szumieł za cenne wskazówki i uwagi dotyczące niniejszego manuskryptu.

### LITERATURA

- [1] BOUDREAU NJ, JONES PL. Extracellular matrix and integrin signalling: the shape of things to come. *Biochem J* 1999; **339** (Pt 3): 481–488.
- [2] CARLUCCI A, GEDRESSI C, LIGNITTO L, NEZI L, VILLA-MORUZZI E, AVVEDIMENTO EV, GOTTESMAN M, GARBI C, FELICIELLO A. Protein-tyrosine phosphatase PTPD1 regulates focal adhesion kinase autophosphorylation and cell migration. *J Biol Chem* 2008; **283**(16): 10919–10929.
- [3] CARON-LORMIER G, BERRY H. Amplification and oscillations in the FAK/Src kinase system during integrin signaling. *J Theor Biol* 2005; **232**(2): 235–248.
- [4] CARY LA, GUAN JL. Focal adhesion kinase in integrin-mediated signaling. *Front Biosci* 1999; **4**: D102–113.
- [5] CHATZIZACHARIAS NA, KOURAKLIS GP, THEOCHARIS SE. Clinical significance of FAK expression in human neoplasia. *Histol Histopathol* 2008; **23**(5): 629–650.
- [6] CHATZIZACHARIAS NA, KOURAKLIS GP, THEOCHARIS SE. Disruption of FAK signaling: a side mechanism in cytotoxicity. *Toxicology* 2008; **245**(1–2): 1–10.
- [7] COX BD, NATARAJAN M, STETTNER MR, GLADSON CL. New concepts regarding focal adhesion kinase promotion of cell migration and proliferation. *J Cell Biochem* 2006; **99**(1): 35–52.
- [8] CUKIRMAN E, PANKOV R, STEVENS DR, YAMADA KM. Taking cell-matrix adhesions to the third dimension. *Science* 2001; **294**: 1708–1712.
- [9] GABARRA-NIECKO V, SCHALLER MD, DUNTY JM. FAK regulates biological processes important for the pathogenesis of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2003; **22**(4): 359–374.
- [10] GUICHEUX J, LEMONNIER J, GHAYOR C, SUZUKI A, PALMER G, CAVERZASIO J. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase and c-Jun-NH2-terminal kinase by BMP-2 and their implication in the stimulation of osteoblastic cell differentiation. *J Bone Miner Res* 2003; **18**(11): 2060–2068.
- [11] HSU YL, KUO PL. Diosmetin induces human osteoblastic differentiation through the protein kinase C/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *J Bone Miner Res* 2008; **23**(6): 949–960.
- [12] HUGHES-FULFORD M. The role of signaling pathways in osteoblast gravity perception. *J Gravit Physiol* 2002; **9**(1): P257–260.
- [13] JACAMO R, JIANG X, LUNN JA, ROZENGURT E. FAK phosphorylation at Ser-843 inhibits Tyr-397 phosphorylation, cell spreading and migration. *J Cell Physiol* 2007; **210**(2): 436–444.
- [14] KI CS, PARK SY, KIM HJ, JUNG HM, WOO KM, LEE JW, PARK YH. Development of 3-D nanofibrous fibroin scaffold with high porosity by electro-spinning: implications for bone regeneration. *Biotechnol Lett* 2008; **30**(3): 405–410.
- [15] KIM JB, LEUCHT P, LUPPEN CA, PARK YJ, BEGGS HE, DAMSKY CH, HELMS JA. Reconciling the roles of FAK in osteoblast differentiation, osteoclast remodeling, and bone regeneration. *Bone* 2007; **41**(1): 39–51.
- [16] KLEES RF, SALASZNYK RM, WARD DF, CRONE DE, WILLIAMS WA, HARRIS MP, BOSKEY A, QUARANTA V, PLOPPER GE. Dissection of the osteogenic effects of laminin-332 utilizing specific LG domains: LG3 induces osteogenic differentiation, but not mineralization. *Exp Cell Res* 2008; **314**(4): 763–773.
- [17] KUMEI Y, SHIMOKAWA H, OHYA K, KATANO H, AKIYAMA H, HIRANO M, MORITA S. Small GTPase Ras and Rho expression in rat osteoblasts during spaceflight. *Ann NY Acad Sci* 2007; **1095**: 292–299.



- [18] KUNDU AK, PUTNAM AJ. Vitronectin and collagen I differentially regulate osteogenesis in mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **347**(1): 347–357.
- [19] LEUCHT P, KIM JB, CURREY JA, BRUNSKI J, HELMS JA. FAK-Mediated mechanotransduction in skeletal regeneration. *PLoS ONE* 2007; **2**(4): e390.
- [20] LIAN JB, STEIN JL, STEIN GS, VAN WIJNEN AJ, MONTECINO M, JAVED A, GUTIERREZ S, SHEN J, ZAIDI SK, DRISSI H. Runx2/Cbfa1 functions: diverse regulation of gene transcription by chromatin remodeling and co-regulatory protein interactions. *Connect Tissue Res* 2003; **44** Suppl 1: 141–148.
- [21] LIM JY, DREISS AD, ZHOU Z, HANSEN JC, SIEDLECKI CA, HENGSTEBECK RW, CHENG J, WINOGRAD N, DONAHUE HJ. The regulation of integrin-mediated osteoblast focal adhesion and focal adhesion kinase expression by nanoscale topography. *Biomaterials* 2007; **28**(10): 1787–1797.
- [22] LIU YK, UEMURA T, NEMOTO A, YABE T, FUJII N, USHIDA T, TATEISHI T. Osteopontin involvement in integrin-mediated cell signaling and regulation of expression of alkaline phosphatase during early differentiation of UMR cells. *FEBS Lett* 1997; **420**(1): 112–116.
- [23] LUND AW, BUSH JA, PLOPPER GE, STEGEMANN JP. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in defined protein beads. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008; **87**(1): 213–221.
- [24] MANDUCA P, MARCHISIO S, ASTIGIANO S, ZANOTTI S, GALMOZZI F, PALERMO C, PALMIERI D. FMS\*Calciumfluor specifically increases mRNA levels and induces signaling via MAPK 42,44 and not FAK in differentiating rat osteoblasts. *Cell Biol Int* 2005; **29**(8): 629–637.
- [25] MARIE PJ. Transcription factors controlling osteoblastogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2008; **473**(2): 98–105.
- [26] MELOCHE S, POUYSSEGUR J. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene* 2007; **26**(22): 3227–3239.
- [27] NOTH U, TULI R, SEGHA TOLESLAMI R, HOWARD M, SHAH A, HALL DJ, HICKOK NJ, TUAN RS. Activation of p38 and Smads mediates BMP-2 effects on human trabecular bone-derived osteoblasts. *Exp Cell Res* 2003; **291**(1): 201–211.
- [28] OKUMURAA, GOTO M, GOTO T, YOSHINARI M, MASUKO S, KATSUKI T, TANAKA T. Substrate affects the initial attachment and subsequent behavior of human osteoblastic cells (Saos-2). *Biomaterials* 2001; **22**(16): 2263–2271.
- [29] PALLU S, BAREILLE R, DARD M, KESSLER H, JONCZYKA, VERNIZEAU M, AMEDEE-VILAMITJANA J. A cyclo peptide activates signaling events and promotes growth and the production of the bone matrix. *Peptides* 2003; **24**(9): 1349–1357.
- [30] PANTA GR, DU L, NWARIAKU FE, KIM LT. Direct phosphorylation of proliferative and survival pathway proteins by RET. *Surgery* 2005; **138**(2): 269–274.
- [31] PARSONS JT. Focal adhesion kinase: the first ten years. *J Cell Sci* 2003; **116**(Pt 8): 1409–1416.
- [32] PERINPANAYAGAM H, ZAHARIAS R, STANFORD C, BRAND R, KELLER J, SCHNEIDER G. Early cell adhesion events differ between osteoporotic and non-osteoporotic osteoblasts. *J Orthop Res* 2001; **19**(6): 993–1000.
- [33] REZZONICO R, CAYATTE C, BOURGET-PONZIO I, ROMEY G, BELHACENE N, LOUBAT A, ROCCHI S, VAN OBERGHEEN E, GIRAULT JA, ROSSI B, SCHMID-ANTOMARCHI H. Focal adhesion kinase pp125FAK interacts with the large conductance calcium-activated hSlo potassium channel in human osteoblasts: potential role in mechanotransduction. *J Bone Miner Res* 2003; **18**(10): 1863–1871.
- [34] SALASZNYK RM, KLEES RF, BOSKEY A, PLOPPER GE. Activation of FAK is necessary for the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on laminin-5. *J Cell Biochem* 2007; **100**(2): 499–514.
- [35] SALASZNYK RM, KLEES RF, WILLIAMS WA, BOSKEY A, PLOPPER GE. Focal adhesion kinase signaling pathways regulate the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2007; **313**(1): 22–37.
- [36] SCHALLER MD. Biochemical signals and biological responses elicited by the focal adhesion kinase. *Biochim Biophys Acta* 2001; **1540**(1): 1–21.
- [37] SCHLAEPFER DD, HAUCK CR, SIEG DJ. Signaling through focal adhesion kinase. *Prog Biophys Mol Biol* 1999; **71**(3-4): 435–478.
- [38] SCHLAEPFER DD, MITRA SK. Multiple connections link FAK to cell motility and invasion. *Curr Opin Genet Dev* 2004; **14**(1): 92–101.
- [39] SCHOBER M, RAGHAVAN S, NIKOLOVA M, POLAK L, PASOLLI HA, BEGGS HE, REICHARDT LF, FUCHS E. Focal adhesion kinase modulates tension signaling to control actin and focal adhesion dynamics. *J Cell Biol* 2007; **176**(5): 667–680.

- [40] SUZAWA M, TAMURA Y, FUKUMOTO S, MIYAZONO K, FUJITA T, KATO S, TAKEUCHI Y. Stimulation of Smad1 transcriptional activity by Ras-extracellular signal-regulated kinase pathway: a possible mechanism for collagen-dependent osteoblastic differentiation. *J Bone Miner Res* 2002; **17**(2): 240–248.
- [41] TAKAHASHI MO, TAKAHASHI Y, IIDA K, OKIMURA Y, KAJI H, ABE H, CHIHARA K. Growth hormone stimulates tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase (p125(FAK)) and actin stress fiber formation in human osteoblast-like cells, Saos2. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **263**(1): 100–106.
- [42] TAMURA Y, TAKEUCHI Y, SUZAWA M, FUKUMOTO S, KATO M, MIYAZONO K, FUJITA T. Focal adhesion kinase activity is required for bone morphogenetic protein – Smad1 signaling and osteoblastic differentiation in murine MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res* 2001; **16**(10): 1772–1779.
- [43] TANG CH, YANG RS, HUANG TH, LU DY, CHUANG WJ, HUANG TF, FU WM. Ultrasound stimulates cyclooxygenase-2 expression and increases bone formation through integrin, focal adhesion kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt pathway in osteoblasts. *Mol Pharmacol* 2006; **69**(6): 2047–2057.
- [44] TANG CH, YANG RS, LIOU HC, FU WM. Enhancement of fibronectin synthesis and fibrillogenesis by BMP-4 in cultured rat osteoblast. *J Bone Miner Res* 2003; **18**(3): 502–511.
- [45] TERRY LJ, SHOWS EB, WENTE SR. Crossing the nuclear envelope: hierarchical regulation of nucleocytoplasmic transport. *Science* 2007; **318**(5855): 1412–1416.
- [46] TILGHMAN RW, PARSONS JT. Focal adhesion kinase as a regulator of cell tension in the progression of cancer. *Semin Cancer Biol* 2008; **18**(1): 45–52.
- [47] TONG L, BUCHMAN SR, IGNELZI MA, JR., RHEE S, GOLDSTEIN SA. Focal adhesion kinase expression during mandibular distraction osteogenesis: evidence for mechanotransduction. *Plast Reconstr Surg* 2003; **111**(1): 211–222; discussion 223–4.
- [48] TURNER CE. Paxillin interactions. *J Cell Sci* 2000; **113** Pt 23: 4139–4140.
- [49] VAN NIMWEGEN MJ, VAN DE WATER B. Focal adhesion kinase: a potential target in cancer therapy. *Biochem Pharmacol* 2007; **73**(5): 597–609.
- [50] WANG C, YANG R, YUE D, ZHANG Z. Expression of FAK and PTEN in Bronchioloalveolar Carcinoma and Lung Adenocarcinoma. *Lung* 2009.???
- [51] WARD DF, JR., WILLIAMS WA, SCHAPIRO NE, WEBER GL, CHRISTY SR, SALT M, KLEES RF, BOSKEY A, PLOPPER GE. Focal adhesion kinase signaling controls cyclic tensile strain enhanced collagen I-induced osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Mol Cell Biomech* 2007; **4**(4): 177–188.
- [52] WEDERELL ED, DE IONGH RU. Extracellular matrix and integrin signaling in lens development and cataract. *Semin Cell Dev Biol* 2006; **17**(6): 759–776.
- [53] ZACHARY I. Focal adhesion kinase. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; **29**(7): 929–934.
- [54] ZHAO J, GUAN JL. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; **28**(1–2): 35–49.

*Redaktor prowadzący – Janusz Kubrakiewicz*

*Otrzymano: 13.06. 2009 r.*

*Przyjęto: 28.09. 2009 r.*

*Edyta Wróbel*

*Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Warszawski Uniwersytet Medyczny*

*ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa,*

*E-mail: edyta.wrobel@wum.edu.pl*

*Joanna Leszczyńska e-mail: joanna.leszczynska@wum.edu.pl*