

POMEN NEVROTROFIČNIH DEJAVNIKOV PRI NEURODEGENERATIVNIH BOLEZNIH

THE IMPORTANCE OF NEUROTROPHIC FACTORS IN NEURODEGENERATIVE DISORDERS

AVTORICI / AUTHORS:

asist. Selena Horvat, mag. farm.
izr. prof. dr. Anja Pišlar, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: anja.pislar@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Funkcija živčnega sistema je odvisna od visokospecifičnih stikov, ki se tvorijo med nevroni med njihovim razvojem. Iz nevrinov se razvijejo posamezni aksoni in multipli dendriti, ki so potrebni za tvorbo stikov, pri čemer pa je za pravilno razporeditev v centralnem živčevju odgovorna nevroglia

POVZETEK

Proteini z nevrotrofično aktivnostjo, t. i. nevrotrofični dejavniki, omogočajo preživetje, diferenciacijo, regeneracijo in vzdrževanje nevronov v centralnem živčnem sistemu. Zaradi svojega delovanja so pomembni pri neurodegenerativnih boleznih, saj zaščitijo poškodovane nevrone pred propadom in spodbujajo njihovo regeneracijo. Posnemanje delovanja nevrotrofičnih dejavnikov in molekul, ki izkazujejo nevrotrofično aktivnost, tako predstavlja možnosti za razvoj novih terapevtskih pristopov za zdravljenje neurodegenerativnih bolezni.

KLJUČNE BESEDE:

nevrotrofični dejavniki, nevrotrofini, neurodegeneracija, neurodegenerativne bolezni, trofična podpora

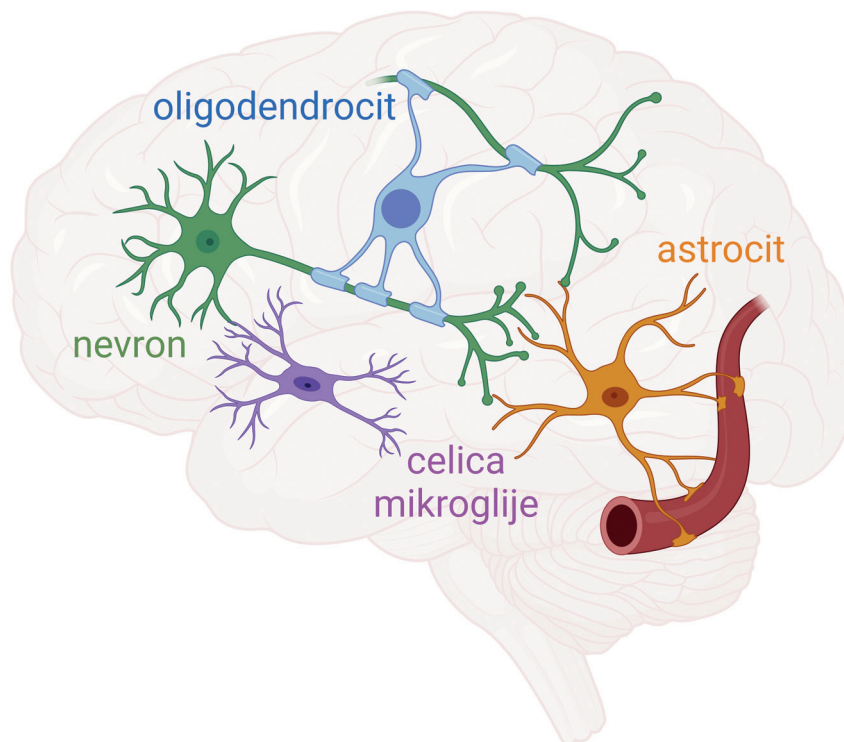
ABSTRACT

Proteins exerting neurotrophic activity, so-called neurotrophic factors, promote cell survival, differentiation, regeneration and maintenance of neurons in the central nervous system. Because of their action, they are important in neurodegenerative diseases, as they protect neurons from neuronal damage and promote their regeneration. Mimicking the mode of action of neurotrophic factors and molecules that exert neurotrophic activity thus presents opportunities for the development of new therapeutic approaches for the treatment of neurodegenerative diseases.

KEY WORDS:

neurodegeneration, neurodegenerative diseases, neurotrophic factors, neurotrophins, trophic support

(slika 1). Slednje predstavljajo samostojne celice; astrociti, oligodendrociti in celice mikroglije. Astrociti vzdržujejo homeostazo, prenos hranil, vode in kisika do nevronov ter zagotavljajo nevrotrofično podporo, medtem ko je glavna naloga oligodendrocitov tvorba mielinske ovojnice in s tem izboljšanje prevajanja električnih impulzov po nevronih. Celice mikroglije delujejo kot specializirani makrofagi, katerih naloga je zagotavljanje imunskega nadzora v centralnem živčnem sistemu (1). Slednjim poleg pasivne podporne vloge pripisujejo dve nasprotujoči si delovanji: nevrotoksično delovanje, ki vključuje sproščanje vnetnih citokinov in radikalov, ter nevroprotektivno delovanje, ki



Slika 1: Celice in njihove povezave v centralnem živčnem sistemu. Poleg nevronov se v centralnem živčnem sistemu nahajajo tudi celice glije, ki se delijo na astrocite, oligodendrocite in mikroglijo ter skupaj delujejo kot podporne celice nevronom. Ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 1: Cells and their connections in the central nervous system. Besides neurons, the central nervous system comprises glial cells, divided into astrocytes, oligodendrocytes, and microglia, which collectively serve as supporting cells for neurons. Created with BioRender.com.

temelji na izločanju antioksidantov in nevrotrofičnih dejavnikov (2, 3).

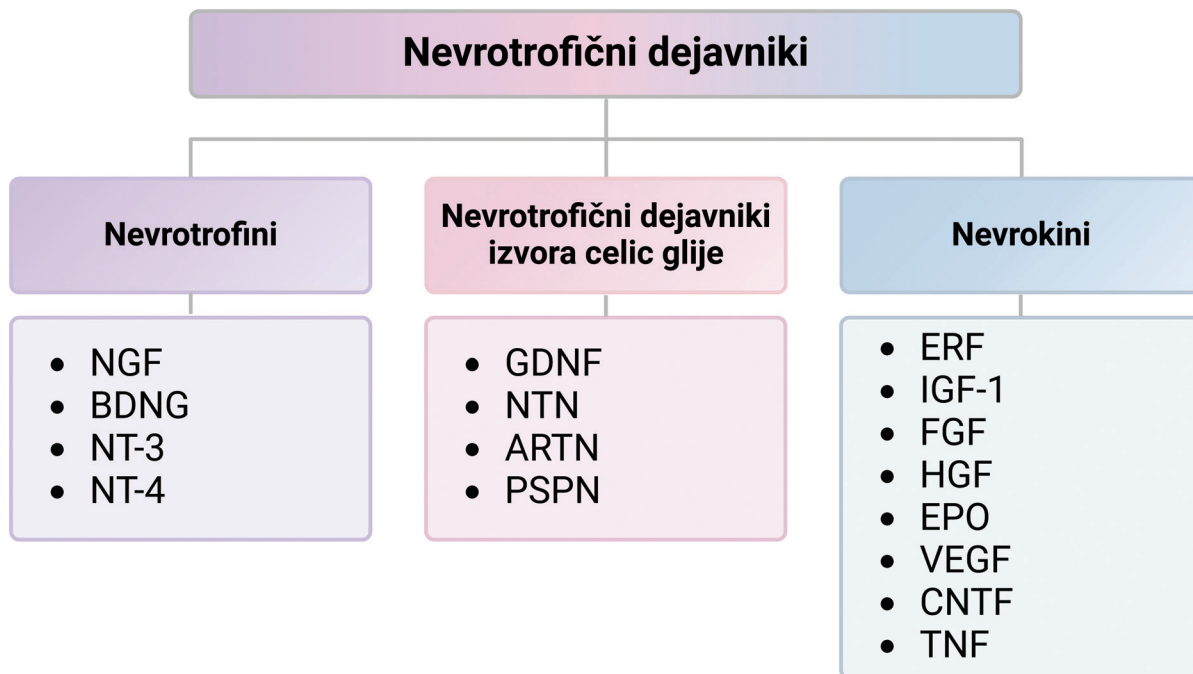
Za razvoj nevronov so ključnega pomena prav nevrotrofični dejavniki. Ti s svojim delovanjem, nudenjem trofične podpore, omogočajo preživetje, proliferacijo, diferenciacijo, regeneracijo ter vzdrževanje nevronov in njihovih povezav. Med razvojem nastaja prekomerno število nevronov, zato so slednji primorani tekmovati za omejene količine nevrotrofičnih dejavnikov. Nevroni, ki dobijo zadostno količino nevrotrofičnih dejavnikov, preživijo, drugi pa v procesu programirane celične smrti umrejo (4). Na ta način se uravnava število nevronov in nevronskih povezav v razvijajočem se centralnem živčnem sistemu (5).

Nevrotrofični dejavniki s svojim delovanjem spodbujajo izražanje genov, ki so ključni za preživetje, hkrati pa z zavi-ranjem »samomorilskih genov«, ki lahko spodbudijo apoptozo, delujejo zaščitno in preprečijo smrt nevronskih celic (6, 7). Nevrotrofični dejavniki so zato pomembni pri nevrodegenerativnih boleznih, kjer pride do izgube nevronov,

saj imajo sposobnost, da zaščitijo poškodovane nevrone pred propadom in sprožijo njihovo razrast preko delovanja na znotrajcelične signalne poti (5, 8, 9).

2 NEVROTROFIČNI DEJAVNIKI

Nevrotrofični dejavniki so endogeni proteini, ki so odgovorni za rast, diferenciacijo in preživetje nevronov ter njihovo regeneracijo, poleg tega pa pomagajo tudi pri vzpostavitvi sinaptičnih povezav, ki so nujno potrebne za normalno delovanje nevronskih celic (10). Nevrotrofične dejavnike delimo v tri večje skupine, in sicer nevrotrofine, nevrotrofične dejavnike izvora celic glije in nevrokine (slika 2) (10). Do danes so največ znanstvene pozornosti namenili nevrotrofinom, med katere štejemo živčni rastni de-



Slika 2: Razvrstitev neurotrofičnih dejavnikov glede na njihovo strukturo in funkcijo. NGF, živčni rastni dejavnik; BDNF, neurotrofični dejavnik možganskega izvora; NT-3, neurotrofin 3; NT-4, neurotrofin 4; GDNF, rastni dejavnik glialnega izvora; NTN, neurturin; ARTN, artemin; PSPN, persephin; EGF, epidermalni rastni dejavnik; IGF-1, insulinu podoben rastni dejavnik 1; FGF, rastni dejavnik fibroblastov; HGF, hepatocitni rastni dejavnik; EPO, eritropoetin; VEGF, žilni endoteljski rastni dejavnik; CNTF, ciliarni neurotrofični dejavnik; TNF, dejavnik tumorske nekroze.

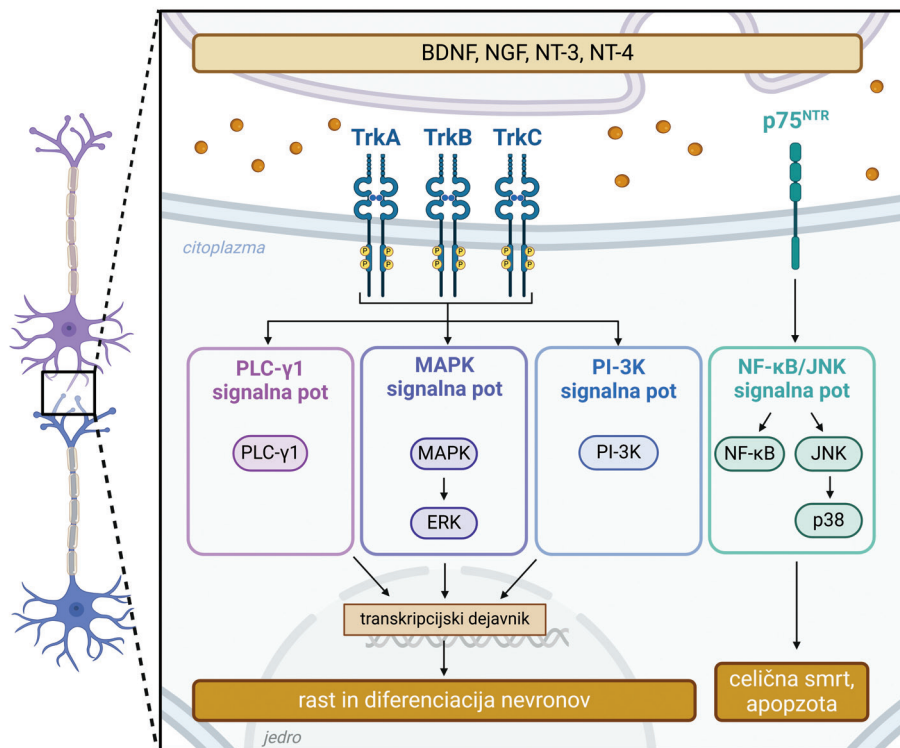
Figure 2: Classification of neurotrophic factors according to their structure and function. NGF, nerve growth factor; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; NT-3, neurotrophin-3; NT-4, neurotrophin-4; GDNF, glial-derived neurotrophic factor; NTN, neurturin; ARTN, artemin; PSPN, persephin; EGF, epidermal growth factor; IGF-1, insulin-like growth factor; FGF, fibroblast growth factor; HGF, hepatocyte growth factor; EPO, erythropoietin; VEGF, vascular endothelial growth factor; CNTF, ciliary neurotrophic factor; TNF, tumor necrosis factor.

javnik (NGF), neurotrofični dejavnik možganskega izvora (BDNF), neurotrofin 3 (NT-3) in neurotrofin 4/5 (NT-4/5) (9, 11).

Neurotrofini delujejo preko dveh vrst receptorjev (slika 3), in sicer preko receptorjev družine tropomiozinu sorodne kinaze (Trk) in preko neurotrofinskega receptorja p75 (p75^{NTR}), ki spada v naddružino receptorjev za dejavnik tumorske nekroze. Receptorji družine Trk, med katere uvrščamo receptorje TrkA, TrkB in TrkC, so visokoafinitetni receptorji z intrinzično tirozin kinazno aktivnostjo in so pri vezavi ligandov selektivni. NGF je specifičen ligand za receptor TrkA, ki je transmembranski protein s tirozin kinazno aktivnostjo in ima dve vezavni mesti; eno je nespecifično, drugo pa specifično za interakcijo z NGF. Receptor TrkB predstavlja receptor za neurotrofina BDNF in NT-4, receptor TrkC pa predstavlja receptor za neurotrofin NT-3 (12). Po vezavi liganda na receptor iz družine Trk sledita dimerizacija ter avtofosforilacija receptorja, kar vodi do sproženja znotrajceličnih signalnih poti (9).

Najpomembnejše signalne poti, ki so vključene v preživetje in diferenciacijo nevronov, so z mitogenom aktivirana protein kinazna pot (MAPK), fosfatidilinozitol-3-kinazna pot (PI-3K) in fosfolipazna C-1 γ (PLC- γ 1) pot (13). Vloga signalne poti PI-3K je spodbujanje preživetja nevronov in rasti aksonov (14), signalna pot MAPK pa igra pomembno vlogo pri diferenciaciji nevronov, pri čemer je za učinek potrebna aktivacija serin-treoninskih kinaz Raf ter z zunajceličnim signalom regulirane proteinske kinaze (ERK) (15, 16). Pot PLC- γ 1 je pomembna tudi pri uravnavanju celične diferenciacije in preživetja (3).

Pomembno vlogo v procesih diferenciacije in nevitogeneze imajo tudi GTP-aze Rho, ki so ključni regulatorji organizacije aktinskega citoskeleta. Dinamično preoblikovanje citoskeleta je bistveno za rast nevitov, iz katerih se razvijejo posamezni aksoni in multipli dendriti. Med bolj raziskanimi člani družine sta Cdc42 in Rac2, ki sta pozitivna regulatorja rasti nevitov (17), ter RhoA, ki zavira podaljševanje nevitov in upočasnjuje proces nevitogeneze (18).



Slika 3: Znotrajcelične signalne poti, povezane z delovanjem nevrotrofinov. Vezava nevrotrofina na receptor iz družine Trk (TrkA, TrkB in TrkC) spodbudi aktivacijo signalnih poti PLC- γ 1 in MAPK, kar povzroči prednostno rast in diferenciacijo nevronov, medtem ko aktivacija signalne poti PI-3K primarno spodbudi celično preživetje. Aktivacija signalne poti preko receptorja p75^{NTR} je odgovorna za uravnavanja celične smrti. Ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 3: Intrinsic signalling pathways associated with neurotrophin action. Neurotrophin binding to the Trk family receptor (TrkA, TrkB and TrkC) induces activation of the PLC- γ 1 and MAPK signalling pathways that primarily leads to growth and differentiation of neurons, while activation of the PI-3K signalling pathway primarily promotes cell survival. Activation of the p75^{NTR} signalling pathway is responsible for regulating cell death. Created with BioRender.com.

Poleg vezave na tirozin kinazne receptorje, ki vodijo v izkazovanje nevrotrofičnih učinkov, se nevrotrofini vežejo tudi na nizkoafinitetni nevrotrofinski receptor p75^{NTR}, ki je udeležen pri uravnavanju celičnega preživetja in apoptoze (19). Na receptor p75^{NTR} se lahko v nasprotju s selektivnejšim receptorjem iz družine Trk vežejo vsi nevrotrofini. Interakcije, ki jih povzročajo nevrotrofini z vezavo bodisi na receptorje iz družine Trk bodisi na receptor p75^{NTR} imajo pogosto nasprotno posledice. Slednje so delno pojasnili v raziskavah, ki so pokazale, da imata dva različna razreda receptorjev, Trk in p75^{NTR}, različna prednostna liganda za vezavo nanje, in sicer se na receptor p75^{NTR} prednostno vežejo prooblake nevrotrofinov, torej pronevrotrofini, medtem ko se na receptorje iz družine Trk vežejo zrele oblike nevrotrofinov (20). Tako vezava pro-NGF na receptor p75^{NTR} sproži aktivacijo znotrajceličnih signalnih poti, med njimi

signalne poti NF- κ B in preko aktivacije kinaz JNK in p38 signalno pot MAPK, kar vodi v apoptozo nevronov (21–23). Za delovanje nevrotrofinov in izkazovanje trofične podpore je pomembna tudi medsebojna interakcija njihovih receptorjev, do katerih pride tako na ravni receptorjev kot tudi na ravni znotrajcelične signalizacije (9, 24).

3 PROTEINI Z IZKAZANIM NEVROTROFIČNIM DELOVANJEM

Vse več proteinov je prepoznanih, da poleg opravljanja svoje osnovne funkcije prek različnih mehanizmov prispevajo tudi k nevrotrofični podpori nevronske celice ter vplivajo

na procese, kot so rast, preživetje in diferenciacija. Nevrotrofičnim dejavnikom podobno delovanje izkazuje tudi izoencim enolaze, γ -enolaza, saj poveča preživetje kortikalnih nevronov (25, 26). Dosedanje raziskave so pokazale, da C-končni del γ -enolaze izkazuje nevrotrofično aktivnost na plazemski membrani nevronske celice (25–27). Po prenosu γ -enolaze spodbuja preživetje celic, diferenciacijo in rast nevrinov z aktivacijo dveh signalnih poti, preko katerih vršijo svojo trofično aktivnost tudi nevrotrofini, in sicer z aktivacijo signalnih poti PI-3K in MAPK (28). Hkrati so pokazali, da je receptor Trk vezni partner γ -enolaze in da je tirozin kinazna aktivnost receptorja Trk potrebna za nevrotrofično signalizacijo, posredovano z γ -enolazo, kar je značilno tudi za delovanje nevrotrofinov (29).

Protein z izkazanim nevrotrofičnim delovanjem je tudi nevrolevkin, saj delovanje slednjega poveča preživetje nevronov in tvorbo nevrinov (30, 31). Podobno je protein laminin, ki je glikoprotein in glavna sestavina bazalne membrane, ena od ključnih molekul, ki sodelujejo pri uravnavanju adhezije, rasti in diferenciacije celic (32). Raziskave so poročale, da laminin spodbuja izražanje nevrinov v nevronih pri odraslih miših v odsotnosti nevrotrofinov (33) ter spodbuja izražanje nevrinov v človeških mezenhimskih matičnih celicah z aktivacijo signalne poti MAPK v odsotnosti seruma in diferenciacijskih faktorjev, kar nakazuje na njegove nevrotrofične lastnosti v možganih (34, 35).

Nadalje, sintaza dušikovega oksida (NOS) presega svojo primarno vlogo proizvodnje dušikovega oksida (NO), molekule, ki je vključena v procese vazodilatacije in imunskega odziva. Raziskave so pokazale, da NO, pridobljen iz endotelijske NOS, izkazuje nevrotrofične učinke, medtem ko NO, pridobljen iz inducibilne NOS, prispeva k nevrotoksičnosti (36). Podobno antioksidativni encim superoksid dismutaza (SOD) z zmanjšanjem ravni superoksidnih radikalov prispeva k celični homeostazi in preprečuje poškodbe, ki bi sicer vodile do apoptoze (37). Raziskave na mišjem modelu so pokazale, da prekomerno izražanje SOD, izooblike SOD-1, ščiti nevrone pred nevrotoksičnimi učinki amiloida beta, medtem ko izguba SOD-1 pospeši s staranjem povezane patologije (38–40). Poleg tega se je pokazalo, da ima signalna pot PI-3K ključno vlogo pri zaščiti nevronov in zaviranju apoptoze s povečanjem izražanja SOD (41).

Protein S100B je citoplazemski protein, ki z visoko afiniteto veže kalcij in se značilno izraža v celicah gljive (42). Nevrotrofični učinek proteina S100B so dokazali pri nizkih nanomolarnih koncentracijah, na račun spodbujanja podaljševanja nevrinov, zaščite preživetja nevronov, preprečevanja nevrotoksičnih poškodb in povečane aktivnosti livilcev

reaktivnih kisikovih zvrsti (43–45). Nasprotno pa S100B povzroča toksične, provnetne učinke pri visokih mikromolarnih koncentracijah (46–48). Odkritja različnih proteinov, ki presegajo svoje osnovne funkcije in prispevajo k nevrotrofični podpori, poudarjajo kompleksnost mehanizmov v živčnem sistemu.

4 POMEN NEVROTROFIČNE AKTIVNOSTI PRI NEVRODEGENERACIJI

Nevrodegeneracija oz. nevrodegenerativne motnje so skupaj kompleksnih patoloških stanj, kjer so primarno prizadeti nevroni v centralnem živčnem sistemu. Najpogosteje se pojavijo v srednji ali pozni starosti, zato predvidevamo, da bodo zaradi starajočega se prebivalstva predstavljale vedno večji zdravstveni problem. Nevrotrofični dejavniki zaradi trofičnega delovanja izkazujejo potencialno vlogo pri zdravljenju nevrodegenerativnih boleznih, kot so Alzheimerjeva bolezen, Parkinsonova bolezen, Huntingtonova bolezen, multipla skleroza in amiotrofična lateralna skleroza. Raven izražanja nevrotrofinov in preostalih nevrotrofičnih dejavnikov ter njihovo delovanje je okrnjeno pri številnih nevrodegenerativnih boleznih, kar končno vodi v degeneracijo nevronov in njihov propad (10).

V centralnem živčnem sistemu ima BDNF vlogo glavnega nevrotrofina zaradi obilnega izražanja receptorja TrkB. Več raziskav je poudarilo povezavo med Alzheimerjevo boleznijo in ravno izražanja BDNF. Zmanjšane ravni proteina BDNF kot tudi ravni mRNA v neokorteksu in hipokampusu kažejo, da ima BDNF pomembno vlogo pri patologiji te bolezni. Podobno so poročali o pomembnem znižanju ravni BDNF v periferni krvi bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo (49), raven BDNF pa je bila prav tako znatno zmanjšana v možganih, serumu in cerebrospinalni tekočini pri bolnikih z blago obliko Alzheimerjeve bolezni (50). Raziskave na transgenih mišjih modelih Alzheimerjeve bolezni so pokazale, da je povišana raven izražanja BDNF bistveno izboljšala kognitivne funkcije miši (50–52).

Nižje ravni BDNF so prav tako pokazali v serumih bolnikov z multiplo sklerozo, zmanjšano izločanje BDNF iz imunskih celic pa se je odražala v zmanjšani zaščitni vlogi le-teh (53, 54). Raven izražanja BDNF je povezana tudi s patologijo Parkinsonove bolezni. Več raziskav je pokazalo znatno znižanje serumskih ravni BDNF pri bolnikih s Parkinsonovo boleznijo, kar se odraža v kognitivnih motnjah in sindromu nemirnih nog (49). Poleg tega so pokazali, da so nižje ravni



BDNF pomembno povezane z degeneracijo nigrostriatnega sistema, kar je značilnost patologije Parkinsonove bolezni (55), hkrati pa so pokazali zmanjšane ravni izražanja BDNF v dopaminergičnih nevronih črnega jedra v možganih s patologijo Parkinsonove bolezni (56). Nadalje so pokazali, da so zmanjšane ravni izražanja BDNF in receptorja TrkB v perifernem živčevju pri bolnikih s Parkinsonovo boleznijo neposredno povezane z degeneracijo dopaminergičnih nevronov (57). Pri Huntingtonovi bolezni je transport BDNF od kortikalnih do striatnih nevronov pomanjkljiv, kar prispeva k selektivni izgubi striatnih nevronov in prostovoljnih gibov mišic pri bolnikih s to boleznijo (58, 59).

V perifernem živčnem sistemu je NGF prevladujoči nevrotrifin, ki deluje na simpatične in senzorične nevrone. V centralnem živčnem sistemu NGF zagotavlja trofično podporo holineričnim nevronom bazalnega sprednjega dela možganov, ki izražajo TrkA, kar je znatnega pomena pri preprečevanju patologije Alzheimerjeve bolezni. Pokazali so znižane ravni NGF predvsem v bazalnih holineričnih nevronih sprednjega dela možganov in kortikalnih projekcijah v možganskem tkivu s patologijo Alzheimerjeve bolezni ter v plazmi bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo (10, 60). Podobno so opazili spremembe v ravni izražanja NGF v predkliničnih raziskavah na živalih kot tudi v kliničnih vzorcih bolnikov s Parkinsonovo boleznijo. Pokazali so znižano raven NGF v dopaminergičnih nevronih v črnem jedru, ki so podvrženi propadu med napredovanjem te bolezni (61). Spremembo v ravni izražanja NGF kot tudi BDNF so pokazali tudi v nišah matičnih celic, pri čemer se je izkazalo, da nevrotrifina spodbujata regeneracijo tkiv zunaj živčnega sistema (62).

Nenazadnje imata nevrotrifina NT-3 in NT-4/5 prav tako obetaven potencial, čeprav sta manj raziskana. NT-3 z vezavo na receptor TrkC uravnava preživetje nevronov, podpira diferenciacijo nevronov in spodbuja njihovo rast in diferenciacijo novih nevronov in sinaps (63, 64). Rezultati raziskav *in vivo* nakazujejo na sposobnost regenerativnega delovanja NT-3, saj se je izkazalo, da je udeležen pri preoblikovanju tkiva v poškodovani hrbtenjači in s tem spodbujanju regeneracije poškodovanih nevronov v živčnem sistemu (64, 65).

5 KLINIČNA UPORABNOST NEVROTROFIČNIH DEJAVNIKOV

Kljub potencialni terapevtski vlogi nevrotrifinčnih dejavnikov so raziskave opozorile na številne težave, povezane z nji-

hovo klinično uporabo (66). Večina nevrotrifinčnih dejavnikov ima kratek razpolovni čas *in vivo*, slabe farmakokinetične lastnosti in zelo nizke stopnje prehoda skozi krvno-možgansko pregrado (67). Hkrati je njihov dostop do tarčnih celic omejen zaradi proteolitične razgradnje, različnih mehanizmov njihovega odstranjevanja, potencialne imunogenosti in sekvenciranja z vezavo drugih proteinov ter sestavin krvi in perifernih tkiv (67). Dostavni sistem nevrotrifinčnih dejavnikov z neposredno intracerebroventrikularno infuzijo se je izkazal za neuspešen, saj so raziskave razkrile pomembne neželene učinke z malo klinične koristi (68, 69). Z namenom premostiti omejitve trenutnih dostavnih sistemov in izboljšati terapevtski potencial nevrotrifinčnih dejavnikov so raziskovalci usmerjeni v razvoj inovativnih strategij, ki bi omogočale bolj ciljano usmerjeno dostavo neposredno k tistim nevronskim fenotipom, značilno prizadetim v boleznih (60). Med te pristope sodi uporaba genetsko modificiranih mezenhimskih matičnih celic ali nevrnalnih matičnih celic za izločanje nevrotrifinčnih dejavnikov, ki je pokazala visoko stopnjo učinkovitosti pri različnih živalskih modelih (52). Ta pristop je uspešno zmanjšal degenerativne spremembe in kognitivno upadanje, ki so značilni za proces staranja, ne da bi pri tem povzročil neželene učinke, opažene pri intracerebroventrikularni infuziji (70, 71). Zmožnost teh celic, da vzdržujejo aktivno izločanje nevrotrifinčnih dejavnikov za obdobje več mesecev, predstavlja pomemben napredek dolgotrajne terapevtske učinkovitosti (70, 71). Uspeh te metode je omogočil prehod v fazo kliničnih prekušanj, kar predstavlja prelomnico v razvoju naprednih strategij za obravnavo nevrodegenerativnih bolezni in kognitivnih motenj (72).

Pristopi genske terapije, ki uporabljajo virusne vektorje, so prav tako izkazali učinkovito ciljano dostavo manjših količin nevrotrifinčnih dejavnikov. Ta metoda omogoča, da virusni vektor trajno spremeni genetski material nevrone, kar mu omogoča, da sam proizvaja nevrotrifinčne dejavnike. Poleg tega je za doseganje terapevtskega učinka potrebna samo ena injekcija na ciljnim mestu, kar zmanjša potrebo po večkratnih in invazivnih postopkih (60). Doslej so raziskave genske terapije nevrotrifinčnih vključevale uporabo lentivirusnih konstruktov, ki izražajo BDNF, pri modelih Alzheimerjeve bolezni glodavcev in primatov. Ugotovili so, da ta pristop izboljša celično signalizacijo in zmanjšuje izgubo nevronov (73). Genska terapija, ki uporablja lentivirusni konstrukto za izražanje NGF, je v modelu s podganami pokazala obetavne rezultate pri ohranjanju holineričnih nevronov (74). Preglednica 1 predstavlja pregled kliničnih prekušanj različnih terapevtskih pristopov, ki uporabljajo nevrotrifinčne dejavnike, natančneje nevrotrifine za zdravljenje nevroloških stanj.

Preglednica 1: Pregled kliničnih preskušanj nevrotrofičnih dejavnikov za zdravljenje nevroloških stanj.

Table 1: An overview of clinical trials of neurotrophic factors for the treatment of neurological conditions.

Nevrotrofični dejavnik	Nevrološko stanje	Terapevtski pristop	Cilj kliničnega preskušanja	Faza kliničnega preskušanja	Status
NGF	amiotrofična lateralna skleroza	genetsko modificirane mezenhimske matične celice	učinkovitost in varnost NurOwn®, ki dostavlja nevrotrofične dejavnike za izboljšanje preživetja nevronov in upočasnitev napredovanja bolezni	faza 3 (NCT03280056)	zaključena
BDNF	Alzheimerjeva bolezen in blaga kognitivna motnja	genska terapija	učinkovitost in varnost BDNF genske terapije pri upočasnjevanju ali preprečevanju izgube nevronov	faza 1 (NCT05040217)	v teku
NGF	Alzheimerjeva bolezen	genska terapija	proučiti CERE-110, eksperimentalno zdravilo, ki proizvaja NGF, za izboljšanje funkcij živčnih celic v možganih	faza 2 (NCT00876863)	zaključena

6 SKLEP

Vse več raziskav potrjuje, da je pomanjkanje nevrotrofične podpore pomemben dejavnik pri razvoju neurodegenerativnih bolezni, pri katerih pride do degeneracije osrednjega živčevja in propada nevrnskih povezav. Zaradi izgube motoričnih in kognitivnih sposobnosti so nevrotrofični dejavniki obetavni kandidati za zdravljenje tovrstnih bolezni, saj s svojim delovanjem spodbujajo preživetje, diferenciacijo, regeneracijo in ohranjanje nevronov ter njihovih povezav. Vrednotenje potencialnih terapevtskih učinkov nevrotrofičnih dejavnikov na živalskih modelih in v kliničnih fazah preskušanj je nakazalo obetavne rezultate, vendar zaradi slabih farmakokinetičnih lastnosti proteinov in težavnega prehanja v centralni živčni sistem želeni rezultati niso bili doseženi. Za učinkovitejše zdravljenje neurodegenerativnih bolezni se usmerja razvoj v iskanje novih, manjših molekul, ki bi bile sposobne posnemati ali uravnati trofično delovanje nevrotrofičnih dejavnikov oz. molekul, ki izkazujejo nevrotrofično delovanje.

7 LITERATURA

- Albert K, Niskanen J, Kälvälä S, Lehtonen Š. Utilising Induced Pluripotent Stem Cells in Neurodegenerative Disease Research: Focus on Glia. *IJMS*. 2021 Apr 21;22(9):4334.
- Li L, Lu J, Tay SSW, Mochhala SM, He BP. The function of microglia, either neuroprotection or neurotoxicity, is determined by the equilibrium among factors released from activated microglia in vitro. *Brain Research*. 2007 Jul;1159:8–17.
- Singh S, Swarnkar S, Goswami P, Nath C. Astrocytes and Microglia: Responses to Neuropathological Conditions. *International Journal of Neuroscience*. 2011 Oct 13;121(11):589–97.
- Harrington AW, Ginty DD. Long-distance retrograde neurotrophic factor signalling in neurons. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013 Mar;14(3):177–87.
- Connor B, Dragunow M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain. *Brain Research Reviews*. 1998 Jun;27(1):1–39.
- Araujo DM, Chabot JG, Quirion R. Potential Neurotrophic Factors in the Mammalian Central Nervous System: Functional Significance in the Developing and Aging Brain. *International Review of Neurobiology*. Elsevier; 1990. p. 141–74.
- Nagtegaal ID, Lakke EAJF, Marani E. Trophic and Tropic Factors in the Development of the Central Nervous System. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 1998 Jan;106(3):161–202.

8. Hansen MR, Zha XM, Bok J, Green SH. Multiple Distinct Signal Pathways, Including an Autocrine Neurotrophic Mechanism, Contribute to the Survival-Promoting Effect of Depolarization on Spiral Ganglion Neurons In Vitro. *J Neurosci*. 2001 Apr 1;21(7):2256–67.
9. Kaplan DR, Miller FD. Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Current Opinion in Cell Biology*. 1997 Apr;9(2):213–21.
10. Sampaio T, Savall A, Gutierrez MZ, Pinton S. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neural Regeneration Research*. 2017;12(4):549.
11. Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. In: Lewin GR, Carter BD, editors. *Neurotrophic Factors*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014.
12. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*. 2003 Apr;4(4):299–309.
13. Segal RA, Greenberg ME. Intracellular Signaling Pathways Activated by Neuropathic Factors. *Annual Review of Neuroscience*. 1996 Mar;19(1):463–89.
14. Kim Y, Seger R, Suresh Babu CV, Hwang SY, Yoo YS. A positive role of the PI3-K/Akt signaling pathway in PC12 cell differentiation. *Molecules and Cells*. 2004 Dec 31;18(3):353–9.
15. Pang L, Sawada T, Decker SJ, Saltiel AR. Inhibition of MAP Kinase Kinase Blocks the Differentiation of PC-12 Cells Induced by Nerve Growth Factor. *Journal of Biological Chemistry*. 1995 Jun;270(23):13585–8.
16. Reffas S, Schlegel W. Compartment-specific regulation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-Jun N-terminal kinase (JNK) mitogen-activated protein kinases (MAPKs) by ERK-dependent and non-ERK-dependent inductions of MAPK phosphatase (MKP)-3 and MKP-1 in differentiating P19 cells. *Biochemical Journal*. 2000 Dec 15;352(3):701–8.
17. Jin E, Nosaka K, Sano M. NGF-dependent formation of ruffles in PC12D cells required a different pathway from that for neurite outgrowth. *Neurochemistry International*. 2007 Jul;51(2–4):216–26.
18. Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature*. 2002 Dec;420(6916):629–35.
19. Gentry JJ, Barker PA, Carter BD. The p75 neurotrophin receptor: multiple interactors and numerous functions. In: *Progress in Brain Research*. Elsevier; 2004. p. 25–39.
20. Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Regulation of Cell Survival by Secreted Proneurotrophins. *Science*. 2001 Nov 30;294(5548):1945–8.
21. Costantini C, Rossi F, Formaggio E, Bernardoni R, Cecconi D, Della-Bianca V. Characterization of the Signaling Pathway Downstream p75 Neurotrophin Receptor Involved in β -Amyloid Peptide-Dependent Cell Death. *JMN*. 2005;25(2):141–56.
22. Dechant G, Barde YA. The neurotrophin receptor p75NTR: novel functions and implications for diseases of the nervous system. *Nature Neuroscience*. 2002 Nov;5(11):1131–6.
23. Yaar M, Zhai S, Panova I, Fine RE, Eisenhauer PB, Blusztajn JK, et al. A cyclic peptide that binds p75 NTR protects neurons from beta amyloid (1–40)-induced cell death. *Neuropathology Appl Neurobio*. 2007 Oct;33(5):533–43.
24. Bibel M. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors *trk* and p75NTR. *The EMBO Journal*. 1999 Feb 1;18(3):616–22.
25. Hattori T, Ohsawa K, Mizuno Y, Kato K, Kohsaka S. Synthetic Peptide Corresponding to 30 Amino Acids of the C-Terminal of Neuron-Specific Enolase Promotes Survival of Neocortical Neurons in Culture. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1994 Jul;202(1):25–30.
26. Hattori T, Takei N, Mizuno Y, Kato K, Kohsaka S. Neurotrophic and neuroprotective effects of neuron-specific enolase on cultured neurons from embryonic rat brain. *Neuroscience Research*. 1995 Jan;21(3):191–8.
27. Hafner A, Obermajer N, Kos J. Gamma-1-Syntrophin Mediates Trafficking of Gamma-Enolase towards the Plasma Membrane and Enhances Its Neurotrophic Activity. *Neurosignals*. 2010;18(4):246–58.
28. Hafner A, Obermajer N, Kos J. γ -Enolase C-terminal peptide promotes cell survival and neurite outgrowth by activation of the PI3K/Akt and MAPK/ERK signalling pathways. *Biochem J*. 2012 Apr 15;443(2):439–50.
29. Pišlar A, Kos J. γ -Enolase enhances *Trk* endosomal trafficking and promotes neurite outgrowth in differentiated SH-SY5Y cells. *Cell Commun Signal*. 2021 Dec;19(1):118.
30. Chaput M, Claes V, Portetelle D, Cludts I, Cravador A, Burny A, et al. The neurotrophic factor neuroleukin is 90% homologous with phosphohexose isomerase. *Nature*. 1988 Mar;332(6163):454–5.
31. Gurney ME, Heinrich SP, Lee MR, Yin HS. Molecular Cloning and Expression of Neuroleukin, a Neurotrophic Factor for Spinal and Sensory Neurons. *Science*. 1986 Oct 31;234(4776):566–74.
32. Yamamoto T, Iwasaki Y, Yamamoto H, Konno H, Isemura M. Intra-neuronal laminin-like molecule in the central nervous system: demonstration of its unique differential distribution. *Journal of the Neurological Sciences*. 1988 Mar;84(1):1–13.
33. Plantman S, Patarroyo M, Fried K, Domogatskaya A, Tryggvason K, Hammarberg H, et al. Integrin-laminin interactions controlling neurite outgrowth from adult DRG neurons in vitro. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2008 Sep;39(1):50–62.
34. Mruthyunjaya S, Manchanda R, Godbole R, Pujari R, Shiras A, Shastry P. Laminin-1 induces neurite outgrowth in human mesenchymal stem cells in serum/differentiation factors-free conditions through activation of FAK–MEK/ERK signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010 Jan;391(1):43–8.
35. Winokur PN, Subramanian P, Bullock JL, Arocas V, Becerra SP. Comparison of two neurotrophic serpins reveals a small fragment with cell survival activity. *Molecular Vision*. 2017;23:372–84.
36. Garry PS, Ezra M, Rowland MJ, Westbrook J, Pattinson KTS. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment — From bench to bedside. *Experimental Neurology*. 2015 Jan;263:235–43.
37. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*. 2020 Jul 2;11:694.
38. Iadecola C, Zhang F, Niwa K, Eckman C, Turner SK, Fischer E, et al. SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein. *Nature Neuroscience*. 1999 Feb;2(2):157–61.
39. De Haan JB, Newman JD, Kola I. Cu/Zn superoxide dismutase mRNA and enzyme activity, and susceptibility to lipid peroxidation, increases with aging in murine brains. *Molecular Brain Research*. 1992 Apr;13(3):179–87.
40. Murakami K, Murata N, Noda Y, Tahara S, Kaneko T, Kinoshita N, et al. SOD1 (Copper/Zinc Superoxide Dismutase) Deficiency Drives Amyloid β Protein Oligomerization and Memory Loss in

- Mouse Model of Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2011 Dec;286(52):44557–68.
41. Matsuda H, Seo Y, Takahama K. A novel method of species identification using human muscle-specific β -enolase. *Leg Med*. 2000 Mar;2(1):42–5.
 42. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, et al. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *Journal of Neurochemistry*. 2019 Jan;148(2):168–87.
 43. Nishiyama H, Knöpfel T, Endo S, Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002 Mar 19;99(6):4037–42.
 44. E. Clementi M, Sampaiolese B, Giardina B. S100b Induces Expression of Myoglobin in AP β Treated Neuronal Cells In Vitro: A Possible Neuroprotective Mechanism. *CAS*. 2016 Oct 14;9(4):279–83.
 45. Reali C, Scintu F, Pillai R, Donato R, Michetti F, Sogos V. S100b counteracts effects of the neurotoxicant trimethyltin on astrocytes and microglia. *Journal of Neuroscience Research*. 2005 Sep;81(5):677–86.
 46. Koppal T, Lam AG, Guo L, Van Eldik LJ. S100B proteins that lack one or both cysteine residues can induce inflammatory responses in astrocytes and microglia. *Neurochemistry International*. 2001;39(5–6):401–7.
 47. Lam AG, Koppal T, Akama KT, Guo L, Craft JM, Samy B, et al. Mechanism of glial activation by S100B: involvement of the transcription factor NFkappaB. *Neurobiology of Aging*. 2001;22(5):765–72.
 48. Schmitt KRL, Kern C, Lange PE, Berger F, Abdul-Khaliq H, Hendrix S. S100B modulates IL-6 release and cytotoxicity from hypothermic brain cells and inhibits hypothermia-induced axonal outgrowth. *Neuroscience Research*. 2007 Sep;59(1):68–73.
 49. Azman KF, Zakaria R. Recent Advances on the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Neurodegenerative Diseases. *IJMS*. 2022 Jun 19;23(12):6827.
 50. Blurton-Jones M, Kitazawa M, Martinez-Coria H, Castello NA, Müller FJ, Loring JF, et al. Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Aug 11;106(32):13594–9.
 51. Choi SH, Bylykbashi E, Chatila ZK, Lee SW, Pulli B, Clemenson GD, et al. Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model. *Science*. 2018 Sep 7;361(6406).
 52. El Ouaamari Y, Van Den Bos J, Willekens B, Cools N, Wens I. Neurotrophic Factors as Regenerative Therapy for Neurodegenerative Diseases: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *IJMS*. 2023 Feb 15;24(4):3866.
 53. Karimi N, Ashourzadeh H, Akbarzadeh Pasha B, Haghshomar M, Jouzdani T, Shobeiri P, et al. Blood levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in people with multiple sclerosis (MS): A systematic review and meta-analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2022 Sep;65:103984.
 54. Azoulay D, Urshansky N, Karni A. Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of MS patients is related to reduced neuroprotection. *Journal of Neuroimmunology*. 2008 Mar;195(1–2):186–93.
 55. Hernández-Vara J, Sáez-Francàs N, Lorenzo-Bosquet C, Corominas-Roso M, Cuberas-Borròs G, Lucas-Del Pozo S, et al. BDNF levels and nigrostriatal degeneration in “drug naïve” Parkinson's disease patients. An “in vivo” study using I-123-FP-CIT SPECT. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2020 Sep;78:31–5.
 56. Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, et al. Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*. 1999 Jul;270(1):45–8.
 57. Huang Y, Huang C, Yun W. Peripheral BDNF/TrkB protein expression is decreased in Parkinson's disease but not in Essential tremor. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2019 May;63:176–81.
 58. Gauthier LR, Charrin BC, Borrell-Pagès M, Dompierre JP, Rangone H, Cordelières FP, et al. Huntingtin Controls Neurotrophic Support and Survival of Neurons by Enhancing BDNF Vesicular Transport along Microtubules. *Cell*. 2004 Jul;118(1):127–38.
 59. Strand AD, Baquet ZC, Aragaki AK, Holmans P, Yang L, Cleren C, et al. Expression Profiling of Huntington's Disease Models Suggests That Brain-Derived Neurotrophic Factor Depletion Plays a Major Role in Striatal Degeneration. *The Journal of Neuroscience*. 2007 Oct 24;27(43):11758–68.
 60. Weissmiller AM, Wu C. Current advances in using neurotrophic factors to treat neurodegenerative disorders. *Transl Neurodegener*. 2012 Dec;1(1):14.
 61. Nagatsu T, Sawada M. Biochemistry of postmortem brains in Parkinson's disease: historical overview and future prospects. In: Gerlach M, Deckert J, Double K, Koutsilieris E, editors. *Neuropsychiatric Disorders An Integrative Approach*. Vienna: Springer Vienna; 2007: p. 113–20.
 62. Marsh SE, Blurton-Jones M. Neural stem cell therapy for neurodegenerative disorders: The role of neurotrophic support. *Neurochemistry International*. 2017 Jun;106:94–100.
 63. Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, McGowen LR, Shine HD. Neurotrophin-3 Expressed In Situ Induces Axonal Plasticity in the Adult Injured Spinal Cord. *The Journal of Neuroscience*. 2003 Feb 15;23(4):1424–31.
 64. Oudega M, Hao P, Shang J, Haggerty AE, Wang Z, Sun J, et al. Validation study of neurotrophin-3-releasing chitosan facilitation of neural tissue generation in the severely injured adult rat spinal cord. *Experimental Neurology*. 2019 Feb;312:51–62.
 65. Elliott Donaghue I, Tator CH, Shoichet MS. Sustained delivery of bioactive neurotrophin-3 to the injured spinal cord. *Biomaterials Science*. 2015;3(1):65–72.
 66. Bartus RT, Johnson EM. Clinical tests of neurotrophic factors for human neurodegenerative diseases, part 1: Where have we been and what have we learned? *Neurobiology of Disease*. 2017 Jan;97:156–68.
 67. Thorne RG, Frey WH. Delivery of Neurotrophic Factors to the Central Nervous System: Pharmacokinetic Considerations. *Clinical Pharmacokinetics*. 2001;40(12):907–46.
 68. Seiger Å, Nordberg A, Von Holst H, Bäckman L, Ebendal T, Alafuzoff I, et al. Intracranial infusion of purified nerve growth factor to an Alzheimer patient: The first attempt of a possible future treatment strategy. *Behavioural Brain Research*. 1993 Nov;57(2):255–61.
 69. Eriksdotter Jönhagen M, Nordberg A, Amberla K, Bäckman L, Ebendal T, Meyerson B, et al. Intracerebroventricular Infusion of Nerve Growth Factor in Three Patients with Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 1998;9(5):246–57.
 70. Chen KS, Masliah E, Mallory M, Gage FH. Synaptic loss in cognitively impaired aged rats is ameliorated by chronic human nerve growth factor infusion. *Neuroscience*. 1995 Sep;68(1):19–27.



71. Conner JM, Darracq MA, Roberts J, Tuszynski MH. Nontropic actions of neurotrophins: Subcortical nerve growth factor gene delivery reverses age-related degeneration of primate cortical cholinergic innervation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001 Feb 13;98(4):1941–6.
72. Berry JD, Cudkowicz ME, Windebank AJ, Staff NP, Owegi M, Nicholson K, et al. NurOwn, phase 2, randomized, clinical trial in patients with ALS: Safety, clinical, and biomarker results. *Neurology*. 2019 Dec 10;93(24).
73. Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Tsukada S, Schroeder BE, Shaked GM, et al. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2009 Mar;15(3):331–7.
74. Blesch A, Conner J, Pfeifer A, Gasmi M, Ramirez A, Britton W, et al. Regulated lentiviral NGF gene transfer controls rescue of medial septal cholinergic neurons. *Molecular Therapy*. 2005 Jun;11(6):916–25.