

# Neurotroofsed tegurid

**Tõnis Timmusk, Indrek Koppel, Priit Pruunsild, Mari Sepp, Richard Tamme** – Tallinna Tehnikaülikooli geenitehnoloogia instituut

neurotrofiinid, NGF, BDNF, GDNF, närvisüsteemi haigused

**Neurotroofsed tegurid on sekreteeritavad valgulised kasvutegurid, mis osalevad väga mitmetes närvisüsteemi arengu ja talitluse jaoks olulistest protsessides, sh neuronite arvu, närvijätkete väljakasvu ning harunemise, neuronitevaheliste sünaptiliste ühenduste tekke ja plastilisuse ning kognitiivsete protsesside regulatsioonis. Kahe peamise rühmana eristatakse närvide kasvuteguri (NGF, BDNF, NT-3, NT-4) ja gliia päritolu neurotroofsete tegurite perekonda (GDNF, neurturiin, artemiin, persefiin). Tulenevalt neurotroofsete tegurite võimest hoida elus spetsiifilisi neuronipopulatsioone ja mõjutada närvijätkete kasvu uuritakse intensiivselt nende valkude või nende toimet mimikeerivate madalmolekulaarsete ühendite kliinilisi kasutusvõimalusi närvisüsteemi haiguste, k.a neurodegeneratiivsete haiguste, meeleolu- ning ärevushäirete, neuropaatiate ja seljaaju traumade ravis.**

## Närvisüsteemi areng ja neurotroofsed tegurid

Närvisüsteemi varast arengut mõjutavad protsessid, mis toimuvad enne neuronitevaheliste ühenduste, sünapside formeerumist. Nende varaste protsesside hulka kuuluvad 1) loote esmase närvisüsteemi kujunemine; 2) närvirakkude ehk neuronite sünd primitiivsetest eellasrakkudest; 3) peamiste ajustruktuuride moodustumine; 4) neuronite migratsioon oma sünnikohast lõppasukohta. Kui neuraalorust on moodustunud algelised pea- ja seljaajustruktuurid, algab aju püsielementide, neuronite ning gliiarakkude sünni- ja eristumisprotsess. Täiskasvanud inimese aju on umbes miljard neuronit ja veelgi enam gliiarakke. Kõik need rakud tekivad väga lühikese aja, umbes mõne kuu jooksul väiksest populatsioonist eellasrakkudest. Individuaalsete eellasrakkude arenguline valik sõltub kõige rohkem nende eristumise ajal toimivatest koostoimetest keskkonnaga ehk ümbritsevate rakkudega. Lõpptulemusena kontrollivad kõiki neid sündmusi rakk-rakk-kontaktid ja rakuspetsiifiline geeniregulatsioon. Valgud, mis osalevad varase arengu suunamises, osalevad hiljem ka täiskasvanud organismi funktsioneerimises, näiteks transkriptsioonitegurid, adhesioonimolekulid jpt. Nende valkude kirjeldamine on toonud selgust paljude haiguste, sh pärilike, tekkepõhjuste (1).

Pärast seda, kui neuronid on "leidnud" oma lõpp-asukoha, peab toimuma veel kaks suurt protsessi, et närvisüsteem hakkaks normaalselt funktsioneerima. Esiteks peavad tekkima ühendused eri närvisüsteemi piirkondade vahel. Teiseks, õigete partnerite-neuronite vahel peavad moodustuma spetsiifilised struktureeritud ühendused, mida nimetatakse sünapsideks. Neuronite võrgustike moodustumise aluseks on närviraku jätkete – aksonite – kasvamine õiges suunas õigesse kohta ja sünapside formeerumine. Neuronid peavad integreerima hulgaliselt erinevaid signaale, et teha kindlaks, kuhu saata aksonid, kas elada või surra, milliste rakkudega ja kui palju moodustada sünaptilisi kontakte ning kuidas neid säilitada. Sünaptiliste kontaktide moodustumisega algab arengus uus etapp: neuronid muutuvad edasisel eluspüsimisel teatud määral sõltuvaks oma märklaudkoest; märklauda puudumisel neuronite dendriidid ja aksonid atrofeeruvad ning selle tagajärjel neuronid lõpptulemusena surevad. Seda pikaajalist sõltuvust neuronite ja nende märklaudkudede vahel nimetatakse troofiliseks interaktsiooniks. Troofiliste interaktsioonide aluseks on signaal-molekulid – neurotroofsed tegurid (2).

Neurotroofsed tegurid täidavad kaht peamist funktsiooni: 1) suuremast neuronite populatsioonist teatud väikse hulga neuronite elushoidmine,

2) korrektse arvu ühenduste moodustamine ja säilitamine. See eeldab teatud hulga reeglite ja tingimuste olemasolu: 1) ellujäämiseks ja hiljem korrektse arvu märklaud-ühenduste moodustamiseks vajavad neuronid kindlat hulka troofilisi tegureid; 2) märklaud-koed sünteesivad ning varustavad enda suunas jätkeid suunavaid neuroneid sobivate troofiliste teguritega; 3) märklaud-koed sünteesivad troofilisi tegureid piiratud hulgal, selle tulemusena kasvavate neuronite ellujäämine toimub konkurentsitingimustes, kus teatud piiratud tegurihulgale konkureerivad suured neuronite populatsioonid. Neurotroofne hüpotees väidab, et neuronite märklaudkoed, kas mitteneuraalsed koed või teised neuronid, toodavad neurotrofiine väga kontrollitud ja piiratud hulgal. Lootelises ja varases sünnijärgses arengus ning kohati ka täiskasvanud organismis sõltub neuronite ellujäämine nende tegurite kriitilisest hulgast. Selle tulemuseks on teatud tegurite suhtes tundlike neuronite omavaheline konkurents, mis põhjustab „nõrgemate“ neuronite hukkumise. Üheks selliseks troofiliseks teguriks on närvi kasvutegur ehk NGF (*nerve growth factor*). NGFi avastasid Rita Levi-Montalcini ja Victor Hamburger 1950ndate alguses. Nad näitasid, et jäsemealge amputatsioon kana embrüo teatud arengustaadiumis viib enamiku nende motoneuronite degeneratsioonini, mis oleksid eemaldatud jäset innerveerinud. Nende katsete põhjal oletasid teadlased, et märklaudkude, mis antud katses oli jäsemealge, sekreteerib teatud signaali, mis on neuronite ellujäämiseks vajalik. Hiljem Rita Levi-Montalcini koos Stanley Coheniga eraldasid ja puhastasid valgu, mille nad nimetasid närvi kasvuteguriks, sest see valk indutseeris teatud närvirakkudel neuriitide massiivset väljakasvu. 1986. a said Rita Levi-Montalcini ja Stanley Cohen Nobeli auhinna füsioloogias ning meditsiinis (1–3).

### **NGF perekonna neurotroofsed tegurid – neurotrofiinid**

Kuigi NGF on kõige enam uuritud neurotroofne tegur, oli juba varasematest katsetest selge, et teatud neuronite populatsioonid ei olnud NGFist sõltuvad. Hilisemad tööd on kinnitanud, et NGF on vaid üks neurotrofiinide perekonna esindaja.

Praeguseks on selles perekonnas kirjeldatud veel kolme liiget: aju-päritoluga neurotroofne tegur (BDNF), neurotrofiin-3 (NT-3) ja neurotrofiin-4 (NT-4). Neurotrofiinid on suhteliselt väikesed evolutsiooniliselt konserveerunud sekreteeritavad valgud, millel on väga oluline roll selgroogsete närvisüsteemis. Neurotrofiinide tasemed määravad tasakaalu rakkude ellujäämise ja apoptoosi (programmeeritud rakusurma) vahel. Hiired, milles NGF, BDNF või NT-3 puuduvad, surevad peatselt pärast sündi. Isegi hiired, milles neurotrofiinide tasemed on poole võrra vähenenud vastava geeni ühe alleeli inaktiivsiooni tulemusena, on mitmete defektidega. Kuigi neurotrofiinid on oma struktuurilt väga sarnased, kattuvad nende funktsioonid vaid osaliselt. Neurotrofiinide selektiivsed funktsioonid tulenevad neid siduvate rakupinnal olevate Trk (*tropomyosin receptor kinase*) retseptorvalkude perekonnast. TrkA on peamine NGFi retseptor, TrkB – BDNF ja NT-4 retseptor, TrkC – NT-3 retseptor. Trk retseptorite ekspressioonist tulenevalt on neuronid teatavate neurotrofiinide suhtes selektiivsed. Trk retseptorid kuuluvad retseptor türosiinkinaaside superperekonda. Nad on oma struktuurilt ja aktiivsioonilt väga sarnased sellise mitteneuraalse kasvuteguri retseptoriga nagu EGF (epidermaalne kasvutegur) retseptor. Need sarnasused viitavad võimalusele, et Trk retseptorite ja teiste kasvutegurite poolt initsieeritud rakuksesed signaalsed kaskaadid on sarnased. Neurotrofiinide toimel aktiveerunud Trk retseptorid põhjustavad lõpptulemusena muutusi märklaudneuronite geenide ekspressiooni mustris, mis siis määrabki troofiliste interaktsioonide avaldumist. Teine klass retseptoreid, mis seob neurotrofiine, kannab nimetust p75. Viimast seostatakse suuresti rakkude programmeeritud surma ehk apoptoosiga (2, 3).

Neurotrofiinide kõige klassikalisemaks funktsiooniks on arenevate piirdenärvisüsteemi neuronite elushoidmine (vt eespool neurotroofne hüpotees). Näiteks NGF, BDNF, NT-3 ja NT-4 on vajalikud erinevate piirdenärvisüsteemi neuronite ellujäämiseks. Samas reguleerivad neurotrofiinid ka närviraku jätkete väljakasvu ja õiges suunas märklaudkoe juhtimist. Staadiumist, mil on moodustunud täiskasvanud neuronite populatsioon, hakkavad

troofilised signaalid kontrollima neuraalsete ühenduste moodustamist, eriti neuronite jätkete, aksonite ja dendriitide harude hulka, ulatust ning suurst (2, 3).

Neurotrofiinidel on ka olulised funktsioonid kesknärvisüsteemis (aju, seljaaju). Neurotrofiinid osalevad kesknärvisüsteemis rohkem neuronaaalse diferentseerumise ja rakulise fenotüübi regulatsioonis kui lihtsalt rakkude eluspüsimise toetamisel. Näiteks reguleerivad neurotrofiinid närvirakkude vaheliste spetsiifiliste ühenduste, sünapsite struktuuri ja funktsiooni. Närvirakud annavad infot edasi sünapsite kaudu, kasutades selleks mitmesuguseid virgatsaineid ehk neurotransmittereid. Neurotrofiinid reguleerivad neurotransmitterite dopamiini, serotoniini, noradrenaliini jt sisaldust. Näiteks BDNF geeni ühe geenikoopia inaktivatsiooniga (+/-) hiirtes on serotoniini sisaldused sünapsites vähenenud. Neurotrofiinid on olulised ka agressiivsuse, valutundlikkuse ja toitumise regulatsioonis: BDNF geeni inaktivatsiooniga mutantsed hiired on hüperaktiivsed, agressiivsed ja kannatavad ka liigsöömise all. Samuti on oluline märkida, et neurotrofiinide tasemeid reguleerib neuronaaalne aktiivsus, mis lubab arvata, et neuronite võrgustike kujunemise ajal võivad need valgud oluliselt mõjutada kogemusel põhinevaid protsesse nagu õppimist ja mälu. Nii arenevas kui ka täiskasvanud närvisüsteemis on sünaptilised ühendused väga dünaamilised: keskkonna mõjutuste tagajärjel kaovad vanad sünapsid ja tekivad uued. Seda protsessi nimetatakse ka sünaptiliseks plastilisuseks. Õppimisel ja mälus toimub uute sünapsite moodustamine ning neurotrofiinidel, eriti BDNFi, on selles väga tähtis funktsioon (2–4).

Neurotrofiinidest on kõige rohkem tähelepanu pälvinud BDNF tänu tema laialdasele ekspressioonile ja olulistele funktsioonidele nii kesknärvisüsteemis kui ka piirde-närvisüsteemis. BDNF mõjutab närvisüsteemi nii lootelises arengus kui ka sünnijärgses perioodis peaaegu igast aspektist: alates neuraalsest proliferatsioonist, migratsioonist, närvirakkude ellujäämisest, aksoni juhtimisest sihtmärgile, dendriitide kasvust ja harunemisest, sünapsite moodustamisest kuni neurotransmitterite vabastamiseni. BDNFi esineb suurtes kontsentratsioonides ka täiskasvanu teatud ajuosades, kus ta

reguleerib samu protsesse, tagades närvirakkude võrgustike funktsioneerimise. Ühenukleotiidne polümorfism inimese BDNF geenis, mis viib valiini asendumisele metioniiniga (Val66Met) BDNF valgu prodomeenis, põhjustab vähenenud neuraalse aktiivsuse poolt indutseeritud BDNF valgu sekretsiooni, mälu halvenemist ja eelsoodumust mitmeteks neuropsühhiaatrilisteks haigusteks, näiteks bipolaarne häire, ärevushaigused ning skisofreenia. BDNFi hulga vähenemine kaasneb paljude närvisüsteemi haigustega ja arvatavasti osaleb ka neist mitmete põhjustamises (vt allpool) (4).

### **GDNF perekonna neurotroofsed tegurid**

Lisaks NGF perekonna neurotrofiinidele on närvisüsteemi arengus, talitluses ja patoloogias oluline roll gliia päritolu neurotroofsete tegurite (*glial cell line-derived neurotrophic factor*) perekonna GFL (*GDNF Family Ligands*) valkudel GDNFi, neurturiinil, artemiinil ja persefiinil. Närvisüsteemi arengus osalevad GFL neurotrofiinid erinevate neuroniklasside elushoidmisel: eriti oluline on GDNF dopaminergiliste neuronite elushoidmiseks. GDNF osaleb ka sümpaatiliste neuronite migratsioonis ning koos neurturiiniga teatud parasümpaatiliste neuronite arengus (5).

GFL signaleerib läbi türosiinkinaasaset rakusisest domeeni omava retseptorvalgu RET, kasutades kaasretseptorina rakupinnale seotud GFR $\alpha$  perekonna valke GFR $\alpha$ 1, GFR $\alpha$ 2, GFR $\alpha$ 3, GFR $\alpha$ 4 (mis seonduvad vastavalt GDNF-iga, neurturiiniga, artemiiniga ja persefiiniga). Retseptorvalku kodeeriv c-ret on tuntud kui onkogeen, mis muteerununa võib viia päriliku ja mittepäriliku kilpnäärme kasvaja tekkeni. GDNF on oluline ka väljaspool närvisüsteemi, osaledes spermatogoonide uuenemisel ja diferentseerumisel ning toimides morfogeenina neeru arengus. RET, GDNF ja GFR $\alpha$  kodeerivate geenide eemaldamise tagajärjel ei arene hiirtel neere ning enteeriilist (soolestikku innerveerivat) närvisüsteemi (5).

GDNFi olulisim kliiniline tähtsus tuleneb tema võimest hoida elus keskaja dopaminergilisi neuroneid, mis degeneraeruvad Parkinsoni tõve korral (vt allpool). Seejuures pole GDNF vajalik samade rakkude ellujäämiseks embrüonaalse arengu vältel (5). GDNF hoiab elus ka spinaalseid ja

kraniaalseid motoneuroneid, mistõttu teda saaks potentsiaalselt rakendada amüotroofse lateraalskleroosi ravis. Hiljutised uuringud on näidanud GDNFi kui ravimärklauda narkosõltuvuse ja alkoholismi puhul (6). GDNFi rollist spermatogeneesis tuleneb ka tema potentsiaalne kliiniline tähtsus teatud tüüpi viljatuste ravis ja ka meeste kontratseptiivide väljatöötamisel (5).

Neurturiin hoiab elus keskaju dopaminergilisi ja basaalse eesaju kolinergilisi neuroneid ning seljaaju motoneuroneid, olles seega potentsiaalselt rakendatav parkinsonismi, Alzheimeri tõve ja amüotroofse lateraalskleroosi ravis (vt allpool). Artemiin aitab elus püsida sümpaatilistel ja sensoorsetel neuronitel, lisaks on tema kliiniline potentsiaal seotud kroonilise valu raviga. Persefiin soodustab hiire embrüonaalsete basaalse eesaju kolinergiliste neuronite elulemist, mistõttu seda oleks võimalik kasutada Alzheimeri tõve ravis (7). Persefiini saaks ka tõenäoliselt rakendada insuldi ravis, sest persefiini kodeeriva geenita hiirtel (kel samas areng ja füsioloogia on normaalsed) on insuldijärgsed kahjustused 300% võrra ulatuslikumad kui kontrollhiirtel ning persefiinil on neuroprotektiivset mõju insuldi loomudelites (7).

### **Neurotroofsed tegurid ja närvisüsteemi haigused**

Häired neurotroofsete tegurite funktsioonis arvatakse olevat paljude närvisüsteemihaiguste aluseks.

### **Neurodegeneratiivsed haigused**

Muutusi neurotroofsete tegurite tasemetes organismis on täheldatud mitmete neurodegeneratiivsete haiguste, sealhulgas Alzheimeri, Parkinsoni, Huntingtoni tõve ja amüotroofse lateraalskleroosi puhul. Kõik need haigused on progresseeruva iseloomuga ja hõlmavad kindlate neuronipopulatsioonide selektiivset hävimist. Praegu neurodegeneratiivsete haiguste ravis kasutusel olevad ravimid (näiteks kolinergilised teraapiad Alzheimeri ja levodopa Parkinsoni tõve puhul) on piiratud efektiivsusega: nende abil on küll võimalik haiguse kulgu aeglustada, kuid mitte peatada. Seetõttu on vajadus uute tõhusamate ravimite järele suur. Üheks paljulubavaks strateegiaks on taastada tundliku neuronipopulatsiooni neurotroofne tugi.

**Alzheimeri tõve (AT)** iseloomustab basaalse eesaju kolinergiliste neuronite järkjärguline suremine. Nende ajukoode ja hipokampusse projekteeruvate neuronite ellujäämises ning kolinergilise fenotüübi säilitamises on suur roll märklaudpiirkondade poolt toodetaval NGFi. AT patsientide basaalses eesajus on nii NGFi kui ka tema retseptori TrkA tasemed langenud juba haiguse varases staadiumis. Samal ajal pole vähenenud NGFi produtseerimine hipokampus ja korteksis, mis viitab sellele, et puudulik on NGFi retrograadne transport (8). Samuti arvatakse, et troofilise toe kadumine eelneb  $\beta$ -amüloidi naastude ja neurofibrillaarsete kämpude tekkele ning kolinergilise neurotransmissiooni vähenemisele. Kuigi eksogeense NGFi leevendavat mõju loomudelites kirjeldati juba üle 30 aasta tagasi, on selle kasutamine ravimina siiani olnud raskendatud. Oma suuruse ja polaarsuse tõttu ei ületa NGF efektiivselt hematoentsefaalbarjääri, samuti ilmnes esimeste kliiniliste katsetuste käigus, et NGFi intraventrikulaarse süstimisega kaasnevad tõsised kõrvalnähud (valu, kaalulangus). Et mitteesoovitavaid mõjusid ära hoida, oleks vaja NGF viia ainult märklaudrakkudeni basaalses eesajus, tema levimist teistesse piirkondadesse (näiteks dorsaaljuure ganglionitesse) tuleks vältida. NGFi lokaalseks manustamiseks loodetakse tulevikus kasutusele võtta raku- ja geeniteraapia. Üks esimesi I faasi kliinilisi katsetusi selles vallas tehti 2001. aastal. Varase staadiumi AT patsientide autoloogilisi fibroblaste modifitseeriti *ex vivo* geneetilisel NGFi kodeeriva retroviirusvektori abil ja transplanteeriti basaaltuumadesse. I faasi katsed on läbinud ka Ceregene'i arendatav *in vivo* geeniteraapia NGFi kodeeriva adeno-assotsieeritud viirusvektoriga (AAVV). Kummalgi juhul ei esinenud tõsiseid kõrvalnähtusid ning kognitiivsete võimete halvenemine vähenes (9).

**Parkinsoni tõve (PT)** korral degenerereeruvad musttuuma dopaminergilised neuronid ning see põhjustab nigrostriataalsete liikumist kontrollivate signaaliradade häirimise. Iseäranis mõjus dopaminergiliste neuronite ellujäämist ja morfoloogilist diferentseerumist toetav tegur on GDNF. Esmalt näidati GDNF teraapia tõhusust PT loomudelites. Paraku on seesuguste kliiniliste katsetuste tulemused

siiski vastuolulised. Kui GDNFi intraventrikulaarse süstimisega ei kaasnenud PT-patsientidel motoorsete defektide vähenemist, viis intraputaminaalse infusiooni abil Parkinsoni patsientide aiju viidud GDNF positiivse kliinilise efektini (10). Hilisem randomiseeritud kontrollidega kaksikpime kliiniline uuring oletas platseeboefekti. Seetõttu ja ka tekkinud ohutusriskidest lähtudes peatas Amgen, kel on patendiõigus GDNFi kasutamisel PT raviks, II faasi jõudnud kliinilised katsetused 2005. aastal (10). Siiski arvatakse, et GDNFi kliiniliste katsetuste vastuolulised tulemused seletuvad pigem GDNFi doosi ja aiju viimise komplitseeritusega kui selle valgu neuroprotektiivse toime puudumisega. Niisiis oleks ennatlik pidada GDNFi kasutamist PT korral kasutuks. Sarnaselt NGFi kasutamisega AT ravis on ka GDNFi puhul kõrvalnähtude ärahoidmiseks vajalik lokaalne manustamine. Lisaks GDNFi on PT ravis suur potentsiaal ka neurturiinil ja hiljuti identifitseeritud CDNFil (*conserved dopamine neurotrophic factor*) (11), mis on samuti dopaminergilisi neuroneid elushoidev neurotroofne tegur. II faasi kliinilised katsed, mis hõlmavad neurturiini kodeeriva AAVV (Cere-120) stereotaktiilist süstimist *putamen*'i, on siiani olnud edukad (12). Veel ühe alternatiivina nii Parkinsoni tõve loomudelites kui ka patsientidel on osutunud suhteliselt efektiivseks autoloogsete dopaminergiliste rakkude siirdamine, kasutades doonorrakkude allikana näiteks karotiidkeha (ingl *carotid body*).

Motoneuronite selektiivse suuremise põhjused **amüotroofse lateraalskleroosi** (ALS) patsientidel pole teada. Katsetest rakukultuuride ja katseloomadega on teada, et neurotroofsetel teguritel on motoneuronitele protektiivne mõju, mistõttu neid loodetakse kasutada ALSi ravis. On ka teada, et ALSi ravim rüüsu suurendab BDNFi ja GDNFi tasemeid. Samas siiani tehtud kliinilised uuringud, mille käigus ALS-patsientidele manustati nahaaluselt NGFi või BDNFi, on andnud väga tagasihoidlikke tulemusi (13).

Juttkeha GABA-ergilised neuronid, mis hävivad järk-järgult ja selektiivselt **Huntingtoni tõve** (HT) patsientidel, vajavad ellujäämiseks ajukoos toodetavat BDNFi. Kui AT ja PT korral pole neurotroofilise signaali vähenemise mehhanisme kirjeldatud, siis Huntingtoni tõve (HT) korral on teada, et mutantne ebanormaalselt pikka glutamiiniahelat sisaldav

Huntingtoni valk põhjustab BDNFi transkriptsiooni vähenemise (14). Lisaks on häiritud BDNFi vesikulaarne transport ja langenud TrkB ekspressioon *striatum*'is. BDNFi kontsentratsiooni tõstmine *striatum*'is viirusvektorite ja BDNFi ekspresseerivate rakkude abil on andnud julgustavaid tulemusi HT-katseloomadel, kuid kliiniliste katseteni need lähenemised veel jõudnud pole.

## Meeleolu- ja ärevushäired

Oluline roll meeleolu- ja ärevushäirete tekkel on stressil (15). Enne otseste seoste leidmist neurotrofiinidega avastati, et stress põhjustab atroofilisi protsesse hipokampuses ja prefrontaalses ajukoos (16). Need on ajuosad, millele omistatud assotsiatiivsete ja mälu funktsioonide häired on silmapaistval kohal meeloluhäirete sümptomaatikas. Lisaks on täheldatud stressi pärssivat mõju neurogeneesile täiskasvanud roti hipokampuses. Võime neurogeneesiks ehk neuronite taastootmiseks täiskasvanud imetaja aju on avastatud vaid kahes ajupiirkonnas – hipokampuses ja külgmiste vatsakeste külgseintes paiknevas alas, nn subventrikulaarses tsoonis (17). Neurotrofiinide võimalik osalus stressist tulenevate patoloogiate tekkel leidis kinnitust depressioonihäirete *post mortem* ajumaterjali analüüsides, kus täheldati BDNFi sisalduse vähenemist mitmetes depressiooniga seostatud ajuosades, eeskätt hipokampuses (18). Hiljem on mitmetes meeleolu- ja ärevushäirete eri aspekte modelleerivates loomkatsetes hiirte ja rottidega täheldatud muutunud (peamiselt vähenenud) neurotrofiinide sisaldust hipokampuses, prefrontaalses ajukoos, mandeltoomas ehk *amygdala*'s jt ajuosades (15, 19). Kolmandaks oluliseks vihjeks neurotrofiinide ja meeleoluhäirete seotuse kohta on mitmesuguse struktuuri ja farmakodünaamikaga antidepressantide võime a) normaliseerida stressi tagajärjel vähenenud BDNFi sisaldust ja b) stimuleerida neuriitide vohamist ning uute sünapside moodustumist hipokampuses, prefrontaalkoores jt meeleolu- ja ärevushäiretega seostatud ajuosades. Lisaks on näidatud hipokampusesse süstitava BDNFi antidepressanditaolist mõju depressiooni modelleerivates katsetes närilistel (15, 19). Kuigi oluliselt väiksema eksperimentaalse baasiga, on sarnaseid tulemusi saadud, uurides teisi neurotrofiine, eeskätt NGFi (20, 21).

Geeniprodukti funktsiooni ja fenotüübi vaheliste seoste uurimisel on väärtuslikuks instrumendiks selle geeni suhtes muundatud organismid. Kui neurotrofiinide ning stressitekkeliste neuropatoloogiate vahekorra näol oleks tegemist lihtsa pöördvõrdelise seosega, võiks eeldada suurenenud ärevuse- ja/või depressioonitaoliste seisundite peegeldusi vähenenud BDNFi sisaldusega (st ühe puuduva BDNF alleeliga) hiirtelt ning vastupidiseid efekte hiirtel, kellele on lisatud BDNFi (või tema retseptori) geenikoopia. Detailidesse laskumata võib öelda, et seosed on osutunud märgatavalt keerulisemaks, kui eeldati (22). Üks ootamatusi selliste transgeensete hiirte puhul oli erinev efekt ärevuse- ja depressiooninäidikutele võrreldes kontrollloomadega. Ärevus- ja meeleoluhäirete suur komorbiidsus (23) annab põhjuse oletada nende häirete sarnast neurobioloogilist alust. BDNFi ja tema retseptori TrkB suhtes transgeensed hiired aga seavad selle kahtluse alla: ilmselt on ärevus- ja meeleoluhäirete (või siis vähemasti näriliste käitumisilmingute, mida me peame vastavate häirete peegeldusteks) puhul „valesti“ funktsioneerivad neuraalvõrgustikud vähemalt osaliselt erinevad. Lisaks geneetiliselt muundatud hiirtele osutab neurotrofiinide sisalduse ja meeleolu/ärevushäirete üksühese seose puudumisele veel järgmine avastus: BDNFi ekspressioonil mesolimbilises süsteemis on prodepressiivne (depressiooni soodustav) mõju, erinevalt hipokampusest ja ajukoorest (19, 22). Mesolimbilisel süsteemil arvatakse olevat alus mõnu- ja rahulolutunde kujunemisel ning BDNFi oluline osalus selle süsteemi töö reguleerimisel on tõenäoline.

Tõsiasi, et BDNFi ja ehk teistegi neurotrofiinide suhe stressist tingitud häiretega on erinevates ajuosades/neuraalvõrgustikes erinev, raskendab oluliselt nii neurotrofiinide funktsiooni uurimist fundamentaaltasemel kui ka neurotroofse funktsiooni kaudu toimivate meeleolu- ja ärevushäirete ravimite väljatöötamist. Selliste ravimite väljatöötamisel pole järelikult tähtis mitte ainult neurotrofiinide funktsiooni efektiivne ja spetsiifiline reguleerimine, vaid selle saavutamine üksnes soovitud neuronsüsteemides.

### **Perifeersed neuropaatiad**

Neurotrofiinid on olulised molekulaarsed tegurid muu hulgas ka piirdeärrisüsteemi neuronite

normaalseks funktsioneerimiseks ja elus püsimiseks ning seetõttu on põhjalikult uuritud võimalusi neurotrofiinide kasutamiseks perifeersete neuropaatiate ravis. Neuropaatiate tekke ja neurotrofiinidest sõltuvate protsesside häirimise otsestele seostele viitab see, et tänaseks on leitud kaks neuropaatiat, mille põhjuseks on geneetiline defekt kas neurotrofiinigeenis või neurotrofiini retseptori geenis. Nendeks on pärilik sensoorne ja autonoomne neuropaatia tüüp IV, mille põhjustab mutatsioon neurotrofiin NGFi retseptori TrkA geenis, ja tüüp V, mille põhjustab mutatsioon neurotrofiin NGFi geenis (24). Nii nende neuropaatiate kui ka teiste perifeersete neuropaatiate peamiseks tunnuseks on neuronite aksonite degeneratsioon. Tänu neurotrofiinide degeneratsiooni pärssivatele ning regeneratsiooni soodustavatele omadustele on mitmed neurotrofiinidel põhinevad preparaadid jõudnud kliiniliste katsetusteni. Näiteks on rekombinantne inimese NGF (rhNGF) jõudnud suhkruhaigusest põhjustatud neuropaatia ravi kliiniliste katsetuste 3. faasi ja läbinud neuropaatilist valu leevendavana HIV-nakkusega seotud neuropaatia ravi kliiniliste katsetuste 2. faasi. Positiivseid tulemusi on andnud ka rhNT-3 CMT tüüp IA raviks kasutamise katseuuringud (24).

### **Seljaaju traumad**

Vastupidi piirdeärrisüsteemi neuronitele ei ole kesknärvisüsteemi neuronitel võimet vigastuse järel regenereruda, mistõttu on seljaaju vigastustest paranemine komplitseeritud. Paljudes katseloomadel tehtud uuringutes on näidatud, et neurotroofsetel teguritel, eeskätt BDNFil, NGFil ja GDNFil, on selge positiivne mõju seljaaju kahjustusest taastumisel. On leitud, et eksogeenne neurotrofiinide lisamine kahjustatud piirkonda suurendab neuronite elulemust ja aksonite kasvupotentsiaali (25). Kesknärvisüsteemi kahjustuste korral on regeneratsiooni peamiseks takistajateks aksonite kasvu pärssivate müeliinivalkude, näiteks Nogo, MAG (*myelin associated glycoprotein*) ja OMGP (*oligodendrocyte myelin glycoprotein*), inhibitoorne mõju. Selle efekti vähendamiseks on primaatidel edukalt katsetatud Nogo-vastaseid neutraliseerivaid antikehi. Kuna seljaaju vigastuse korral saavad kahjustatud lisaks neuronitele ka teised

närvikoe funktsioonis väga tähtsad rakutüübid, näiteks gliiarakud ja endoteelirakud, ja vigastusest taastumiseks on vajalik ka nende rakupopulatsioonide taastumine, ei piisa seljaaju funktsiooni taastamiseks ainult neuronite regenererumisest. Sellest lähtuvalt on koe regeneratsioonivõime suurendamiseks kasutatud laboratoorses katsetes neurotrofiinidega kombineeritult ka teisi kasvutegureid, näiteks IGF-1-te (*insulin-like growth factor 1*) (12). Senised tulemused on paljulubavad ja neurotrofiinide ja teiste regeneratsiooni soodustavate tegurite mõju edasine uurimine seljaaju vigastustest taastumisel on kindlasti vajalik.

### Rasumine

Lisaks eelnevalt käsitletud funktsioonidele on täheldatud, et neurotrofiinidel on oluline roll ka ainevahetuslikes protsessides. Kõige ilmekamaks tõestuseks on siinjuures neurotrofiin BDNFi heterosügootsed *knock-out* hiired, kellel ekspresseerub BDNFi geen ainult ühelt alleelilt ja BDNFi sisaldus rakkudes on võrreldes metsikut tüüpi hiirtega kaks korda langenud (26). Nende hiirte üheks silmatorkavaks omaduseks on ülekaalulisus ja ainevahetuslikud iseärasused, mis sarnanevad inimestel esineva metaboolse sündroomiga. Neurotrofiinide tähtsusele osutab ka leid, et teatud mutatsioon BDNFi retseptori TrkB geenis võib muu hulgas anda soodumuse liigsoomiseks ja sellega kaasnevaks ülekaalulisuseks. BDNFi anoreksigeeniline mõju tuleneb BDNFi moduleerivast mõjust energiabilansi reguleerimisel osalevatele hüpotalamuse serotonergilistele

ühendusteedele (27). Lisaks on leitud, et sarnane mõju on ka teisel neurotroofsel teguril CNTFi (*ciliary neurotrophic factor*). CNTFi põhjal välja töötatud ravimikandidaadiga Axokine on tänaseks lõppenud kliiniliste katsetuste 3. faas, kus täheldati patsientide 5% kehakaalu alanemist võrreldes platseebot saanud patsientidega (12).

Kokkuvõtteks võib öelda, et neurotroofsete tegurite normaalsest madalamat sisaldust erinevates ajuosades seostatakse mitmete närvisüsteemihaigustega, mistõttu on neurotroofsed tegurid potentsiaalselt headeks terapeutikumideks nende haiguste ravis. Arvestades komplikatsioone neurotroofsete tegurite kasutamisel teraapias – valgu tootmise keerukus ja kallidus, hematoentsefaalbarjääri läbimatus, kulus – on uuringute rõhk osaliselt asetunud valguliste tegurite kasutamise asemel nende toimet jälgendavate madalmolekulaarsete ühendite leidmisele (12). Näiteks on nüüdseks leitud mitmed madalmolekulaarsed aktiveerivad mimeetikumid nii neurotrofiinide Trk retseptorite kui ka GDNFi abireseptori GFR $\alpha$ 1 tarvis (7). Need ühendid peaksid olema ka heade farmakoloogiliste omadustega ning odavalt toodetavad. Siiani pole aga suudetud luua selliseid ühendeid, mis vastaksid kõigile nendele nõuetele.

**Tänuavaldus.** Autorite neurotroofsete tegurite uuringuid rahastavad Haridus- ja Teadusministeerium (sihtfinantseerimise grant SF0222602s03), Eesti Teadusfond (grant nr 7257) ja Wellcome Trust (grant nr 067952).

### Kirjandus

1. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM. Neuroscience. Sunderland, MA: Sinauer Associates; 2000.
2. Davies AM. Regulation of neuronal survival and death by extracellular signals during development. *EMBO J* 2003;22:2537–45.
3. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 2000;14:2919–37.
4. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 2004;22:123–31.
5. Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:383–94.
6. Ron D, Janak PH. GDNF and addiction. *Rev Neurosci* 2005;16:277–85.
7. Bespalov MM, Saarma M. GDNF family receptor complexes are emerging drug targets. *Trends Pharmacol Sci* 2007;28:68–74.
8. Williams BJ, Eriksdotter-Jonhagen M, Granholm AC. Nerve growth factor in treatment and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 2006;80:114–28.

9. Tuszynski MH. Nerve growth factor gene delivery: animal models to clinical trials. *Dev Neurobiol* 2007;67:1204–15.
10. Yasuhara T, Shingo T, Date I. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) therapy for Parkinson's disease. *Acta Med Okayama* 2007;61:51–6.
11. Lindholm P, Vuolteenaho MH, Lauren J, et al. Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons in vivo. *Nature* 2007;448:73–7.
12. Price RD, Milne SA, Sharkey J, et al. Advances in small molecules promoting neurotrophic function. *Pharmacol Ther* 2007;115:292–306.
13. Eksterne E. Neurotrophic factors and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener Dis* 2004;1:88–100.
14. Zuccato C, Cattaneo E. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Prog Neurobiol* 2007;81:294–330.
15. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59:1116–27.
16. McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 1999;22:105–22.
17. Duman RS. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* 2004;56:140–5.
18. Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, et al. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:804–15.
19. Martinowich K, Manji H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci* 2007;10:1089–93.
20. Dwivedi Y, Mondal AC, Rizavi HS, et al. Suicide brain is associated with decreased expression of neurotrophins. *Biol Psychiatry* 2005;58:315–24.
21. von Richthofen S, Lang UE, Hellweg R. Effects of different kinds of acute stress on nerve growth factor content in rat brain. *Brain Res* 2003;987:207–13.
22. Groves JO. Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression? *Mol Psychiatry* 2007; Aug 14; PMID: 17700574. DOI: 10.1038/sj.mp.4002075. (Epub ahead of print).
23. Mineka S, Watson D, Clark LA. Comorbidity of anxiety and unipolar mood disorders. *Annu Rev Psychol* 1998;49:377–412.
24. Sahenk Z. Neurotrophins and peripheral neuropathies. *Brain Pathol* 2006;16(4):311–9.
25. Sharma HS. Neurotrophic factors in combination: a possible new therapeutic strategy to influence pathophysiology of spinal cord injury and repair mechanisms. *Curr Pharm Des* 2007;13(18):1841–74.
26. Lyons WE, Mamounas LA, Ricaurte GA, et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(26):15239–44.
27. Lebrun B, Barriohay B, Moyse E, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: a minireview. *Auton Neurosci* 2006;126–127:30–8.

## Summary

### Neurotrophic factors

Neurotrophic factors are secreted protein growth factors involved in numerous processes important for both development and function of the nervous system, including regulation of the number of neuronal populations, growth and branching of neurites, formation and plasticity of interneuronal synaptic connections, cognitive processes/stress/mood disorders. The two main groups of neurotrophic factors are the nerve growth factor family (NGF, BDNF, NT-3, NT-4) and the glia derived

neurotrophic factor family (GDNF, neurturin, artemin, persephin). Owing to their capability of maintaining specific neuronal populations and influencing nerve outgrowth, the clinical uses of these proteins (or low molecular weight molecules mimicking their function) for treatment of neurodegenerative diseases (Alzheimer's, Parkinson's, Huntington's, etc), spinal cord injuries and neuropathies are being intensively studied.

Tonis.timmusk@ttu.ee