

УДК 591.18

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ GDNF ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ НАРУШЕНИЯХ

© 2024 г. Д. В. Шамадыкова^{1, *}, Г. В. Павлова^{1, 2, 3, **}

¹ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук»
Минобрнауки России, Москва, Россия

²ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: djirgala04@gmail.com

**e-mail: lkorochkin@mail.ru

Поступила в редакцию 21.07.2024 г.

После доработки 09.09.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF) активно изучается в качестве терапевтического средства для лечения возрастных нейродегенеративных заболеваний, а также при травматической гибели нейронов. Интерес к дополнительному фундаментальному исследованию фактора обусловлен великолепным результатом в доклинических исследованиях и неудачами II фазы клинических исследований GDNF при болезни Паркинсона. Выдвинуты несколько предположений: проблемы, связанные с доставкой высокомолекулярных препаратов, высокая аффинность GDNF к гепарину и гепарин-подобным молекулам, что препятствует биораспределению в паренхиме мозга, структура используемого белка, отличная от нативной формы, наличие различных изоформ белка. Все эти вопросы требовали очевидного дополнительного исследования GDNF как на уровне гена, так и на уровне РНК и белка. Данный обзор – попытка сфокусировать внимание на последних данных по GDNF, на разработках, направленных на решение возникших проблем и вероятностях его терапевтического применения при нейродегенеративных заболеваниях человека.

Ключевые слова: GDNF, строение гена, изоформы, болезнь Паркинсона, терапия

DOI: 10.31857/S0044467724060049

ВВЕДЕНИЕ

Нейротрофические факторы представляют собой класс эндогенных малых белков с широким спектром функций. Так, например, они участвуют в пролиферации, дифференцировке и поддержании жизнеспособности клеток нервной системы (Baudet et al., 2000; Fundin et al., 1999; Jing et al., 1996; Ohnaka et al., 2012; Rossi et al., 1999; Trupp et al., 1995; Chermenina et al., 2014). Их роль оказалась значима как при эмбриогенезе, так и при нейрогенезе уже у взрослого организма (Nguyen et al., 1998; Airaksinen et al., 1999; Bourque, Trudeau, 2000; Manié et al., 2001; Airaksinen, Saarna, 2002). При этом они принимают активное участие в регенеративных процессах при травме и нейродегенеративных

заболеваниях. Кроме того, показана их роль в ветвлении нейритов и синаптогенезе, также они контролируют синаптическую пластичность взрослых нейронов и влияют на электрофизиологические свойства нервных клеток (Adina et al., 2022). Один из нейротрофических факторов получил название глиальный нейротрофический фактор (GDNF – glial cell line derived neurotrophic factor), так как впервые был обнаружен в глиальных клетках. Позже было структурировано целое подсемейство GDNF, входящее в семейство нейротрофинов. Впервые GDNF был выделен в 1993 г. из культуры линии B49 глиальных клеток крыс (Lin et al., 1993). Было показано, что GDNF способствует выживанию эмбриональных дофаминергических нейронов среднего мозга, мотонейронов спинного

мозга и центральных норадренергических нейронов (Henderson et al., 1994; Arenas et al., 1995). В более поздних работах было обнаружено, что во взрослом организме GDNF экспрессируется в парвальбумин-экспрессирующих нейронах и поддерживает дофаминергические нейроны головного мозга (Enterría-Morales et al., 2020). Помимо этого, GDNF играет решающую роль в росте дендритов и формировании синапсов в пирамидных нейронах гиппокампа во время раннего постнатального развития (Irala et al., 2016). Известно, что GDNF способствует дифференцировке глутаматергических нейрональных предшественников во время развития коры (Bonafina et al., 2018). Кроме того, GDNF играет важную роль и за пределами нервной системы. Он функционирует как морфоген в развитии почек и участвует в сперматогенезе (Sariola, Saarma, 1999; Airaksinen, Saarma, 2002). Значимость данного фактора подтверждается тем, что полный нокаут GDNF вызывает в развитии эмбриона агенезию почек, что приводит к неминуемой эмбриональной гибели зародыша (Pichel et al., 1996). Частичный нокаут GDNF у мышей вызывает быстрое старение животного, существенное нарушение развития дофаминергических нейронов и ухудшение двигательной активности особи (эксперименты сделаны на мышках) (Boger et al., 2006; Griffin et al., 2006). На данный момент GDNF известен как многофункциональный белок со способностью поддерживать выживание клеток, индуцировать пролиферацию, миграцию, а при определенных условиях управлять нейрональной дифференцировкой нейрональных прогениторных клеток (Airaksinen, Saarma, 2002). Способность этого нейротрофического фактора стимулировать образование новых зрелых нейронов, а также поддерживать жизнеспособность уже существующих нейронов вызвала большой интерес в качестве потенциального терапевтического средства для лечения нейродегенеративных заболеваний. В экспериментах на животных моделях болезни Паркинсона (БП), было показано, что GDNF защищает дофаминовые нейроны от нейротоксин-индуцированной гибели (Grondin, 1998). Терапевтический потенциал GDNF пробудил интерес к поиску гомологичных белков. В результате GDNF стал основателем небольшого подсемейства — семейства GDNF лигандов (GFLs), в которое входят: собственно сам GDNF, нейротурин, артемин и персефин (Airaksinen, Saarma, 2002). Со временем GDNF (и в некоторой степени также и другие GFLs) был применен в исследованиях по лечению не только болезни Паркинсона (Vastag, 2010), но и хронических болей (Bartolini et al., 2011), амиотрофического бокового склероза (Kanning et al., 2010), болезни Хантингтона (Sari, 2011), а также для регенерации седалищного нерва (Kokai et al., 2011). Использование GDNF также рассматривается для лечения наркотической зависимости (Ghitza et al., 2010) и депрессии

(Uchida et al., 2011). Примечательно, что GDNF и NRTN являются единственными факторами роста, которые достигли второй фазы клинических испытаний для пациентов с болезнью Паркинсона (Gill et al., 2003; Lang et al., 2006; Marks et al., 2010).

СТРУКТУРА GDNF

GDNF является секреторным белком, который широко экспрессируется в центральной нервной системе (ЦНС) и периферических тканях. Обнаружено, что он синтезируется в форме предшественника *pre-pro-GDNF*, который в процессе созревания подвергается протеолитическому расщеплению (Lin et al., 1993). Незрелая молекула *pro-GDNF* состоит из 211 аминокислот, участка расщепления сигнальной последовательности и продомена. Зрелые молекулы имеют молекулярную массу 35 кДа и состоят из 134 аминокислот. В процессе созревания происходит гликозилирование белка и образование гомодимера за счет ковалентных дисульфидных связей (Lin et al., 1993). Белок GDNF содержит цистиновый «узел» и характеризуется двумя длинными сигнальными последовательностями, образованными парами антипараллельных β -структур (Eigenbrot, Gerber, 1997). Для формирования димера мономеры связываются в положении «голова—хвост».

На сегодняшний день локализация гена 5p13.2 по сборке генома GRCh38.p14 (GCF_000001405.40) (база данных NCBI). У человека и грызунов мРНК GDNF имеет как минимум два транскрипта, которые продуцируются посредством альтернативного сплайсинга: длинно-цепочный транскрипт *pre-(α)pro-GDNF* и короткий транскрипт *pre-(β)pro-GDNF* с делецией в 78 пн в области *pro*-последовательности (Grimm et al., 1998; Suter-Crazzolara, Unsicker, 1994). Совокупность функций, присущих GDNF, давно описана, однако на данный момент мало известно о различиях в функциях двух изоформ GDNF (*pre-(α)pro-GDNF* и *pre-(β)pro-GDNF*), а также их прекурсоров, отличающихся длиной *pro*-последовательности (Lonka-Nevalaita et al., 2010). При этом на данный момент уже очевидно, что функции этих двух модификаций отличаются, и данные отличия существенны при патологических процессах в ЦНС (Kust et al., 2015; Revishchin et al., 2016). Так, например, в работе Solius с соавторами показано, что экспрессия изоформ GDNF (*pre-(α)pro-GDNF* и *pre-(β)pro-GDNF*) существенно отличается в области четверохолмия мозга при эпилептических припадках у крыс линии Крушинского—Молодкиной от аналогичных процессов в норме. Причем в данной работе описано отличие представленности форм между собой в верхних и нижних холмиках четверохолмия (Solius et al., 2019).

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ GDNF СЕМЕЙСТВА

GFLs специфически связываются с GFR α корепрецепторами и активируют RET (тирозинкиназный рецептор) — трансмембранный рецептор, который необходим для передачи сигналов внутрь клеток. Все GFLs сигналы опосредованы через RET (Chen et al., 2001). Установлено, что RET участвует в активации перестройки ДНК (Takahashi et al., 1985). Он активируется после связывания факторов семейства GFLs с рецепторами GDNF семейства α (GFR α), которые прикреплены к плазматической мембране с помощью гликозилфосфатидилинозольного (GPI) якоря. На данный момент доказано, что семейство GFR α состоит из четырех различных рецепторов (GFR α 1-4), которые определяют лиганд-специфичность GFR α -RET комплекса. Димеризованный GDNF связывается с двумя GFR α 1, которые затем образуют комплекс с двумя молекулами RET (Airaksinen et al., 1999; Baloh et al., 2000; Lindahl et al., 2001; Takahashi, 2001). Рецепторы GFR α , как правило, локализуются в компартментах плазматической мембраны — липидных рафтах (Paratcha, Ibáñez, 2002), но в результате протеолитического расщепления могут появляться растворимые формы этих корепрецепторов (Paratcha et al., 2001). Экспрессия растворимых GFR α клетками, в которых не представлен RET, приводит к транс-сигналингу и привлечению GFLs к RET-положительным клеткам (Paratcha et al., 2001; Paratcha, Ledda, 2008; Worley et al., 2000). GFR α 1-рецептор GDNF в своей структуре имеет три домена (D1, D2 и D3), которые являются консервативными и характерны для всех млекопитающих. GFR α 1 состоит из 468 аминокислот, и в последовательности присутствуют мотивы трех потенциальных N-связанных сайта гликозилирования. Показано, что GFR α 1 связывается с поверхностью клетки при помощи GPI-якоря (гликозилфосфатидилинозольный якорь) (Jing et al., 1996; Creedon et al., 1997; Suvanto et al., 1997; Airaksinen et al., 1999). В случае взаимодействия GDNF-GFR α 1-RET: сначала димер GDNF связывается с мономерной или димерной молекулой GFR α 1, а затем комплекс GDNF-GFR α 1 взаимодействует с двумя молекулами RET, тем самым индуцируя их гомодимеризацию и автофосфорилирование тирозина (Airaksinen et al., 1999). GDNF оказывает действие не только в месте синтеза, но и дистанционно. Установлено, что нейроны способны к эндоцитозу молекул нейротрофического фактора. Поглощенный телами нейронов и проксимальными дендритами по системе ретроградного транспорта, GDNF доставляется в тело и афферентные синапсы (Tomas et al., 1995; Leitner et al., 1999; Rind et al., 2005; Tsui, Pierchala, 2010). Ret-опосредованная сигнальная трансдукция GDNF включает два основных сигнальных каскада, которые способствуют выживанию клеток в различных нейрональных

и ненейрональных популяциях: Ras/ERK (MAPK)-и PI3K/Akt-пути (Ibáñez, 2013). Кроме того, в качестве дополнительных рецепторов для GDNF в нейронах были идентифицированы молекулы адгезии нервных клеток (NCAM) (Paratcha et al., 2003; Schmutzler et al., 2011). Также известно о взаимодействии GDNF с синдекан-3 с использованием гепарин-сульфатной цепи (Bespalov et al., 2011). В результате такого взаимодействия происходит повышение локальной концентрации GDNF, также активируется Src-киназа, которая фосфорилирует Met (рецепторная тирозинкиназа, связывающая фактор роста гепатоцитов) и запускает внутриклеточную передачу сигнала, что в итоге приводит к миграции клеток и росту нейрональных отростков (Sariola, Saarma, 2003; Bespalov et al., 2011).

Для понимания того, насколько важно взаимодействие GFLs и GFRs для функционирования организма, был выполнен нокаут генов *GFLs* и *GFRs*. Мыши, которые не имеют RET, GDNF или GFR α 1, умирают вскоре после рождения, в то время как мыши, лишенные других GFLs или корепрецепторов, остаются жизнеспособными и фертильными.

У мышей с отсутствием GDNF, GFR α 1 или RET фенотипически определяются агенезия почки и недостаток многих парасимпатических и энтерических нейронов (Airaksinen et al., 1999). Функциональная значимость GDNF включает его основную роль в нейрогенезе. Он также является необходимым фактором для поддержания жизнеспособности и функционирования нейронов. Защитное действие GDNF опосредовано его способностью блокировать апоптоз, запуская в клетке сигнальные каскады, влияющие на экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-w (Cao et al., 2013).

Таким образом, можно констатировать, что GDNF реализует нейротрофическую активность через формирование активного комплекса со своими рецепторами — GDNF/GFR α /Ret. Данный комплекс активизирует работу сигнальных путей MAPK и PI3K, результатом действия которых является активация транскрипционных факторов, а также подавление проапоптотических белков и каспаз.

ЭНДОГЕННЫЙ GDNF

Различными группами исследователей были предприняты попытки по изучению физиологической роли эндогенного GDNF в пренатальном и постнатальном развитии. Известно, что дофаминергическая система созревает в первые две недели постнатального развития, и было установлено, что уровень стриарного GDNF повышается в этот период (Airaksinen, Saarma, 2002; Burke, 2003). В ходе многочисленных исследований удалось сделать лишь несколько предположений о роли

эндогенного GDNF для дофаминергической системы головного мозга. Так, Pascual и его соавторы сообщают, что GDNF играет ключевую роль в выживании нейронов дофаминергической системы в постнатальном периоде у мышей с условным нокаутом по GDNF (Pascual et al., 2008). Была установлена потеря 60–70% тирозингидроксилазных (TH+) клеток после воздействия тамоксифена. Однако известны и опровергающие статьи. Так, например, группа ученых во главе с J. Корга, помимо прочего, воспроизвела вышеупомянутую модель и не обнаружила потери дофаминергических нейронов (Korga et al., 2015). Гетерозиготные мутанты GDNF+/-, несмотря на наличие спонтанной моторной активности и нарушения координации, характеризуются незначительной 15% потерей TH+ клеток и отсутствием изменений в аксональной иннервации этих клеток (Boger et al., 2006). Однако, позднее было установлено, что мутанты более чувствительны к воздействию нейротоксинов по сравнению с диким типом (Boger et al., 2007). В работе по изучению регион-специфической абляции RET в дофаминергических (ДА) нейронах сравнительная морфометрическая и биохимическая оценка (ДА-нейронов) нигростриарной системы не показала различий между опытом и контролем у взрослых особей (Jain et al., 2006). В другом исследовании Kramer и соавторы заявляют о важности RET и связанного с ним сигнального пути в долговременном поддержании ДА-нейронов нигростриарной системы (Kramer et al., 2007). Ко второму году жизни мутантные DAT-Retlx/lx животные утрачивают до 40% TH+ клеток. Работа, основанная на использовании гиперморфных мышей по GDNF, подтверждает предположение о ценности глиального нейротрофического фактора для постнатального развития и функционирования нигростриарной дофаминергической системы (Kumar et al., 2015). Гиперморфные мыши характеризовались двукратным увеличением экспрессии эндогенного GDNF, что, в свою очередь, приводило к увеличению на 25% уровня дофамина в стриатуме, на 15% увеличивалось количество дофаминергических нейронов в *pars compacta* черной субстанции, а также на 15% увеличилось число дофаминергических терминалей в стриатуме. Кроме этого, в отличие от эктопической экспрессии GDNF и от «выключения» гена, на данной модели не наблюдались негативные побочные эффекты, такие как потеря веса животного, гиперактивность и аберрантное ветвление дофаминергических аксонов в области введения вирусного вектора. Примечательно, что в лактацистиновой модели болезни Паркинсона уровень дофамина и его метаболитов у мутантных животных находится на более высоком уровне по сравнению с мышами, обладающими генотипом дикого типа, но количество ДА нейронов в обоих случаях снижается сравнительно

одинаково, что может говорить о регенеративном воздействии GDNF на стриарные терминали дофаминергических нейронов. Суммируя результаты многочисленных исследований, можно сделать вывод, что эндогенный GDNF немаловажен при стрессовых ситуациях и нейродегенеративных нарушениях, таких как болезнь Паркинсона. Например, исследования на мышах, дефицитных по RET и по гену *Parkin*, одному из основных генов, ассоциированных с БП, продемонстрировали как потерю дофаминергических нейронов, так и утрату аксональной иннервации (Meka et al., 2015).

ЭКЗОГЕННЫЕ GFLS

Нейродегенеративное заболевание болезнь Паркинсона характеризуется поражением экстрапирамидной системы головного мозга, в частности гибелью дофаминергических нейронов передних отделов черной субстанции. В середине 90-х годов были проведены исследования на животных с химически индуцированной болезнью Паркинсона, которые показали эффективность введения GDNF в головной мозг модельных животных (Beck et al., 1995; Gash et al., 1996; Hoffer et al., 1994; Tomac et al., 1995a). Исследования как *in vitro*, так и *in vivo* продемонстрировали многообещающий результат, показав нейропротективные и нейрорегенеративные свойства GDNF (Winkler et al., 1996; Kirik et al., 2004). Но, несмотря на успешность применения GDNF *in vivo* на животных, клинические испытания в конечном итоге дали негативный результат (Nutt et al., 2003; Love et al., 2005; Morrison et al., 2007; Heiss et al., 2019).

Тем не менее с учетом положительных результатов доклинических испытаний были проведены исследования, которые выявили возможные причины этих неудач. По результатам некоторых из них, отсутствие терапевтической эффективности может быть связано с ассоциацией белка на поверхности клеточной мембраны (Salvatore et al., 2006), иммуногенностью вводимого фактора, а также с нестабильностью белка (Piccinini et al., 2013).

Возникшие проблемы частично можно решить, используя модификации GDNF и NRTN, которые обладают лучшим биораспределением в ткани и стабильностью (Runeberg-Roos et al., 2016; Grondin et al., 2019).

Помимо этого, были выдвинуты гипотезы о том, что неудачи клинических испытаний могут быть связаны непосредственно с моделированием клинического испытания, то есть с путем введения и количеством вводимого препарата, локализацией введения, а также с выбором пациентов (Sherer et al., 2006; Luz et al., 2020).

Для клинических испытаний нейротрофических препаратов отбираются преимущественно пациенты с поздней стадией БП из-за способа терапии:

высокая инвазивность метода (интракраниальное введение) и пролонгированность. Однако на поздней стадии БП гибель дофаминергических нейронов уже обширна и критична, а функция GDNF как поддерживающая жизнеспособность уже неактуальна. При этом отмечается, что на поздней стадии наблюдается дегенерация аксональных терминалей, что нарушает ретроградный транспорт трофических факторов, необходимых для генерации сигналов выживания клеток.

Помимо возможности изменения протокола клинических исследований, актуальным подходом является поиск малых изоформ GDNF, которые могут преодолеть возникшие ограничения в клиническом применении полноразмерных нейротрофических белков. Молекулы, разработанные на химической основе, могут обладать лучшими фармакодинамическими свойствами, стабильностью и хорошо распределяться в тканях и преодолевать тканевые барьеры. Последнее особенно важно для реализации неинвазивных способов доставки препаратов в ЦНС. Не менее значимы пептиды, полученные на основе полноразмерных белков. Одним из таких представителей является артефин — 15-мерный пептид, который соответствует аминокислотам 166–180 человеческого ARTN (Piieva et al., 2019). Артефин, как и артемин, показал нейропротективные свойства и способность к стимуляции роста нейритов.

В настоящее время проводятся исследования по улучшению терапевтических свойств GDNF, например, осуществляют аминокислотные замены в первичной структуре белка, удаляют участки аминокислот в pre- pro-последовательностях и изучают влияние природы экспрессионных клеток на функциональность белка (Piltonen et al., 2009; Grondin et al., 2019), а также и вовсе удаляют pre-pro-последовательности, достигая зрелой mGDNF формы (в химерном белке с GFP) (Kust et al., 2015). Стоит отметить, что природа клеток-продуцентов, экспрессирующих рекомбинантный белок, имеет немаловажное значение для клинического применения. Так, показано, что есть различия в гликопротеиновом профиле экспрессируемого белка не только при экспрессии в клетках разных надцарств (прокариоты и эукариоты), но также и при использовании клеточных систем одного царства, но разных видов (Croset et al., 2012; Bredell et al., 2016; Goh, Ng, 2018; Shamadykova et al., 2021). Помимо этого, одним из новых акцентов исследований является применение низкомолекулярных миметиков, способных модулировать сигнальные пути нейротрофических белков (Longo, Massa, 2013) и позволяющих избежать проблем, связанных с введением полноразмерных белков (Bespalov, Saarma, 2007). Одна из таких малых молекул, eroxide4, способна за счет стимуляции и активации рецепторов GDNF приводить к выживанию дофаминергических нейронов *in vitro*, оказывает

нейропротективное действие при воздействии токсина MPTP на культуру дофаминергических нейронов (Ardashov et al., 2019). Другие низкомолекулярные агенты, LY379268 (агонист метаботропного mGlu2/3 рецептора) и PYM50028, способствуют увеличению уровня мРНК эндогенного GDNF и белка, уже через три дня после системного введения агентов оказывают протективное воздействие на nigrostriарные нейроны мышей при воздействии MPTP (Battaglia et al., 2009; Visanji et al., 2008). К тому же в недавних исследованиях были обнаружены пептиды, полученные из предшественника GDNF, которые имеют нейротрофические свойства. В результате расщепления pro-последовательности pro-протеиновыми конвертазами образуются амидированные по C-концу пептиды DNSP-5, DNSP-11 (Immonen et al., 2008; Bradley et al., 2010), которые, как было показано, оказывают протективное и восстановительное воздействие на nigrostriарную систему у модельных животных с БП, вызванной 6-OHDA, MPTP (Fuqua et al., 2014; Grondin et al., 2019). Кроме того, обнаружен еще один мини-пептид DNSP-17, функционал которого пока неясен, но известно, что он получается из аминокислот (13–29) N-концевой области зрелого GDNF (Kelps et al., 2011; Sidorova, Saarma, 2020). Данные исследования позволяют предположить, что может существовать и большее количество мини-пептидов, получаемых в результате расщепления GDNF. Кроме этого, следует отметить, что в последние годы обострился интерес и к полноразмерному GDNF. Так, например, известно, что пациенты, страдающие травмой плечевого сплетения (ТПС), даже после хирургического вмешательства могут испытывать дисфункции и боли на всю оставшуюся жизнь пациента (Eggers et al., 2020). В работе Eggers и соавторов (2020) описано использование генной терапии с привлечением молекулы GDNF, защищенной от иммунной атаки, с экспрессией, индуцируемой доксициклином. С помощью этой новой системы доставки GDNF исследователям удалось достигнуть долгосрочного эффекта выживания мотонейронов и увеличить регенерацию моторных аксонов (Cintrón — Colon et al., 2022).

НЕЙРОТРОФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ PRO-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Известно, что доставка и диффузия GDNF в мозг ограничены структурой и размером полноразмерной молекулы (Lang et al., 2006). Поэтому для лечения БП имеет важное значение поиск малых молекул с нейротрофическим действием.

Открытие функциональных пропептидов семейства нейротрофических факторов TGFβ предоставило широкие возможности для исследователей

(Ibáñez, 2002). Ранее считалось, что пропептидные последовательности ответственны только за сворачивание и секрецию белка (Suter et al., 1991; Rattenholl et al., 2001). Но было установлено, что пропоследовательности фактора роста нервов (NGF) и нейротрофического фактора мозга (BDNF) способствуют гибели клеток, связываясь с проапоптотическим рецептором сортилином и привлекающая зрелый рецептор p75NTR, если между продоменом и зрелым фактором роста мутирован (удален) сайт расщепления дибазного фурина (Chao, Bothwell, 2002; Dicou, 2006; Dicou et al., 1997; Lee et al., 2001; Nykjaer et al., 2004; Teng et al., 2005). Также было показано, что выделенная пропоследовательность NGF блокировала индукцию апоптоза, вероятно, предотвращая образование тройного комплекса сортилин-p75NTR-NGF (Nykjaer et al., 2004). В продоме proNGF расположены два изученных пептида, LIP1 и LIP2, которые обладают цитокиноподобным, нейропротективным действием, также обладают антипролиферативным эффектом при воздействии инсулиноподобного фактора роста и эстрогена на клетки линии MCF-7 *in vitro* (Dicou, 2008, 2006). В том же ключе описан 11-мерный пептид, полученный на основе продомена GDNF человека, — стимулирующий дофаминергические нейроны-11 (DNSP-11) (Bradley et al., 2010), а также был обнаружен гомолог у крыс DNSP-11, названный мозговым возбуждающим пептидом (BER) (Immonen et al., 2008). DNSP-11 человека и BER крысы оказались функциональными нейропептидами: DNSP-11 имеет мощное нейротрофическое действие, подобное полноразмерному GDNF, но не связывается с каноническим рецептором GFR α 1, а BER обладает способностью повышать синаптическую возбудимость. Стоит отметить наличие высококонсервативных последовательностей в продоме родственных нейротрофических факторов, которые могут иметь дополнительные биологические функции.

В настоящее время известно семь сплайс-вариантов гена GDNF человека, два из которых (варианты 5 и 6) продуцируют варианты, в которых отсутствует участок про-области из 27 аминокислот, содержащих последовательность DNSP-11 (Flicek et al., 2013). Не исключено наличие сплайс-вариантов гена *GDNF*, ответственных за экспрессию изолированного продомена или других функциональных активных пептидов.

ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ GDNF

GDNF является мощным нейротрофическим фактором, который показал восстановительные эффекты в самых разнообразных животных моделях болезни Паркинсона, например на грызунах

и приматах при инъекционном или катетерном введении (Björklund et al., 2000). И, опираясь на результаты доклинических исследований GDNF, казался очень перспективным (Ai et al., 2003; Beck et al., 1995; Bowenkamp et al., 1995; Gash et al., 2005, 1996, 1995; Hoffer et al., 1994; Kambey et al., 2021; Rosenblad et al., 2000; Sauer et al., 1995; Tomac et al., 1995a; Zhang et al., 1997). Но на стадии клинических исследований не наблюдалось длительных положительных эффектов и также сообщалось о побочных эффектах при инъекционном введении. Была предпринята попытка катетерного введения GDNF — непосредственно в путамен (лат. *putamen*), что было сделано пяти пациентам с болезнью Паркинсона на I этапе клинических исследований. Это исследование показало, что прямая доставка GDNF в путамен больных БП может приводить к значительному увеличению содержания дофамина в зоне путамен и улучшает клиническое состояние пациента, но побочные осложнения вынудили остановить и эти испытания (Gill et al., 2003; Patel et al., 2013). Стало понятно, что следует вернуться к фундаментальным исследованиям и искать причины неудач.

В последние года интерес к GDNF не утих (Conway, Kramer, 2022), даже несмотря на неудачу клинических испытаний. Расширяются фундаментальные исследования, и предпринимаются попытки достигнуть лучшего результата при терапии нейродегенеративных заболеваний с использованием GDNF. Например, были использованы трансгенные клетки с гиперэкспрессией GDNF при боковом амиотрофическом склерозе (БАС). Ряд коллективов пытаются достигнуть эффективности GDNF, используя введение экспрессирующих клеток, что показало увеличение синтеза дофамина и максимизацию нейропротекторных свойств фактора. Примечательно, что Marshall P. (2023) в своем обзоре, описав подобные исследования на старых мышах или применение высоких воздействий GDNF на пациентов с болезнью Паркинсона, показал не только улучшение моторных функций после подобного воздействия, но и снижение гипердофаминергии и других побочных эффектов (Marshall, 2023), описываемых при неудавшихся клинических исследованиях. В исследовании Baloh и соавторов (2022) использовали клетки-предшественники нейронов человека, трансгенные по GDNF (CNS10-NPC-GDNF), которые были трансплантированы в поясничный отдел спинного мозга 18 пациента с БАС (Baloh et al., 2022). На данный момент результаты клинических исследований 1/2а фазы (NCT02943850) показали, что трансплантат выживает, вырабатывает GDNF и обеспечивает образование новых нейронов как минимум в течение 42 месяцев после трансплантации. Но многие исследователи все же акцентируются на различных малых сплайс-вариантах

GDNF, которые могут быть более перспективны как терапевтические молекулы. Один из них, пропептид, который получается из более длинной изоформы α -GDNF путем расщепления прогормональными конвертазами с образованием амидированного дофамин-нейронстимулирующего пептида, содержащего 11-AA (DNSP11; RPEAPAE DRSL), показано, что защищает дофаминергические нейроны на животных моделях болезни Паркинсона. Исследователи продолжают поиски области повышенной экспрессии подобных малых пептидов для понимания функционала клеток, производящих их (Liu et al., 2023).

На данный момент становится очевидным, что GFLs предоставляют уникальную возможность для разработки лекарственных средств, направленных на лечение и возможную профилактику ряда заболеваний, в частности нейродегенеративных или возрастных изменений. Однако GFL белки сложны и дороги для производства, они часто лабильны, и их доставка к цели осложняется тем фактом, что они не проходят гематоэнцефалический барьер. Следовательно, необходимым является найти препараты с низким молекулярным весом, которые влияют на внутриклеточные сигнальные пути, участвуя и имитируя действие естественных нейротрофических факторов.

Обнаружение пептидов, которые способны стимулировать дофаминергические нейроны, такие как DNSP-11, DNSP-5, дает право предположить существование нативных пептидов, которые образуются в результате естественного расщепления GDNF, протекающего в интактных клетках. Всё вышеупомянутое, безусловно, способствует поиску малых изоформ GDNF, обладающих высокой способностью диффундировать и стимулировать нейральную дифференцировку клеток-предшественников.

ВКЛАД АВТОРОВ

Г.В. Павлова — концепция и руководство работой; Д.В. Шамадыкова — написание текста; Г.В. Павлова — редактирование текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №24-15-00157.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adina T. Michael-Titus, Peter Shortland.* The Nervous System, Third Edition. 2022. 233.
- Ai Y., Markesbery W., Zhang Z., Grondin R., Elseberry D., Gerhardt G.A., Gash D.M.* Intraputamenal infusion of GDNF in aged rhesus monkeys: distribution and dopaminergic effects. *J Comp Neurol.* 2003. 461(2): 250–261.
<https://doi.org/10.1002/CNE.10689>
- Airaksinen M.S., Saarma M.* The GDNF family: Signaling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci.* 2002. 3 (5): 383–394.
<https://doi.org/10.1038/nrn812>
- Airaksinen M.S., Titievsky A., Saarma M.* GDNF family neurotrophic factor signaling: Four masters, one servant. *Mol Cell Neurosci.* 1999. 13 (5): 313–325.
<https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0754>
- Ardashov O.V., Pavlova A.V., Mahato A.K., Sidorova Y., Morozova E.A., Korchagina D.V., Salnikov G.E., Genaev A.M., Patrusheva O.S., Li-Zhulanov N.S., Tolstikova T.G., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F.* A Novel Small Molecule Supports the Survival of Cultured Dopamine Neurons and May Restore the Dopaminergic Innervation of the Brain in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. *ACS Chem Neurosci.* 2019. 10(10): 4337–4349.
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.9b00396>
- Arenas E., Trupp M., Åkerud P., Ibáñez C.F.* GDNF prevents degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons in vivo. *Neuron.* 1995. 15(6): 1465–1473.
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90024-1)
- Baloh R.H., Enomoto H., Johnson E.M., Milbrandt J.* The GDNF family ligands and receptors — implications for neural development. *Curr Opin Neurobiol.* 2000. 10(1): 103–110.
[https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(99\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(99)00048-3)
- Baloh R.H., Johnson J.P., Avalos P., Allred P., Svendsen S., Gowing G., Roxas K., Wu A., Donahue B., Osborne S., Lawless G., Shelley B., Wheeler K., Prina C., Fine D., Kendra-Romito T., Stokes H., Manoukian V., Muthukumar A., Garcia L., Bañuelos M.G., Godoy M., Bresee C., Yu H., Drazin D., Ross L., Naruse R., Babu H., Macklin E.A., Vo A., Elsayegh A., Tourtellotte W., Maya M., Burford M., Diaz F., Patil C.G., Lewis R.A., Svendsen C.N.* Transplantation of human neural progenitor cells secreting GDNF into the spinal cord of patients with ALS: a phase 1/2a trial. *Nat Med.* 2022. 28(9): 1813–1822.
<https://doi.org/10.1038/S41591-022-01956-3>
- Bartolini A., Cesare Mannelli L. Di, Ghelardini C.* Analgesic and antineuropathic drugs acting through central

- cholinergic mechanisms. *Recent Pat CNS Drug Discov.* 2011. 6 (2): 119–140.
<https://doi.org/10.2174/157488911795933901>
- Battaglia G., Molinaro G., Riozzi B., Storto M., Busceti C. L., Spinsanti P., Bucci D., Liberto V. Di, Mudò G., Corti C., Corsi M., Nicoletti F., Belluardo N., Bruno V. Activation of mGlu3 receptors stimulates the production of GDNF in striatal neurons. *PLoS One.* 2009. 4(8): e6591.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006591>
- Baudet C., Mikaelis A., Westphal H., Johansen J., Johansen T.E., Ernfors P. Positive and negative interactions of GDNF, NTN and ART in developing sensory neuron subpopulations, and their collaboration with neurotrophins. *Development.* 2000. 127(20): 4335–44.
<https://doi.org/10.1242/dev.127.20.4335>
- Beck K.D., Valverde J., Alexi T., Poulsen K., Moffat B., Vandlen R.A., Rosenthal A., Hefti F. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by gdnf from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature.* 1995. 373 (6512): 339–341.
<https://doi.org/10.1038/373339a0>
- Bespalov M.M., Saarma M. GDNF family receptor complexes are emerging drug targets. *Trends Pharmacol Sci.* 2007. 28(2): 68–74.
<https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2006.12.005>
- Bespalov M.M., Sidorova Y.A., Tumova S., Ahonen-Bishop A., Magalhães A.C., Kulesskiy E., Paveliev M., Rivera C., Rauvala H., Saarma M. Heparan sulfate proteoglycan syndecan-3 is a novel receptor for GDNF, neurturin, and artemin. *Journal of Cell Biology.* 2011. 192(1): 153–169.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201009136>
- Björklund A., Kirik D., Rosenblad C., Georgievska B., Lundberg C., Mandel R.J. Towards a neuroprotective gene therapy for Parkinson's disease: use of adenovirus, AAV and lentivirus vectors for gene transfer of GDNF to the nigrostriatal system in the rat Parkinson model. Published on the World Wide Web on 10 October 2000. *Brain Res.* 2000. 886(1–2): 82–98.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02915-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02915-2)
- Boger H.A., Middaugh L.D., Huang P., Zaman V., Smith A.C., Hoffer B.J., Tomac A.C., Granholm A.C. A partial GDNF depletion leads to earlier age-related deterioration of motor function and tyrosine hydroxylase expression in the substantia nigra. *Exp Neurol.* 2006. 202(2): 336–347.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.06.006>
- Boger H.A., Middaugh L.D., Patrick K.S., Ramamoorthy S., Deney E.D., Zhu H., Pacchioni A.M., Granholm A.C., McGinty J.F. Long-term consequences of methamphetamine exposure in young adults are exacerbated in glial cell line-derived neurotrophic factor heterozygous mice. *Journal of Neuroscience.* 2007. 27(33): 8816–8825.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1067-07.2007>
- Bonafina A., Fontanet P.A., Paratcha G., Ledda F. GDNF/GFR α 1 Complex Abrogates Self-Renewing Activity of Cortical Neural Precursors Inducing Their Differentiation. *Stem Cell Reports.* 2018. 10(3): 1000.
<https://doi.org/10.1016/J.STEMCR.2018.01.019>
- Bourque M.J., Trudeau L.E. GDNF enhances the synaptic efficacy of dopaminergic neurons in culture. *European Journal of Neuroscience.* 2000. 12(9): 3172–3180.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00219.x>
- Bowenkamp K.E., Hoffman A.F., Gerhardt G.A., Henry M.A., Biddle P.T., Hoffer B.J., Granholm A.E. Glial cell line-derived neurotrophic factor supports survival of injured midbrain dopaminergic neurons. *J Comp Neurol.* 1995. 355(4): 479–489.
<https://doi.org/10.1002/CNE.903550402>
- Bradley L.H., Fuqua J., Richardson A., Cholewo J.T., Ai Y., Kelps K.A., Glass J.D., He X., Zhang Z., Grondin R., Littrell O.M., Huettl P., Pomerleau F., Gash D.M., Gerhardt G.A. Dopamine Neuron Stimulating Actions of a GDNF Propeptide. *PLoS One.* 2010. 5(3): e9752.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0009752>
- Bredell H., Smith J., Prins W., Görgens J., Zyl W. van. Expression of rotavirus VP6 protein: a comparison amongst *Escherichia coli*, *Pichia pastoris* and *Hansenula polymorpha*. *FEMS Yeast Res.* 2016. 16(2): fow001.
<https://doi.org/10.1093/FEMSYP/FOW001>
- Burke R.E. Postnatal developmental programmed cell death in dopamine neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences.* New York Academy of Sciences, 2003. 991:69–79.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07464.x>
- Cao J.P., Niu H.Y., Wang H.J., Huang X.G., Gao D.S. NF- κ B p65/p52 plays a role in GDNF up-regulating Bcl-2 and Bcl-w expression in 6-OHDA-induced apoptosis of MN9D cell. *International Journal of Neuroscience.* 2013. 123(10): 705–710.
<https://doi.org/10.3109/00207454.2013.795149>
- Chao M.V., Bothwell M. Neurotrophins: To cleave or not to cleave. *Neuron.* 2002. 33(1): 9–12.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00573-6](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00573-6)
- Chen A.C.H., Eisch A.J., Sakai N., Takahashi M., Nestler E.J., Duman R.S. Regulation of GFR α 1 and GFR α 2 mRNAs in rat brain by electroconvulsive seizure. *Synapse.* 2001. 39(1): 42–50.
[https://doi.org/10.1002/1098-2396\(20010101\)39:1<42::aid-syn6>3.0.co;2-#](https://doi.org/10.1002/1098-2396(20010101)39:1<42::aid-syn6>3.0.co;2-#)
- Chermenina M., Schouten P., Nevalainen N., Johansson F., Orädd G., Strömberg I. GDNF is important for striatal organization and maintenance of dopamine neurons grown in the presence of the striatum. *Neuroscience.* 2014. 270: 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.008>
- Cintron-Colon A., Almeida-Alves G., Vangyseghe J., Spitsbergen J. GDNF to the rescue: GDNF delivery effects on motor neurons and nerves, and muscle re-innervation after peripheral nerve injuries. *Neural Regen Res.* 2022. 17(4): 748.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.322446>
- Conway J.A., Kramer E.R. Is activation of GDNF/RET signaling the answer for successful treatment of Parkinson's disease? A discussion of data from the culture dish to the clinic. *Neural Regen Res.* 2022. 17(7): 1462–1467.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.327330>

- Creedon D.J., Tansey M.G., Baloh R.H., Osborne P.A., Lampe P.A., Fahrner T.J., Heuckeroth R.O., Milbrandt J., Johnson E.M. Neurturin shares receptors and signal transduction pathways with glial cell line-derived neurotrophic factor in sympathetic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94(13): 7018–7023. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.13.7018>
- Croset A., Delafosse L., Gaudry J.P., Arod C., Glez L., Losberger C., Begue D., Krstanovic A., Robert F., Vilbois F., Chevalet L., Antonsson B. Differences in the glycosylation of recombinant proteins expressed in HEK and CHO cells. *J Biotechnol*. 2012. 161(3): 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.06.038>
- Dicou E. Multiple biological activities for two peptides derived from the nerve growth factor precursor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006. 347(3): 833–837. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2006.06.171>
- Dicou E. High levels of the proNGF peptides LIP1 and LIP2 in the serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis patients: evidence for two new cytokines. *J Neuroimmunol*. 2008. 194(1–2): 143–146. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2007.11.002>
- Dicou E., Pflug B., Magazin M., Lehy T., Djakiew D., Ferrara P., Nèrrière V., Harvie D. Two peptides derived from the nerve growth factor precursor are biologically active. *J Cell Biol*. 1997. 136(2): 389–398. <https://doi.org/10.1083/JCB.136.2.389>
- Eggers R., Winter F. de, Tannemaat M.R., Malessy M.J.A., Verhaagen J. GDNF Gene Therapy to Repair the Injured Peripheral Nerve. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020. 8: 583184. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.583184/BIBTEX>
- Eigenbrot C., Gerber N. X-ray structure of glial cell-derived neurotrophic factor at 1.9 Å resolution and implications for receptor binding. *Nat Struct Biol*. 1997. 4(6): 435–438. <https://doi.org/10.1038/nsb0697-435>
- Enterría-Morales D., Rey N.L.G. Del, Blesa J., López-López I., Gallet S., Prevot V., López-Barneo J., D'Anglemont De Tassigny X. Molecular targets for endogenous glial cell line-derived neurotrophic factor modulation in striatal parvalbumin interneurons. *Brain Commun*. 2020. 2(2): fcaa105. <https://doi.org/10.1093/BRAINCOMMS/FCAA105>
- Flicek P., Ahmed I., Amode M.R., Barrell D., Beal K., Brent S., Carvalho-Silva D., Clapham P., Coates G., Fairley S., Fitzgerald S., Gil L., García-Girón C., Gordon L., Hourlier T., Hunt S., Juettemann T., Kähäri A. K., Keenan S., Komorowska M., Kulesha E., Longden I., Maurel T., McLaren W.M., Muffato M., Nag R., O'Leary J., Pignatelli M., Pritchard B., Pritchard E., Riat H.S., Ritchie G.R.S., Ruffier M., Schuster M., Sheppard D., Sobral D., Taylor K., Thormann A., Trevanion S., White S., Wilder S.P., Aken B.L., Birney E., Cunningham F., Dunham I., Harrow J., Herrero J., Hubbard T.J.P., Johnson N., Kinsella R., Parker A., Spudich G., Yates A., Zadissa A., Searle S.M.J. Ensembl 2013. *Nucleic Acids Res*. 2013. 41(Database issue): D48 <https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1236>
- Fundin B.T., Mikaelis A., Westphal H., Ernfrors P. A rapid and dynamic regulation of GDNF-family ligands and receptors correlate with the developmental dependency of cutaneous sensory innervation. *Development*. 1999. 126(12): 2597–2610.
- Fuqua J.L., Littrell O.M., Lundblad M., Turchan-Cholewo J., Abdelmoti L.G., Galperin E., Bradley L.H., Cass W.A., Gash D.M., Gerhardt G.A. Dynamic changes in dopamine neuron function after DNP-11 treatment: Effects in vivo and increased ERK 1/2 phosphorylation in vitro. *Peptides (N.Y.)*. 2014. 54: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.12.007>
- Gash D.M., Zhang Z., Ai Y., Grondin R., Coffey R., Gerhardt G.A. Trophic factor distribution predicts functional recovery in parkinsonian monkeys. *Ann Neurol*. 2005. 58(2): 224–233. <https://doi.org/10.1002/ANA.20549>
- Gash D.M., Zhang Z., Cass W.A., Ovidia A., Simmerman L., Martin D., Russell D., Collins F., Hoffer B.J., Gerhardt G.A. Morphological and functional effects of intranigally administered GDNF in normal rhesus monkeys. *J Comp Neurol*. 1995. 363(3): 345–358. <https://doi.org/10.1002/CNE.903630302>
- Gash D.M., Zhang Z., Ovidia A., Cass W.A., Yi A., Simmerman L., Russell D., Martin D., Lapchak P.A., Collins F., Hoffer B.J., Gerhardt G.A. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature*. 1996. 380(6571): 252–255. <https://doi.org/10.1038/380252a0>
- Ghitza U.E., Zhai H., Wu P., Airavara M., Shaham Y., Lu L. Role of BDNF and GDNF in drug reward and relapse: A review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010. 35 (2): 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.11.009>
- Gill S.S., Patel N.K., Hotton G.R., O'Sullivan K., McCartney R., Bunnage M., Brooks D.J., Svendsen C.N., Heywood P. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med*. 2003. 9(5): 589–595. <https://doi.org/10.1038/nm850>
- Goh J.B., Ng S.K. Impact of host cell line choice on glycan profile. *Crit Rev Biotechnol*. 2018. 38 (6): 851–867. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1416577>
- Griffin W.C., Boger H.A., Granholm A.C., Middaugh L.D. Partial deletion of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in mice: Effects on sucrose reward and striatal GDNF concentrations. *Brain Res*. 2006. 1068(1): 257–260. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2005.10.080>
- Grimm L., Holinski-Feder E., Teodoridis J., Scheffer B., Schindelhauer D., Meitinger T., Ueffing M. Analysis of the human GDNF gene reveals an inducible promoter, three exons, a triplet repeat within the 3'-UTR and alternative splice products. *Hum Mol Genet*. 1998. 7(12): 1873–1886. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.12.1873>
- Grondin R. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF): A drug candidate for the treatment

- of Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Supplement*. J Neurol. 1998. 245 (11 Suppl 3): 35–42.
<https://doi.org/10.1007/pl00007744>
- Grondin R., Littrell O.M., Zhang Z., Ai Y., Huettl P., Pomerleau F., Quintero J.E., Andersen A.H., Stenslik M.J., Bradley L.H., Lemmon J., O'Neill M.J., Gash D.M., Gerhardt G.A. GDNF revisited: A novel mammalian cell-derived variant form of GDNF increases dopamine turnover and improves brain biodistribution. *Neuropharmacology*. 2019. 147: 28–36.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.014>
- Heiss J.D., Lungu C., Hammoud D.A., Herscovitch P., Ehrlich D.J., Argersinger D.P., Sinharay S., Scott G., Wu T., Federoff H.J., Zaghloul K.A., Hallett M., Lonser R.R., Bankiewicz K.S. Trial of magnetic resonance-guided putaminal gene therapy for advanced Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2019. 34(7): 1073–1078.
<https://doi.org/10.1002/mds.27724>
- Henderson C.E., Phillips H.S., Pollock R.A., Davies A.M., Lemelle C., Armanini M., Simpson L.C., Moffet B., Vandlen R.A., Koliatsos V.E., Rosenthal A. GDNF: A potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. *Science* (1979). 1994. 266(5187): 1062–1064.
<https://doi.org/10.1126/science.7973664>
- Hoffer B.J., Hoffman A., Bowenkamp K., Huettl P., Hudson J., Martin D., Lin L.F.H., Gerhardt G.A. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses toxin-induced injury to midbrain dopaminergic neurons in vivo. *Neurosci Lett*. 1994. 182(1): 107–111.
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90218-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90218-6)
- Ibáñez C.F. Jekyll-Hyde neurotrophins: the story of proNGF. *Trends Neurosci*. 2002. 25(6): 284–286.
[https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02169-0](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02169-0)
- Ibáñez C.F. Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013. 5(2):
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009134>
- Ilieva M., Nielsen J., Korshunova I., Gotfryd K., Bock E., Pankratova S., Michel T.M. Artemin and an artemin-derived peptide, artefin, induce neuronal survival, and differentiation through ret and NCAM. *Front Mol Neurosci*. 2019. 12: 47.
<https://doi.org/10.3389/FNMOL.2019.00047/FULL>
- Immonen T., Alakuijala A., Hytönen M., Sainio K., Poteryaev D., Saarma M., Pasternack M., Sariola H. A proGDNF-related peptide BEP increases synaptic excitation in rat hippocampus. *Exp Neurol*. 2008. 210(2): 793–796.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.12.018>
- Irala D., Bonafina A., Fontanet P.A., Alsina F.C., Paratcha G., Ledda F. The GDNF-GFR α 1 complex promotes the development of hippocampal dendritic arbors and spines via NCAM. *Development*. 2016. 143(22): 4224–4235.
<https://doi.org/10.1242/DEV.140350>
- Jain S., Golden U.P., Wozniak D., Pehek E., Johnson E.M., Milbrandt J. RET is dispensable for maintenance of midbrain dopaminergic neurons in adult mice. *Journal of Neuroscience*. 2006. 26(43): 11230–11238.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1876-06.2006>
- Jing S., Wen D., Yu Y., Holst P.L., Luo Y., Fang M., Tamir R., Antonio L., Hu Z., Cupples R., Louis J.C., Hu S., Altmack B.W., Fox G.M. GDNF-induced activation of the Ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR- α , a novel receptor for GDNF. *Cell*. 1996. 85(7): 1113–1124.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81311-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81311-2)
- Kambez P.A., Kanwore K., Ayanlaja A.A., Nadeem I., Du Y.Z., Buberwa W., Liu W.Y., Gao D. Failure of Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor (GDNF) in Clinical Trials Orchestrated By Reduced NR4A2 (NURR1) Transcription Factor in Parkinson's Disease. A Systematic Review. *Front Aging Neurosci*. 2021. 13: 645583.
<https://doi.org/10.3389/FNAGI.2021.645583>
- Kanning K.C., Kaplan A., Henderson C.E. Motor neuron diversity in development and disease. *Annu Rev Neurosci*. 2010. 33: 409–440.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135722>
- Kelps K.A., Turchan-Cholewo J., Hascup E.R., Taylor T.L., Gash D.M., Gerhardt G.A., Bradley L.H. Evaluation of the physical and in vitro protective activity of three synthetic peptides derived from the pro- and mature GDNF sequence. *Neuropeptides*. 2011. 45(3): 213–218.
<https://doi.org/10.1016/j.npep.2011.03.003>
- Kirik D., Georgievska B., Björklund A. Localized striatal delivery of GDNF as a treatment for Parkinson disease. *Nat Neurosci*. 2004. 7 (2): 105–110.
<https://doi.org/10.1038/nn1175>
- Kokai L.E., Bourbeau D., Weber D., McAtee J., Marra K.G. Sustained growth factor delivery promotes axonal regeneration in long gap peripheral nerve repair. *Tissue Eng Part A*. 2011. 17(9–10): 1263–1275.
<https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0507>
- Kopra J., Vilenius C., Grealish S., Härma M.A., Varendi K., Lindholm J., Castrén E., Vöikar V., Björklund A., Piepponen T.P., Saarma M., Andressoo J.O. GDNF is not required for catecholaminergic neuron survival in vivo. *Nat Neurosci*. 2015. 18 (3): 319–322.
<https://doi.org/10.1038/nn.3941>
- Kramer E.R., Aron L., Ramakers G.M.J., Seitz S., Zhuang X., Beyer K., Smidt M.P., Klein R. Absence of Ret signaling in mice causes progressive and late degeneration of the nigrostriatal system. *PLoS Biol*. 2007. 5(3): 0616–0628.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050039>
- Kumar A., Kopra J., Varendi K., Porokuokka L.L., Panhelainen A., Kuure S., Marshall P., Karalija N., Härma M.A., Vilenius C., Lilleväli K., Tekko T., Mijatovic J., Pulkkinen N., Jakobson M., Jakobson M., Ola R., Palm E., Lindahl M., Strömberg I., Vöikar V., Piepponen T.P., Saarma M., Andressoo J.O. GDNF Overexpression from the Native Locus Reveals its Role in the Nigrostriatal Dopaminergic System Function. *PLoS Genet*. 2015. 11(12): e1005710.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005710>
- Kust N., Panteleev D., Mertsalov I., Savchenko E., Rybalkina E., Revishchin A., Pavlova G. Availability of Pre- and Pro-regions of Transgenic GDNF Affects the Ability to Induce Axonal Sprout Growth. *Mol Neurobiol*. 2015. 51(3): 1195–1205.
<https://doi.org/10.1007/s12035-014-8792-8>

- Lang A.E., Gill S., Patel N.K., Lozano A., Nutt J.G., Penn R., Brooks D.J., Hotton G., Moro E., Heywood P., Brodsky M.A., Burchiel K., Kelly P., Dalvi A., Scott B., Stacy M., Turner D., Wooten V.G.F., Elias W.J., Laws E.R., Dhawan V., Stoessl A.J., Matcham J., Coffey R.J., Traub M. Randomized controlled trial of intraputamenal glial cell line-derived neurotrophic factor infusion in Parkinson disease. *Ann Neurol*. 2006. 59(3): 459–466. <https://doi.org/10.1002/ana.20737>
- Lee R., Kermani P., Teng K.K., Hempstead B.L. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* (1979). 2001. 294(5548): 1945–1948. <https://doi.org/10.1126/science.1065057>
- Leitner M.L., Molliver D.C., Osborne P.A., Vejsada R., Golden J.P., Lampe P.A., Kato A.C., Milbrandt J., Johnson E.M. Analysis of the retrograde transport of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), neurturin, and persephin suggests that in vivo signaling for the GDNF family is GFR α coreceptor-specific. *Journal of Neuroscience*. 1999. 19(21): 9322–9331. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-21-09322.1999>
- Lin L.F.H., Doherty D.H., Lile J.D., Bektesh S., Collins F. GDNF: A glial cell line – Derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science* (1979). 1993. 260(5111): 1130–1132. <https://doi.org/10.1126/science.8493557>
- Lindahl M., Poteryaev D., Yu L., Arumäe U., Timmusk T., Bongarzone I., Aiello A., Pierotti M.A., Airaksinen M.S., Saarma M. Human Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor Receptor $\alpha 4$ is the Receptor for Persephin and is Predominantly Expressed in Normal and Malignant Thyroid Medullary Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2001. 276(12): 9344–9351. <https://doi.org/10.1074/jbc.M008279200>
- Liu Q.R., Zhu M., Chen Q., Mustapic M., Kapogiannis D., Egan J.M. Novel Hominid-Specific IAPP Isoforms: Potential Biomarkers of Early Alzheimer's Disease and Inhibitors of Amyloid Formation. *Biomolecules*. 2023. 13(1): 167. <https://doi.org/10.3390/BIOM13010167>
- Longo F.M., Massa S.M. Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2013. 12(7): 507–525. <https://doi.org/10.1038/NRD4024>
- Lonka-Nevalaita L., Lume M., Leppänen S., Jokitalo E., Peränen J., Saarma M. Characterization of the intracellular localization, processing, and secretion of two glial cell line-derived neurotrophic factor splice isoforms. *Journal of Neuroscience*. 2010. 30(34): 11403–11413. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5888-09.2010>
- Love S., Plaha P., Patel N.K., Hotton G.R., Brooks D.J., Gill S.S. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces neuronal sprouting in human brain. *Nat Med*. 2005. 11 (7): 703–704. <https://doi.org/10.1038/nm0705-703>
- Luz M., Whone A., Bassani N., Wyse R.K., Stebbins G.T., Mohr E. The Parkinson's Disease Comprehensive Response (PDCORE): a composite approach integrating three standard outcome measures. *Brain Commun*. 2020. 2(2): fcaa046. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa046>
- Manié S., Santoro M., Fusco A., Billaud M. The RET receptor: Function in development and dysfunction in congenital malformation. *Trends in Genetics*. 2001. 17 (10): 580–589. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(01\)02420-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02420-9)
- Marks W.J., Bartus R.T., Siffert J., Davis C.S., Lozano A., Boulis N., Vitek J., Stacy M., Turner D., Verhagen L., Bakay R., Watts R., Guthrie B., Jankovic J., Simpson R., Tagliati M., Alterman R., Stern M., Baltuch G., Starr P.A., Larson P.S., Ostrem J.L., Nutt J., Kiebertz K., Kordower J.H., Olanow C.W. Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: A double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Neurol*. 2010. 9(12): 1164–1172. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70254-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70254-4)
- Marshall P. Finding an Optimal Level of GDNF Overexpression: Insights from Dopamine Cycling. *Cell Mol Neurobiol*. 2023. 43(7): 3179–3189. <https://doi.org/10.1007/S10571-023-01375-Z>
- Meka D.P., Müller-Rischart A.K., Nidadavolu P., Mohammad B., Motori E., Ponna S.K., Aboutalebi H., Bassal M., Annamneedi A., Finckh B., Miesbauer M., Rotermund N., Lohr C., Tatzelt J., Winklhofer K.F., Kramer E.R. Parkin cooperates with GDNF/RET signaling to prevent dopaminergic neuron degeneration. *Journal of Clinical Investigation*. 2015. 125(5): 1873–1885. <https://doi.org/10.1172/JCI79300>
- Morrison P.F., Lonser R.R., Oldfield E.H. Convective delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor in the human putamen. *J Neurosurg*. 2007. 107(1): 74–83. <https://doi.org/10.3171/JNS-07/07/0074>
- Nguyen Q.T., Parsadarian A.S., Snider W.D., Lichtman J.W. Hyperinnervation of neuromuscular junctions caused by GDNF overexpression in muscle. *Science* (1979). 1998. 279(5357): 1725–1729. <https://doi.org/10.1126/science.279.5357.1725>
- Nutt J.G., Burchiel K.J., Comella C.L., Jankovic J., Lang A.E., Laws E.R., Lozano A.M., Penn R.D., Simpson R.K., Stacy M., Wooten G.F., Johnston L., Lopez J., Harrigan M., Marciano F.F., Carter J.H., Stone C., Trugman J., Rost-Ruffner E., O'Brien C., McVicker J.H., Davis T.L., Charles D., Allen G., Weiner W., Landy H.J., Bronstein J., Koller W., Pahwa R., Wilkinson S., Siemers E.R., Wojcieszek J.M., Witt T., Tuite P.J., Ebbitt B.J., Maxwell R., Cravets M., Hilt D., Klein M., Lee D.R., Schultz B. Randomized, double-blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in PD. *Neurology*. 2003. 60(1): 69–73. <https://doi.org/10.1212/WNL.60.1.69>
- Nykjaer A., Lee R., Teng K.K., Jansen P., Madsen P., Nielsen M.S., Jacobsen C., Kliemann M., Schwarz E., Willnow T.E., Hempstead B.L., Petersen C.M. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature*. 2004. 427(6977): 843–848. <https://doi.org/10.1038/nature02319>

- Ohnaka M., Miki K., Gong Y.Y., Stevens R., Iwase T., Hackett S.F., Campochiaro P.A. Long-term expression of glial cell line-derived neurotrophic factor slows, but does not stop retinal degeneration in a model of retinitis pigmentosa. *J Neurochem.* 2012. 122(5): 1047–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07842.x>
- Paratcha G., Ibáñez C.F. Lipid rafts and the control of neurotrophic factor signaling in the nervous system: Variations on a theme. *Curr Opin Neurobiol.* 2002. 12 (5): 542–549. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00363-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00363-X)
- Paratcha G., Ledda F. GDNF and GFR α : a versatile molecular complex for developing neurons. *Trends Neurosci.* 2008. 31(8): 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.05.003>
- Paratcha G., Ledda F., Baars L., Couplier M., Besset V., Anders J., Scott R., Ibáñez C.F. Released GFR α 1 potentiates downstream signaling, neuronal survival, and differentiation via a novel mechanism of recruitment of c-Ret to lipid rafts. *Neuron.* 2001. 29(1): 171–184. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00188-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00188-X)
- Paratcha G., Ledda F., Ibáñez C.F. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands. *Cell.* 2003. 113(7): 867–879. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00435-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00435-5)
- Pascual A., Hidalgo-Figueroa M., Piruat J.I., Pintado C.O., Gómez-Díaz R., López-Barneo J. Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival. *Nat Neurosci.* 2008. 11(7): 755–761. <https://doi.org/10.1038/nn.2136>
- Patel N.K., Pavese N., Javed S., Hotton G.R., Brooks D.J., Gill S.S. Benefits of putaminal GDNF infusion in Parkinson disease are maintained after GDNF cessation. *Neurology.* 2013. 81(13): 1176–1178. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a55ea5>
- Piccinini E., Kalkkinen N., Saarma M., Runeberg-Roos P. Glial cell line-derived neurotrophic factor: Characterization of mammalian posttranslational modifications. *Ann Med.* 2013. 45(1): 66–73. <https://doi.org/10.3109/07853890.2012.663927>
- Pichel J.G., Shen L., Sheng H.Z., Granholm A.C., Drago J., Grinberg A., Lee E.J., Sing Ping Huang, Saarma M., Hoffer B.J., Sariola H., Westphal H. Defects in enteric innervation and kidney development in mice lacking GDNF. *Nature.* 1996. 382(6586): 73–75. <https://doi.org/10.1038/382073A0>
- Piltonen M., Bessalov M.M., Ervasti D., Matilainen T., Sidorova Y.A., Rauvala H., Saarma M., Männistö P.T. Heparin-binding determinants of GDNF reduce its tissue distribution but are beneficial for the protection of nigral dopaminergic neurons. *Exp Neurol.* 2009. 219(2): 499–506. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.07.002>
- Rattenholl A., Ruoppolo M., Flagiello A., Monti M., Vinci F., Marino G., Lilie H., Schwarz E., Rudolph R. Pro-sequence assisted folding and disulfide bond formation of human nerve growth factor. *J Mol Biol.* 2001. 305(3): 523–533. <https://doi.org/10.1006/JMBI.2000.4295>
- Revishchin A., Moiseenko L., Kust N., Bazhenova N., Teslia P., Panteleev D., Kovalzon V., Pavlova G. Effects of striatal transplantation of cells transfected with GDNF gene without pre- and pro-regions in mouse model of Parkinson's disease. *BMC Neurosci.* 2016. 17(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0271-x>
- Rind H.B., Butowt R., Bartheld C.S. Von. Synaptic targeting of retrogradely transported trophic factors in motoneurons: Comparison of glial cell line-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor, and cardiotrophin-1 with tetanus toxin. *Journal of Neuroscience.* 2005. 25(3): 539–549. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4322-04.2005>
- Rosenblad C., Kirik D., Björklund A. Sequential administration of GDNF into the substantia nigra and striatum promotes dopamine neuron survival and axonal sprouting but not striatal reinnervation or functional recovery in the partial 6-OHDA lesion model. *Exp Neurol.* 2000. 161(2): 503–516. <https://doi.org/10.1006/EXNR.1999.7296>
- Rossi J., Luukko K., Poteryaev D., Laurikainen A., Sun Y.F., Laakso T., Eerikäinen S., Tuominen R., Lakso M., Rauvala H., Arumäe U., Pasternack M., Saarma M., Airaksinen M.S. Retarded Growth and Deficits in the Enteric and Parasympathetic Nervous System in Mice Lacking GFR α 2, a Functional Neurturin Receptor. *Neuron.* 1999. 22(2): 243–252. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81086-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81086-7)
- Runeberg-Roos P., Piccinini E., Penttinen A.M., Mätlik K., Heikkinen H., Kuure S., Bessalov M.M., Peränen J., Garea-Rodríguez E., Fuchs E., Airavaara M., Kalkkinen N., Penn R., Saarma M. Developing therapeutically more efficient Neurturin variants for treatment of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2016. 96: 335–345. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.07.008>
- Salvatore M.F., Ai Y., Fischer B., Zhang A.M., Grondin R.C., Zhang Z., Gerhardt G.A., Gash D.M. Point source concentration of GDNF may explain failure of phase II clinical trial. *Exp Neurol.* 2006. 202(2): 497–505. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.07.015>
- Sari Y. Huntington's Disease: From Mutant Huntingtin Protein to Neurotrophic Factor Therapy. *Int J Biomed Sci.* 2011. 7(2): 89–100.
- Sariola H., Saarma M. GDNF and its receptors in the regulation of the ureteric branching. *International Journal of Developmental Biology.* 1999. 43 (5): 413–418. <https://doi.org/10.1387/ijdb.10535317>
- Sariola H., Saarma M. Novel functions and signalling pathways for GDNF. *J Cell Sci.* 2003. 116(19): 3855–3862. <https://doi.org/10.1242/jcs.00786>
- Sauer H., Rosenblad C., Björklund A. Glial cell line-derived neurotrophic factor but not transforming growth factor β 3 prevents delayed degeneration of nigral dopaminergic neurons following striatal 6-hydroxydopamine lesion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995. 92(19): 8935–8939. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8935>
- Schmutzler B.S., Roy S., Pittman S.K., Meadows R.M., Hingtgen C.M. Ret-dependent and Ret-independent mechanisms of Gfl-induced sensitization. *Mol Pain.* 2011. 7:22. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-22>

- Shamadykova D.V., Panteleev D.Y., Kust N.N., Savchenko E.A., Rybalkina E.Y., Revishchin A.V., Pavlova G.V.* Neuroinductive properties of mGDNF depend on the producer, E. Coli or human cells. *PLoS One*. 2021. 16(10): e0258289.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258289>
- Sherer T.B., Fiske B.K., Svendsen C.N., Lang A.E., Langston J.W.* Crossroads in GDNF therapy for Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2006. 21 (2): 136–141.
<https://doi.org/10.1002/mds.20861>
- Sidorova Y.A., Saarma M.* Small Molecules and Peptides Targeting Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Receptors for the Treatment of Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. 21(18): 6575.
<https://doi.org/10.3390/IJMS21186575>
- Solius G., Panteleev D., Pustogarov N., Revishchin A., Poletaeva I., Pavlova G.* Time course of transient expression of pre- α -pro-GDNF and pre- β -pro-GDNF transcripts, and mGDNF mRNA region in Krushinsky–Molodkina rat brain after audiogenic seizures. *Epilepsy & Behavior*. 2019. 96: 87–91.
<https://doi.org/10.1016/J.YEBEH.2019.03.007>
- Suter U., J V Heymach J., Shooter E.M.* Two conserved domains in the NGF propeptide are necessary and sufficient for the biosynthesis of correctly processed and biologically active NGF. *EMBO J*. 1991. 10(9): 2395.
<https://doi.org/10.1002/J.1460-2075.1991.TB07778.X>
- Suter-Crazzolara C., Unsicker K.* GDNF is expressed in two forms in many tissues outside the CNS. *Neuroreport*. 1994. 5(18): 2486–2488.
<https://doi.org/10.1097/00001756-199412000-00020>
- Suvanto P., Wartiovaara K., Lindahl M., Arumäe U., Moshnyakov M., Horelli-Kuitunen N., Airaksinen M.S., Palotie A., Sariola H., Saarma M.* Cloning, mRNA distribution and chromosomal localisation of the gene for glial cell line-derived neurotrophic factor receptor β , a homologue to GDNFR- α . *Hum Mol Genet*. 1997. 6(8): 1267–1273.
<https://doi.org/10.1093/hmg/6.8.1267>
- Takahashi M.* The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2001. 12(4): 361–373.
[https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(01\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(01)00012-0)
- Takahashi M., Ritz J., Cooper G.M.* Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. *Cell*. 1985. 42(2): 581–588.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90115-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90115-1)
- Teng H.K., Teng K.K., Lee R., Wright S., Tevar S., Almeida R.D., Kermani P., Torkin R., Chen Z.Y., Lee F.S., Kraemer R.T., Nykjaer A., Hempstead B.L.* ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J Neurosci*. 2005. 25(22): 5455–5463.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5123-04.2005>
- Tomac A., Lindqvist E., Lin L.F.H., Ögren S.O., Young D., Hoffer B.J., Olson L.* Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by gdnf in vivo. *Nature*. 1995a. 373(6512): 335–339.
<https://doi.org/10.1038/373335a0>
- Tomac A., Widenfalk J., Lin L.F.H., Kohno T., Ebendal T., Hoffer B.J., Olson L.* Retrograde axonal transport of glial cell line-derived neurotrophic factor in the adult nigrostriatal system suggests a trophic role in the adult. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995b. 92(18): 8274–8278.
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.18.8274>
- Trupp M., Rydén M., Jörnvall H., Funakoshi H., Timmusk T., Arenas E., Ibáñez C. F.* Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *Journal of Cell Biology*. 1995. 130(1): 137–148.
<https://doi.org/10.1083/jcb.130.1.137>
- Tsui C.C., Pierchala B.A.* The differential axonal degradation of ret accounts for cell-type-specific function of glial cell line-derived neurotrophic factor as a retrograde survival factor. *Journal of Neuroscience*. 2010. 30(15): 5149–5158.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5246-09.2010>
- Uchida S., Hara K., Kobayashi A., Otsuki K., Yamagata H., Hobara T., Suzuki T., Miyata N., Watanabe Y.* Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron*. 2011. 69(2): 359–372.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.023>
- Vastag B.* Biotechnology: Crossing the barrier. *Nature*. 2010. 466(7309): 916–918.
<https://doi.org/10.1038/466916a>
- Visanji N.P., Orsi A., Johnston T.H., Howson P.A., Dixon K., Callizot N., Brotchie J.M., Rees D.D.* PYM50028, a novel, orally active, nonpeptide neurotrophic factor inducer, prevents and reverses neuronal damage induced by MPP⁺ in mesencephalic neurons and by MPTP in a mouse model of Parkinson's disease. *The FASEB Journal*. 2008. 22(7): 2488–2497.
<https://doi.org/10.1096/fj.07-095398>
- Winkler C., Sauer H., Lee C.S., Björklund A.* Short-term GDNF treatment provides long-term rescue of lesioned nigral dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience*. 1996. 16(22): 7206–7215. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-22-07206.1996>
- Worley D.S., Pisano J.M., Choi E.D., Walus L., Hes-sion C.A., Cate R.L., Sanicola M., Birren S.J.* Developmental regulation of GDNF response and receptor expression in the enteric nervous system. *Development*. 2000. 127(20): 4383–4393.
<https://doi.org/10.1242/DEV.127.20.4383>
- Zhang Z., Miyoshi Y., Lapchak P.A., Collins F., Hilt D., Lebel C., Kryscio R., Gash D.M.* Dose Response to Intraventricular Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Administration in Parkinsonian Monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997. 282(3):1396–401.

FUNDAMENTAL RESEARCH AND PRACTICAL APPLICATION OF GDNF AS A NEUROPROTECTIVE AGENT IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

D. V. Shamadykova^{a, #}, G. V. Pavlova^{a, b, c, ##}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Science (IHNA), Moscow, Russia*

^b*Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, Russia*

^c*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (MSMU), Moscow, Russia*

[#]*e-mail: djirgala04@gmail.com*

^{##}*e-mail: lkorochkin@mail.ru*

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) is under extensive investigation as a therapeutic agent for treating age-related neurodegenerative diseases and traumatic neuronal injury. The compelling results from preclinical studies contrast with the disappointing outcomes of phase II clinical trials in Parkinson's disease, highlighting the need for further fundamental research. Several hypotheses have been proposed to explain these discrepancies, including challenges with the delivery of high molecular weight drugs, GDNF's high affinity for heparin and heparin-like molecules, which limits its biodistribution in the brain parenchyma, the use of protein forms differing from the native GDNF, and the existence of multiple isoforms of the protein. These issues underscore the necessity for further investigation into GDNF at the genetic, RNA, and protein levels. This review aims to consolidate the latest data on GDNF, address the challenges identified, and explore its potential for therapeutic application in human neurodegenerative diseases.

Keywords: GDNF, gene structure, isoforms, Parkinson's disease therapy, neurodegenerative diseases