

УДК 577.25

## ДОФАМИНОВЫЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР МОЗГА (CDNF): СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

### Обзор

© 2021 Д.В. Ерёмин, Т.В. Ильчибаева, А.С. Цыбко\*

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090 Новосибирск,  
Новосибирская обл., Россия; электронная почта: antoncybko@mail.ru

Поступила в редакцию 28.04.2021

После доработки 29.05.2021

Принята к публикации 06.06.2021

Дофаминовый нейротрофический фактор мозга (CDNF) вместе с мезэнцефалическим астроцитарным нейротрофическим фактором (MANF) формируют уникальное семейство нейротрофических факторов, структурно и функционально отличных от других белков с нейротрофической и ростовой активностью. CDNF не имеет рецепторов на клеточной мембране и локализован преимущественно в полости эндоплазматического ретикулума (ЭПР); его первостепенной функцией является регуляция стресса ЭПР. Кроме того, CDNF способен подавлять воспаление и апоптоз. В силу своих функций CDNF демонстрирует выдающиеся защитные и восстановительные свойства в различных моделях нейропатологий, связанных со стрессом ЭПР, к которым относится и болезнь Паркинсона. Благодаря таким эффектам, CDNF уже прошёл клинические испытания с участием пациентов, страдающих болезнью Паркинсона. Несмотря на название, функции CDNF распространяются далеко за пределы дофаминовой системы мозга. В частности, имеются данные об участии CDNF в созревании и поддержании других нейротрансмиттерных систем, регуляции процессов нейропластичности и немоторного поведения. В данном обзоре мы рассматриваем особенности структуры и функций CDNF, его защитные и регенеративные свойства.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нейротрофические факторы, дофаминовый нейротрофический фактор мозга CDNF, стресс ЭПР, ответ развёрнутого белка UPR, нейропротекция, болезнь Паркинсона.

**DOI:** 10.31857/S0320972521070071

### ВВЕДЕНИЕ

Нейротрофические факторы (НТФ) — это большая группа полипептидов (длиной до 200 а.о.), играющих ключевую роль в развитии и сохранении структур как центральной и периферической нервных систем, так и многих других систем организма [1]. Они принимают участие в регуляции роста, развития, дифференциации, миграции и выживания клеточных популяций, процессах их адаптации к внешним воздействиям. Эволюционно НТФ являются очень древними, они существовали ещё до появления позвоночных животных [2].

Принятые сокращения: БП — болезнь Паркинсона; ДА — дофамин; НТФ — нейротрофический фактор; CDNF — дофаминовый нейротрофический фактор мозга (cerebral dopamine neurotrophic factor); MANF — мезэнцефалический астроцитарный нейротрофический фактор (mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor); МРТР — 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин; UPR — ответ развёрнутого белка (unfolded protein response); 5-НТ — серотонин или 5-гидрокситриптамин (5-hydroxytryptamine); 6-ОНДА — 6-гидроксидофамин.

\* Адресат для корреспонденции.

НТФ изучают ещё с 1940-х гг., когда был открыт первый из них — фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF). Среди наиболее известных на настоящий момент НТФ можно отметить нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейротрофины (NT3–7), а также глиальный нейротрофический фактор (GDNF). Кроме того, нейротрофной активностью обладает группа разнообразных белков, классифицируемых как ростовые факторы [3]. Все НТФ секретируются клеткой и связываются с рецепторами на плазматической мембране, большинство из которых работают как тирозинкиназы или активируют последние, запуская нижележащие (downstream) сигнальные пути, такие как путь регулируемой внеклеточными сигналами киназы (Ras/ERK) или путь фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K/Akt) [4]. Эти сигнальные каскады обеспечивают формирование синапсов, выживание, дифференциацию и созревание нейронов.

Дофаминовый нейротрофический фактор мозга (cerebral dopamine neurotrophic factor, CDNF) вместе с мезэнцефалическим астроцитарным нейротрофическим фактором (mesen-

cephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF) образуют особое семейство секретируемых белков с нейротрофической активностью [5, 6]. Своё название CDNF получил благодаря способности защищать и восстанавливать дофаминергические (ДА) нейроны, продемонстрированной в двух моделях болезни Паркинсона (БП) – индуцированной 6-гидроксидофамином (6-OHDA) или 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (MPTP) у грызунов и приматов соответственно [6–8]. Нейротрофические эффекты CDNF, оказываемые на нигростриарные ДА-нейроны, послужили основой для клинических испытаний с участием пациентов с БП [9].

CDNF не обнаруживается в эмбриональном мозге и может быть детектирован в нейрональных клетках только с 10-го постнатального дня. Однако во взрослом мозге CDNF распространён широко – его можно обнаружить в слоях II–VI коры, в CA1-, CA3-областях и зубчатой извилине гиппокампа, голубом пятне и клетках Пуркиньи мозжечка [6]. Несмотря на своё название, CDNF экспрессируется и за пределами центральной нервной системы (ЦНС) и действует как на периферические нейроны (например, в кишечнике), так и на клетки отличной от нейрональной природы, особенно в тканях с высокой метаболической активностью [6, 10]. К примеру, CDNF наиболее заметно экспрессируется в сердце, мышцах и бурой жировой ткани [10].

CDNF локализуется в просвете эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и усиленно секретируется из клетки в условиях стресса. Он оказывает трофический эффект на многие ткани и типы клеток в секретируемой форме, однако также может обеспечивать защиту клеток изнутри ЭПР. Несмотря на классификацию CDNF как НТФ в силу нейропротекторного и восстанавливающего действия, структурно он не похож на какие-либо другие НТФ, к примеру, NGF, BDNF или GDNF. Кроме того, для CDNF (как, впрочем, и для MANF) не было идентифицировано рецепторов на клеточной поверхности. В этом обзоре мы рассмотрим особенности структуры и функций CDNF, а также механизмы, путём которых он обеспечивает выживание клеток при различных патологических состояниях ЦНС.

### ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ CDNF

Структура CDNF уникальна среди нейротрофических факторов. По аминокислотному составу он на 59% сходен с MANF, но не гомоло-

гичен другим хорошо описанным НТФ (например, NGF, BDNF, GDNF), в связи с чем CDNF и MANF классифицируют как уникальное семейство белков [11]. Ген *CDNF* консервативен среди позвоночных, будь то мышь, человек или рыбка данио (*Danio rerio*) [6, 12]. В то же время беспозвоночные, такие как плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, круглый червь *Caenorhabditis elegans* и губка *Suberites domuncula*, имеют лишь один ортологичный ген *MANF/CDNF* [13–15].

CDNF – это относительно небольшой (18–20 кДа) растворимый белок, состоящий из 187 а.о. В структуре CDNF выделяют глобулярный N-конец и неструктурированный C-конец, связанные гибкой перемычкой [11, 16, 17]. В отличие от классических НТФ, CDNF не имеет пропоследовательности для осуществления процесса ферментативной активации. На N-конце имеется только сигнальная пептидная последовательность из 26 а.о., которая необходима для перемещения белка в ЭПР, где она отщепляется. В дополнение к сигнальному пептиду N-конец содержит сапозин-подобный домен. Сапозин-подобные белки (SAPLIP), такие как гранулизин и НК-лизин, известны своей способностью взаимодействовать с мембранными липидами. В работе Bai et al. [18] было показано, что MANF взаимодействует с сульфатидом – липидом, присутствующим во внеклеточной створке клеточных мембран и во внеклеточной жидкости. Несмотря на структурную схожесть с MANF и наличие SAPLIP-домена, для CDNF взаимодействия с сульфатидом описано не было. Данный факт, вероятно, может быть объяснён функционалом остатка лизина в позиции 122, обладающей высокой консервативностью (K122). В белке MANF человека в данной позиции присутствует лизин, в то время как в CDNF – лейцин; известно, что замена K112L в MANF значительно снижает связывание сульфатидов у *H. sapiens* [18]. Вместе с тем существуют данные, указывающие на возможное участие CDNF в обмене липидов у *D. melanogaster* [19]. Факт взаимодействия с липидами сапозин-подобного домена MANF, но не CDNF, поднимает интересный вопрос о фундаментальных различиях этих двух НТФ. Связывает ли CDNF отличный по сравнению с MANF набор липидов, или связывает липиды в других условиях (например, при другом уровне pH)? Возможные роли MANF и CDNF в регуляции липидов и свойств мембран, вероятно, опосредуют различные функции, которые они выполняют при поддержании гомеостаза ЭПР.

CDNF человека содержит N-связанный и O-связанный сайты гликозилирования [20, 21].

Гликозилированная и негликозилированная формы белка обнаружены в клетках со сверхэкспрессией CDNF [20]. Вместе с тем показано, что гликозилирование не играет роли в секреции и нейропротекторной активности CDNF [6, 21].

CDNF имеет 2 мотива СХХС (Cys-X-X-Cys, где X — любая аминокислота), при этом один из них расположен на N-конце, а другой — на C-конце [11]. СХХС-мотив присутствует во многих белках с антиоксидантными свойствами, таких как дисульфидные изомеразы, которые локализуются в ЭПР и являются критически важными для фолдинга белков [22]. Кроме того, цистеины в СХХС-мотиве дисульфидных изомераз катализируют перестройку дисульфидных связей в субстратных белках, обеспечивая их правильный фолдинг [22]. Ни CDNF, ни MANF не демонстрируют оксидоредуктазной активности, однако их C-концевой СХХС-мотив важен для обеспечения цитопротективной активности. В частности, недавно было показано, что СХХС-мотив играет значимую роль при выполнении MANF функции шаперона и укладке белков в ЭПР [23]. Исходя из структуры, можно ожидать наличия сходной функции и у CDNF.

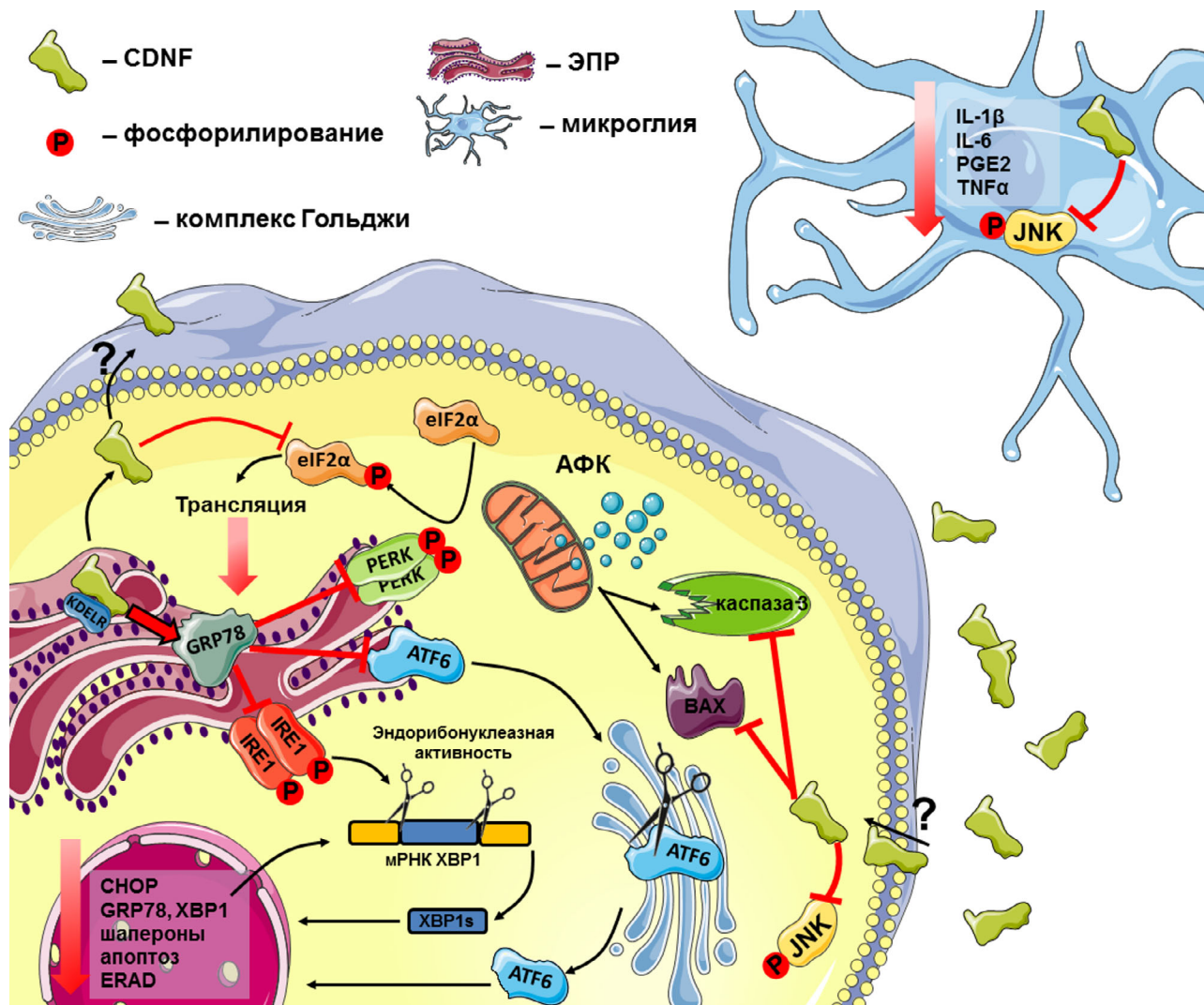
C-конец CDNF содержит SAP-подобный (SAF-A/B, Acinus, PIAS) домен, предположительно являющийся доменом связывания ДНК/РНК, однако его точная функция до сих пор не известна. Аналогичный SAP-подобный домен MANF демонстрирует связывание с р65-субъединицей транскрипционного фактора NFκB [24] и BiP/GRP78 в его ADP-связанном состоянии, предотвращая замену нуклеотида на АТФ и таким образом регулируя активность BiP/GRP78 [25].

C-конец CDNF частично не структурирован и содержит последовательность удержания в ЭПР (ER retention sequence, ERS). C-концевые хвосты с ERS, которые взаимодействуют с KDEL-рецепторами, способствуют локализации белков-резидентов в ЭПР в состоянии гомеостаза [26]. Каноническая ERS состоит из последовательности четырёх аминокислот — лизин-аспаратат-глутамат-лейцин («KDEL» в однобуквенном коде). У CDNF — это последовательность KTEL (лизин-треонин-глутамат-лейцин), которой должно быть достаточно для удержания белка в ЭПР [27]. KTEL-последовательность играет важную роль в регуляции секреции CDNF в ответ на стресс ЭПР, связанный со снижением в нём уровня кальция [28]. Показано, что удаление ERS на C-конце CDNF приводит к его секреции и оставляет клетки беззащитными к действию тапсигаргина (индуктор стресса ЭПР) [29].

Совместно эти данные подтверждают, что CDNF является белком ЭПР с уникальными структурой и свойствами, значительно отличающимися от других хорошо изученных НТФ. Небольшие структурные отличия CDNF от MANF тем не менее могут существенно влиять на выполняемые им функции. Об этом красноречиво свидетельствуют данные, полученные на нокаутных мышцах по генам *Manf* и *Cdnf*. Так, гомозиготные нокаутные животные (*Manf*<sup>-/-</sup>) отличаются серьёзными нарушениями роста, кроме того, у них развивается инсулин-зависимый диабет [30]. У гетерозиготных мышей с дефицитом MANF наблюдается стеатоз (повышенная агрегация липидов) и фиброз печени, а также хроническое воспаление во многих тканях [31]. Напротив, гомозиготные нокаутные по *Cdnf* мыши (*Cdnf*<sup>-/-</sup>) характеризуются хорошей выживаемостью, фертильностью и продолжительностью жизни, не демонстрируют заметных нарушений в развитии и обмене веществ [32]. Из этого следует, что CDNF и MANF различаются не только структурно, но и функционально, и рассматривать биологию CDNF исключительно путём сопоставления с имеющимися данными по MANF было бы ошибкой. Тем не менее представления о функциях, выполняемых CDNF, сформировались в значительной степени под влиянием исследований белка MANF.

### CDNF В РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССА ЭПР

**Ответ развёрнутого белка (unfolded protein response, UPR).** Эндоплазматический ретикулум является ответственным за многие критические функции, такие как синтез липидов, хранение кальция и созревание белков [33]. Когда клетка переживает различные негативные воздействия, в просвете ЭПР происходит нарушение протеостаза, что приводит к стрессу ЭПР. Ответ развёрнутого белка — это эволюционно консервативный защитный механизм клетки, призванный снизить стресс путём подавления трансляции, деградации неправильно свёрнутых белков и активации сигнальных путей, которые ведут к продукции молекулярных шаперонов, вовлечённых в фолдинг белков [34, 35]. Основным регулятором связывания с неправильно свёрнутыми белками в ЭПР является связывающий белок иммуноглобулина (BiP, также именуемый GRP78) [36]. Когда BiP отсоединяется от «сенсоров» UPR, локализованных в мембране ЭПР, происходит активация трёх связанных сигнальных путей: PKR-подобной киназы эндоплазматического ретикулума



**Рис. 1.** Предполагаемые молекулярные механизмы нейропротекторного действия CDNF. В норме GRP78 взаимодействует с сенсорами UPR, предотвращая их активацию. Во время стресса ЭПР GRP78 диссоциирует от ATF6, IRE1 и PERK, что приводит к их активации. ATF6 переносится в комплекс Гольджи, где происходит его расщепление. Активный ATF6 действует как транскрипционный фактор, индуцируя транскрипцию шаперонов, таких как GRP78, проапоптотического фактора CHOP и белка XBP1, а также белков-регуляторов апоптоза. IRE1 активируется путём димеризации и транс-аутофосфорилирования. Цитоплазматический домен активированного IRE1 обладает эндорибонуклеазной активностью и удаляет интроны в транскрипте *XBP1*, благодаря чему формируется усечённый белок XBP1s, который выполняет функцию транскрипционного фактора. XBP1s активирует транскрипцию генов, ответственных за деградацию белков ЭПР (ERAD), а также шаперонов. Активированный PERK в форме димера фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF2 $\alpha$ , что приводит к общему ингибированию трансляции белков в клетке. Вероятно, CDNF в ЭПР связывается с GRP78, стабилизирует его и предотвращает диссоциацию от ATF6, IRE1 и PERK, благодаря чему они не активируются, и вышеописанные пути не запускаются. Когда рецептор KDEL (KDELР) не удерживает CDNF в ЭПР, тот переходит в секретированную форму и, находясь в цитоплазме, блокирует фосфорилирование eIF2 $\alpha$ . Кроме того, свободный CDNF связывается с эффекторами апоптоза (возможно, напрямую), BAX и каспазой-3, и блокирует их. CDNF может секретироваться и во внеклеточное пространство, однако точный механизм его взаимодействия с мембранными липидами неизвестен. В микроглиальных клетках блокада киназы JNK блокирует экспрессию и секрецию цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, PGE2, TNF $\alpha$ ), благодаря чему достигается противовоспалительный эффект. Стоит отметить, что блокада JNK может происходить также в астроцитах и нейрональных клетках. (С цветными вариантами рисунков можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biohsm/>)

(PERK), активирующего фактора транскрипции 6 (ATF6) и инозитол-зависимого фермента 1 (IRE1) [35] (рис. 1). Аутофосфорилирование PERK приводит к фосфорилированию

eIF2 $\alpha$  [37], что снижает общий синтез белка, но избирательно увеличивает экспрессию белков, участвующих в окислительном стрессе, фолдинге и апоптозе. Таким образом, PERK обес-

печивает передачу сигналов выживания и смерти [38]. ATF6 расщепляется в аппарате Гольджи, и его *N*-концевой домен переносится в ядро для индукции транскрипции шаперонов и белков деградации, ассоциированных с ЭПР [39]. Активация IRE1 индуцирует в цитоплазме сплайсинг транскрипта *XBP1*. Усечённая версия белка *XBP1* (*XBP1s*) переносится в ядро, где индуцирует экспрессию генов, ответственных за деградацию белков ЭПР (ERAD), а также шаперонов [40] (рис. 1).

Нарушение регуляции UPR связано со многими патологическими состояниями, такими как рак, диабет и нейродегенеративные заболевания [41, 42]. Во многих исследованиях показана причинная связь между изменением протеостаза в ЭПР и прогрессированием нейродегенеративных заболеваний, что характеризуется повышенными уровнями маркёров UPR [43].

**Экспрессия CDNF при UPR.** На сегодняшний день *Manf* классифицируют как один из генов-маркёров UPR, наряду с *Grp78*, *Perk* и *Xbp1* [44]. Его экспрессия усиливается в ответ на обработку клеток туникамицином – препаратом, вызывающим нарушение протеостаза в ЭПР [45], а также при индукции стресса ЭПР с помощью неверно свёрнутых пептидов [46]. Рассматривать же *Cdnf* в качестве гена-маркёра UPR пока преждевременно: нам известна единственная работа, в которой было показано усиление экспрессии CDNF в первичной культуре нейронов в ответ на воздействие туникамицина [47]. Вместе с тем исследования по взаимодействию генов, проведенные на *D. melanogaster* и *C. elegans*, имеющих лишь один гомолог *Manf/Cdnf*, подтвердили, что путь IRE1/XBP1 вовлечен в транскрипционную регуляцию вышеуказанных генов [13, 48]. Кроме того, секреция белков CDNF, как и MANF, снижается в ответ на сверхэкспрессию GRP78 и KDELR (рецептор KDELR) *in vitro* [49]. Все эти данные указывают на фундаментальное сходство механизмов, регулирующих экспрессию и секрецию CDNF и MANF. Поэтому можно ожидать, что с поступлением новых данных *Cdnf* также займёт место в числе генов-маркёров UPR.

**CDNF как модулятор UPR.** Представление о том, как CDNF может регулировать UPR, сложилось во многом под влиянием данных, полученных при исследовании MANF. Последний не только напрямую связывается с GRP78 [50], но и блокирует высвобождение им ADP и присоединение АТР, что позволяет стабилизировать комплекс GRP78 с «сенсорами» UPR и предотвратить запуск данной реакции [25]. Считается, что механизм регуляции стресса ЭПР с помощью CDNF сходен с таковым у MANF, т.е.

опосредуется путём стабилизации «сенсоров» UPR через связывание с GRP78 [9, 44]. Известно несколько работ, подтверждающих, что CDNF является супрессором UPR. При изучении смоделированной на крысах болезни Альцгеймера (БА) было показано, что CDNF снижает вызванную  $\beta$ -амилоидом активацию UPR в нейронах гиппокампа [51]. Сходным образом CDNF действовал в DA-нейронах, подверженных действию 6-OHDA в модели БП [52]. Однако нельзя расценивать функцию CDNF в UPR как исключительно супрессорную. Во-первых, *Cdnf*<sup>-/-</sup> мыши с не демонстрировали увеличенную экспрессию генов-маркёров UPR в среднем мозге [32]. Во-вторых, в работе Arancibia et al. [29] продемонстрировано усиление экспрессии генов-маркёров UPR в клетках НЕК293 и первичной культуре нейронов, трансфицированных плазмидой, экспрессирующей CDNF. При этом сверхэкспрессия CDNF ингибировала апоптоз и индуцированную тапсигаргином смерть клеток [29]. Эти данные можно трактовать как свидетельство модулирующего влияния CDNF на UPR. Вероятно, в зависимости от формы и степени стресса ЭПР CDNF способен либо полностью останавливать развитие UPR, либо умеренно активировать его. В умеренной степени UPR через такие эффекторы, как ATF6 и XBP1, индуцирует экспрессию шаперонов, эффективно устраняющих последствия неправильного фолдинга белков.

#### АНТИАПОПТОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА CDNF

Апоптоз является важным индикатором степени нейрональной дисфункции при нейродегенеративных заболеваниях [53]. При этом известно, что стресс ЭПР значительно усиливает чувствительность клетки к индукции апоптоза [54, 55]. CDNF может предотвращать дегенерацию нейронов и подавлять апоптоз не только за счёт ингибирования стресса ЭПР, но и напрямую, модулируя вовлечённые в апоптоз пути. Было показано, что выживаемость клеток линии PC12, обработанных 6-OHDA, усиливалась с увеличением дозы белка CDNF, добавлявшегося в клеточную культуру [56]. Одновременно с этим, также дозозависимо, повышалось соотношение Bcl-2/Bax и снижалась активность каспазы-3 [56]. Точный механизм, с помощью которого CDNF подавляет активность проапоптотических белков, неизвестен, однако некоторые предположения можно сделать по аналогии с MANF. Обнаружено, что домен на C-конце MANF гомологичен SAP-домену белка Ku70



[57], ингибитора проапоптотического белка Вах [58–60]. Также было показано, что отдельно синтезированный С-конец MANF, введённый в нейроны, защищал их от индуцированного Вах апоптоза [57]. Хотя на сегодняшний день доказать прямое связывание MANF с Вах так и не удалось [61], значительное сходство С-концов MANF и CDFN оставляет возможность такого связывания и для последнего. Впрочем, можно предполагать существование и каких-либо других механизмов.

### ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ CDFN

Цитопротективные свойства CDFN тесно связаны с противовоспалительной активностью, чему накоплено достаточно свидетельств. Обработка туникамицином культуры первичных астроцитов крысы приводит к увеличению уровня мРНК и секреции провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-6), а сверхэкспрессия CDFN в астроцитах перед обработкой уменьшала этот воспалительный цитокиновый ответ [62]. В дальнейшем было показано усиление экспрессии CDFN в первичной культуре микроглии крысы, обработанной липополисахаридом (LPS), индуцирующим воспаление [63]. LPS – это бактериальный эндотоксин, который связывается с толл-подобным рецептором 4 (TLR4) на клеточной мембране и усиливает экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как PGE2, IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ . Рекombинантный белок CDFN уменьшал опосредованную LPS продукцию PGE2 и IL-1 $\beta$ , а вместе с этим и токсичность в микроглиальных клетках крысы [63]. Эти эффекты CDFN коррелировали со сниженным уровнем фосфорилирования киназы JNK, которая активируется под воздействием LPS одной из первых. Также было показано, что в микроглии, обработанной LPS, CDFN уменьшал активацию пути Akt/FoxO1/mTор с сопутствующим снижением уровня внеклеточного TNF $\alpha$  [64], что также подтверждает предположение о способности CDFN снижать секрецию цитокинов. Вместе с тем сверхэкспрессия CDFN в черной субстанции крыс, получавших 6-OHDA, ослабляла проявление воспалительных маркёров (нитрозативный стресс, глиоз и уровень IL-6), но не влияла на экспрессию цитокинов (например, TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) в стриатуме [65]. Таким образом, противовоспалительное действие CDFN основано не только на снижении экспрессии цитокинов, а включает также иные механизмы подавления воспалительного ответа.

### УЧАСТИЕ CDFN В СОЗРЕВАНИИ И ПОДДЕРЖАНИИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ

Начиная с момента открытия, CDFN прочно ассоциируется с дофаминовой системой, что и отражено в его названии. И действительно, CDFN эффективно защищает и восстанавливает ДА-нейроны во многих моделях БП [66], а недавно было показано, что аналогичную функцию CDFN выполняет и в модели болезни Гентингтона [67]. Установлено, что экспрессия *Cdnf*, как и многих других ключевых генов дофаминовой системы, изменилась во время длительного космического полёта (на биоспутнике Бион-М1) [68, 69], что косвенно свидетельствует о его участии в адаптации ДА-нейронов к условиям микрогравитации. У мышей с нокаутом по *Cdnf* (*Cdnf*<sup>-/-</sup>) наблюдается снижение экспрессии тирозингидроксилазы (ТГ), дофаминового транспортёра (ДАТ), уменьшение содержания ДА в дофаминовых нейронах подслизистой области тонкого кишечника, число самих нейронов с возрастом также значительно снижается [70]. Удивительно, но в мозге *Cdnf*<sup>-/-</sup> мышей не изменяется ни число ДА-нейронов в чёрной субстанции, ни метаболизм дофамина [32]. Тем не менее авторами указанного исследования отмечены возрастные нарушения функции ДА-системы: нарушается работа ДАТ, возникает индуцированная D-амфетамином гиперактивность, что сопровождается повышенной секрецией дофамина. Всё вместе это указывает на нарушения в аксональных терминалах ДА-нейронов в стриатуме *Cdnf*<sup>-/-</sup> мышей [32]. Интересно, что в одном исследовании была обнаружена ассоциация между развитием БП в позднем возрасте и полиморфизмом rs7094179 в гене *CDFN* [71]. При этом важно отметить, что данный полиморфизм, по мнению авторов исследования, вероятно, не функционален.

Недавно полученные данные указывают на то, что эффекты CDFN могут не ограничиваться исключительно дофаминовой системой. Так, у *Cdnf*<sup>-/-</sup> мышей в подслизистой области тонкого кишечника продемонстрировано существенное снижение числа нейронов, экспрессирующих NO-синтазу (nNOS) и белок, связанный с геном кальцитонина (calcitonin gene-related protein, CGRP), а также ГАМКергических нейронов [70].

Показано, что рыбы *Danio rerio* с полным нокаутом гена *Cdnf* отличаются гиперактивностью и нарушениями в поведении, связанными с тревогой, социальными предпочтениями и сплоченностью стаи [72]. У этих животных также наблюдались сниженная коммуникабельность и

повышенная восприимчивость к припадкам, индуцированным пентилентетразолом, которые могут быть связаны с дефицитом сразу нескольких нейромедиаторных систем, включая ДА-нейроны, ГАМКергические и гистаминергические нейроны. Несмотря на то что уровень дофамина в головном мозге не изменялся, у рыб с дефицитом CDNF были обнаружены отклонения в группировке ДА-нейронов в кластеры. Одновременно с этим было показано снижение числа гистаминергических нейронов, окружающих ДА-нейроны. Аномально низкое количество ГАМКергических нейронов было обнаружено в гипоталамусе, а экспрессия глутаматдекарбоксилазы была снижена во всём мозге рыб, нокаутных по *Cdnf* [72]. Эти данные свидетельствуют о том, что CDNF действует как общий модулятор, регулирующий нейрогенез и созревание медиатор-специфических типов нейронов во время развития и на протяжении всей взрослой жизни, а не ограничивается только дофаминергической системой [70]. Кроме того, в исследовании Voutilainen et al. [52] было показано, что CDNF способен активировать PI3K/Akt сигнальный путь как *in vitro*, так и *in vivo*, причём даже в неповреждённом мозге. Поскольку указанный сигнальный путь является необходимым компонентом процесса долговременной потенциации [73, 74], можно предположить, что CDNF принимает самое активное участие в процессах нейропластичности, связанных с обучением и памятью – и этому уже найдены первые доказательства. В работе Kemppainen et al. [75] было продемонстрировано, что введение в гиппокамп белка CDNF или вирусного конструкта, обеспечивающего его сверхэкспрессию, улучшало формирование долговременной пространственной памяти у мышей. Работы, выполненные авторами настоящего обзора, показали, что однократная инъекция белка CDNF в желудочек мозга мышей влияет на ассоциативное обучение животных даже через 10 дней после инъекции, при этом наблюдаются изменения в транскрипции ряда генов серотониновой (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) системы мозга, например, кодирующих фермент триптофангидроксилазу 2 и серотониновый рецептор подтипа 2A (5-НТ<sub>2A</sub>) [76]. В другом исследовании мы обнаружили, что индукция сверхэкспрессии CDNF в дорсальном гиппокампе крыс ухудшает формирование условно-рефлекторного страха, что сопровождается повышенными уровнями мРНК генов, кодирующих *c-Fos*, CREB и 5-НТ<sub>1B</sub> рецептор [77]. Также нами получено косвенное свидетельство того, что не только CDNF модулирует развитие и функцию медиаторных систем, но и сами медиаторы че-

рез свои рецепторы могут влиять на экспрессию данного НТФ. Так, в МРТР-модели БП на мышцах в повреждённом токсином стриатуме уровень мРНК CDNF был ожидаемо повышен, однако при введении атипичных антипсихотических препаратов, клозапина или кветиапина, уровень мРНК снижался до базового [78]. Поскольку клозапин и кветиапин являются полными или частичными антагонистами ДА- и 5-НТ-рецепторов (здесь стоит отметить значительное сродство с 5-НТ<sub>2A</sub>-рецепторами), а также гистаминовых и мускариновых рецепторов, можно предположить, что и нейромедиаторы могут модулировать экспрессию CDNF через указанные рецепторы. Интересно, что для хорошо изученных НТФ, таких как BDNF и GDNF, модуляция со стороны различных нейромедиаторных систем является одной из характерных черт [79, 80].

Вышеприведённые факты свидетельствуют о том, что несмотря на значительные структурные особенности и уникальный механизм действия, функционально CDNF гораздо ближе к классическим НТФ, чем считалось изначально. Даже больше – сегодня у нас есть все основания классифицировать CDNF как полноценный НТФ.

#### ТРОФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ CDNF ПРИ НЕЙРОПАТОЛОГИЯХ, СВЯЗАННЫХ СО СТРЕССОМ ЭПР

Изменения в экспрессии CDNF отмечены при заболеваниях, связанных со стрессом ЭПР, включая ишемию мозга [20, 47, 81] и БП [82]. Несмотря на то что данные об участии CDNF в патогенезе тех или иных заболеваний ограничены [71, 83–85], результаты многочисленных испытаний на различных моделях нейропатологий убедительно демонстрируют выдающиеся защитные и восстановительные эффекты CDNF (таблица).

**Болезнь Паркинсона.** Существует множество свидетельств значительной роли UPR в патогенезе БП [86]. В постмортальных исследованиях ДА-нейронов чёрной субстанции у пациентов с БП было выявлено чрезмерное фосфорилирование PERK и IRE1; эти же белки в активированной форме обнаруживаются в нейронах с включениями  $\alpha$ -синуклеина, который является главным компонентом телец Леви, основного нейропатологического маркера БП [87–90]. В моделях БП с применением токсинов (МРТР, 6-ОНДА) также наблюдается активация молекулярных путей UPR [91–93]. Более того, применение ингибитора PERK, GSK2606414 [90], или сверхэкспрессия XBP1 [94] позволяют достичь значительных улучшений у эксперимен-

## CDNF в моделях нейропатологий

Заболевание	Модельная система	Вид/культура	Эффект	Механизм	Ссылки
Болезнь Паркинсона	MPTP	макак-резус	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	ТГ-позитивные клетки в SN ↑	[9]
	6-OHDA	мармозетка	регенерация ДА-нейронов	ДАТ ↑	[8]
	6-OHDA	крыса	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	ТГ-позитивные клетки в SN ↑	[6]
	6-OHDA	крыса	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	ТГ-позитивные клетки в SN ↑; ТГ-позитивные фибробласты в St ↑	[97]
	6-OHDA	крыса	защита ДА-нейронов и восстановление моторных функций	частичная защита ТГ-позитивных нейронов и волокон в SN и St	[100]
	6-OHDA	крыса	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	ТГ-позитивные клетки в SN ↑; ТГ-позитивные волокна в St ↑; функция ДА-нейронов ↑	[101]
	6-OHDA	крыса	защита ДА-нейронов и восстановление моторных функций	комбинированная сверхэкспрессия CDFN и MANF; защита ТГ-позитивных клеток; ТГ-позитивные волокна в St ↑	[102]
	6-OHDA	крыса	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	экспрессия маркёров стресса ЭПР ↓; ТГ-позитивные клетки в SN ↑; ТГ-позитивные волокна в St ↑	[52]
	6-OHDA	крыса	регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций (через 2, но не 5 недель после повреждения)	ТГ-позитивные клетки в SN ↑ при введении AAV8-CDNF не более чем через 2 недели после воздействия 6-OHDA	[105]
	6-OHDA	крыса	улучшение моторных функций при комбинировании CDFN и DBS	ТГ в SN ↑	[104]
	MPTP	мышь	защита и регенерация ДА-нейронов и восстановление моторных функций	ТГ-позитивные клетки в SN ↑; ТГ-позитивные волокна в St ↑	[7]
	6-OHDA и α-синуклеин	ДА-нейроны мыши	защита ДА-нейронов	олигомеры α-синуклеина ↓	[95]
	α-синуклеин	мышь, крыса, нейроны гиппокампа	защита нейронов, восстановление моторных функций	олигомеры α-синуклеина ↓	[96]
MPP <sup>+</sup>	ДА-нейроны крысы	защита ДА-нейронов	комбинированное действие CDFN и синтетического нейртурина (N4); функция ДАТ ↑	[103]	
Болезнь Альцгеймера	линия APP/PS1	мышь	улучшение пространственного обучения и памяти	не известен	[75]



Окончание таблицы

Заболевание	Модельная система	Вид/культура	Эффект	Механизм	Ссылки
	β-амилоид	нейроны гиппокампа крысы	защита клеток от вызван- ной β-амилоидом синапто- токсичности	стресс ЭПР ↓	[51]
Повреждения нервов	перерезка седалищ- ного нерва	крыса	регенерация нерва и вос- становление его функции, предотвращение атрофии иннервируемой мышечной ткани	регенерация аксона и шванновских клеток; тол- щина миелинового слоя ↑	[62]
	перерезка седалищ- ного нерва	крыса	регенерация нерва и вос- становление его функции, предотвращение атрофии иннервируемой мышечной ткани	регенерация аксонов и шванновских клеток при трансплантации продуци- рующих CDNF MSCs; тол- щина миелинового слоя ↑	[110]
	травматическое повреждение спин- ного мозга	крыса	регенерация нервных во- локон, восстановление мо- торных и сенсомоторных функций	нейровоспаление ↓; про- воспалительные цито- кины ↓; ремиелинизация и регенерация волокон при трансплантации продуци- рующих CDNF MSCs	[111]
Ишемия	окклюзия средней мозговой артерии	крыса	уменьшение ишемической области и улучшение мо- торных функций	апоптоз ↓	[47]
	ишемия/реперфузия	крыса	улучшение показателей асимметрии тела и сниже- ние баллов по шкале Би- дерсона	без эффекта на регенера- цию нейронов и фагоци- тарную активность	[107]

Примечание. 6-OHDA – 6-гидроксидофамин; MPTP – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин; ДА – дофаминергические; ТГ – тирозингидроксилаза; ДАТ – транспортёр дофамина; SN – чёрная субстанция; St – стриатум; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; DBS – глубокая стимуляция мозга; MSCs – мезенхимальные стволовые клетки, AAV8 – аденоассоциированный вирусный вектор 8. В квадратных скобках указаны ссылки на соответствующие публикации в списке литературы.

тальных животных. Способность модулировать UPR – это уникальное свойство CDNF, которое отличает его от других НТФ, также рассматриваемых в качестве терапевтических средств при БП. Так, при сравнении CDNF и GDNF в модели 6-OHDA, только введение белка CDNF снижало экспрессию маркёров стресса ЭПР [52]. Кроме того, в исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что CDNF может защищать ДА-нейроны от токсичного влияния олигомеров α-синуклеина [95, 96]. Более того, в недавней работе Albert et al. [96] показали, что CDNF физически связывается с α-синуклеином, предотвращая интернализацию его фибрилл в нейроны, и способствует образованию нерастворимых фосфорилированных включений α-синуклеина, ингибируя образование токсичных олигомеров дан-

ного белка. Этот эффект был продемонстрирован не только в культуре первичных нейронов гиппокампа, но и на животных. Мышам и старым крысам через месяц после инъекции фибрилл α-синуклеина в стриатум остро или хронически вводили CDNF. Несмотря на то что увеличения числа ТГ-позитивных нейронов показано не было, у животных наблюдалось значительное улучшение моторных функций. Надо сказать, что такие эффекты по отношению к α-синуклеину совершенно не характерны для других НТФ.

К настоящему моменту проведён целый ряд испытаний CDNF на различных моделях БП. Уже в первом из них было показано, что односторонняя инъекция белка CDNF в стриатум крыс в 6-OHDA модели приводит к значитель-

ному восстановлению моторных функций, защите и регенерации ДА-нейронов и их отростков в нигростриарном пути [6]. Схожего эффекта на этой же модели БП удалось добиться при двухнедельном введении CDNF в стриатум с помощью осмотической минипомпы [97]. GDNF в указанном исследовании показал довольно скромный эффект. Стоит также отметить, что CDNF диффундировал в ткани значительно лучше по сравнению с GDNF [97]. Как стало известно из исследования Mätlik et al. [98], белок CDNF с большой эффективностью транспортируется ретроградно по аксонам ДА-нейронов и после инъекции в стриатум он наблюдается исключительно в их телах в чёрной субстанции. В МРТР-модели на мышах двусторонняя инъекция CDNF в стриатум за 20 ч до или 1 неделю после воздействия МРТР улучшала горизонтальную и вертикальную двигательную активность, что сопровождалось увеличением числа ДА-нейронов и их отростков в чёрной субстанции и стриатуме соответственно [99]. Сверхэкспрессия CDNF с помощью вектора AAV2 в стриатуме также оказывает защитный эффект на ДА-нейроны и, таким образом, противодействует токсичным эффектам 6-ОНДА, предотвращая двигательные нарушения [100, 101]. В одном исследовании был показан аддитивный эффект от сверхэкспрессии CDNF и MANF в чёрной субстанции [102], однако по уровням обоих НТФ после генной терапии данных нет, как и не ясна биологическая активность этих белков при доставке в нейроны с помощью лентивирусного вектора. Также недавно был показан аддитивный эффект белка CDNF и синтетического варианта нейртурина (N4) на культуру ДА-нейронов из чёрной субстанции, обработанную MPP+ (токсичный метаболит МРТР) [103].

Ожидается, что терапевтические эффекты CDNF зависят от числа сохранившихся ДА-нейронов в нигростриарном пути. В тех моделях БП, что пытаются воспроизвести позднюю стадию болезни со значительной потерей нейронов, введение белка CDNF [104] или его сверхэкспрессия [105] позволяют достичь лишь ограниченного эффекта.

CDNF был протестирован в двух моделях БП на приматах. В одном исследовании на мартышках (*Callithrix jacchus*) с односторонней инъекцией 6-ОНДА хроническое введение CDNF в поражённый стриатум привело к увеличению радиолигандного связывания ДАТ, зафиксированного с помощью позитронно-эмиссионной томографии [8], что свидетельствует о восстановлении терминалей ДА-нейронов. GDNF, использовавшийся в качестве положительного контроля в данном исследовании, по-

добного эффекта не продемонстрировал [8]. У пожилых макак-резус (*Macaca mulatta*), которым была проведена унилатеральная инъекция МРТР, введение CDNF способствовало улучшению моторных функций и восстановлению ДА-нейронов в чёрной субстанции [9].

Токсикологические исследования повторных двусторонних инъекций рекомбинантного белка CDNF в стриатум макак-резус показали полную безопасность данного НТФ [9]. Это позволило перейти к клиническим испытаниям с участием добровольцев с БП. В рандомизированном плацебо-контролируемом мультицентровом исследовании фазы I–II, начатом в конце 2017 г., приняли участие 18 пациентов с идиопатической БП средней степени тяжести (идентификатор NCT03295786 на ClinicalTrials.gov), которым CDNF вводился в стриатум ежемесячно в течение 6 мес. Полные результаты исследования, которое завершилось в августе 2020 г., ещё не опубликованы, однако, по предварительным данным, показана безопасность CDNF через 6 и 12 мес. после начала введения, а также сообщается об усилении функции ДАТ и моторных функций пациентов [106].

**Ишемия.** Исследований, посвященных оценке защитных и восстановительных свойств CDNF при ишемическом поражении головного мозга, известно значительно меньше по сравнению с MANF. У крыс в модели ишемии, вызванной окклюзией средней мозговой артерии, уровни CDNF в перинфарктной области повышались через 2 ч [47], что прямо указывает на участие CDNF в устранении последствий стресса ЭПР. Более того, при введении CDNF перед окклюзией наблюдалось не только уменьшение ишемической области и снижение в ней уровня апоптоза, но также улучшение моторных функций животных [47]. Введение белка CDNF в таламус крыс на 7-й день после кортикальной ишемии/реперфузии обеспечило функциональное восстановление животных, что отразилось в улучшении показателей асимметрии тела и снижении баллов по шкале Бидерсона (Bederson's score) [107]. Тем не менее функциональные улучшения не сопровождалось восстановлением утраченных нейронов и снижением фагоцитарной активности [107].

**Болезнь Альцгеймера.** Несмотря на то что большинство исследований CDNF при нейродегенеративных заболеваниях сосредоточено на БП, существуют также доказательства того, что CDNF оказывает положительное влияние и в моделях БА. В работе Zhou et al. [51] на первичной культуре нейронов гиппокампа крысы добавление в среду рекомбинантного белка CDNF снижало стресс ЭПР, вызванный обработкой

$\beta$ -амилоидом, и защищало клетки от вызванной  $\beta$ -амилоидом синаптотоксичности, которая, как считается, предшествует потере нейронов и соответствует проявлению когнитивных нарушений, наблюдаемых при БА.

Чрезвычайно интересные результаты были получены на модели БА *in vivo* — двойных трансгенных мышцах APP/PS1 (белок-предшественник амилоида/пресенилин 1). Данная линия является широко используемой моделью БА. У этих мышей обнаруживаются отложения  $\beta$ -амилоида, накапливающиеся в мозге с течением времени, причём они регистрируются в значительном количестве уже в возрасте 6 месяцев [108]. Данный процесс сопровождается дефицитом кратковременной и долговременной памяти [109]. Группой ученых под руководством Kemppainen в 2015 г. [75] было показано, что введение в гиппокамп рекомбинантного белка CDNF или AAV2-конструкта, обеспечивающего сверхэкспрессию CDNF, улучшало долговременную память как у мышей линии APP/PS1, так и у животных дикого типа. При этом никакого влияния на проявление неophobia и ранние стадии пространственного обучения выявлено не было. Важно отметить, что улучшение долговременной памяти у мышей APP/PS1 не было связано со снижением накопления  $\beta$ -амилоида или усилением нейрогенеза в гиппокампе [75], что заставляет предполагать существование пока не известного механизма, благодаря которому CDNF оказывает влияние на синаптическую пластичность и память.

**Повреждение периферических нервов.** Повреждения периферических нервов часто приводят к дегенерации аксонов и потере нейронов, что ведёт к ухудшению регенерации и тяжёлым функциональным нарушениям. У крыс с перерезанным седалищным нервом индукция сверхэкспрессии CDNF с помощью лентивирусного вектора приводила к значительным улучшениям регенерации аксонов и шванновских клеток, что способствовало увеличению толщины миелинового слоя [62]. В другом исследовании на аналогичной модели мезенхимальные стволовые клетки были трансдуцированы CDNF с помощью вектора на основе лентивируса и помещены в коллагеновые трубки для оценки регенеративного эффекта [110]. И вновь влияние CDNF позволило достичь значительного усиления регенерации аксонов и шванновских клеток, увеличило уровень миелинизации и диаметр аксонов. В обоих вышеописанных исследованиях наблюдалось восстановление перерезанного седалищного нерва, его функции, предотвращение атрофии иннервируемой им мышечной ткани [62, 110]. Регенерационный потенциал CDNF был продемонстрирован и в модели травматического повреждения спинного мозга. Введение мезенхимальных стволовых клеток со сверхэкспрессией CDNF в область поражения подавляло нейровоспаление, снижало продукцию провоспалительных цитокинов, активировало ремиелинизацию и регенерацию нервных волокон, что в итоге приводило к восстановлению моторных и сенсомоторных функ-

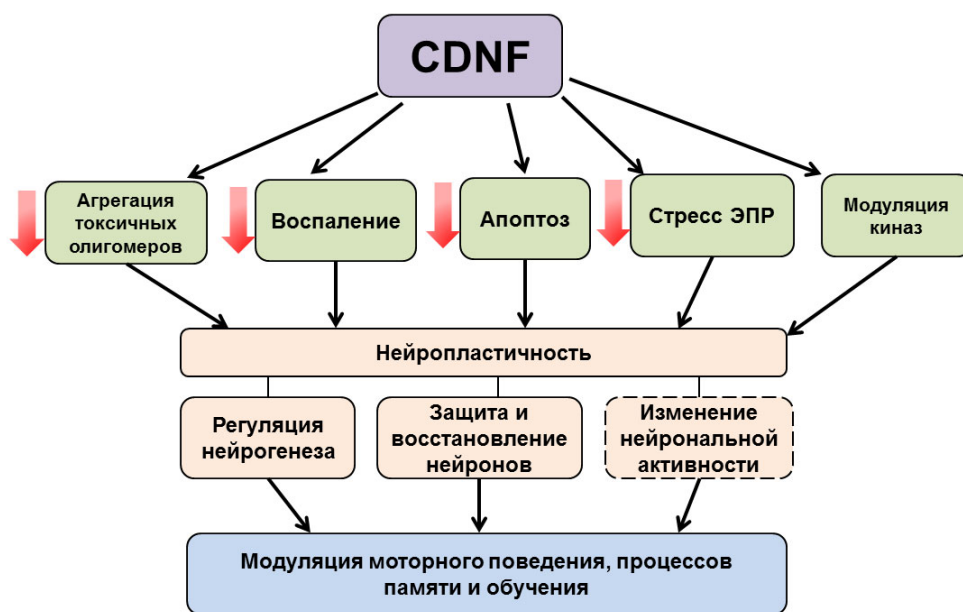


Рис. 2. Обобщающая схема эффектов CDNF. Пунктиром обозначен гипотетический механизм

ций у животных [111]. Способность CDNF обеспечивать регенерацию и функциональное восстановление нервных волокон делает этот НТФ многообещающим средством для лечения повреждений периферических нервов и спинного мозга, эффективная терапия которых на данный момент отсутствует.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

CDNF обладает уникальной структурой и свойствами, отличающими его от других НТФ. Благодаря способности негативно регулировать UPR, подавлять апоптоз и воспаление, терапевтический потенциал CDNF значительно превосходит аналогичные возможности прочих НТФ. К примеру, попытки клинического применения GDNF в терапии БП имеют уже 20-летнюю историю, однако существенного прогресса добиться пока не удалось. Напротив, применение CDNF открывает новые возможности в терапии БП, как и в лечении других неврологических расстройств. Вместе с тем множатся данные об участии CDNF в созревании и функционировании не только дофаминергической, но и других нейротрансмиттерных систем. Кроме того, как показывают результаты некоторых исследований, CDNF, вероятно, вовлечён в контроль сложных форм поведения, таких как пространственное обучение (рис. 2). Есть основания полагать, что благодаря нейротрофным свойствам CDNF спектр регулируемых им форм поведения может быть даже шире. Сосредоточенность большинства работ на участии CDNF в контроле моторных

функций понятна в контексте терапии БП, однако исследовательский охват стоит расширить – как по причине возможного применения данного НТФ в терапии других нейропатологий, так и в фундаментальном плане, для лучшего понимания процессов нейропластичности в здоровом мозге.

Перспектива клинического применения CDNF диктует необходимость изучения точных механизмов, с помощью которых данный НТФ регулирует процессы нейропластичности, однако и уже знакомые функции CDNF требуют более тщательного исследования. Последние данные показывают, что в некоторых аспектах CDNF и близкородственный MANF имеют фундаментальные отличия (например, это касается взаимодействия с липидами). Из этого следует, что хорошо изученные молекулярные особенности MANF не могут быть полностью транслированы на CDNF. В частности, это касается модулирующей роли CDNF в регуляции UPR при различных формах стресса ЭПР. В каких случаях белки UPR блокируются, в каких – активируются, и как это способствует выживанию нейронов? Эти вопросы ещё ждут ответов.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-75-00016).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо проведенных авторами исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Skaper, S. D. (2018) Neurotrophic factors: an overview, *Methods Mol. Biol.*, **1727**, 1-17, doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6\_1.
- Bothwell, M. (2014) NGF, BDNF, NT3, and NT4, *Handb. Exp. Pharmacol.*, **220**, 3-15, doi: 10.1007/978-3-642-45106-5\_1.
- Voutilainen, M. H., Arumäe, U., Airavaara, M., and Saarma, M. (2015) Therapeutic potential of the endoplasmic reticulum located and secreted CDNF/MANF family of neurotrophic factors in Parkinson's disease, *FEBS Lett.*, **589**, 3739-3748, doi: 10.1016/j.febslet.2015.09.031.
- Airaksinen, M. S., and Saarma, M. (2002) The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value, *Nat. Rev. Neurosci.*, **3**, 383-394, doi: 10.1038/nrn812.
- Petrova, P., Raibekas, A., Pevsner, J., Vigo, N., Anafi, M., et al. (2003) MANF: a new mesencephalic, astrocyte-derived neurotrophic factor with selectivity for dopaminergic neurons, *J. Mol. Neurosci.*, **20**, 173-188, doi: 10.1385/jmn:20:2:173.
- Lindholm, P., Voutilainen, M. H., Laurén, J., Peränen, J., Leppänen, V. M., et al. (2007) Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons *in vivo*, *Nature*, **448**, 73-77, doi: 10.1038/nature05957.
- Airavaara, M., Harvey, B. K., Voutilainen, M. H., Shen, H., Chou, J., et al. (2012) CDNF protects the nigrostriatal dopamine system and promotes recovery after MPTP treatment in mice, *Cell Transplant.*, **21**, 1213-1223, doi: 10.3727/096368911X600948.
- Garea-Rodríguez, E., Eesmaa, A., Lindholm, P., Schlumbohm, C., König, J., et al. (2016) Comparative analysis of the effects of neurotrophic factors CDNF and GDNF in a nonhuman primate model of Parkinson's disease, *PLoS One*, **11**, e0149776, doi: 10.1371/journal.pone.0149776.
- Huttunen, H. J., and Saarma, M. (2019) CDNF protein therapy in Parkinson's disease, *Cell Transplant.*, **28**, 349-366, doi: 10.1177/0963689719840290.
- Danilova, T., Galli, E., Pakarinen, E., Palm, E., Lindholm, P., et al. (2019) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) is highly expressed in mouse tissues with metabolic function, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **10**, 765, doi: 10.3389/fendo.2019.00765.

11. Parkash, V., Lindholm, P., Peränen, J., Kalkkinen, N., Oksanen, E., et al. (2009) The structure of the conserved neurotrophic factors MANF and CDNF explains why they are bifunctional, *Protein Eng. Des. Sel.*, **22**, 233-241, doi: 10.1093/protein/gzn080.
12. Chen, Y. C., Baronio, D., Semenova, S., Abdurakhmanova, S., and Panula, P. (2020) Cerebral dopamine neurotrophic factor regulates multiple neuronal subtypes and behavior, *J. Neurosci.*, **40**, 6146-6164, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2636-19.2020.
13. Lindström, R., Lindholm, P., Kallijärvi, J., Yu, L. Y., Piepponen, T. P., et al. (2013) Characterization of the structural and functional determinants of MANF/CDNF in *Drosophila in vivo* model, *PLoS One*, **8**, e73928, doi: 10.1371/journal.pone.0073928.
14. Sereno, D., Müller, W. E. G., Bausen, M., Elkhooly, T. A., Markl, J. S., and Wiens, M. (2017) An evolutionary perspective on the role of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF): at the crossroads of proliferant innate immune and apoptotic pathways, *Biochem. Biophys. Rep.*, **11**, 161-173, doi: 10.1016/j.bbrep.2017.02.009.
15. Richman, C., Rashid, S., Prashar, S., Mishra, R., Selvaganapathy, P. R., and Gupta, B. P. (2018) *C. elegans* MANF homolog is necessary for the protection of dopaminergic neurons and ER unfolded protein response, *Front. Neurosci.*, **12**, 544, doi: 10.3389/fnins.2018.00544.
16. Hellman, M., Peränen, J., Saarma, M., and Permi, P. (2010) <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N resonance assignments of the human mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, *Biomol. NMR Assign.*, **4**, 215-217, doi: 10.1007/s12104-010-9251-8.
17. Latgé, C., Cabral, K. M., Almeida, M. S., and Foguel, D. (2013) (<sup>1</sup>H)-, (<sup>13</sup>C)- and (<sup>15</sup>N)-NMR assignment of the N-terminal domain of human cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF), *Biomol. NMR Assign.*, **7**, 101-103, doi: 10.1007/s12104-012-9388-8.
18. Bai, M., Vozdek, R., Hnizda, A., Jiang, C., Wang, B., et al. (2018) Conserved roles of *C. elegans* and human MANFs in sulfatide binding and cytoprotection, *Nat. Commun.*, **9**, 897, doi: 10.1038/s41467-018-03355-0.
19. Palgi, M., Greco, D., Lindström, R., Auvinen, P., and Heino, T. I. (2012) Gene expression analysis of *Drosophila Manf* mutants reveals perturbations in membrane traffic and major metabolic changes, *BMC Genomics*, **13**, 134, doi: 10.1186/1471-2164-13-134.
20. Apostolou, A., Shen, Y., Liang, Y., Luo, J., and Fang, S. (2008) Armet, a UPR-upregulated protein, inhibits cell proliferation and ER stress-induced cell death, *Exp. Cell Res.*, **314**, 2454-2467, doi: 10.1016/j.yexcr.2008.05.001.
21. Sun, Z. P., Gong, L., Huang, S. H., Geng, Z., Cheng, L., and Chen, Z. Y. (2011) Intracellular trafficking and secretion of cerebral dopamine neurotrophic factor in neurosecretory cells, *J. Neurochem.*, **117**, 121-132, doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07179.x.
22. Appenzeller-Herzog, C., and Ellgaard, L. (2008) The human PDI family: versatility packed into a single fold, *Biochim. Biophys. Acta*, **1783**, 535-548, doi: 10.1016/j.bbamcr.2007.11.010.
23. Arrieta, A., Blackwood, E. A., Stauffer, W. T., Santo Domingo, M., Bilal, A. S., et al. (2020) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is an ER-resident chaperone that protects against reductive stress in the heart, *J. Biol. Chem.*, **295**, 7566-7583, doi: 10.1074/jbc.RA120.013345.
24. Chen, L., Feng, L., Wang, X., Du, J., Chen, Y., et al. (2015) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is involved in inflammation by negatively regulating the NF- $\kappa$ B pathway, *Sci. Rep.*, **5**, 8133, doi: 10.1038/srep08133.
25. Yan, Y., Rato, C., Rohland, L., Preissler, S., and Ron, D. (2019) MANF antagonizes nucleotide exchange by the endoplasmic reticulum chaperone BiP, *Nat. Commun.*, **10**, 541, doi: 10.1038/s41467-019-08450-4.
26. Mei, M., Zhai, C., Li, X., Zhou, Y., Peng, W., et al. (2017) Characterization of aromatic residue-controlled protein retention in the endoplasmic reticulum of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biol. Chem.*, **292**, 20707-20719, doi: 10.1074/jbc.M117.812107.
27. Henderson, M. J., Richie, C. T., Airavaara, M., Wang, Y., and Harvey, B. K. (2013) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) secretion and cell surface binding are modulated by KDEL receptors, *J. Biol. Chem.*, **288**, 4209-4225, doi: 10.1074/jbc.M112.400648.
28. Trychta, K. A., Bäck, S., Henderson, M. J., and Harvey, B. K. (2018) KDEL receptors are differentially regulated to maintain the ER proteome under calcium deficiency, *Cell Rep.*, **25**, 1829-1840.e6, doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.055.
29. Arancibia, D., Zamorano, P., and Andrés, M. E. (2018) CDNF induces the adaptive unfolded protein response and attenuates endoplasmic reticulum stress-induced cell death, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, **1865**, 1579-1589, doi: 10.1016/j.bbamcr.2018.08.012.
30. Lindahl, M., Danilova, T., Palm, E., Lindholm, P., Vöikar, V., et al. (2014) MANF is indispensable for the proliferation and survival of pancreatic  $\beta$  cells, *Cell Rep.*, **7**, 366-375, doi: 10.1016/j.celrep.2014.03.023.
31. Sousa-Victor, P., Neves, J., Cedron-Craft, W., Ventura, P. B., Liao, C. Y., et al. (2019) MANF regulates metabolic and immune homeostasis in ageing and protects against liver damage, *Nat. Metab.*, **1**, 276-290, doi: 10.1038/s42255-018-0023-6.
32. Lindahl, M., Chalazonitis, A., Palm, E., Pakarinen, E., Danilova, T., et al. (2020) Cerebral dopamine neurotrophic factor deficiency leads to degeneration of enteric neurons and altered brain dopamine neuronal function in mice, *Neurobiol. Dis.*, **134**, 104696, doi: 10.1016/j.nbd.2019.104696.
33. Schwarz, D. S., and Blower, M. D. (2016) The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling, *Cell. Mol. Life Sci.*, **73**, 79-94, doi: 10.1007/s00018-015-2052-6.
34. Walter, P., and Ron, D. (2007) Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 519-529, doi: 10.1038/nrm2199.
35. Hetz, C. (2012) The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **13**, 89-102, doi: 10.1038/nrm3270.
36. Dudek, J., Benedix, J., Cappel, S., Greiner, M., Jalal, C., et al. (2009) Functions and pathologies of BiP and its interaction partners, *Cell. Mol. Life Sci.*, **66**, 1556-1569, doi: 10.1007/s00018-009-8745-y.
37. Sonenberg, N., and Hinnebusch, A. G. (2009) Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets, *Cell*, **136**, 731-745, doi: 10.1016/j.cell.2009.01.042.
38. McQuiston, A., and Diehl, J. A. (2017) Recent insights into PERK-dependent signaling from the stressed endoplasmic reticulum, *F1000Res.*, **6**, 1897, doi: 10.12688/f1000research.12138.1.
39. Nagelkerke, A., Bussink, J., Sweep, F. C., and Span, P. N. (2014) The unfolded protein response as a target for cancer therapy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1846**, 277-284, doi: 10.1016/j.bbcan.2014.07.006.
40. Majumder, M., Huang, C., Snider, M. D., Komar, A. A., Tanaka, J., et al. (2012) A novel feedback loop regulates the response to endoplasmic reticulum stress via the cooperation of cytoplasmic splicing and mRNA translation, *Mol. Cell. Biol.*, **32**, 992-1003, doi: 10.1128/MCB.06665-11.

41. Brown, M. K., and Naidoo, N. (2012) The endoplasmic reticulum stress response in aging and age-related diseases, *Front. Physiol.*, **3**, 263, doi: 10.3389/fphys.2012.00263.
42. Roussel, B. D., Kruppa, A. J., Miranda, E., Crowther, D. C., Lomas, D. A., and Marciniak, S. J. (2013) Endoplasmic reticulum dysfunction in neurological disease, *Lancet Neurol.*, **12**, 105-118, doi: 10.1016/S1474-4422(12)70238-7.
43. Ghemrawi, R., and Khair, M. (2020) Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in neurodegenerative diseases, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 6127, doi: 10.3390/ijms21176127
44. Jäntti, M., and Harvey, B. K. (2020) Trophic activities of endoplasmic reticulum proteins CDNF and MANF, *Cell Tissue Res.*, **382**, 83-100, doi: 10.1007/s00441-020-03263-0.
45. Mizobuchi, N., Hoseki, J., Kubota, H., Toyokuni, S., Nozaki, J. I., et al. (2007) ARMET is a soluble ER protein induced by the unfolded protein response via ERSE-II element, *Cell. Struct. Funct.*, **32**, 41-50, doi: 10.1247/csf.07001.
46. Bergmann, T. J., Fregno, I., Fumagalli, F., Rinaldi, A., Bertoni, F., et al. (2018) Chemical stresses fail to mimic the unfolded protein response resulting from luminal load with unfolded polypeptides, *J. Biol. Chem.*, **293**, 5600-5612, doi: 10.1074/jbc.RA117.001484.
47. Zhang, G. L., Wang, L. H., Liu, X. Y., Zhang, Y. X., Hu, M. Y., et al. (2018) Cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) has neuroprotective effects against cerebral ischemia that may occur through the endoplasmic reticulum stress pathway, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 1905, doi: 10.3390/ijms19071905.
48. Hartman, J. H., Richie, C. T., Gordon, K. L., Mello, D. F., Castillo, P., et al. (2019) MANF deletion abrogates early larval *Caenorhabditis elegans* stress response to tunicamycin and *Pseudomonas aeruginosa*, *Eur. J. Cell Biol.*, **98**, 151043, doi: 10.1016/j.ejcb.2019.05.002.
49. Norisada, J., Hirata, Y., Amaya, F., Kiuchi, K., and Ohhashi, K. (2016) A comparative analysis of the molecular features of MANF and CDNF, *PLoS One*, **11**, e0146923, doi: 10.1371/journal.pone.0146923.
50. Glembotski, C. C., Thuerauf, D. J., Huang, C., Vekich, J. A., Gottlieb, R. A., and Doroudgar, S. (2012) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protects the heart from ischemic damage and is selectively secreted upon sarco/endoplasmic reticulum calcium depletion, *J. Biol. Chem.*, **287**, 25893-25904, doi: 10.1074/jbc.M112.356345.
51. Zhou, W., Chang, L., Fang, Y., Du, Z., Li, Y., et al. (2016) Cerebral dopamine neurotrophic factor alleviates A $\beta$  25-35-induced endoplasmic reticulum stress and early synaptotoxicity in rat hippocampal cells, *Neurosci. Lett.*, **633**, 40-46, doi: 10.1016/j.neulet.2016.09.008.
52. Voutilainen, M. H., De Lorenzo, F., Stepanova, P., Bäck, S., Yu, L. Y., et al. (2017) Evidence for an additive neurorestorative effect of simultaneously administered CDNF and GDNF in hemiparkinsonian rats: implications for different mechanism of action, *eNeuro*, **4**, ENEURO.0117-16.2017, doi: 10.1523/ENEURO.0117-16.2017.
53. Radi, E., Formichi, P., Battisti, C., and Federico, A. (2014) Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases, *J. Alzheimer's Dis.*, **42**, S125-152, doi: 10.3233/JAD-132738.
54. Hetz, C., and Papa, F. R. (2018) The unfolded protein response and cell fate control, *Mol. Cell*, **69**, 169-181, doi: 10.1016/j.molcel.2017.06.017.
55. Muneer, A., and Khan, R. M. S. (2019) Endoplasmic reticulum stress: implications for neuropsychiatric disorders, *Chonnam. Med. J.*, **55**, 8-19, doi: 10.4068/cmj.2019.55.1.8.
56. Mei, J. M., and Niu, C. S. (2014) Effects of CDNF on 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells via modulation of Bcl-2/Bax and caspase-3 activation, *Neurol. Sci.*, **35**, 1275-1280, doi: 10.1007/s10072-014-1700-1.
57. Hellman, M., Arumae, U., Yu, L. Y., Lindholm, P., Peranen, J., et al. (2011) Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) has a unique mechanism to rescue apoptotic neurons, *J. Biol. Chem.*, **286**, 2675-2680, doi: 10.1074/jbc.M110.146738.
58. Sawada, M., Sun, W., Hayes, P., Leskov, K., Boothman, D. A., and Matsuyama, S. (2003) Ku70 suppresses the apoptotic translocation of Bax to mitochondria, *Nat. Cell Biol.*, **5**, 320-329, doi: 10.1038/ncb950.
59. Yoshida, T., Tomioka, I., Nagahara, T., Holyst, T., Sawada, M., et al. (2004) Bax-inhibiting peptide derived from mouse and rat Ku70, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 961-966, doi: 10.1016/j.bbrc.2004.07.054.
60. Vishnudas, V. K., and Miller, J. B. (2009) Ku70 regulates Bax-mediated pathogenesis in laminin-alpha2-deficient human muscle cells and mouse models of congenital muscular dystrophy, *Hum. Mol. Genet.*, **18**, 4467-4477, doi: 10.1093/hmg/ddp399.
61. Matlik, K., Yu, L. Y., Eesmaa, A., Hellman, M., Lindholm, P., et al. (2015) Role of two sequence motifs of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor in its survival-promoting activity, *Cell Death Dis.*, **6**, e2032, doi: 10.1038/cddis.2015.371.
62. Cheng, L., Zhao, H., Zhang, W., Liu, B., Liu, Y., et al. (2013) Overexpression of conserved dopamine neurotrophic factor (CDNF) in astrocytes alleviates endoplasmic reticulum stress induced cell damage and inflammatory cytokine secretion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **435**, 34-39, doi: 10.1016/j.bbrc.2013.04.029.
63. Zhao, H., Cheng, L., Liu, Y., Zhang, W., Maharjan, S., et al. (2014) Mechanisms of anti-inflammatory property of conserved dopamine neurotrophic factor: inhibition of JNK signaling in lipopolysaccharide-induced microglia, *J. Mol. Neurosci.*, **52**, 186-192, doi: 10.1007/s12031-013-0120-7.
64. Zhang, Y., Xiang, Y., Wang, X., Zhu, L., Li, H., et al. (2019) Cerebral dopamine neurotrophic factor protects microglia by combining with AKT and by regulating FoxO1/mTOR signaling during neuroinflammation, *Biomed. Pharmacother.*, **109**, 2278-2284, doi: 10.1016/j.biopha.2018.11.028.
65. Nadella, R., Voutilainen, M. H., Saarma, M., Gonzalez-Barrios, J. A., Leon Chavez, B. A., et al. (2014) Transient transfection of human CDNF gene reduces the 6-hydroxydopamine-induced neuroinflammation in the rat substantia nigra, *J. Neuroinflammation*, **11**, 209, doi: 10.1186/s12974-014-0209-0.
66. Tang, T., Li, Y., Jiao, Q., Du, X., and Jiang, H. (2017) Cerebral dopamine neurotrophic factor: a potential therapeutic agent for Parkinson's disease, *Neurosci. Bull.*, **33**, 568-575, doi: 10.1007/s12264-017-0123-4.
67. Stepanova, P., Srinivasan, V., Lindholm, D., and Voutilainen, M. H. (2020) Cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) protects against quinolinic acid-induced toxicity in *in vitro* and *in vivo* models of Huntington's disease, *Sci. Rep.*, **10**, 19045, doi: 10.1038/s41598-020-75439-1.
68. Tsybko, A. S., Ilchibaeva, T. V., Kulikov, A. V., Kulikova, E. A., Krasnov, I. B., et al. (2015) Effect of microgravity on glial cell line-derived neurotrophic factor and cerebral dopamine neurotrophic factor gene expression in the mouse brain, *J. Neurosci. Res.*, **93**, 1399-1404, doi: 10.1002/jnr.23600.
69. Popova, N. K., Kulikov, A. V., Kondaurova, E. M., Tsybko, A. S., Kulikova, E. A., et al. (2015) Risk neurogenes for



- long-term spaceflight: dopamine and serotonin brain system, *Mol. Neurobiol.*, **51**, 1443-1451, doi: 10.1007/s12035-014-8821-7.
70. Chalazonitis, A., Li, Z., Pham, T. D., Chen, J., Rao, M., et al. (2020) Cerebral dopamine neurotrophic factor is essential for enteric neuronal development, maintenance, and regulation of gastrointestinal transit, *J. Comp. Neurol.*, **528**, 2420-2444, doi: 10.1002/cne.24901.
  71. Choi, J. M., Hong, J. H., Chae, M. J., Ngyuen, P. H., Kang, H. S., et al. (2011) Analysis of mutations and the association between polymorphisms in the cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) gene and Parkinson's disease, *Neurosci. Lett.*, **493**, 97-101, doi: 10.1016/j.neulet.2011.02.013.
  72. Chen, Y. C., Baronio, D., Semenova, S., Abdurakhmanova, S., and Panula, P. (2020) Cerebral dopamine neurotrophic factor regulates multiple neuronal subtypes and behavior, *J. Neurosci.*, **40**, 6146-6164, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2636-19.2020.
  73. Man, H. Y., Wang, Q., Lu, W. Y., Ju, W., Ahmadian, G., et al. (2003) Activation of PI3-kinase is required for AMPA receptor insertion during LTP of mEPSCs in cultured hippocampal neurons, *Neuron*, **38**, 611-624, doi: 10.1016/s0896-6273(03)00228-9.
  74. Sui, L., Wang, J., and Li, B. M. (2008) Role of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of the rapamycin signaling pathway in long-term potentiation and trace fear conditioning memory in rat medial prefrontal cortex, *Learn Mem.*, **15**, 762-776, doi: 10.1101/lm.1067808.
  75. Kemppainen, S., Lindholm, P., Galli, E., Lahtinen, H. M., Koivisto, H., et al. (2015) Cerebral dopamine neurotrophic factor improves long-term memory in APP/PS1 transgenic mice modeling Alzheimer's disease as well as in wild-type mice, *Behav. Brain Res.*, **291**, 1-11, doi: 10.1016/j.bbr.2015.05.002.
  76. Eremin, D., Ilchibaeva, T., Khotskin, N., Naumenko, V., and Tsybko, A. (2019) Effect of cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) on the behavior and expression of the key genes of the brain serotonin system in C57Bl6/J mice, *IBRO Rep.*, **6**, S58, doi: 10.1016/j.ibror.2019.07.192.
  77. Ilchibaeva, T., Zolotenkova, E., Eremin, D., and Tsybko, A. (2020) Hippocampal overexpression of the cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) impaired fear memory formation in rats, *Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020)*, **376**, doi: 10.18699/BGRS/SB-2020-238.
  78. Tsybko, A. S., Il'chibaeva, T. V., Khotskin, N. V., Kovetskaya, A. I., Naumenko, V. S., and Popova, N. K. (2019) The effect of atypical antipsychotic drugs on the neurotrophic factors gene expression in the MPTP model of Parkinson's disease, *Neurochem. J.*, **13**, 169-175, doi: 10.1134/S1819712419020120.
  79. Popova, N. K., Ilchibaeva, T. V., and Naumenko, V. S. (2017) Neurotrophic factors (BDNF and GDNF) and the serotonergic system of the brain, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 308-317, doi: 10.1134/S0006297917030099.
  80. Tsybko, A. S., Ilchibaeva, T. V., and Popova, N. K. (2017) Role of glial cell line-derived neurotrophic factor in the pathogenesis and treatment of mood disorders, *Rev. Neurosci.*, **28**, 219-233, doi: 10.1515/revneuro-2016-0063.
  81. Joshi, H., McIntyre, W. B., Kooner, S., Rathbone, M., Gabriele, S., et al. (2020) Decreased expression of cerebral dopamine neurotrophic factor in platelets of stroke patients, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **29**, 104502, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104502.
  82. Virachit, S., Mathews, K. J., Cottam, V., Werry, E., Galli, E., et al. (2019) Levels of glial cell line-derived neurotrophic factor are decreased, but fibroblast growth factor 2 and cerebral dopamine neurotrophic factor are increased in the hippocampus in Parkinson's disease, *Brain Pathol.*, **29**, 813-825, doi: 10.1111/bpa.12730.
  83. Lohoff, F. W., Bloch, P. J., Ferraro, T. N., Berrettini, W. H., Pettinati, H. M., et al. (2009) Association analysis between polymorphisms in the conserved dopamine neurotrophic factor (CDNF) gene and cocaine dependence, *Neurosci. Lett.*, **453**, 199-203, doi: 10.1016/j.neulet.2009.02.026.
  84. Yang, Y., Yu, H., Li, W., Liu, B., Zhang, H., et al. (2018) Association between cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) 2 polymorphisms and schizophrenia susceptibility and symptoms in the Han Chinese population, *Behav. Brain Funct.*, **14**, 1, doi: 10.1186/s12993-017-0133-4.
  85. Galli, E., Lindholm, P., Kontturi, L. S., Saarna, M., Urtti, A., and Yliperttula, M. (2019) Characterization of CDNF-secreting ARPE-19 cell clones for encapsulated cell therapy, *Cell Transplant.*, **28**, 413-424, doi: 10.1177/0963689719827943.
  86. Mercado, G., Valdes, P., and Hetz, C. (2013) An ERcentric view of Parkinson's disease, *Trends Mol. Med.*, **19**, 165-175, doi: 10.1016/j.molmed.2012.12.005.
  87. Hoozemans, J. J., van Haastert, E. S., Eikelenboom, P., de Vos, R. A., Rozemuller, J. M., and Scheper, W. (2007) Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **354**, 707-711, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.01.043.
  88. Bellucci, A., Navarra, L., Zaltieri, M., Falarti, E., Bodei, S., et al. (2011) Induction of the unfolded protein response by  $\alpha$ -synuclein in experimental models of Parkinson's disease, *J. Neurochem.*, **116**, 588-605, doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.07143.x.
  89. Heman-Ackah, S. M., Manzano, R., Hoozemans, J. J. M., Scheper, W., Flynn, R., et al. (2017) Alpha-synuclein induces the unfolded protein response in Parkinson's disease SNCA triplication iPSC-derived neurons, *Hum. Mol. Genet.*, **26**, 4441-4450, doi: 10.1093/hmg/ddx331.
  90. Mercado, G., Castillo, V., Soto, P., López, N., Axtén, J. M., et al. (2018) Targeting PERK signaling with the small molecule GSK2606414 prevents neurodegeneration in a model of Parkinson's disease, *Neurobiol. Dis.*, **112**, 136-148, doi: 10.1016/j.nbd.2018.01.004.
  91. Ryu, E. J., Harding, H. P., Angelastro, J. M., Vitolo, O. V., David, R., and Greene, L. A. (2002) Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in cellular models of Parkinson's disease, *J. Neurosci.*, **22**, 10690-10698, doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-24-10690.2002.
  92. Holtz, W. A., and O'Malley, K. L. (2003) Parkinsonian mimetics induce aspects of unfolded protein response in death of dopaminergic neurons, *J. Biol. Chem.*, **278**, 19367-19377, doi: 10.1074/jbc.M211821200.
  93. Egawa, N., Yamamoto, K., Inoue, H., Hikawa, R., Nishi, K., et al. (2011) The endoplasmic reticulum stress sensor, ATF6 $\alpha$ , protects against neurotoxin-induced dopaminergic neuronal death, *J. Biol. Chem.*, **286**, 7947-7957, doi: 10.1074/jbc.M110.156430.
  94. Sado, M., Yamasaki, Y., Iwanaga, T., Onaka, Y., Ibuki, T., et al. (2009) Protective effect against Parkinson's disease-related insults through the activation of XBP1, *Brain Res.*, **1257**, 16-24, doi: 10.1016/j.brainres.2008.11.104.
  95. Latge, C., Cabral, K. M., de Oliveira, G. A., Raymundo, D. P., Freitas, J. A., et al. (2015) The solution structure and dynamics of full-length human cerebral dopamine neurotrophic factor and its neuroprotective role against  $\alpha$ -synuclein oligomers, *J. Biol. Chem.*, **290**, 20527-20540, doi: 10.1074/jbc.M115.662254.
  96. Albert, K., Raymundo, D. P., Panhelainen, A., Eesmaa, A., Shvachiy, L., et al. (2021) Cerebral dopamine

- neurotrophic factor reduces  $\alpha$ -synuclein aggregation and propagation and alleviates behavioral alterations *in vivo*, *Mol. Ther.*, doi: 10.1016/j.ymthe.2021.04.035.
97. Voutilainen, M. H., Back, S., Peranen, J., Lindholm, P., Raasmaja, A., et al. (2011) Chronic infusion of CDNF prevents 6-OHDA-induced deficits in a rat model of Parkinson's disease, *Exp. Neurol.*, **228**, 99-108, doi: 10.1016/j.expneurol.2010.12.013.
  98. Mätlik, K., Vihinen, H., Bienemann, A., Palgi, J., Voutilainen, M. H., et al. (2017) Intrastrially infused exogenous CDNF is endocytosed and retrogradely transported to substantia nigra, *eNeuro*, **4**, ENEURO.0128-16.2017, doi: 10.1523/ENEURO.0128-16.2017.
  99. Airavaara, M., Harvey, B. K., Voutilainen, M. H., Shen, H., Chou, J., et al. (2012) CDNF protects the nigrostriatal dopamine system and promotes recovery after MPTP treatment in mice, *Cell Transplant.*, **21**, 1213-1223, doi: 10.3727/096368911X600948.
  100. Back, S., Peranen, J., Galli, E., Pulkila, P., Lonka-Nevalaita, L., et al. (2013) Gene therapy with AAV2-CDNF provides functional benefits in a rat model of Parkinson's disease, *Brain Behav.*, **3**, 75-88, doi: 10.1002/brb3.117.
  101. Ren, X., Zhang, T., Gong, X., Hu, G., Ding, W., and Wang, X. (2013) AAV2-mediated striatum delivery of human CDNF prevents the deterioration of midbrain dopamine neurons in a 6-hydroxydopamine induced parkinsonian rat model, *Exp. Neurol.*, **248**, 148-156, doi: 10.1016/j.expneurol.2013.06.002.
  102. Cordero-Llana, O., Houghton, B. C., Rinald, F., Taylor, H., Yanez-Munoz, R. J., et al. (2015) Enhanced efficacy of the CDNF/MANF family by combined intranigral overexpression in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease, *Mol. Ther.*, **23**, 244-254, doi: 10.1038/mt.2014.206.
  103. Jaumotte, J. D., Saarma, M., and Zigmond, M. J. (2021) Protection of dopamine neurons by CDNF and neurturin variant N4 against MPP<sup>+</sup> in dissociated cultures from rat mesencephalon, *PLoS One*, **16**, e0245663, doi: 10.1371/journal.pone.0245663.
  104. Huotari, A., Penttinen, A. M., Back, S., Voutilainen, M. H., Julku, U., et al. (2018) Combination of CDNF and deep brain stimulation decreases neurological deficits in late-stage model Parkinson's disease, *Neuroscience*, **374**, 250-263, doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.01.052.
  105. Wang, L., Wang, Z., Xu, X., Zhu, R., Bi, J., et al. (2017) Recombinant AAV8-mediated intrastriatal gene delivery of CDNF protects rats against methamphetamine neurotoxicity, *Int. J. Med. Sci.*, **14**, 340-347, doi: 10.7150/ijms.18623.
  106. Sidorova, Y. A., and Saarma, M. (2020) Can growth factors cure Parkinson's disease? *Trends Pharmacol. Sci.*, **41**, 909-922, doi: 10.1016/j.tips.2020.09.010.
  107. Anttila, J. E., Pöyhönen, S., and Airavaara, M. (2019) Secondary pathology of the thalamus after focal cortical stroke in rats is not associated with thermal or mechanical hypersensitivity and is not alleviated by intra-thalamic post-stroke delivery of recombinant CDNF or MANF, *Cell Transplant.*, **28**, 425-438, doi: 10.1177/0963689719837915.
  108. Kurt, M. A., Davies, D. C., Kidd, M., Duff, K., Rolph, S. C., et al. (2001) Neurodegenerative changes associated with beta-amyloid deposition in the brains of mice carrying mutant amyloid precursor protein and mutant presenilin-1 transgenes, *Exp. Neurol.*, **171**, 59-71, doi: 10.1006/exnr.2001.7717.
  109. Trinchese, F., Liu, S., Ninan, I., Puzzo, D., Jacob, J. P., and Arancio, O. (2004) Cell cultures from animal models of Alzheimer's disease as a tool for faster screening and testing of drug efficacy, *J. Mol. Neurosci.*, **24**, 15-21, doi: 10.1385/JMN:24:1:015.
  110. Liu, Y., Nie, L., Zhao, H., Zhang, W., Zhang, Y. Q., et al. (2014) Conserved dopamine neurotrophic factor-transduced mesenchymal stem cells promote axon regeneration and functional recovery of injured sciatic nerve, *PLoS One*, **9**, e110993, doi: 10.1371/journal.pone.0110993.
  111. Zhao, H., Cheng, L., Du, X., Hou, Y., Liu, Y., et al. (2016) Transplantation of cerebral dopamine neurotrophic factor transduced BMSCs in contusion spinal cord injury of rats: promotion of nerve regeneration by alleviating neuroinflammation, *Mol. Neurobiol.*, **53**, 187-199, doi: 10.1007/s12035-014-9000-6.

## CEREBRAL DOPAMINE NEUROTROPHIC FACTOR (CDNF): STRUCTURE, FUNCTIONS, AND THERAPEUTIC POTENTIAL

### Review

**D. V. Eremin, T. V. Ilchibaeva, and A. S. Tsybko\***

*Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS,  
630090 Novosibirsk, Russia; E mail: antoncybko@mail.ru*

The cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) together with the mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) form a unique family of neurotrophic factors (NTFs) structurally and functionally different from other proteins with neurotrophic activity. CDNF has no receptors on the cell membrane, is localized mainly in the cavity of endoplasmic reticulum (ER), and its primary function is to regulate ER stress. In addition, CDNF is able to suppress inflammation and apoptosis. Due to its functions, CDNF has demonstrated outstanding protective and restorative properties in various models of neuropathology associated with ER stress, including Parkinson's disease (PD). That is why CDNF already passed clinical trials in patients with PD. However, despite the name, CDNF functions extend far beyond the dopamine system in the brain. In particular, there are data on participation of CDNF in the maturation and maintenance of other neurotransmitter systems, regulation of the processes of neuroplasticity and non-motor behavior. In the present review, we discuss the features of CDNF structure and functions, its protective and regenerative properties.

**Keywords:** neurotrophic factors, cerebral dopamine neurotrophic factor CDNF, ER stress, unfolded protein response UPR, neuroprotection, Parkinson's disease