



Kandidaatintutkielma

Sonic Hedgehog –  
Kehitykselliset häiriöt ja geneettiset tekijät niiden  
taustalla

Viivi Tolonen

Oulun yliopisto  
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta

2024

## Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet .....	3
1. Johdanto .....	4
2. Sonic Hedgehog -reitti .....	5
2.1. Reitti.....	5
2.2. Signaaloinnin säätely .....	7
3. Häiriöt signaalintireitissä .....	9
3.1. Geneettiset taustatekijät .....	9
3.2. Kehitykselliset oireyhtymät .....	9
3.3. Myöhemmin ilmentyvät neurologiset sairaudet ja Shh.....	11
3.3.1. Alzheimerin tauti .....	11
3.3.2. Parkinsonin tauti .....	12
3.3.3. Amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS).....	12
4. Holoprosenkefalia .....	14
4.1. Taudinkuva .....	14
4.2. Sairauden syntymekanismit .....	15
5. Hoitomenetelmät ja tulevaisuuden tutkimustarpeet .....	17
5.1. Hoitomenetelmät.....	17
5.2. Tulevaisuuden tutkimustarpeet .....	17
6. Yhteenveto .....	19
Kirjallisuusviitteet.....	20

## Käytetyt lyhenteet

Alzheimerin tauti	AT
BCC	Basaalisolukarsinooma
CNS	The midline central nervous system
Dsp	Dispatched –reseptori
Hh	Hedgehog
HPE	Holoprosenkefalia
HSPG	Heparaanisulfaattiproteoglykaani
MB	Medulloblastooma
PTC	Patched-proteiini
SHH	Sonic hedgehod –ligandi
Shh	Sonic Hedgehog
<i>Shh</i>	Sonic hedgehog –geeni
Smo	Smoothened –reseptori
ZPA	Polarisoiva alue ( <i>engl. Zone of polarizing activity</i> )
ZRS	ZPA:n säätelysekvenssi ( <i>engl. zone of polarizing activity regulatory sequence</i> )

## 1. Johdanto

Ihmisen alkionkehitys on monimutkainen tapahtumaketju, missä hedelmöittyneestä munasolusta kehittyy ensin alkio ja lopulta sikiö. Kahdeksan ensimmäisen viikon kuluessa tsygootista kehittyy solutasolla monikerroksinen, moniulotteinen sikiö toimivine elimineen. Tämä kehitys on mahdollista tarkoin säädellyn solusignaaloinnin, solujen monistumisen sekä erilaistumisen ansiosta (Khan & Ackerman, 2023).

Sonic Hedgehog (Shh) on yksi merkittävimmistä alkionkehitystä säätelevistä signaalointikaskadeista (Choudhry ym., 2014). Shh-proteiini toimii morfogeeninä alkonkehityksen aikana, ja se säätelee usean elimistön ja rakenteen kehitystä. Näihin lukeutuvat aivot ja selkäydin, silmät, kraniofasiaaliset rakenteet sekä raajat (Ming & Roessler, 1998). Morfogeenin vaste kussakin elimistön osassa perustuu paikalliseen konsentraatiogradienttiin.

Solussa tuotettu Shh-esiasteproteiini käy läpi autoproteolyttisen katkaisun kahdeksi, C-terminaaliseksi sekä N-terminaaliseksi, solusta eritettäväksi proteiiniksi. Näistä Shh-N toimii varsinaisena signaalintimolekyylinä, kun taas Shh-C säätelee autoproteolyysiä.

Sonic Hedgehog –geeni (*Shh*) on yksi kolmesta selkärankaisten Hedgehog-geenistä Indian Hedgehogin sekä Desert Hedgehogin lisäksi (Choudhry ym., 2014). Mutaatiot *Shh* –geenissä sekä geeneissä, jotka osallistuvat Shh –signaaloinnin eri vaiheisiin, aiheuttavat useita tunnettuja oireyhtymiä. Näihin lukeutuvat holoprosenkefalia (HPE), nevoidinen tyvisolusyöpä, kasvaimet, sekä synnynnäiset oireyhtymät, kuten Greigin oireyhtymä, Pallister-Hallin oireyhtymä sekä postaksiaalinen polydaktylia (Ming & Roessler, 1998).

## 2. Sonic Hedgehog -reitti

### 2.1. Reitti

Shh-proteiini toimii varhaisen alkionkehityksen aikana morfogeeninä indusoiden eri solutyypin erilaistumista monisoluisessa alkiossa. Shh-signaali ohjaa täten alkion kasvua ja kaavoittumista. Prosessia säädellään paikallisen konsentraatiogradientin avulla, tarkoittaen että proteiinin konsentraatio kohdesolussa määrittää vasteen signaalille. Matala konsentraatio indusoi kehittyvän selkäytimen ventraalisia neuroneita, eli hermostoputken etuosan hermosoluja, korkea konsentraatio motoneuroneita, eli liikehermosoluja ja erittäin korkea konsentraatio indusoi floor plate-soluja (Choudhry ym., 2014). Floor-plate solut erilaistuvat kehittyvän hermostoputken keskilinjan etuosassa (Ericson ym., 1997) ja ne osallistuvat alkionkehitykseen muun muassa muodostamalla hermostoputken etuosan ja erittämällä signaalimolekyylejä solujen kasvun ja kaavoittumisen edistämiseksi.

Shh-signaloinnilla on merkittävä rooli useissa fysiologisissa ilmiöissä myös alkionkehityksen jälkeen. Näihin lukeutuvat erityisesti kudosten korjaamisessa sekä uusiutumisessa keskeiset biokemialliset mekanismit (Choudhry ym., 2014).

Ihmisen *Shh*-geenillä on kolme eksonia ja se koodaa 462 aminohapon polypeptidiä (Odent ym., 1999). Alkionkehityksessä Shh-proteiinia eritetään ensin notokordasta. Myöhemmissä kehitysvaiheissa Shh:ta aletaan erittää hermostoputken floorplate -soluista (Ribes & Briscoe, 2009). Kaikki Shh-polypeptidit kuljetetaan endoplasmiseen retikulumiin ja sieltä Golgin laitteeseen, missä ne käyvät läpi autoprosessoinnin (Sasai, Toriyama & Kondo, 2019). Proteiini syntetisoidaan esiastemolekyylinä, joka käy läpi signaalipeptidin poiston ja autoproteolyttisen katkaisun. Tätä prosessia säätelee kolesteroli, ja se johtaa 19 kDa N-terminaaliseen tuotteeseen (SHH-N), jossa on signaali-alue ja C-terminaaliseen 25 kDa tuotteeseen (SHH-C) (Odent ym., 1999). SHH-C säätelee autoprosessointia.

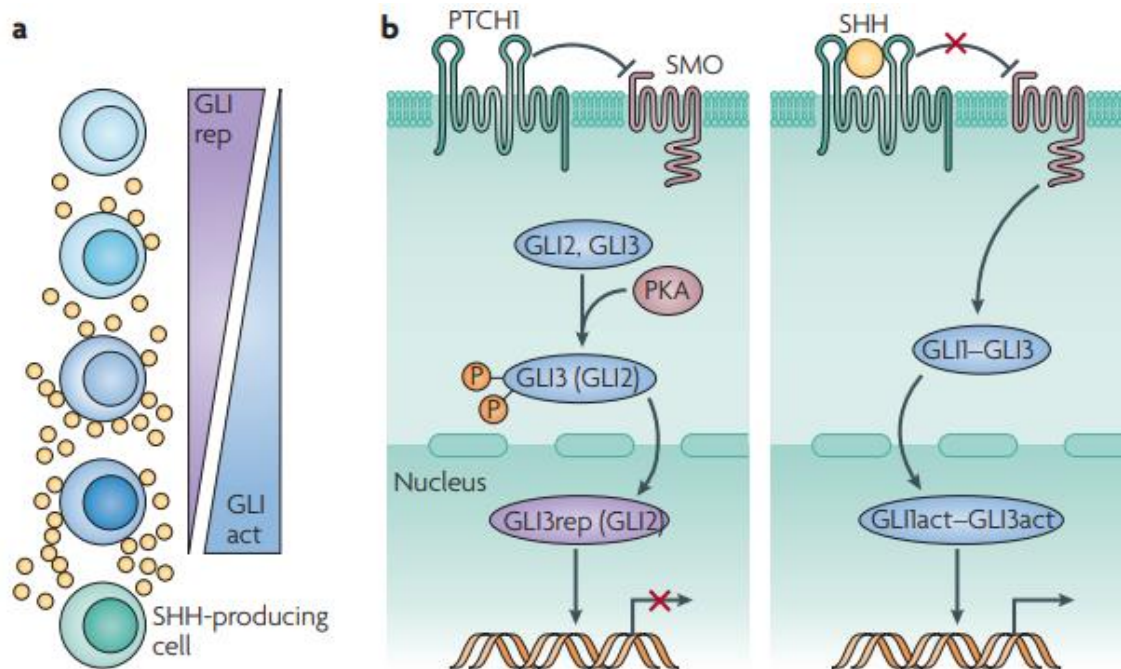
N-terminaalinen osa käy läpi modifikaation palmitaatin sekä kolesterolin avulla. Tämä edistää proteiinin stabiiliutta solun ulkopuolella (Sasai ym., 2019). Proteiinin biokemiallista käsittelyä vesiliukoiseksi ja diffuosoituvaksi muodoksi (M-Shh-N) seuraa Dispatched-transmembraaniproteiinin (Dsp) vuorovaikutus kolesterolimodifioitun Shh-N:n kanssa proteiinin vapauttamiseksi plasmamembraanista ekstrasellulaariseen tilaan. Tämä mahdollistaa myös pitkän matkan signaloinnin. Shh:n erityisensä kulkeutuminen solun ulkopuolella on myös

tarkoin säädeltyä. Hepariinisulfaattiproteoglykaanit (HSPG) ovat vastuussa solunulkoisesta kuljetuksesta. HSPG kuljettaa M-Shh-N:n kohdesolun reseptorille (Choudhry ym., 2014)

Kohdesolussa biokemiallinen vaste alkaa eritetyt SHH-ligandin kiinnittymisellä transmembraaniseen Patched reseptoriin (PTC1). Ilman ligandin läsnäoloa, PTC1 inhiboi toisen transmembraanisen proteiinin, Smo:n (*engl. Smoothened*) toimintaa. Smo säätelee transkriptionaalisen effektorin, Gli:n, modifikaatiota.

Gli-proteiineja on nisäkkäillä kolme erilaista, joista Gli2 on pääasiainen aktivaattori ja Gli3 repressori. Gli2 ja Gli3 ovat proteolyttisesti inaktivoituja Smo:n ollessa inaktiivinen. Gli1:tä ei tuoteta signaalin puuttuessa, mutta Shh-signalointi indusoi transkriptionaalisesti Gli1:tä, jolloin se toimii aktivaattorina.

Shh:n sitoutuminen PTC1:een aktivoi Smo:n, joka johtaa transkriptionaalisesti aktiivisen GliA:n tuotantoon ja inaktiivisen GliR:n (inhiboiva Gli:n muoto) tuotannon inhibointiin. Solussa etenevä signaali määräytyy nettoaktiivisuuden perusteella, joka on seurausta GliA:n ja GliR:n molekulaarisesta tasapainosta (Kuva 1.). Signaali säätelee kohdegeenien ekspressiota (Cohen ym., 2015).



Kuva 1. Sonic hedgehog -signaloinnin a) konsentraatiogradientti ja GliA:n sekä GliR:n keskinäinen suhde sekä b) solunsisäinen signalointikaskadi esitettynä (kuva: Crompton, Otram & Hager-Theodorides, 2007).

## 2.2. Signaloinnin säätely

Hedgehog-signalointi pitää sisällään monta säätelyn tasoa, jotka ohjaavat Hh-signaalin vapautumista, vastaanottoa sekä tulkintaa.

Signaalin vapautumisen säätely on monitasoista ja perustuu transkriptiotekijöihin. Aiemmin mainittujen Gli-transkriptiotekijöiden lisäksi yksi havaittu säätelytekijä selkärankaisilla on **Hepatocyte nuclear factor 3 (Hnf3)** -luokan transkriptionaaliset säätelijät. Ne kykenevät sitoutumaan *Shh*-geenin tehostajiin, jolloin se ohjaa eteenpäin *Shh*:n ekspressiota notokordassa ja floor plate -soluissa, missä se edelleen ohjaa hermostoputken kaavoittumista (Epstein, McMahon & Joyner, 1999). Homeobox transkriptiotekijä *Aristaless related (ARX)* toimii samalla tapaa edistäen *Shh*:n ekspresiota hermostoputkessa yhdessä **FOXA2** (aiemmin tunnettu nimellä **HNF3β**) kanssa (Cho, Lim, Cho, Simonet & Golden, 2014).

Sonic hedgehog -geeniä ilmennetään myös alkion kehittyvän raajasilmun takaosassa. Tämä alue tunnetaan nimellä Zone of Polarising activity (ZPA). Raajasilmuissa *Shh* määrittää etutaka-akseloitumista. *Shh*:n ekspressiota ZPA:ssa säädellään **cis-tehostajalla**, joka sijaitsee yhden megatavun päässä *Shh*-geenistä *Lmbr1*-geenin viidennessä intronissa (Lettice ym., 2003). ZPA-säätelysekvenssi (ZRS) pitää sisällään sitoutumisalueita **ETS-säätelytekijöille** (*Ets1, Ets2, Ets4, Ets5, Efl1 ja Gabpa*). Nämä säätelytekijät rajaavat pitkän matkan *Shh*:n ilmentymistä ja estävät ektooppista ekspressiota (Lettice ym., 2012).

HSPGt sekä geenit, jotka ohjaavat HSPG:n muodostumista osallistuvat ligandin vapauttamiseen, leviämiseen sekä vastaanottoon solussa.

HS (*engl. Heparan sulfate*) -ketjujen modifikaatio säätelee HSPG:n toimintaa, ja tämän kautta voidaan säädellä muodostuvaa Hh-ligandin paikallista gradienttia. HS-ketjuja voidaan muokata solun pinnalla sijaitsevilla endosulfataaseilla (SULF1). SULF1 hydrolysoi sulfaattiryhmiä glukosamiinisokerista HS-ketjussa. Tutkimusten valossa (Ortmann, 2015; Ouctah ym., 2014) SULF1:n on ehdotettu edistävän SHH:n aktiivisen muodon tuotantoa oikeissa paikoissa säädelyyn aikaan, täten indusoiden hermosolujen kehitystä.

Hedgehog -ligandin diffuusio edellyttää HSPG:n läsnäoloa, ja heparaanisulfaatin oikeanlainen rakenne on oleellinen säätelytekijä diffuusiassa. Näin ollen SULF1 säätelee ligandin kulkeutumisetäisyyttä ja vaikuttaa täten osaltaan paikalliseen gradienttiin.

Signaalin tulkinnan säätely tapahtuu solukalvolla. Pääasiallinen Hh-ligandin vastaanottava reseptori solukalvolla on kalvoproteiini Patched (PTC). Proteiini lävistää solukalvon kaksitoista kertaa. Selkärankaisilla *patched*-geenejä on kahdenlaisia: *Ptc1* ja *Ptc2*. Ptc-reseptorin lisäksi Hh-ligandin sitoutumiseen osallistuu useita co-reseptoreita.

Selkärankaisilla esiintyviä co-reseptoreja ovat **Cdo** (engl. *Cell adhesion-associated, oncogene regulated*), **Boc** (engl. *Brother of Cdo*) sekä **Gas1** (engl. *Growth arrest-specific 1*). Nämä ovat positiivisia säätelytekijöitä Shh –signaalinnissa, ja rakenteeltaan kalvoproteiineja. Cdo:n sekä Boc:n inaktivaatio johtaa Hh-signaalin häviämiseen, samankaltaisesti Smo:n tavoin.

HHIP on toinen co-reseptori, joka puolestaan säätelee negatiivisesti Shh–signaalintia sitoutuessaan ligandiin. Rakenteeltaan HHIP on ekstrasellulaarinen solunulkoiseen matriksiin diffusoituva proteiini.

Primaarinen silia (engl. *Primary cilium*) on selkärankaisilla esiintyvä solun pintarakenne, jolla on rooli solun aistimisessa sekä signaalinnissa. Shh–signaalinnissa primäärinen silia toimii eräänlaisena vastaanottavana antennina signaalille ja se mahdollistaa Hh –signaalin käsittelyn solun pinnalla.

Kokonaisuudessaan hedgehog–signaalontireitti on erityinen signaalintiketjunsä aktivoinnin osalta: Ptc-reseptori on signaalintireitin inhibiittori, ja Hh –ligandin sitoutuminen purkaa tätä inhibitiota. Inhibitio kohdistuu G-proteiinikytkenäiseen reseptoriin, Smo:hon. Ptc-reseptorien määrän väheneminen johtaa ektooppiseen aktivaatioon, ja Smo:n puutos johtaa signaalin täydelliseen menetykseen (Ramsbottom & Pownall, 2016).



### 3. Häiriöt signalointireitissä

#### 3.1. Geneettiset taustatekijät

Hedgehog-signaloinnin häiriöt, kuten epänormaali proteiinin ekspressio sekä mutaatiot Shh-signalointiin linkittyvissä muissa geeneissä, johtavat erilaisiin oireyhtymiin. Alkionkehityksen aikana tapahtuvasta häiriöstä on seurauksena kehityksellinen häiriö tai myöhemmällä iällä ilmentyvä oireyhtymä.

Sonic hedgehog –proteiinia tai signaalireittiin liittyviä muita proteiineja koodaavassa geenissä, joko sen koodaavalla tai ei-koodaavalla alueella, esiintyvä mutaatio johtaa proteiinin virheelliseen toimintaan tai geenin ekspression muutoksiin. Nämä aiheuttavat geneettisiä häiriöitä kehittyvässä alkiossa. Ihmisillä mutaatiot koodaavissa geeneissä johtavat yleensä proteiinin vajavaiseen tai epätäydelliseen aktiivisuuteen, eikä kokonaista geeninpoistoa usein tapahdu. Mutaatiot ovat perinnöllisiä (Sasai ym., 2019).

Shh-reitillä tunnetaan ainakin 14 somaattista mutaatiota. Mutaatiot ovat muodoltaan nonsense –mutaatioita (kodonin muuttuu stop-kodoniksi), frameshift-mutaatioita (lukukehityksen muutos johtuen insertiosta/deleetiosta), in-frame –mutaatioita (kodonin lisäys ilman lukukehityksen muutosta), CNV-mutaatioita (segmentin monistuminen) sekä LOH-mutaatioita (alleelin menetys) (Hildebrand ym., 2016).

Shh-signaloinnin häiriöt varhaisissa kehitysvaiheissa vaikuttavat paitsi hermoston kehitykseen, myös raajojen ja pään alueen, sekä keuhkojen kehitykseen. Signaali vaikuttaa myös alkionkehityksen jälkeen, erityisesti aivoissa. Aivoissa kahdella alueella, V-SVZ (*engl. the ventricular subventricular zone*) sekä SGZ (*engl. the subgranular zone*), tapahtuu jatkuvaa neurogeneesiä. Shh:ta tarvitaan kantasolujen ylläpitoon sekä uusien neuroneiden migraatioon. Näin ollen proteiinin toiminnan häiriöllä on neurologisia seurauksia myös aikuisiässä (Sasai ym., 2019).

#### 3.2. Kehitykselliset oireyhtymät

Sonic Hedgehog –signaloinnin häiriöt johtavat vakaviin kehityksellisiin häiriöihin, jotka koostuvat epämuodostumista, siliopatioista sekä neurologisista oireyhtymistä.

**Holoprosenkefalia** (HPE) on yksi luuston epämuodostumia aiheuttava oireyhtymä, jossa mutaatio ilmenee hedgehog-signaloinnin kausaalisissa *Shh*, *HHAT*, *Disp*, *Cdo*, *Gas1* sekä *Gli2*-geeneissä. Muita epämuodostumia aiheuttavia sairauksia ovat **GCPS** (engl. *Greig cephalopolysyndactyly syndrome*), missä epämuodostumia esiintyy raajoissa, pään alueella sekä kasvoissa johtuen mutaatiosta *Gli3*-geenissä, sekä **Gorlinin oireyhtymä**. Gorlinin oireyhtymässä on erityisesti ihosyövän osalta kohonnut tuumorigeneesin riski ja potilaalle voi kehittyä myös leuan alueen hyväläatuksia kasvaimia. Tämä on seurausta mutaatiosta *Ptch1*-geenissä.

Silioissa sijaitsee transmembraanisia reseptoreja, jotka liittyvät Wnt, Notch, Hippo ja platelet-derived -kasvutekijöihin. Silian virheellinen toiminta johtaa signaalin välittämisen häiriöihin. Sairauksia, jotka juontuvat silioiden vajavaisesta toiminnasta kutsutaan siliopatioiksi. Siliopatioihin lukeutuu muun muassa Joubertin oireyhtymä sekä Meckelsin syndrooma. **Joubertin syndrooma** aiheutuu mutaatiosta Shh-signaloinnin *Kif7*- sekä *SuFu*-geeneissä, ja oireisiin kuuluvat silmien epämuodostumat, munuaisten ja maksan sairaudet sekä ylimääräiset sormet sekä varpaat. **Meckelin syndrooma**, joka myös liittyy *Kif7*-mutaatioon, aiheuttaa säkkimäisiä ulokkeita (engl. *occipital encephalocele*), munuaisten kystia sekä luuston ja maksan epämuodostumia.

Hedgehogliitännäiset neurologiset häiriöt pitävät sisällään Parkinsonin taudin ja Alzheimerin taudin. Näiden osalta Hh-signaloinnin merkitystä vielä tutkitaan kattavamman käsityksen saamiseksi.

Syöpä on myös yksi Hh-signaloinnin häiriöstä johtuvista, myöhemmällä iällä esiintyvistä sairauksista. Kaksi syövän päätyyppiä, jotka on yhdistetty Hh-signalointiin, ovat medulloblastooma (MB) ja basaalisolukarsinooma (BCC). **MB** on primitiivinen neuroektodermaalinen aivokuoren kasvain. Se todetaan yleensä alle 10-vuotiailla lapsilla. MB jakautuu neljään alatyypin: Wnt-aktivoitu, Shh-aktivoitu, ryhmä 3 sekä ryhmä 4. Keskinäisenä erona edellämaituilla on oirekuva, genetiikka sekä geeniekspressio. **BCC** puolestaan on yksi ihosyövän muoto, joka kattaa yli 75 % ihosyövistä. Jotkin BCC-tapaukset yhdistetään *p53* ja *Ptch1*-geenien mutaatioihin. MB:n ja BCC:n lisäksi **glioomaa**, gliasolujen epänormaalia erilaistumista aivoissa ja selkäytimessä, esiintyy Hedgehog-proteiinin epänormaalissa ekspressiossa (Sasai ym., 2019).

### 3.3. Myöhemmin ilmentyvät neurologiset sairaudet ja Shh

Shh-signaali tarjoaa elimistölle useita hyödyllisiä, solujen elinvoimaa parantavia mekanismeja myös alkionkehityksen jälkeen. Näihin lukeutuvat oksidatiivisen stressin ja tulehduksellisen reaktion lievittäminen, sekä autofagisten mekanismien säätely edesauttaen elimistön sopeutumista ympäristöön. Shh-signaali myös parantaa mitokondrioiden toimintaa ja sillä on ikääntymistä hidastavia ominaisuuksia, kuten myös hermosoluja suojaavia ominaisuuksia. Signaalintireitin häiriintyminen on osallisena erinäisten aikuisiällä ilmenevien sairauksien synnyssä ja kehittämisessä. Signaaloinnin vaiheiden tunteminen tarjoaa tietoa paitsi sairauden syntymekanismeista, myös tämän kautta ensiarvoista tietoa mahdollisista hoitomenetelmistä (Chen, Yang, Hwang, & Yang 2018).

#### 3.3.1. Alzheimerin tauti

Alzheimerin tauti (AT) on aikuisten yleisin hermoston ja aivojen rappeumasairaus, joka etenee progressiivisesti ja peruuttamattomasti myöhäsaikuisuudessa. Oireet koostuvat muistihäiriöistä, kognitiivisista häiriöistä sekä käytöksen muutoksesta. Oireet syntyvät, kun etuaivojen kolinergiset neuronit rappeutuvat progressiivisesti, erityisesti aivojen Meynertin basaalissa tumakkeessa. Amyloidi- $\beta$ -peptidin plakkeutuminen vaikuttaa AT:n kehittymiseen. Plakkia syntyy, kun amyloidi-esiaste-proteiinia hydrolysoidaan pienemmiksi proteiineiksi.

Shh-proteiinin ehdotetaan olevan osallisena neuroneiden post-mitoottisessa solusykliissä, ja epänormaalin syklin tuottavan plakkia, joka lopulta aiheuttaa hermosolujen kuoleman. Koehiirillä tutkittaessa Shh-signaaloinnin estyminen vähentää hippokampuksen neuroneiden apoptoosia parantaen avaruudellista hahmotuskykyä sekä muistikapasiteettia. Tämän pohjalta Shh-signaaloinnilla voidaan nähdä terapeuttista arvoa sairauden hoidossa tulevaisuudessa (Yang, Qi & Sun 2021).

Amyloidi- $\beta$ -peptidi voi muuttaa myös primäärisen silian rakennetta aiheuttaen siliopatioita, samalla häiriten Shh-signaaliin inhiboimalla *Ptc1*:n ja *Gli1*:n ekspressiota esiastegliasoluissa. Tämä aiheuttaa kognitiivisten taitojen heikkenemistä osana Alzheimerin tautia (Vorobyeva & saunders, 2018).

Shh-signaali osallistuu hermoston toimintaan Alzheimerin taudin kehityksessä. SHH:n merkitys AT:n patogeneesissä vaatii kuitenkin vielä lisätutkimusta johtuen Shh-signaalin monimutkaisuudesta. Lisätutkimusten kautta saataisiin tietoa sairauden teoreettisesta perustasta sekä mahdollisista hoitomuodoista (Yang, Qi & Sun 2021).

### **3.3.2. Parkinsonin tauti**

Parkinsonin tauti kehittyy dopaminergisten neuroneiden rappeutuessa ja kuollessa aivojen Substantia nigra ja Striatumissa. Tästä seuraa dopamiinipitoisuuden väheneminen (Yang, Qi & Sun 2021). Sairausta ilmenee usein myöhäsaikuisuudessa, ja sen oireita ovat lepoväsymys, liikkeiden hidastuminen sekä lihaskivvyys. Pitkemmälle edennyt Parkinsonin tauti rappeuttaa tasapainon ja asennon säätelyjärjestelmän sekä häiritsee autonomisen hermoston toimintaa (Duodecim Terveyskirjasto, 2023).

Shh estää keskiaivojen dopaminergisten neuroneiden kuolemaa MPP+:sta (*engl. n-methyl-4-phenylpyridine*) johtuen (Ugbode ym., 2017), ja näin suojaa niitä oksidatiiviselta stressiltä lisäämällä superoksididismutaasi 1:n (SOD1) aktiivisuutta (Ji ym., 2012). Tutkimuksissa on havaittu aivokudokseen tehdyn SHH-N:n injektion parantavan motorisia taitoja Parkinsonin tautia sairastavilla rotilla (Dass ym., 2002). Shh lisää tyrosiinihydroksylaasi-immunoreaktiivisten neuroneiden ekspressiota Striatumissa.

Shh-proteiinin potentiaalia Parkinsonin taudin ja muiden neurodegeneratiivisten sairauksien terapeuttisessa hoidossa tutkitaan edellämainittujen löydösten myötä (Yang, Qi & Sun 2021).

### **3.3.3. Amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS)**

ALS on liikehermojen etenevä rappeumasairaus, jossa liikehermot tuhoutuvat surkastuttaen tahdonalaisen lihaksiston. Ongelmia esiintyy myös puheentuottamisessa sekä nielemisessä (Duodecim Terveyskirjasto, 2023). Tauti etenee keskimäärin 3–5 vuoden kuluessa, eikä sairauteen ole toimivia hoitomenetelmiä. Taudin syy on epäselvä, mutta teorioita on esitetty muun muassa mitokondriaalisista muutoksista, oksidatiivisesta stressistä sekä proteiinien virheellisestä laskostumisesta. Sairausta ilmenee myöhäsaikuisuudessa (Yang, Qi & Sun 2021).

Shh edistää solujen kasvua ja erilaistumista, ylläpitää veri-aivo-estettä ja suojaa soluja oksidatiiviselta stressiltä (Xia ym., 2012).

Tutkimukset ehdottavat yhtenä teorianä Shh-signaaloinnin inhibointia selkäydinnesteessä, joka osaltaan johtaisi sairauden kehittymiseen. Shh:n ehdotetaan osallistuvan ALS:n kehittymiseen muidenkin signaalintireittien kautta. Esimerkiksi Notch-signaaloinnin keskeisten merkkiaineiden muutokset ikääntymisen myötä SOD-mutanttihiirissä korreloivat positiivisesti Shh-signaaloinnin muutosten kanssa. Näiden kahden signaalintikaskadin yhteys voi nopeuttaa potilaan liikehermojen toimintahäiriötä sekä kuolemaa (Ma ym., 2017).

Lisätutkimuksia tarvitaan, jotta Shh-signaalintireitin osallisuus ALS:n kehittämisessä sekä potentiaali ALS:n hoidossa voidaan selvittää (Yang, Qi & Sun 2021).

## 4. Holoprosenkefalia

### 4.1. Taudinkuva

Holoprosenkefalia (HPE) on aivojen kehityksellinen häiriö, jota esiintyy yhdellä 250:stä alkioista ja 16 000:sta elävänä syntyneestä vauvasta. HPE:ssä aivopuoliskot eivät muodostu normaalisti ja potilaalle kehittyvät epänormaalit aivojen ja kasvojen rakenteet. Kasvojen tyypillisiin rakenteellisiin häiriöihin lukeutuvat keskikasvojen halkiot, kuten huuli- ja kitalakihalkio. Vaikeissa tapauksissa esiintyy kykloopiaa (Sasai ym., 2019). Shh-geenin mutaatiot aiheuttavat HPE:ta.

HPE on yleisin prosenkefalonin epämuodostuma ihmisillä, ja se jakautuu kolmeen alatyyppeihin: alobaarinen, semilobaarinen ja lobaarinen. **Alobaarinen HPE** on taudinkuvaltaan vaikein, ja se vaikuttaa silmien, nenän, ylähuulen sekä kitalaen kehitykseen. Silmät voivat puuttua tai olla osittain yhteen fuusioituneet, nenä voi puuttua kokonaan, tai se voi muodostua vain yhdestä sieraimesta. Nenän vaikeat rakenteelliset poikkeavuudet johtavat huuli- ja kitalakihalkioon. Myöhemmällä iällä esiintyy motorisia häiriöitä ja raajojen spastisuutta. Potilas on non-verbaalinen ja motorisesti äärimmäisen rajoittunut, eikä täten kykene itsenäiseen toimintaan.

**Semilobaarinen HPE** on taudinkuvaltaan hyvin pitkälti samanlainen kuin alobaarinen HPE, mutta rakennepoikkeavuudet sekä kehitykselliset häiriöt voivat olla lievempiä. Potilas voi tuottaa yksittäisiä sanoja, ja saavuttaa itsenäisyyttä joissakin motorisissa toiminnoissa, kuten istumisessa. Raajojen spastisuutta ja vajavaista älyllistä kehitystä kuitenkin esiintyy laajalti.

**Lobaarinen HPE** on HPE:n lievin muoto. Siinä kasvojen epämuodostumat voivat olla hyvin lieviä; lähekkäin asettuneet silmät, lievä huulihalkio sekä normaalia matalampi nenänvarsi. Kehitys on viivästynyt ja potilaalla saattaa esiintyä epilepsiaa.

Holoprosenkefalian **MIH**-muodossa (*engl. the middle interhemispheric*) aivojen etu- ja takalohkot kehittyvät, kun taas otsa- ja päälakilohkot ovat fuusioituneet yhteen. Tyypillisiä kraniofasiaalisiä piirteitä ei esiinny. Kortikaalinen dysplasia ja subkortikaalinen heterotopia liitetään myös MIH-muotoon. Kyseinen HPE:n variantti on lisätty alkuperäiseen luokitteluun.

Kaikissa HPE:n muodoissa keskimääräinen synnytyksen jälkeinen kuolleisuus on suurta. 58 % potilaista kuolee ensimmäisen elinkuukauden aikana, ja vain noin 29 % potilaista elää yli

yksivuotiaiksi. Nykyisen diagnostiikan mahdollistamana ja sairaanhoidon kehittymisellä selviytymisprosentti on kuitenkin saatu kasvuun (Malta, Martin, & Srour 2023).

#### 4.2. Sairauden syntymekanismit

Holoprosenkefalian etiologia koostuu geneettisistä sekä ei-geneettisistä tekijöistä, jotka yhdessä muodostavat tapauskohtaisen fenotyypin. Häiriö alkionkehityksessä tapahtuu kolmannella tai neljännellä viikolla hedelmöitymisestä.

Holoprosenkefaliaa aiheuttavat mutaatiot ovat tyypiltään aneuploideja, tarkoittaen kromosomien määrän poikkeavuuksia, ja kromosomien rakenteellisia mutaatioita sekä yksittäisten geenien mutaatioita. Kromosomien rakennemutaatiot voivat olla niin ikään duplikaatioita tai deleetioita, ja olla muodoltaan sekä resessiivisiä että dominantteja.

25-50 %:lla potilaista on kromosomaalinen mutaatio. Kromosomin 13 trisomia on yleisin HPE:n aiheuttaja kattaen jopa 75 % kromosomipoikkeavuuksista. Yksi rakenteellisista kromosomimutaatioista on CNV-mutaatio, jota esiintyy 10–14 %:lla potilaista. Siinä mutaatio sijaitsee kromosomissa 18p11.3, joka sisältää HPE-geenin *TGIF1*. Tutkimukset ovat paljastaneet ainakin 17 geeniä, jotka yhdistetään ei-syndromiseen holoprosenkefaliaan. Näistä *SHH*, *ZIC2*, *GLI2*, *SIX3*, *FGF8* ja *FGFR1* ovat mutatoituessaan HPE:ta eniten aiheuttavia geenejä, kattaen yli 2 % tapauksista. (Malta ym., 2023).

Vaikeissa HPE:n muodoissa geneettiset mutaatiot eivät kohdistu vain *Shh*-geeniin, vaan myös downstream-geeneihin, eli signaalin myöhempiin vaiheisiin vaikuttaviin geeneihin. HPE:n kausaalisiiin geeneihin lukeutuvat *HHAT*, *Disp*, *Cdo*, *Gas1* ja *Gli2* (Sasai ym., 2019).

Ei-geneettisiin syihin sairauden taustalla lukeutuvat äidin diabetes ja alkion altistus alkoholille. Kummassakin tapauksessa happivapaat radikaalit, apoptoosi sekä hermoston kantasolujen kulkeutuminen ja erilaistuminen ovat ehdotettuja teratogeenisiä mekanismeja osaltaan häiriten Shh-signaalia. Shh-reittiä häiritsee myös retinoiinihappo, ravintoperäiset mykotoksiinit, syklopamiini sekä kolesterolin biosynteesiin vaikuttavat lääkkeet (Malta, ym., 2023). Kodin arkisten kemikaalien on todettu nostavan riskiä HPE:n kehittymiselle, jos odottava nainen altistuu niille raskauden aikana. Näihin lukeutuvat valkaisuaine, ilmanraikastimet, hiuslakka ja muut aerosolit. Kuitenkaan äidin rokotteiden, kuten jäykkäkouristusrokotteen, on todettu olevan vaarattomia kehittyvälle alkionlelle.

Kehittyvän HPE:n taudinkuvan vakavuuteen vaikuttaa niin ikään äidin raskaudenaikainen säännöllinen altistus röntgensäteille ja tupakansavulle. Näiden on todettu nostavan riskiä vaikeammalle HPE:n muodolle. Yllättäen äidin siitepölyallergia on yhdistetty lievempään HPE:n muotoon. Äidin raskaudenaikaisen foolihapon on todettu suojaavan kehittyvää sikiötä laskemalla HPE:n riskiä jopa 73 % (Addissie ym., 2021).



## **5. Hoitomenetelmät ja tulevaisuuden tutkimustarpeet**

### **5.1. Hoitomenetelmät**

Geneettisen luonteensa vuoksi Sonic hedgehog-liitännäisten sairauksien hoitomenetelmät ovat rajalliset, mutta moderni lääketiede etsii jatkuvasti ratkaisuja parantamattomina pidettyihin sairauksiin.

Siliopatioiden kroonisuuden vuoksi potilaiden hoito on haastavaa. Ratkaisuja on kuitenkin etsitty. Muun muassa geeniterapia, jossa toimivien silioiden geenit siirretään virusvektorin avulla elimistöön, on antanut onnistuneita tuloksia hajuepiteelin siliopatiassa hiirimalleilla tutkittaessa (Green ym., 2018).

Smo-inhibiittoreita on käytetty hoitamaan edistynyttä basaalisolukarsinoomaa, ja sen testaaminen medulloblastoomaa vastaan oli vuonna 2019 tutkimuksen kliinisessä vaiheessa. Lääkkeistä erityisesti sonidegib voi läpäistä veri-aivo –esteen ja sillä on siten pääsy aivojen kasvaimiin. Myös statiinit, kuten HMG-CoA reduktaasi-inhibiittori, yhdessä muiden inhibiittorien kanssa hidastavat medulloblastooman kasvua. Syöpien hoidossa G-proteiinikytkennäiset reseptorit ovat myös potentiaalisia lääkeaineiden kohteita solunulkoisen sijaintinsa tähden (Sasai ym., 2019).

### **5.2. Tulevaisuuden tutkimustarpeet**

Shh-signaali osallistuu ympäristön aiheuttaman stressin sietoon. Näihin haasteisiin lukeutuvat oksidatiivinen stressi, tulehdukselliset reaktiot sekä autofagiset mekanismit, jotka auttavat elimistön sopeutumista ympäristön muutoksiin. Shh-signaali edistää mitokondrioiden toimintaa ja tarjoaa ikääntymistä hidastavia vaikutuksia. Shh-signaloinnilla on potentiaalisesti hermostoa suojaavia mekanismeja. Shh –kaskadin aktivointi voi tarjota ratkaisuja etenevien hermostollisten sairauksien hoidossa. Näihin sairauksiin lukeutuvat muun muassa aiemmin käsitellyt Alzheimerin tauti sekä Parkinsonin tauti (Chen ym., 2018).

Shh-signaloinnin eri vaiheiden inhibiittoreita, kuten Smo- sekä Gli1-inhibiittoreita, käytetään hoitamaan virustartuntoihin liittyviä pahanlaatuisia kasvaimia, basaalisolukarsinoomaa sekä erinäisiä leukemioita. Kliinisissä kokeissa on parhaillaan myös useita muita inhibiittoreita.

Valjastamalla Hh-signaali tieteeseen käyttöön, saadaan mahdollisuus kehittää myös laaja-alaisia rokotteita viruksia vastaan. Hh-signaali kohdistuu samanaikaisesti usean solun komponenttiin, joten hoidon kohdistaminen tiettyyn komponenttiin on tarpeen. Yhdistelmähoitojen tarvetta on harkittava ratkaisuna edellämainittuun. Tämä vaatii laaja-alaista tietämystä viruksen toimintamekanismeista, joten lisätutkimus aiheesta on tarpeen.

Poikkeava Hh-signaali on näyttäytynyt aggressiivisen syövän kemoresistenssin aiheuttajaksi. Gli-proteiinien perhe on osoittautunut tutkimuksissa arvokkaaksi syöpähoitojen osalta, sillä Gli1 inhibiittorit ovat antaneet osviittaa laaja-alaisimmasta potentiaalista edenneiden sekä metastoivien kasvainten terapeuttisessa hoidossa. Gli1-ekspressiota on käytetty ennustamaan virtsarakon sekä paksusuolen syövän olemassaoloa. Gli1:n alhainen ekspressio myös korreloi paremman eloonjäämisennusteen kanssa suun levyepiteelikarsinoomassa. Epänormaali Hh-signaali edistää osaltaan basaalisolukarsinooman, medulloblastooman, kolorektaalisyövän sekä pienisoluisen keuhkosyövän kasvua. Hh-inhibiittoreiden kehittäminen osaksi syövän hoitoa on ollut tutkimuksen kohteena (Iriana, Asha, Repak & Sharma-Walia, 2021).

Sonic hedgehog-signaali liittyy myös erinäisiin autoimmunisairauksiin ja hengitysteiden tulehduksellisiin sairauksiin. Shh:n komponentteja ekspressoidaan kateenkorvassa, ja ne osallistuvat useaan T-solujen kehitysvaiheeseen. Shh-signaali vaikuttaa varhaisten tymosyyttiesiasteiden erilaistumiseen ja kehitykseen. Se myös vaikuttaa autoreaktiivisten solujen klonaaliseen deleetioon ja T-solujen perifeeraaliseen aktivaatioon. Hh-proteiinit edesauttavat T-solujen erilaistumista T-auttaja 1:ksi sekä erityisesti T-auttaja 2:ksi. Tämän perusteella tutkijat ovat esittäneet Shh -signaalin osallisuutta tähän vasteeseen perustuviin sairauksiin, kuten astmaan ja allergiaan.

Myös Hh-signaalin yhteyttä muun muassa reumaan on esitetty. Hh-inhibiittori, syklopamiini, heikentää tulehdusta ja rustovaurioita reumaa sairastavilla rotilla. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  sekä IL-6 seerumipitoisuudet laskivat, samoin kuin nivelturvotus. Myös ruston soluväliaineen tuotannon havaittiin edistyneen. Tämä avaa mahdollisuuden Hedgehog-signaalin hyödyntämiselle reuman hoidossa (Palla, Scarpato, Di Trolio & Ascierto, 2022).

## 6. Yhteenveto

Sonic hedgehog -signalointi on alkionkehityksen yksi merkittävimpiä morfogeneenejä säädellen niin pään alueen rakenteiden, kuin hermoston ja raajojen kehittymistä. Shh ohjaa solujen erilaistumista ja alkion normaalia kaavoittumista hedelmöitymisestä seuraavien varhaisten viikkojen aikana. Shh-signaloinnilla on myös ensiarvoinen rooli monissa aikuisiän fysiologisissa tapahtumissa. Shh omaa ikääntymistä hidastavia ominaisuuksia suojaamalla soluja oksidatiiviselta stressiltä. Lisäksi se suojaa hermostoa ja edistää mitokondrioiden toimintaa.

Shh-signalointi on monimutkainen prosessi, jota säädellään niin signaalin lähetyksen, toimituksen kuin vastaanoton tasolla. Säättely tapahtuu transkriptiotekijöillä, heparaanipolysulfaattiglykaaneilla, solun vastaanottavilla kalvoproteiineilla sekä niiden coreseptoreilla.

Häiriöt Shh-signaloinnissa aiheuttavat useita tunnettuja geneettisiä oireyhtymiä, joista tutkituimpia on holoprosenkefalia. Shh on yhdistetty myös erinäisiin syöpiin, neurologisiin häiriöihin sekä siliopatioihin. Häiriöitä signaloinnissa aiheuttavat mutaatioiden lisäksi varhaisraskauden haitalliset ympäristötekijät, kuten voimakas kemikaalikuorma.

Signaloinnin säätelyn mekanismien tunteminen tarjoaa teoreettista tietoa Hh-liitännäisten sairauksien synnystä ja niiden potentiaalisista hoitomahdollisuuksista. Signaloinnin tunteminen tarjoaa ensiarvoista tietoa myös aikuisiässä esiintyvien etenevien hermostollisten sairauksien ja syöpien synnystä sekä kehittymisestä, ja auttaa kehittämään hoitomenetelmiä niin virusperäisiin sairauksiin kuin autoimmuunisairauksiinkin.

## Kirjallisuusviitteet

- Addissie, Y. A., Troia, A., Wong, Z. C., Everson, J. L., Kozel, B. A., Muenke, M., Lipinski, R. J., Malecki, K. M. C., & Kruszka, P. (2021). Identifying environmental risk factors and gene-environment interactions in holoprosencephaly. *Birth defects research, 113*(1), 63–76. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1834>.
- Atula S (2023). Als (amyotrofinen lateraaliskleroosi) – motoneuronisairaus. *Duodecim Terveyskirjasto*, haettu 24.6.2024 osoitteesta <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01093>.
- Atula S (2023). Parkinsonin tauti. *Duodecim Terveyskirjasto*, haettu 13.6.2024 osoitteesta <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00055#s2>.
- Chen, S. D., Yang, J. L., Hwang, W. C., & Yang, D. I. (2018). Emerging Roles of Sonic Hedgehog in Adult Neurological Diseases: Neurogenesis and Beyond. *International journal of molecular sciences, 19*(8), 2423. <https://doi.org/10.3390/ijms19082423>
- Cho, G., Lim, Y., Cho, I., Simonet, J. C., Golden, J. A. (2014). Arx together with FoxA2, regulates Shh floor plate expression. *Developmental Biology, 393*(1), 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.06.012>.
- Choudhry, Z., Rikani, A. A., Choudhry, A. M., Tariq, S., Zakaria, F., Asghar, M. W., Sarfraz, M. K., Haider, K., Shafiq, A. A., & Mobassarrah, N. J. (2014). Sonic hedgehog signalling pathway: a complex network. *Annals of neurosciences, 21*(1), 28–31. <https://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.210109>
- Cohen, M., Kicheva, A., Ribeiro, A. *et al.* Ptch1 and Gli regulate Shh signalling dynamics via multiple mechanisms. *Nat Commun 6*, 6709 (2015). <https://doi.org/10.1038/ncomms7709>
- Crompton, T., Outram, S. & Hager-Theodorides, A. Sonic hedgehog signalling in T-cell development and activation. *Nat Rev Immunol 7*, 726–735 (2007). <https://doi.org/10.1038/nri2151>
- Dass B., Iravani M. M., Jackson M. J., Engber T. M., Galdes A., Jenner P. (2002). Behavioural and Immunohistochemical Changes Following Supranigral

Administration of Sonic Hedgehog in 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine-Treated Common Marmosets. *Neuroscience* 114(1), 99–109. [10.1016/s0306-4522\(02\)00214-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00214-2)

Douglas J. Epstein, Andrew P. McMahon, Alexandra L. Joyner (1999). Regionalization of *Sonic hedgehog* transcription along the anteroposterior axis of the mouse central nervous system is regulated by Hnf3-dependent and -independent mechanisms. *Development*, 15 January 1999; 126 (2): 281–292. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.126.2.281>

Ericson, J., Briscoe, J., Rashbass, P., van Heyningen, V. & Jessell T. M. (1997) Graded Sonic Hedgehog Signaling and the Specification of Cell Fate in the Ventral Neural Tube. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 62: 451-466. [10.1101/SQB.1997.062.01.053](https://doi.org/10.1101/SQB.1997.062.01.053)

Green, W. W., Uytingco, C. R., Ukhanov, K., Kolb, Z., Moretta, J., McIntyre, J. C., & Martens, J. R. (2018). Peripheral gene therapeutic rescue of an olfactory ciliopathy restores sensory input, axonal pathfinding, and odor-guided behavior. *J. Neurosci.: Off. J. Soc. Neurosci.* 38, 7462–7475. doi: [10.1523/JNEUROSCI.0084-18.2018](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0084-18.2018).

Hildebrand M. S., Griffin N. G., Damiano J. A., Cops E. J., Burgess R., Ozturk E., Jones N. C., Leventer R. J., Freeman J. L., Harvey A. S., Sadlier L. G., Scheffer I. E., Major H., Darbro B. W., Allen A. S., Goldstein D. B., Kerrigan J. F., Berkovic S. F., Heinzen E. L. (2016). Mutations of the Sonic Hedgehog Pathway Underlie Hypothalamic Hamartoma with Gelastic Epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*, 99(4), 423–429. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.05.031>

Iriana, S., Asha, K., Repak, M., & Sharma-Walia, N. (2021). Hedgehog Signaling: Implications in Cancers and Viral Infections. *International journal of molecular sciences*, 22(3), 1042. <https://doi.org/10.3390/ijms22031042>

Ji, H., Miao, J., Zhang, X., Du, Y., Liu, H., Li, S. & Li, L. (2012). Inhibition of sonic hedgehog signaling aggravates brain damage associated with the down-regulation of Gli1, Ptch1 and SOD1 expression in acute ischemic stroke. *Neuroscience Letters*, 506(1) 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.11.027>.

- Khan YS, Ackerman KM. Embryology, Week 1. [Updated 2023 Apr 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554562/>
- Lettice, L. A., Heaney, S. J. H., Purdie, L. A., Li, L., de Beer, P., Oostra, B. A., Goode, D., Elgar, G., Hill, R. E., de Graaff, E. (2003). A long-range *Shh* enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly, *Human Molecular Genetics*, 12(14), 1725–1735. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg180>
- Lettice, L. A., Williamson, I., Wiltshire, J. H., Peluso, S., Devenney, P. S., Hill, A. E., Essafi, A., Hagman, J., Mort, R., Grimes, G., DeAngeli, C. L. & Hill, R. E. (2012). Opposing Functions of the ETS Factor Family Define *Shh* Spatial Expression in Limb Buds and Underline Polydactyly. *Developmental Cell*, 22(2), 459-467. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.12.010>.
- Ma, X., Drannik, A., Jiang, F., Peterson, R., Turnbull, J. (2017). Crosstalk between Notch and Sonic hedgehog signaling in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroReport* 28(3):p 141-148. DOI: 10.1097/WNR.0000000000000725.
- Malta, M., AlMutiri, R., Martin, C. S., & Srour, M. (2023). Holoprosencephaly: Review of Embryology, Clinical Phenotypes, Etiology and Management. *Children (Basel, Switzerland)*, 10(4), 647. <https://doi.org/10.3390/children10040647>
- Ming, J. E., Roessler, E. (1998). Human developmental disorders and the Sonic hedgehog pathway. *Cell*, 4(8), 343-349. [https://doi.org/10.1016/S1357-4310\(98\)01299-4](https://doi.org/10.1016/S1357-4310(98)01299-4)
- Odent, S., Attié-Bitach, T., Blayau, M., Mathieu, M., Augé, J., Delezoïde, A. L., Le Gall, J. Y., Le Marec, B., Munnich, A., David, V. & Vekemans, M. Expression of the *Sonic hedgehog (SHH)* Gene during Early Human Development and Phenotypic Expression of New Mutations Causing Holoprosencephaly, *Human Molecular Genetics*, Volume 8, Issue 9, September 1999, Pages 1683–1689, <https://doi.org/10.1093/hmg/8.9.1683>
- Ortmann, C., Pickhinke, U., Exner, S., Ohlig, S., Lawrence, R., Jboor, H., Dreier, R. & Brobe, K (2015). Sonic hedgehog processing and release are regulated by

Glypican heparan sulfate proteoglycans. *Journal of Cell Science*, 128(12) 2374-2385. <https://doi.org/10.1242/jcs.170670>.

- Oustah, A. A., Danesin, C., Khouri-Farah, N., Farreny, M.-A., Escalas, N., Cochard, P., Glise, B. and Soula, C. (2014). Dynamics of Sonic hedgehog signaling in the ventral spinal cord are controlled by intrinsic changes in source cells requiring Sulfatase 1. *Development*, 141, 1392-1403. <https://doi.org/10.1242/dev.101717>.
- Palla, M., Scarpato, L., Di Trolio, R., & Ascierto, P. A. (2022). Sonic hedgehog pathway for the treatment of inflammatory diseases: implications and opportunities for future research. *Journal for immunotherapy of cancer*, 10(6), e004397. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004397>
- Ramsbottom, S. A., & Pownall, M. E. (2016). Regulation of Hedgehog Signalling Inside and Outside the Cell. *Journal of developmental biology*, 4(3), 23. <https://doi.org/10.3390/jdb4030023>
- Ribes, V., & Briscoe, J. (2009). Establishing and interpreting graded Sonic Hedgehog signaling during vertebrate neural tube patterning: the role of negative feedback. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1(2), a002014. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002014>
- Sasai, N., Toriyama, M., & Kondo, T. (2019). Hedgehog Signal and Genetic Disorders. *Frontiers in genetics*, 10, 1103. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01103>
- Ugbode, C. I., Smith, I., Whalley, B. J., Hirst, W. D., and Rattray, M. (2017). Sonic Hedgehog Signalling Mediates Astrocyte Crosstalk with Neurons to Confer Neuroprotection. *J. Neurochem.* 142 (3), 429–443. doi:10.1111/jnc.14064.
- Vorobyeva, A.G. & Saunders, A.J. Amyloid- $\beta$  interrupts canonical Sonic hedgehog signaling by distorting primary cilia structure. *Cilia* 7, 5 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13630-018-0059-y>.
- Xia, Y.-P., Dai, R.-L., Li, Y.-N., Mao, L., Xue, Y.-M., He, Q.-W., et al. (2012). The Protective Effect of Sonic Hedgehog Is Mediated by the Propidium Iodide 3-kinase/AKT/Bcl-2 Pathway in Cultured Rat Astrocytes under Oxidative Stress. *Neuroscience* 209, 1–11. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.02.019.

Yang, C., Qi, Y., & Sun, Z. (2021). The Role of Sonic Hedgehog Pathway in the Development of the Central Nervous System and Aging-Related Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 711710. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.711710>