

УДК 577.2 +616.8-092+612.821(082)

Влияние композиционной смеси нативной и олигомерной форм белка α -синуклеина при интраназальном введении на поведение стареющих мышей

Соловьева О.А., Грудень М.А., Калинин И.А., Ратмиров А.М., Шерстнев В.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина» 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Одним из важнейших патогенетических звеньев развития синуклеинопатий – группы хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, деменции с тельцами Леви и других является гиперпродукция белка α -синуклеина с последующей его агрегацией и образованием различающихся по размеру и структуре амилоидогенных форм белка, которые инициируют гибель нервных или глиальных клеток. В настоящее время для более полного понимания происходящих *in vivo* патологических процессов актуально изучение на моделях животных поведенческих эффектов как нативного белка α -синуклеина, так и его отдельных амилоидогенных структур (олигомеров и фибрилл), полученных и охарактеризованных *in vitro*, а также композиционных смесей данных белковых конформаций. **Целью** данной работы явилось изучение влияния композиционной смеси нативного белка α -синуклеина и олигомеров α -синуклеина при хроническом интраназальном введении на двигательную активность, кратковременную и долговременную память, а также тревожность стареющих мышей. **Методы.** Эксперименты проводили на 12-месячных самцах мышей C57Bl/6, которым на протяжении 14 дней один раз в сутки вводили отдельно в каждую ноздрю раствор α -синуклеина и его олигомеров, либо физиологический раствор. В тестах «Открытое поле», «Распознавание нового объекта», «Условная реакция пассивного избегания» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» оценивали двигательную активность, кратко- и долговременную память, и тревожность животных. **Результаты.** Показано, что исследованная композиционная смесь конформаций α -синуклеина не вызывает статистически значимых изменений регистрируемых поведенческих показателей у стареющих мышей. Вместе с тем, ранее нами было документировано, что в условиях аналогичного экспериментального протокола нативный α -синуклеин инициирует снижение двигательной активности, а олигомеры α -синуклеина – угнетение двигательной активности, нарушение долговременной памяти и тревожности животных. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о менее выраженных поведенческих эффектах композиционной смеси нативной и олигомерной форм α -синуклеина, по сравнению с отдельными ее компонентами. Рассматриваются возможные механизмы выявленных особенностей влияния исследованной композиционной смеси конформаций α -синуклеина на поведенческом уровне.

Ключевые слова: нативный α -синуклеин; олигомеры α -синуклеина; поведение; мыши; синуклеинопатии, старение.

Для цитирования: Соловьева О.А., Грудень М.А., Калинин И.А., Ратмиров А.М., Шерстнев В.В. Влияние композиционной смеси нативной и олигомерной форм белка α -синуклеина при интраназальном введении на поведение стареющих мышей. Патогенез. 2018; 16(4): 51-57

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.51-57

Для корреспонденции: Шерстнев Владимир Вячеславович, e-mail: sherstnev.vv@yandex.ru

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке РФФИ проект № 16-04-00661а.

Поступила: 14.07.2018

Effect of a composite mixture of native and oligomeric forms of the α -synuclein protein upon intranasal administration on aging mouse behavior

Solovieva O.A., Gruden M.A., Kalinin I.A., Ratmirov A.M., Sherstnev V.V.

P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

One of the most important steps in the pathogenesis of synucleinopathies, a group of chronic neurodegenerative diseases, such as Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies and others, is overproduction of α -synuclein protein, followed by its aggregation and formation of amyloidogenic protein species, which differ in their size and structure and initiate death of nerve or glial cells. At present, better understanding of *in vivo* pathological processes requires studying behavioral effects of both the native α -synuclein protein and its individual amyloidogenic structures (oligomers and fibrils) obtained and characterized *in vitro* on animal models, as well as composite mixtures of these protein conformations. **The aim** of this work was to study effects of chronic nasal application of a composite mixture of native α -synuclein protein and α -synuclein oligomers on motor activity, short-term and long-term memory, and anxiety of aging mice. **Methods.** Experiments were carried out on 12-month old male C57Bl/6 mice, which received a solution of α -synuclein and its oligomers or a saline solution separately into each nostril for 14 days daily. Motor activity, short- and long-term memory and anxiety of animals were evaluated in Open Field, Novel Object Recognition, Conditioned Passive Avoidance, and Elevated Plus Maze tests. **Results.** The studied composite mixture of α -synuclein conformations did not induce statistically significant changes in behavioral indices of aging mice. At the same time, we have previously documented that in a similar experimental protocol, native α -synuclein initiates a decrease in motor activity, and α -synuclein oligomers - inhibition of motor activity and disorders of long-term memory and anxiety. **Conclusion.** The results indicated less pronounced behavioral effects of the composite mixture of native and oligomeric forms of α -synuclein compared with its individual components. The authors discussed possible mechanisms of the behavioral effects of the studied composite mixture of α -synuclein conformations.

Key words: native α -synuclein, α -synuclein oligomers, behavior, mice, synucleinopathy, aging.

For citation: Solovieva O.A., Gruden M.A., Kalinin I.A., Ratmirov A.M., Sherstnev V.V. [Effect of a composite mixture of native and oligomeric forms of the α -synuclein protein upon intranasal administration on aging mouse behavior]. *Patogenez* [Pathogenesis]. 2018; 16(4): 51-57 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.51-57

For correspondence: Sherstnev Vladimir Vyacheslavovich, e-mail: sherstnev.vv@yandex.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, Grant N16-04-00661a.

Received: 14.07.2018

Введение

В настоящее время все большее внимание исследователей различных специальностей направлено на изучение α -синуклеина (α -син) – небольшого белка, широко распространенного в нервной системе, который в основном обнаруживается в пресинаптических терминалях, участвует в регуляции эндо- и экзоцитоза, обмена и транспорта дофамина, процессов синаптической пластичности. Вместе с тем, при определенных условиях α -син способен к гиперэкспрессии с последующей агрегацией и образованием различающихся по размеру и структуре амилоидогенных форм белка, которые инициируют гибель нервных или глиальных клеток, что рассматривается в качестве одного из важнейших звеньев патогенеза синуклеинопатий – группы хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, деменции с тельцами Леви и др. [1-3]. Согласно современным представлениям различные формы α -син с нарушенной конформацией определяют формирование спектра клинических проявлений, характерных для определенного заболевания, причем в организме одновременно могут присутствовать различные амилоидогенные структуры α -син с различной нейротоксичностью [4-6].

Несмотря на интенсивные исследования, физиологические функции α -син и клеточно-молекулярные механизмы возникновения и развития синуклеинопатий остаются недостаточно выясненными [7-9]. К числу наименее изученных ключевых вопросов относят следующие:

- какие конформационные формы α -син обладают наиболее выраженным нейротоксическим действием и вызывают наиболее глубокие нарушения двигательных, когнитивных и психоэмоциональных функций?
- изменяются ли функциональная и нейротоксическая активность различных конформаций α -син при взаимодействиях *in vivo* и какова особенность их влияния на двигательные и психоэмоциональные функции?

Поведенческие эффекты различных конформационных форм α -син исследованы в небольшом числе работ, при этом проведенные исследования характеризуются существенными методическими отличиями: пути введения, дозы используемых белков, сроки наблюдения, поведенческие модели, регистрируемые показатели, виды и возраст экспериментальных животных, что и определяет неоднозначность полученных результатов и затрудняет их анализ. В частности показано, что при однократном введении олигомеров α -син внутрь боковых

желудочков мозга взрослых мышей происходит нарушение долговременной памяти, которое выявлено с помощью методик «Распознавание нового объекта» и в модели условного страха. Вместе с тем, инъекции нативного или фибриллярного α -син не нарушали память у животных [10, 11, 13]. Нами было продемонстрировано, что хроническое интраназальное введение нативного α -син инициирует угнетение двигательной активности, нарушение эпизодической памяти и тревожности, а введение олигомеров α -син – нарушение эпизодической памяти, двигательной активности и повышение тревожности стареющих мышей. При хроническом интраназальном введении фибрилл α -син не наблюдается значимых изменений поведения стареющих животных [13-15]. В работах других авторов также не выявлено нарушений памяти и двигательных расстройств при центральном введении фибрилл α -син [16, 17]. Особо следует отметить, что к настоящему времени имеются лишь единичные сведения о действии композиционной смеси олигомеров и фибрилл α -син на двигательную активность и обмен моноаминов в мозге стареющих мышей [18, 19].

В связи с изложенным, целью настоящей работы явилось изучение влияния композиционной смеси нативного белка α -синуклеина и олигомеров α -синуклеина при их хроническом интраназальном введении на двигательную активность, кратковременную и долговременную память, а также тревожность стареющих мышей.

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено на 20 самцах мышей линии C57Bl/6 в возрасте 12 месяцев и массой $31,4 \pm 4,2$ г (ФГБУН НЦБМТ ФМБА питомник «Столбовая», Россия). Все манипуляции с животными были проведены с соблюдением требований, изложенных в директиве Европейского парламента и Совета европейского союза (2010/63/ EU от 22 сентября 2010 г.), а также в соответствии с правилами, утвержденными комиссией по биоэтике ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина».

В качестве нативного белка был использован рекомбинантный α -син, полученный в Центре Биотехнологии (Вильнюс, Литва), фракция олигомеров α -син была получена и охарактеризована в соответствии с опубликованным ранее протоколом [19]. Мыши содержались по 3-5 особей в клетках со сменой темной и светлой фаз суток 12/12 часов при свободном доступе к пище и воде. На протяжении 14 дней экспериментальной группы животных ежедневно интраназально вводили растворы

нативного α -син (7,5 мкг/4 мкл, $n = 9$) поочередно в одну ноздрю и 7,5 мкг/4 мкл раствора олигомеров α -син в другую ноздрю, контрольной группе вводили физиологический раствор (по 4 мкл в каждую ноздрю, $n = 6$). В период биологического тестирования растворов была отмечена гибель животных (25%) в обеих группах животных, что можно объяснить возрастом мышей.

На 15-е сутки от начала введения физиологического раствора и композиционной смеси белков мышей однократно помещали в установку «Открытое поле» (ОП) (Columbus Instruments, Огайо, США) на 11 минут (5 минут – адаптация, 6 минут – тест) для оценки двигательной активности. Через 24 часа оценивали эпизодическую память животных в тесте «Распознавание нового объекта» (РНО), используя арену установки «Открытое поле». Арена установки тщательно очищалась перед каждым тестированием. Во время сессии обучения длительностью 5 минут животные имели возможность свободно исследовать два идентичных объекта (стеклянные банки объемом 100 мл с металлическими крышками, диаметр крышек около 5 см). Через 1 час проводили однократно 5-минутную сессию тестирования: в установку помещали один объект, идентичный знакомым и один новый объект (зеленый пластмассовый стакан диаметром 7,5 см и объемом 100 мл). По окончании тестирования для оценки памяти промежуточного восприятия вычисляли индекс дискриминации, который рассчитывали как $ИД = \frac{Дн - Дз}{(Дн + Дз)}$, где Дн – длительность пребывания в зоне нового объекта, Дз – длительность пребывания в зоне знакомого объекта.

На 18-е сутки исследования оценивали долговременную ассоциативную память при обучении условной реакции пассивного избегания (УРПИ) в установке PACS Shuttle Box (v.3.13) (Columbus Instruments, Огайо, США), которая представляла собой прямоугольную камеру с пропускающим ток полом, разделенную на освещенный и темный отсеки подвижной загородкой. В день обучения животных помещали в освещенный отсек хвостом к загородке, через 15 с (время адаптации к обстановке) загородка автоматически поднималась, и мыши предоставлялась возможность перейти в темный отсек. Если этого не происходило в течение 180 с, звучал сигнал, свидетельствующий об окончании сессии, животное вынимали. В случае перехода мыши в темный отсек, животное получало электрокожное раздражение лап и хвоста (сила тока 0,6 мА, 12 разрядов с частотой 4 Гц), после чего его вынимали. Животных, не обучившихся в течение первой сессии, в тот же день обучали повторно (не менее чем через полчаса после первой посадки в установку). Тестирование животных проводили на следующий день после обучения УРПИ: для этого мышей помещали в освещенный отсек на 15 с для адаптации, после чего загородка автоматически поднималась, и у животных было 300 с для перехода в темный отсек. Мыши, перешедшие в темный отсек во время тестирования, не получали электрокожного раздражения.

На 22-е сутки от начала интраназального введения веществ животных однократно помещали в установку «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (Columbus Instruments, Огайо, США) на 5 минут для

оценки уровня их тревожности. Процедуры обучения и тестирования мышей проводили в одном и том же помещении при освещении установок рассеянным светом. Поведение животных регистрировали с помощью видеокамеры CNB-BBB-31F (CNB Technology Inc., Корея), размещенной под потолком лабораторной комнаты. После тестирования каждого животного пол и стены установок последовательно протирали тканью, смоченной мыльным раствором и водой.

Сбор и последующий анализ данных в тестах ОП, РНО и ПКЛ проводили с помощью программы Ethovision XT 8.5 (Noldus, Голландия). На основе треков (путей перемещения животных) рассчитывали среднюю скорость, а также количество и длительность нахождения в зонах интереса (в ПКЛ в качестве зон интереса выделяли открытые, закрытые рукава и центр, в тесте РНО – зоны, занимаемые объектами, и пограничные зоны на расстоянии 2 см от внешнего края объектов). При формировании и тестировании УРПИ регистрировали латентное время перехода мышей в темный отсек с помощью программного обеспечения PACS Shuttle Box v.3.13 (Columbus Instruments, Огайо, США). Для статистического анализа использовали программу SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc., США). Данные представлены как медианы и квартили: $Me (Q1; Q3)$. Парное сравнение проводили с помощью критериев Манна-Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

В результате проведенного исследования поведенческих эффектов композиционной смеси нативного α -син и его амилоидогенных олигомеров были обнаружены следующие особенности.

При изучении двигательной активности мышей ни в одном из тестов (ОП, РНО и ПКЛ) средняя скорость животных статистически значимо не отличалась от средней скорости движения контрольных мышей (табл. 1).

При дальнейшем тестировании сохранности кратковременной памяти в модели РНО у мышей из обеих групп средняя скорость движения была достоверно ниже, чем при знакомстве животных с двумя одинаковыми объектами, при оценке поведения в ОП средняя скорость движения снижалась к концу пробы у обеих групп животных (табл. 1).

Анализ поведенческой активности мышей в модели «Распознавание нового объекта» выявил, что при сравнении групп мышей, получивших композиционную смесь нативного α -син с олигомерами α -син или физиологический раствор, не было обнаружено различий в длительности обследования 4 объектов на протяжении сессий обучения и тестирования ($p > 0,1$, рис. 1, А), а также в уровне индекса дискриминации (тест Манна-Уитни, $U = 21,0$, $Z = -0,387$, $p > 0,1$ (рис. 1, Б)). При сравнении длительности обследования объектов отдельно по группам животных было обнаружено, что контрольные животные меньше времени обследовали объект 3 (стеклянную банку) в сессии тестирования, по

Показатели усредненной скорости движения (см/с) мышей, получивших композиционную смесь нативного формы и олигомеров α -синуклина в тестах «Открытое поле», «Распознавание нового объекта» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Данные представлены в виде $Me (Q1; Q3)$.

Наименование, время и этапы тестов	Композиционная смесь нативного α -син с олигомерами α -син	Физиологический раствор	Различия между группами, критерий Манна-Уитни
«Открытое поле» адаптация, 1-5 минуты	5,2 (4,4; 5,9)	5,9 (4,5; 6,9)	$U = 18,0$, $Z = -0,775$, $p > 0,1$
«Открытое поле» тест, 6-11 минуты	4,4 (3,2; 4,8)	5,1 (4,0; 6,5)	$U = 13,0$, $Z = -1,42$, $p > 0,1$
Различия между адаптацией и тестированием в установке «Открытое поле» (критерий Вилкоксона)	$Z = -2,521$ $p = 0,012$	$Z = -2,201$, $p = 0,028$	
«Распознавание нового объекта» обучение, 5 минут	3,7 (3,4; 6,0)	4,0 (3,6; 4,4)	$U = 21,0$, $Z = -0,387$, $p > 0,1$
«Распознавание нового объекта» тест через 1 час, 5 минут	3,1 (2,2-4,5)	2,2 (2,0-3,1)	$U = 14,0$, $Z = -1,291$, $p > 0,1$
Различия между обучением и тестированием в модели «Распознавание нового объекта» (критерий Вилкоксона)	$Z = -2,380$, $p = 0,017$	$Z = -2,201$, $p = 0,021$	
«Приподнятый крестообразный лабиринт» 5 минут	4,8 (4,1-5,5)	5,5 (4,8- 6,8)	$U = 13,0$, $Z = -1,42$, $p > 0,1$

сравнению с идентичным ему объектом 1 в сессии обучения (критерий Вилкоксона, $Z = -1,992$, $p = 0,046$), во время как у экспериментальных животных время обследования этих объектов не различалось (критерий Вилкоксона, $Z = -0,280$, $p > 0,1$, рис. 1, А). В обеих группах животных не было найдено различий в длительности обследования нового объекта (пластикового стакана) в сессии тестирования и длительности обследования 3 других объектов (критерий Вилкоксона, $p > 0,1$, рис. 1, А).

В последующем тесте УРПИ не было обнаружено достоверных различий при сравнении животных из обеих групп по латентному времени перехода в темный отсек как при формировании реакции пассивного избегания у животных (физраствор: $Me = 99$ с, $Q1 = 73,8$ с, $Q3 = 150,8$ с, композиционная смесь нативного α -син с олигомерами α -син: $Me = 67,5$ с, $Q1 = 23,5$ с, $Q3 = 126,3$ с, тест Манна-Уитни, $U = 15,0$, $Z = -1,163$, $p > 0,1$), так и при тестировании через 24 часа (физраствор: $Me = 179,5$ с, $Q1 = 137,5$ с, $Q3 = 240,8$ с, композиционная смесь нативного α -син с олигомерами α -син: $Me = 217$ с, $Q1 = 134,3$ с, $Q3 = 284$ с, $U = 19,0$, $Z = -0,647$, $p > 0,1$).

Для оценки тревожности экспериментальных и контрольных животных тестировали в «Приподнятом крестообразном лабиринте». Показано, что животные, которым вводили композиционную смесь либо физиологический раствор, не различались ни по длительности пребывания в рукавах (открытые рукава: $U = 14,0$, $Z = -1,291$, $p > 0,1$, закрытые рукава: $U = 16,0$, $Z = -1,034$, $p > 0,1$, центр: $U = 23,0$, $Z = -0,129$, $p > 0,1$) (рис. 2, А), ни по количеству входов в рукава (открытые рукава: $U = 23,0$, $Z = -0,130$, $p > 0,1$, закрытые рукава: $U = 16,0$, $Z = -1,047$, $p > 0,1$, центр: $U = 16,0$, $Z = -0,039$, $p > 0,1$) (рис. 2, Б) в зоны лабиринта.

В проведенном нами исследовании было обнаружено, что композиционная смесь нативного α -син с его

олигомерными формами в условиях хронического интраназального введения не вызывает у стареющих мышей изменений двигательной активности, кратко- и долговременной памяти, уровня тревожности по сравнению с животными, которым вводили физиологический раствор. Эти результаты отличаются от полученных ранее данных при изучении влияния на поведенческую активность как нативного α -син, так и фракции олигомеров α -син. Нами было показано, что нативный α -син в условиях аналогичного экспериментального протокола вызывает снижение двигательной активности [14], тогда как олигомеры α -син инициируют не только угнетение двигательной активности, но и нарушения эпизодической памяти одновременно с ростом уровня тревожности у стареющих мышей [13].

Документированы «парадоксальные» поведенческие эффекты композиционной смеси нативной и олигомерной форм α -син обусловленные, на наш взгляд тем, что при взаимодействии *in vivo* интраназально вводимых нативной и олигомерной форм белка происходит снижение нейротоксичности и/или создаются условия для ускоренной агрегации олигомеров с образованием менее токсичных фибриллярных структур α -син. Высказанное положение подтверждают другие данные о возможности формирования *in vivo* и *in vitro* различных видов олигомеров α -син, обладающих различной нейротоксичностью [20, 21]. Показано, что гиперэкспрессия α -син, повышение внутриклеточного содержания нативного и мутированного α -син активируют и ускоряют процессы агрегации с образованием олигомерных и фибриллярных форм белка. Образование фибриллярных форм α -син рассматривается как протективный, детоксикационный механизм, который переводит растворимые олигомеры α -син, обладающие высокой нейротоксичностью в нерастворимую форму [2, 8, 22]. Нами полу-

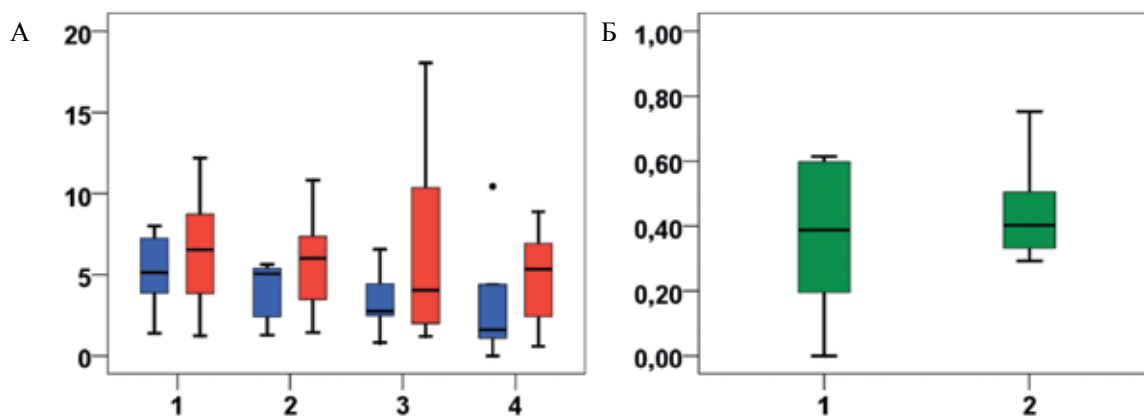


Рис. 1. А. Длительность нахождения в зонах объектов в тесте РНО. По оси абсцисс: объекты (1, 2 – одинаковые банки при обучении, 3 – банка при тестировании, 4 – новый объект). По оси ординат: время (с). Синие столбики – физиологический раствор, красные – композиционная смесь. Данные представлены в виде медианы (черта), межквартильного размаха (прямоугольник), минимального и максимального значений, а также выброса (точка). Б. Индекс дискриминации. По оси абсцисс: группы животных: 1 – физраствор, 2 – композиционная смесь. По оси ординат: значения индекса.

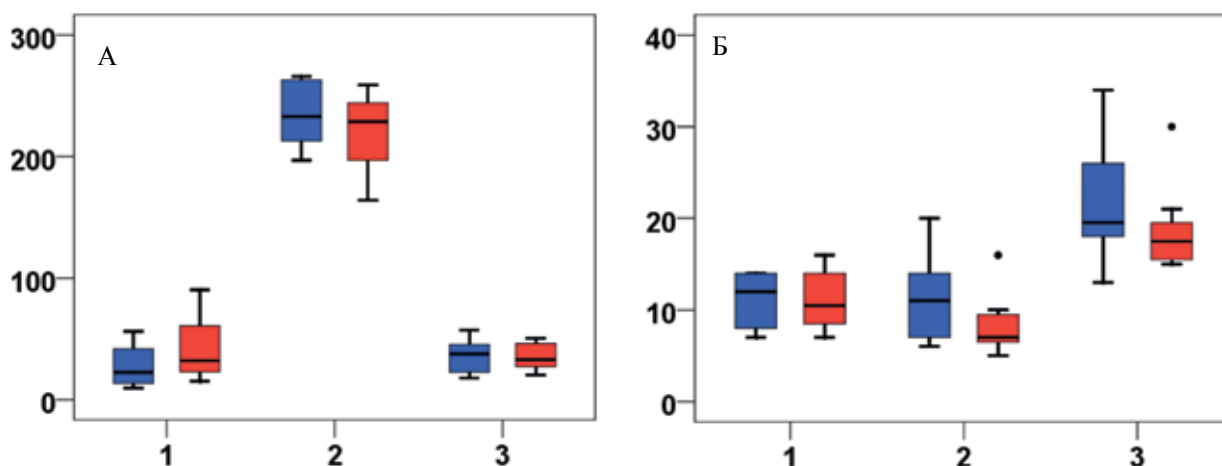


Рис. 2. Посещение животными разных зон приподнятого крестообразного лабиринта. По оси абсцисс: 1 – открытые рукава, 2 – закрытые рукава, 3 – центр лабиринта. По оси ординат: время, с (А) и количество входов (Б). Обозначения групп животных: синие столбики – физиологический раствор, красные – композиционная смесь нативного α -син и олигомеров α -син. Форма представления данных – как на рис. 1.

чены экспериментальные факты о значительно менее выраженном влиянии фибрилл α -син при хроническом интраназальном введении на поведение животных, по сравнению с олигомерами [15]. Эти факты согласуются с результатами других исследований, которые выявили наиболее отчетливые быстрые изменения двигательной активности, способности к обучению и памяти при центральном введении олигомеров α -син [10-12], в то время как фибриллы белка вызывают у животных отставленное, медленно прогрессирующее снижение мышечной силы, нарушения координации при сохранении общей двигательной активности и способности к ориентации в пространстве [17, 23, 24].

Заключение

Полученные в работе данные и результаты ранее выполненных нами исследований документируют факт, что

композиционная смесь нативной и олигомерной форм α -син оказывают при хроническом интраназальном введении менее выраженное действие на двигательную активность, кратко- и долговременную память и тревожность стареющих мышей по сравнению с поведенческими эффектами нативного α -син и его олигомеров в условиях аналогичного экспериментального протокола. Обнаруженные особенности влияния исследованной композиционной смеси на поведение стареющих животных обусловлены, на наш взгляд, тем, что интраназально вводимые конформации α -син взаимодействуют между собой *in vivo*, вызывая снижение токсичности амилоидогенных форм α -син и/или ускоряя процесс агрегации олигомеров с образованием менее токсичных фибриллярных структур α -син. Полученные результаты представляют интерес для понимания механизмов возникновения и развития синуклеинопатий, а также разработок патогенетической терапии хронических нейродегенеративных заболеваний.

Список литературы

1. Burre J. The synaptic function of α -synuclein. *J. Parkinsons Dis.* 2015; 5(4): 699-713. DOI: 10.3233/JPD-150642
2. Emamzadeh F.N. Alpha-synuclein structure, functions and interactions. *J. Res. Med. Sci.* 2016; 21: 9. DOI: 10.4103/1735-1995.181989
3. Ghosh D.S., Mehra S., Sahay S., Singh P.K., Maji S.K. Alpha-synuclein aggregation and its modulation. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017; 100: 37-54. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.021
4. Marmolino D., Foerch P., Atienzar F.A., Staelens L., Michel A., Scheller D. Alpha-synuclein dimers and oligomers are increased in overexpressing conditions in vitro and in vivo. *Mol. Cell Neurosci.* 2016; 71: 92-101. DOI:10.1016/j.mcn.2015.12.012
5. Peelaerts W., Bousset L., Van der Perren A., Moskalyuk A., Pulizzi R., Guigliano M., Van der Haute C., Melki R., Baekelandt V. α -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. *Nature.* 2015; 522: 340-344. DOI: 10.1038/nature14547
6. Peelaerts W., Baekelandt V. α -Synuclein strains and the variable pathologies of synucleinopathies. *J. Neurochem.* 2016; 139(1): 256-274. DOI: 10.1111/jnc.13595
7. Bridi J.C., Hirth F. Mechanisms of α -Synuclein induced synaptopathy in Parkinson's disease. *Front. Neurosci.* 2018; 12: 80. DOI:10.3389/fnins.2018.00080
8. Lashuel H.A., Overk C.R., Oueslati A., Masliah E. The many faces of α -Synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013; 14(1): 38-48. DOI: 10.1038/nrn.3406
9. Villar-Piqué A., Lopes da Fonseca T., Outeiro T.F. Structure, function and toxicity of alpha-synuclein the Bermuda triangle in synucleinopathies. *J. Neurochem.* 2016; 139(1): 240-255. DOI: 10.1111/jnc.13249
10. Forloni G., Artuso V., La Vitola P., Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. *Mov. Disord.* 2016; 31: 771-781. DOI: 10.1002/mds2662
11. La Vitola P., Balducci C., Cerovic M., Santamaria G., Brandi E., Grandi F., Caldinelli L., Colombo L., Morgese M. G., Trabace L., Pollegioni L., Albani D., Forloni G. Alpha-synuclein oligomers impair memory through glial cell activation and via Toll-like receptor. *Brain Behav. Immun.* 2018; 69: 591-602. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.012
12. Martin Z.S., Neugebauer V., Dindey K.T., Kaye R., Zhang W., Reese L.C., Tagliatalata G. α -Synuclein oligomers oppose long-term potentiation and impair memory through a calcineurin-dependent mechanism: relevance to human synucleinopathic diseases. *J. Neurochem.* 2012; 120: 440-452. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07576.x
13. Шерстнев В.В., Кедров А.В., Соловьева О.А., Грудень М.А., Коновалова Е.В., Калинин И.А., Прошин А.Т. Эффекты олигомеров белка α -синуклеина на нейрогенез в гиппокампе и поведение у стареющих мышей. *Нейрохимия.* 2017; 4: 281-289. DOI: 10.7868/S1027813317040094
14. Соловьева О.А., Ратмиров А.М., Калинин И.А., Грудень М.А., Шерстнев В.В. Поведенческие эффекты различных конформаций белка α -синуклеина. Материалы XIV Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Крым, Россия; 2018 г. Под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. Москва: МАКС Пресс, 2018: 430.
15. Соловьева О.А., Прошин А.Т., Калинин И.А., Грудень М.А., Шерстнев В.В. Поведение стареющих мышей при хроническом введении амилоидогенных форм α -синуклеина. Материалы XIII Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии»: Судак, Крым, Россия; 2017 г. Под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. М: МАКС Пресс, 2017: 386-387.
16. Karampetsou M., Ardah M.T., Semitekolou M., Polissidis A., Samiotaki M. 6, Kalomoiri M., Majbour N., Xanthou G., El-Agnaf O.M.A., Vekrellis K. Phosphorylated exogenous alpha-synuclein fibrils exacerbate pathology and induce neuronal dysfunction in mice. *Sci Rep.* 2017; 7: 16533. DOI:10.1038/s41598-017-15813-8
17. Luk K.C., Kehm V., Carroll J., Zhang B., O'Brien P., Trojanowski J.O., Lee V.M.J. Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science.* 2012; 338: 949-958. DOI: 10.1126/science.1227157
18. Gruden M.A., Davydova T.V., Narkevich V.B., Fomina V.G., Wang Ch., Kudrin V.S., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.E. Intranasal administration of alpha-synuclein aggregates: a Parkinson's disease model with behavioral and neurochemical correlates. *Behav. Brain Res.* 2014; 263: 158-68. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.01.017
19. Cruden M.A., Davydova T.V., Narkevich V.B., Fomina V.G., Wang Ch., Kudrin V.S., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.E. Noradrenergic and serotonergic neurochemistry arising from intranasal inoculation with α -synuclein aggregates which incite parkinsonian-like symptoms. *Behav. Brain Res.* 2015; 279: 191-201. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.11.001
20. Cremades N., Cohen S.I., Deas E., Abramov A.Y., Chen A.Y., Orte A., Sandal M., Clarke R.W., Dunne P., Aprile F.A., Bertocini C.W., Wood N.W., Knowles T.P., Dobson C.M., Klenerman D. Direct observation of the interconversion of normal and toxic forms of α -synuclein. *Cell.* 2012; 149(5): 1048-1059. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.037
21. Danzer K.M., Haasen D., Karow A.R., Moussaud S., Habeck M., Giese A., Kretschmar H., Hengerer B., Kostka M. Different species of alpha-synuclein oligomers induce calcium influx and seeding. *J. Neurosci.* 2007; 27(34): 9220-9232. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2617-07.2007
22. Roberts H.L., Brown D.R. Seeking a mechanism for the toxicity of oligomeric α -synuclein. *Biomolecules.* 2015; 5(2): 282-305. DOI: 10.3390/biom5020282
23. Masuda-Suzukake M., Nonaka T., Hosokawa M., Oikawa T., Arai T., Akiyama H., Mann D.M., Hasegawa M. Prion-like spreading of pathological α -synuclein in brain. *Brain.* 2013; 136(4): 1128-1138. DOI: 10.1093/brain/awt037
24. Karampetsou M., Ardah M.T., Semitekolou M., Polissidis A., Samiotaki M., Kalomoiri M., Majbour N., Xanthou G., G., El-Agnaf O.M.A., Vekrellis K. Phosphorylated exogenous alpha-synuclein fibrils exacerbate pathology and induce neuronal dysfunction in mice. *Sci. Rep.* 2017; 7: 16533. DOI: 10.1038/s41598-017-15813-8

References

1. Burre J. The synaptic function of α -synuclein. *J. Parkinsons Dis.* 2015; 5(4): 699-713. DOI: 10.3233/JPD-150642
2. Emamzadeh F.N. Alpha-synuclein structure, functions and interactions. *J. Res. Med. Sci.* 2016; 21: 9. DOI: 10.4103/1735-1995.181989
3. Ghosh D.S., Mehra S., Sahay S., Singh P.K., Maji S.K. Alpha-synuclein aggregation and its modulation. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017; 100: 37-54. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.021
4. Marmolino D., Foerch P., Atienzar F.A., Staelens L., Michel A., Scheller D. Alpha-synuclein dimers and oligomers are increased in overexpressing conditions in vitro and in vivo. *Mol. Cell Neurosci.* 2016; 71: 92-101. DOI:10.1016/j.mcn.2015.12.012
5. Peelaerts W., Bousset L., Van der Perren A., Moskalyuk A., Pulizzi R., Guigliano M., Van der Haute C., Melki R., Baekelandt V. α -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. *Nature.* 2015; 522: 340-344. DOI: 10.1038/nature14547
6. Peelaerts W., Baekelandt V. α -Synuclein strains and the variable pathologies of synucleinopathies. *J. Neurochem.* 2016; 139(1): 256-274. DOI: 10.1111/jnc.13595
7. Bridi J.C., Hirth F. Mechanisms of α -Synuclein induced synaptopathy in Parkinson's Disease. *Front. Neurosci.* 2018; 12: 80. DOI:10.3389/fnins.2018.00080
8. Lashuel H.A., Overk C.R., Oueslati A., Masliah E. The many faces of α -Synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013; 14(1): 38-48. DOI: 10.1038/nrn.3406
9. Villar-Piqué A., Lopes da Fonseca T., Outeiro T.F. Structure, function and toxicity of alpha-synuclein the Bermuda triangle in synucleinopathies. *J. Neurochem.* 2016; 139(1): 240-255. DOI: 10.1111/jnc.13249
10. Forloni G., Artuso V., La Vitola P., Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. *Mov. Disord.* 2016; 31: 771-781. DOI: 10.1002/mds2662
11. La Vitola P., Balducci C., Cerovic M., Santamaria G., Brandi E., Grandi F., Caldinelli L., Colombo L., Morgese M. G., Trabace L., Pollegioni L., Albani D., Forloni G. Alpha-synuclein oligomers impair memory through glial cell activation and via Toll-like receptor. *Brain Behav. Immun.* 2018; 69: 591-602. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.012
12. Martin Z.S., Neugebauer V., Dindey K.T., Kaye R., Zhang W., Reese L.C., Tagliatalata G. α -Synuclein oligomers oppose long-

- term potentiation and impair memory through a calcineurin-dependent mechanism: relevance to human synucleinopathies. *J. Neurochem.* 2012; 120: 440-452. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07576.x
13. Sherstnev V.V., Kedrov A.V., Solov'eva O.A., Gruden M.A., Konovalova E.V., Kalinin I.A., Proshin A.T. [Effects of oligomers of α -synuclein protein on hippocampal neurogenesis and behavior in aging mice]. *Neirohimiya [Neurochem. J.]* 2017; 4: 281-289. DOI: 10.7868/S1027813317040094 (in Russian)
 14. Solovieva O.A., Ratmirov A.M., Kalinin I.A., Gruden M.A., Sherstnev V.V. [*The behavioral effects of various alpha synuclein protein conformations*]. Proceedings of the XIV International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology». Sudak, Crimea, Russia. 2018, ed. Loseva E.V., Kryuchkova A.V., Loginova N.A. Moscow: MAKS Pres, 2018: 430. (in Russian and English)
 15. Solovieva O. A., Proshin A.T., Kalinin I.A., Gruden M.A., Sherstnev V.V. [*Behavior of aging mice with chronic administration of amyloidogenic forms of alpha-synuclein*]. Proceedings of the XIII International Interdisciplinary Congress «Neuroscience for Medicine and Psychology»: Sudak, Crimea, Russia. 2017, ed. Loseva E.V., Kryuchkova A.V., Loginova N.A. Moscow: MAKS Pres, 2017: 386-87. (in Russian and English)
 16. Karampetsou M., Ardah M.T., Semitekolou M., Polissidis A., Samiotaki M. G., Kalomoiri M., Majbour N., Xanthou G., El-Agnaf O.M.A., Vekrellis K. Phosphorylated exogenous alpha-synuclein fibrils exacerbate pathology and induce neuronal dysfunction in mice. *Sci Rep.* 2017; 7: 16533. DOI:10.1038/s41598-017-15813-8
 17. Luk K.C., Kehm V., Carroll J., Zhang B., O'Brien P., Trojanowski J.O., Lee V.M.J. Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science.* 2012; 338: 949-958. DOI: 10.1126/science.1227157
 18. Gruden M.A., Davydova T.V., Narkevich V.B., Fomina V.G., Wang Ch., Kudrin V.S., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.E. Intranasal administration of alpha-synuclein aggregates: a Parkinson's disease model with behavioral and neurochemical correlates. *Behav. Brain Res.* 2014; 263: 158-68. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.01.017
 19. Cruden M.A., Davydova T.V., Narkevich V.B., Fomina V.G., Wang Ch., Kudrin V.S., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.E. Noradrenergic and serotonergic neurochemistry arising from intranasal inoculation with α -synuclein aggregates which incite parkinsonian-like symptoms. *Behav. Brain Res.* 2015; 279: 191-201. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.11.001
 20. Cremades N., Cohen S.I., Deas E., Abramov A.Y., Chen A.Y., Orte A., Sandal M., Clarke R.W., Dunne P., Aprile F.A., Bertoncini C.W., Wood N.W., Knowles T.P., Dobson C.M., Klenerman D. Direct observation of the interconversion of normal and toxic forms of α -synuclein. *Cell.* 2012; 149(5): 1048-1059. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.037
 21. Danzer K.M., Haasen D., Karow A.R., Moussaud S., Habeck M., Giese A., Kretzschmar H., Hengerer B., Kostka M. Different species of alpha-synuclein oligomers induce calcium influx and seeding. *J. Neurosci.* 2007; 27(34): 9220-9232. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2617-07.2007
 22. Roberts H.L., Brown D.R. Seeking a mechanism for the toxicity of oligomeric α -synuclein. *Biomolecules.* 2015; 5(2): 282-305. DOI: 10.3390/biom5020282.
 23. Masuda-Suzukake M., Nonaka T., Hosokawa M., Oikawa T., Arai T., Akiyama H., Mann D.M., Hasegawa M. Prion-like spreading of pathological α -synuclein in brain. *Brain.* 2013; 136(4): 1128-1138. DOI: 10.1093/brain/awt037
 24. Karampetsou M., Ardah M.T., Semitekolou M., Polissidis A., Samiotaki M., Kalomoiri M., Majbour N., Xanthou G., G., El-Agnaf O.M.A., Vekrellis K. Phosphorylated exogenous alpha-synuclein fibrils exacerbate pathology and induce neuronal dysfunction in mice. *Sci. Rep.* 2017; 7: 16533. DOI: 10.1038/s41598-017-15813-8

Сведения об авторах:

Соловьева Ольга Александровна – научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина»

Ратмиров Александр Максимович – младший научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина»

Калинин Илья Александрович – лаборант лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина»

Грудень Марина Алексеевна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К.Анохина»

Шерстнев Владимир Вячеславович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории функциональной нейрхимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина»