

УДК 616-092

# Морфометрический анализ дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга мышей с генетическим нокаутом альфа-синуклеина при МФТП-индуцированном паркинсонизме

Голоборщева В.В.<sup>1</sup>, Воронина Н.А.<sup>1</sup>, Овчинников Р.К.<sup>2,3</sup>, Кучеряну В.Г.<sup>1</sup>, Морозов С.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук.

142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, д. 1

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

**Целью** данной работы являлась оценка выживаемости популяции зрелых дофаминергических (ДА-ергических) нейронов чёрной субстанции двух альфа-синуклеин нокаутных линий мышей *Abel-KO* и *ΔFlox-KO*, а также бессинуклеиновых животных *abg-KO* в условиях МФТП-токсического моделирования паркинсонического синдрома.

**Методы исследования:** Водный раствор нейротоксина МФТП вводили 3-месячным мышам внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг ежедневно в течение 5 дней по субхроническому протоколу. Через 21 день после последней инъекции МФТП у животных извлекали головной мозг, фиксировали в холодном растворе Карнуа и парафинизировали для последующего приготовления гистологических препаратов на ротационном микротоме Leica RM2265 (Leica Biosystems, Германия). Иммуногистохимическое окрашивание проводили антителами против тирозингидроксилазы (моноклональные антитела мыши, Sigma, разведение 1:2000). Сравнительный морфометрический анализ популяции ДА-ергических нейронов чёрной субстанции выполнен с учётом поправки Аберкромби.

**Результаты:** Установлено, что в условиях дефицита альфа-синуклеина мыши устойчивы к потере ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС после введения МФТП. При генетической делеции всех трёх синуклеинов чувствительность ДА-ергических нейронов ЧС к токсическому действию МФТП не отличается от таковой у животных с немодифицированным геномом.

**Заключение.** На основании проведённого морфометрического анализа предполагается, что особенности чувствительности к нейротоксину МФТП у альфа-синуклеин нокаутных линий мышей обусловлены повышением функциональной активности (замещением) бета-синуклеина, оптимизирующего захват ДА синаптическими везикулами.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона; нейродегенерация; генетически модифицированные мыши; синуклеины; МФТП; дофаминергические нейроны.

**Для цитирования:** Голоборщева В.В., Воронина Н.А., Овчинников Р.К., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г. Морфометрический анализ дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга мышей с генетическим нокаутом альфа-синуклеина при МФТП-индуцированном паркинсонизме. *Патогенез* 2021; 19(3): 32-37.

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.03.32-37

**Для корреспонденции:** Голоборщева Валерия Владимировна; **e-mail:** educadobelleza@gmail.com

**Финансирование** не имеет спонсорской поддержки.

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

**Поступила:** 07.07.2021.

## Morphometric analysis of dopaminergic neurons (substantia nigra) in the brain of MPTP-treated alpha-synuclein knockout mice

Goloborshcheva V.V.<sup>1</sup>, Voronina N.A.<sup>1</sup>, Ovchinnikov R.K.<sup>2,3</sup>, Kucheryanu V.G.<sup>1</sup>, Morozov S.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Physiologically Active Substances of the Russian Academy of Sciences Severny Proezd. 1, Chernogolovka of Moscow Region 142432, Russian Federation

<sup>3</sup> N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianova Str. 1, Moscow 117997, Russian Federation

**The aim** of this study was to assess survival of mature dopaminergic (DAergic) neuronal population in the substantia nigra pars compacta (SNpc) of two alpha-synuclein knockout mice strains (*Abel-KO* and *ΔFlox-KO*) and of non-synuclein animals (*abg-KO*) in MPTP-induced parkinsonism.

**Material and methods:** MPTP water solution was administered to 3-month-old mice intraperitoneally (30 mg/kg daily for 5 days) according to a subchronic protocol. On the 21st day after the last MPTP injection, the brain was excised, fixed in cold Carnoy's solution and paraffined for the subsequent preparation of histological samples on a Leica RM2265 rotary microtome (Leica Biosystems, Germany). Immunohistochemical staining was performed with antibodies against tyrosine hydroxylase

(mouse monoclonal antibodies, Sigma, dilution 1:2000). A comparative morphometric analysis of substantia nigra dopaminergic neurons was performed using the Abercrombie correction.

**Results:** MPTP-treated alpha-synuclein deficient mice were resistant to the loss of DAergic neurons in the SNpc. Genetic deletion of all three synucleins restored the sensitivity of SNpc DAergic neurons to the MPTP toxicity, which did not differ from the sensitivity of wild type animals.

**Conclusion:** Based on the morphometric analysis, it was assumed that the specific features of MPTP sensitivity in alpha-synuclein knockout mice are due to an increased functional activity (substitution) of beta-synuclein, which optimizes the capture of DA by synaptic vesicles.

**Key words:** Parkinson's disease; neurodegeneration; genetically modified mice; synucleins; MPTP; dopaminergic neurons.

**For citation:** Goloborshcheva V.V., Voronina N.A., Ovchinnikov R.K., Kucheryanu V.G., Morozov S.G. [Morphometric analysis of dopaminergic neurons (substantia nigra) in the brain of MPTP-treated alpha-synuclein knockout mice]. *Patogenez [Pathogenesis]* 2021; 19(3): 32-37. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.03.32-37

**For correspondence:** Valeriya V. Goloborshcheva; **e-mail:** educadobelleza@gmail.com

**Funding.** The study had no sponsorship.

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

**Accepted:** 07.07.2021.

## Введение

Избирательное поражение дофаминергических нейронов компактной части чёрной субстанции (ЧС), а также истощение нейромедиатора дофамина (ДА) в стриатуме головного мозга – это ключевые факторы патогенеза болезни Паркинсона (БП) [1-3]. Установлено, что белок альфа-синуклеин, локализованный преимущественно в пресинаптических окончаниях, вовлечен в регуляцию оборота ДА в синапсах и принимает непосредственное участие в оптимизации процессов нейротрансмиссии в ДА-ергических нейронах [4]. Нарушения его структуры, экспрессии и внутринейронной локализации приводят к патогенной агрегации и формированию характерных патогистологических включений – телец Леви [5]. Вместе с этим получены многочисленные экспериментальные доказательства того, что нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), избирательно поражающий нигростриатные ДА-ергические нейроны, вызывает повышение экспрессии и посттрансляционные модификации эндогенного альфа-синуклеина, а в некоторых случаях, ведет к его агрегации в цитоплазме нейронов с образованием патогистологических включений [6, 7]. Однако до сих пор не установлено, вовлечён ли эндогенный альфа-синуклеин в механизмы токсического действия МФТП на ДА-ергические нейроны ЧС головного мозга. В ряде исследований, проведенных на независимых линиях нокаутных по гену альфа-синуклеина мышей, было показано, что их ДА-ергические нейроны ЧС более устойчивы к нейротоксическому эффекту МФТП [7–11]. С другой стороны, у линии мышей с большой спонтанной делецией части хромосомы (размер делеции – 2 сМ), захватывающей и локус гена альфа-синуклеина, эти нейроны оказались столь же чувствительными к МФТП, как и нейроны мышей с немодифицированным геномом [7]. Таким образом, роль альфа-синуклеина в механизме токсического действия МФТП остается окончательно не установленной.

Поскольку использование генетически модифицированных животных для исследования роли нарушения функции альфа-синуклеина в патологии нигростриатной системы остается наиболее продуктивным методологическим подходом, была создана новая линия с конститутивным нокаутом гена альфа-синуклеина ( $\Delta$ Flox-KO) [12], а также на её основе линия бессинуклеинового нокаута (abg-KO), воспроизводящая делецию всех высокомолекулярных членов семейства синуклеинов. Использование в исследовании новой нокаутной линии, в которой инактивация гена альфа-синуклеина достигнута минимальными модификациями локуса с удалением всех посторонних последовательностей, позволило исследовать непосредственно влияние дефицита альфа-синуклеина на выживаемость ДА-ергических нейронов ЧС в условиях МФТП-индуцированного паркинсонизма.

## Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на мышах-самцах двух альфа-синуклеин нокаутных линий Abel-KO [13] и  $\Delta$ Flox-KO [12]. В качестве контроля использовали линию C57BL/6J с немодифицированным геномом. Бессинуклеиновые пометы мышей (abg-KO) были получены путем многоэтапного скрещивания нокаутных животных линий  $\Delta$ Flox-KO,  $\beta$ -KO [14] и  $\gamma$ -KO [15]. Все животные содержались в конвенциональной зоне SPF-вивария барьерного типа в условиях искусственного регулирования светового дня (12 часов находились при освещении, 12 часов – в отсутствии) при температуре +20–25°C, влажности 30–70% и в свободном доступе к корму и воде.

В возрасте 12 недель экспериментальным животным внутрибрюшинно вводили водный раствор МФТП по субхроническому протоколу (30 мг/кг в сутки в течение 5 дней). Контрольным группам животных вводили физиологический раствор (изотонический раствор NaCl 0,9%). Вследствие потенциальных потерь животных в результате неспецифической острой токсичности

МФТП, размер экспериментальных групп был заведомо больше относительно контрольных. Через 21 день после последней инъекции МФТП животных подвергали декапитации. Мозг 4-месячных мышей-самцов фиксировали в холодном растворе Карнуа в течение ночи, парафинизировали, готовили гистологические срезы толщиной 8 мкм на ротационном микротоме Leica RM2265 (Leica Biosystems, Германия). Полученные парафиновые образцы выкладывали в водяную баню с дистиллированной водой, подогретой до 38°C, после чего их монтировали на предметные стекла с полилизинным покрытием (Thermo Scientific, Великобритания), а затем проводили иммуногистохимическое окрашивание антителами против тирозингидроксилазы (ТГ, моноклональные антитела мыши, Sigma, разведение 1:2000). Вы считывали общее значение числа ДА-ергических нейронов во всем объеме анализируемой анатомической структуры (**рис. 1**).

С целью нивелирования ошибки и получения близкого к истине числа популяции клеток в ЧС подсчет нейронов выполняли с учетом поправки Аберкромби [16]. Работы с животными осуществляли в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» от 01.04.2016 г. № 199н.

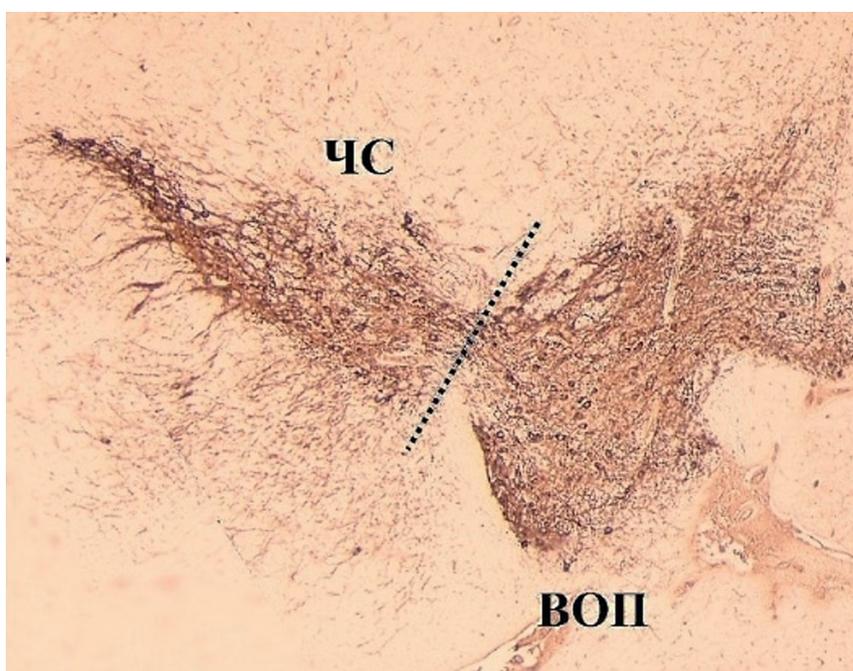
Статистический анализ результатов проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., США): в случае нормального распределения для множественных сравнений использовали однофакторный дисперсионный анализа ANOVA в сочетании с критерием Фишера (PLSD post-hoc), для попарных сравнений – t-критерий Стьюдена;

в случае отсутствия нормальности распределения выборок для попарных сравнений использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Нормальность распределения массивов данных была оценена в тесте Колмогорова–Смирнова.

## Результаты исследования и обсуждение

Проведённый морфометрический анализ показал, что общее количество ДА-ергических нейронов компактной ЧС у 4-месячных мышей дикого типа, получавших физиологический раствор, было на 20–22% выше по сравнению с гомозиготными альфа-синуклеин нокаутными мышами ΔFlox-КО и Abel-КО ( $F_{(2, 43)} = 4,4721$ ;  $p = 0,0172$ ; значимость межгрупповых различий по критерию Фишера  $p = 0,0097$  и  $p = 0,0196$  соответственно), что согласуется с результатами, полученными нами ранее [17]. После введения МФТП произошло значительное истощение иммунореактивных ТГ-позитивных нейронов у мышей дикого типа C57BL/6J (**рис. 2**). Примечательно, что подобный эффект не наблюдался у мышей с генетическим нокаутом альфа-синуклеина: значимых различий в группах нокаутных животных обеих линий не установлено.

Таким образом, мы обнаружили, что мыши в условиях дефицита альфа-синуклеина устойчивы к потере ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС после введения МФТП. Эта резистентность не является следствием изменённого поглощения нейротоксина МФТП, так как ранее мы не обнаружили существенных различий в уровнях ДА и его метаболитов в стриатуме, кото-



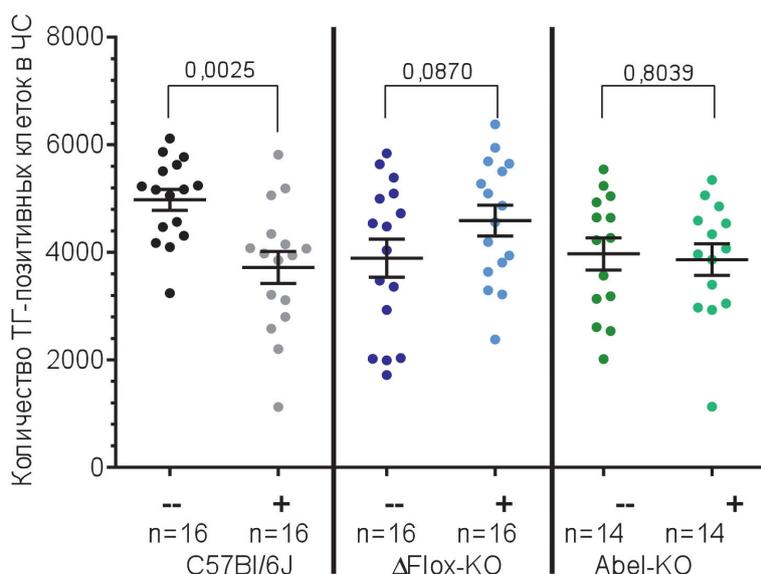
**Рис. 1.** Обозначение зон ТГ-позитивно окрашенных клеток среднего мозга (моноклональные антитела против ТГ в разведении 1:2000) для морфометрического анализа. Увеличение  $\times 10$ . ЧС – чёрная субстанция; ВОП – вентральная область покрышки.

рые достоверно снижались во всех наблюдаемых группах после введения МФТП [18].

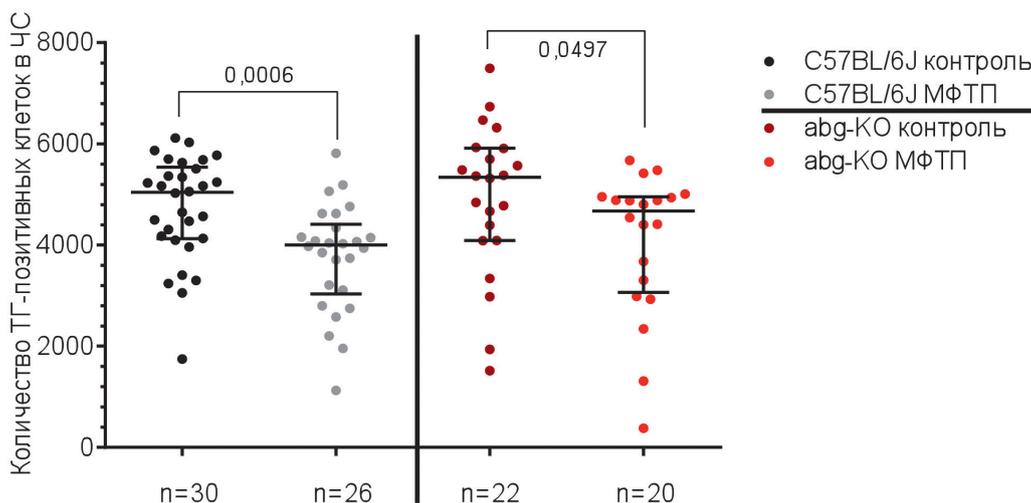
Для выяснения влияния других высоко гомологичных членов семейства синуклеинов на выживаемость ДА-ергических нейронов ЧС в условиях МФТП-нейротоксичности был проведён морфометрический анализ числа ТГ-позитивно окрашенных клеток бессинуклеиновых мышей линии abg-КО. Показано, что в группах мышей, получавших физраствор, популяция ДА-ергических нейронов ЧС у животных этой линии не отличалась от таковой у контрольных животных с интактным геномом ( $U = 280,0$ ;  $p = 0,3609$ ). Значимое снижение числа ДА-ергических нейронов в компактной части

ЧС в группах мышей, получавших МФТП, было сходным у мышей с тройной делецией всех белков-синуклеинов и у контрольных животных с немодифицированным геномом (рис. 3). Данные результаты свидетельствуют о том, что нейротоксин МФТП воспроизводит аналогичный эффект гибели ДА-ергических нейронов ЧС на бессинуклеиновых мышах линии abg-КО.

Наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что наличие в геноме всех членов семейства синуклеинов не является необходимым для МФТП-индуцированной гибели ДА-ергических нейронов. Однако недавно было установлено, что  $\beta$ -синуклеин способен активизировать VMAT-2-зависимый захват ДА



**Рис. 2.** Популяция ДА-ергических нейронов ЧС после введения физраствора (--) и МФТП (+) у 4-месячных мышей двух альфа-синуклеин нокаутных линий ( $\Delta$ Flox-KO и Abel-KO), и у животных с немодифицированным геномом линии C57BL/6J. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ( $M \pm SEM$ ) числа стереологически подсчитанных нейронов в компактной части ЧС.



**Рис. 3.** Популяция ДА-ергических нейронов ЧС у бессинуклеиновых и контрольных мышей. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me [25%; 75%]) числа стереологически подсчитанных нейронов в компактной части ЧС животных каждого генотипа (abg-КО и C57BL/6J).

и структурно подобных ему молекул (например, конечный метаболит МФТП – 1-метил-4-фенил пиридиний (МФП<sup>+</sup>)) синаптическими везикулами для дальнейшей их секвестрации [19]. Таким образом, вероятно, повышенная активность β-синуклеина в синаптических везикулах, а не дефицит других синуклеинов как таковых, объясняет пониженную чувствительность ДА-ергических нейронов ЧС к токсическому эффекту МФТП у альфа-синуклеин нокаутных животных.

### Заключение

На основании проведённого морфометрического анализа предполагается, что особенности чувствительности к нейротоксину МФТП у альфа-синуклеин нокаутных линий мышей обусловлены повышением функциональной активности (замещением) бета-синуклеина, оптимизирующего захват ДА синаптическими везикулами. Это подтверждается данными по МФТП-токсичности на бессинуклеиновых животных с инактивированием всех трёх генов синуклеинов. В сравнении с одиночными нокаутами по альфа- или гамма-синуклеину, у животных с тройным нокаутом чувствительность ДА-ергических нейронов к токсическому воздействию МФТП выше или почти не отличается от чувствительности у контрольных животных дикого типа, что согласуется с другими исследованиями [20].

Полученные нами результаты указывают на важную роль альфа-синуклеина и других членов семейства синуклеинов в процессах выживания ДА-ергических нейронов, что в сочетании с уже имеющимися в настоящее время данными позволяет рассматривать белки этого семейства в качестве перспективных молекулярных мишеней для разработки патогенетической терапии БП, направленной на оптимизацию функции синапсов ДА-ергических нейронов.

### Список литературы

1. Воронина Н.А., Кучеряну В.Г., Ветрилэ Л.А., Голоборщева В.В., Капица И.Г., Воронина Т.А., Морозов С.Г. Изучение влияния гимантана на уровень провоспалительных цитокинов в nigrocaudate complex мозга мышей при экспериментальном паркинсонизме. *Патогенез*. 2021; 19(2): 45-49. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.45-49
2. Shao Q.H., Chen Y., Li F.F., Wang S., Zhang X.L., Yuan Y.H., et al. TLR4 deficiency has a protective effect in the MPTP/probenecid mouse model of Parkinson's disease. *Acta Pharmacol. Sin.* 2019; 40(12): 1503-1512. DOI: 10.1038/s41401-019-0280-2
3. Голоборщева В.В., Воронина Н.А., Овчинников Р.К., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г. Моделирование МФТП-индуцированного паркинсонизма на генетически модифицированных мышах. *Патогенез*. 2021; 19(2): 12-23. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.12-23
4. Butler B., Sambo D., Khoshbouei H. Alpha-synuclein modulates dopamine neurotransmission. *J. Chem. Neuroanat.* 2017; 83-84: 41-49. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2016.06.001
5. Rocha Cabrero F., Morrison E.H. *Lewy Bodies*. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
6. Gibrat C., Saint-Pierre M., Bousquet M., Levesque D., Rouillard C., Cicchetti F. Differences between subacute and chronic MPTP mice models: investigation of dopaminergic neuronal degeneration and alpha-synuclein inclusions. *J Neurochem.* 2009; 109(5): 1469-1482. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06072.x
7. Fornai F., Schluter O.M., Lenzi P., Gesi M., Ruffoli R., Ferrucci M., Lazzeri G., Busceti C.L., Pontarelli F., Battaglia G., Pellegrini A., Nicoletti F., Ruggieri S., Paparelli A., Südhof T.C. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005; 102(9): 3413-3418. DOI: 10.1073/pnas.0409713102
8. Dauer W., Kholodilov N., Vila M., Trillat A.C., Goodchild R., Larsen K.E., Staal R., Tieu K., Schmitz Y., Yuan C.A., Rocha M., Jackson-Lewis V., Hersch S., Sulzer D., Przedborski S., Burke R., Hen R. Resistance of alpha-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002; 99(22): 14524-14529. DOI: 10.1073/pnas.172514599
9. Drolet R.E., Behrouz B., Lookingland K.J., Goudreau J.L. Mice lacking alpha-synuclein have an attenuated loss of striatal dopamine following prolonged chronic MPTP administration. *Neurotoxicology*. 2004; 25(5): 761-769. DOI: 10.1016/j.neuro.2004.05.002
10. Robertson D.C., Schmidt O., Ninkina N., Jones P.A., Sharkey J., Buchman V.L. Developmental loss and resistance to MPTP toxicity of dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta of gamma-synuclein, alpha-synuclein and double alpha/gamma-synuclein null mutant mice. *J. Neurochem.* 2004; 89(5): 1126-1136. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02378.x
11. Klivenyi P., Siwek D., Gardian G., Yang L., Starkov A., Cleren C., Ferrante R.J., Kowall N.W., Abeliovich A., Beal M.F. Mice lacking alpha-synuclein are resistant to mitochondrial toxins. *Neurobiol. Dis.* 2006; 21(3): 541-548. DOI: 10.1016/j.nbd.2005.08.018
12. Ninkina N., Connor-Robson N., Ustyugov A.A., Tarasova T.V., Shelkovich T.A., Buchman V.L. A novel resource for studying function and dysfunction of alpha-synuclein: mouse lines for modulation of endogenous Snca gene expression. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16615. DOI: 10.1038/srep16615
13. Abeliovich A., Schmitz Y., Farinas I., Choi-Lundberg D., Ho W.H., Castillo P.E., Shinsky N., Verdugo J.M., Armanini M., Ryan A., Hynes M., Phillips H., Sulzer D., Rosenthal A. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*. 2000; 25(1): 239-252. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80886-7
14. Chandra S., Fornai F., Kwon H.B., Yazdani U., Atasoy D., Liu X., Hammer R.E., Battaglia G., German D.C., Castillo P.E., Südhof T.C. Double-knockout mice for alpha- and beta-synucleins: effect on synaptic functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101(41): 14966-14971. DOI: 10.1073/pnas.0406283101
15. Ninkina N., Papachroni K., Robertson D.C., Schmidt O., Delaney L., O'Neill F., Court F., Rosenthal A., Fleetwood-Walker S.M., Davies A.M., Buchman V.L. Neurons expressing the highest levels of gamma-synuclein are unaffected by targeted inactivation of the gene. *Mol. Cell. Biol.* 2003; 23(22): 8233-8245. DOI: 10.1128/MCB.23.22.8233-8245.2003
16. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* 1946; 94: 239-247. DOI: 10.1002/ar.1090940210
17. Goloborshcheva V.V., Chaprov K.D., Teterina E.V., Ovchinnikov R., Buchman V.L. Reduced complement of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of mice with a constitutive "low footprint" genetic knockout of alpha-synuclein. *Mol. Brain*. 2020; 13(1): 75. DOI: 10.1186/s13041-020-00613-5
18. Чапров К.Д., Тетерина Е.В., Роман А.Ю., Иванова Т.А., Голоборщева В.В., Кучеряну В.Г., Морозов С.Г., Лыскова Е.А., Лыткина О.А., Королева И.В., Попова Н.Я., Антохин А.И., Овчинников Р.К., Кухарский М.С. Сравнительный анализ нейротоксического эффекта МФТП на двух линиях мышей с конститутивным нокаутом гена альфа-синуклеина. *Молекулярная биология*. 2021; 55(1): 152-163. DOI: 10.31857/S0026898421010031
19. Ninkina N., Millership S.J., Peters O.M., Connor-Robson N., Chaprov K., Montoya A., Kramer H., Withers D.J., Buchman V. β-synuclein promotes synaptic vesicle dopamine uptake and rescues dopaminergic neurons from MPTP-induced death. *PREPRINT (Version 1)*. Режим доступа: Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-61790/v1] Дата обращения: 07.05.2021
20. Anwar S., Peters O., Millership S., Ninkina N., Doig N., Connor-Robson N., Threlfell S., Koener G., Deacon R.M., Bannerman D.M., Bolam J.P., Chandra S.S., Cragg S.J., Wade-Martins R., Buchman V.L. Functional alterations to the nigrostriatal system in mice lacking all three members of the synuclein family. *J. Neurosci.* 2011; 31(20): 7264-7274. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6194-10.2011

## References

- Voronina N.A., Kucheryanu V.G., Vetrile L.A., Goloborshcheva V.V., Kapitsa I.G., Voronina T.A., Morozov S.G. [The effect of hemantane on the level of pro-inflammatory cytokines in the nigrocaudate complex of the brain of mice with experimental parkinsonism]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(2): 45-49 DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.45-49 (in Russian)
- Shao Q.H., Chen Y., Li F.F., Wang S., Zhang X.L., Yuan Y.H., et al. TLR4 deficiency has a protective effect in the MPTP/probenecid mouse model of Parkinson's disease. *Acta Pharmacol. Sin.* 2019; 40(12): 1503-1512. DOI: 10.1038/s41401-019-0280-2
- Goloborshcheva V.V., Voronina N.A., Ovchinnikov R.K., Kucheryanu V.G., Morozov S.G. [MPTP-induced Parkinsonism in genetically modified mice]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(2): 12-23. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.12-23 (in Russian)
- Butler B., Sambo D., Khoshbouei H. Alpha-synuclein modulates dopamine neurotransmission. *J. Chem. Neuroanat.* 2017; 83-84: 41-49. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2016.06.001
- Rocha Cabrero F., Morrison E.H. *Lewy Bodies*. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Gibrat C., Saint-Pierre M., Bousquet M., Levesque D., Rouillard C., Cicchetti F. Differences between subacute and chronic MPTP mice models: investigation of dopaminergic neuronal degeneration and alpha-synuclein inclusions. *J. Neurochem.* 2009; 109(5): 1469-1482. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06072.x
- Fornai F., Schluter O.M., Lenzi P., Gesi M., Ruffoli R., Ferrucci M., Lazzeri G., Busceti C.L., Pontarelli F., Battaglia G., Pellegrini A., Nicoletti F., Ruggieri S., Paparelli A., Südhof T.C. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005; 102(9): 3413-3418. DOI: 10.1073/pnas.0409713102
- Dauer W., Kholodilov N., Vila M., Trillat A.C., Goodchild R., Larsen K.E., Staal R., Tieu K., Schmitz Y., Yuan C.A., Rocha M., Jackson-Lewis V., Hersch S., Sulzer D., Przedborski S., Burke R., Hen R. Resistance of alpha-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002; 99(22): 14524-14529. DOI: 10.1073/pnas.172514599
- Drolet R.E., Behrouz B., Lookingland K.J., Goudreau J.L. Mice lacking alpha-synuclein have an attenuated loss of striatal dopamine following prolonged chronic MPTP administration. *Neurotoxicology*. 2004; 25(5): 761-769. DOI: 10.1016/j.neuro.2004.05.002
- Robertson D.C., Schmidt O., Ninkina N., Jones P.A., Sharkey J., Buchman V.L. Developmental loss and resistance to MPTP toxicity of dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta of gamma-synuclein, alpha-synuclein and double alpha/gamma-synuclein null mutant mice. *J. Neurochem.* 2004; 89(5): 1126-1136. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02378.x
- Klivenyi P., Siwek D., Gardian G., Yang L., Starkov A., Cleren C., Ferrante R.J., Kowall N.W., Abeliovich A., Beal M.F. Mice lacking alpha-synuclein are resistant to mitochondrial toxins. *Neurobiol. Dis.* 2006; 21(3): 541-548. DOI: 10.1016/j.nbd.2005.08.018
- Ninkina N., Connor-Robson N., Ustyugov A.A., Tarasova T.V., Shelkovnikova T.A., Buchman V.L. A novel resource for studying function and dysfunction of alpha-synuclein: mouse lines for modulation of endogenous Snca gene expression. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16615. DOI: 10.1038/srep16615
- Abeliovich A., Schmitz Y., Farinas I., Choi-Lundberg D., Ho W.H., Castillo P.E., Shinsky N., Verdugo J.M., Armanini M., Ryan A., Hynes M., Phillips H., Sulzer D., Rosenthal A. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*. 2000; 25(1): 239-252. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)80886-7
- Chandra S., Fornai F., Kwon H.B., Yazdani U., Atasoy D., Liu X., Hammer R.E., Battaglia G., German D.C., Castillo P.E., Südhof T.C. Double-knockout mice for alpha- and beta-synucleins: effect on synaptic functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101(41): 14966-14971. DOI: 10.1073/pnas.0406283101
- Ninkina N., Papachroni K., Robertson D.C., Schmidt O., Delaney L., O'Neill F., Court F., Rosenthal A., Fleetwood-Walker S.M., Davies A.M., Buchman V.L. Neurons expressing the highest levels of gamma-synuclein are unaffected by targeted inactivation of the gene. *Mol. Cell. Biol.* 2003; 23(22): 8233-8245. DOI: 10.1128/MCB.23.22.8233-8245.2003
- Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* 1946; 94: 239-247. DOI: 10.1002/ar.1090940210
- Goloborshcheva V.V., Chaprov K.D., Teterina E.V., Ovchinnikov R., Buchman V.L. Reduced complement of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of mice with a constitutive "low footprint" genetic knockout of alpha-synuclein. *Mol. Brain.* 2020; 13(1): 75. DOI: 10.1186/s13041-020-00613-5
- Chaprov K.D., Teterina E.V., Roman A.Y., Ivanova T.A., Goloborshcheva V.V., Kucheryanu V.G., Morozov S.G., Lysikova E.A., Lytkina O.A., Koroleva I.V., Popova N.Ya., Antokhin A.I., Ovchinnikov R.K., Kukharskiy M.S. [Comparative Analysis of MPTP Neurotoxicity in Mice with a Constitutive Knockout of the alpha-Synuclein Gene]. *Mol. Biol. (Mosk)*. 2021; 55(1): 152-163. DOI: 10.31857/S0026898421010031
- Ninkina N., Millership S.J., Peters O.M., Connor-Robson N., Chaprov K., Montoya A., Kramer H., Withers D.J., Buchman V. beta-synuclein promotes synaptic vesicle dopamine uptake and rescues dopaminergic neurons from MPTP-induced death. *PREPRINT (Version 1)*. Режим доступа: Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-61790/v1] Дата обращения: 07.05.2021
- Anwar S., Peters O., Millership S., Ninkina N., Doig N., Connor-Robson N., Threlfell S., Kooner G., Deacon R.M., Bannerman D.M., Bolam J.P., Chandra S.S., Cragg S.J., Wade-Martins R., Buchman V.L. Functional alterations to the nigrostriatal system in mice lacking all three members of the synuclein family. *J. Neurosci.* 2011; 31(20): 7264-7274. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6194-10.2011

### Сведения об авторах:

**Голоборщева Валерия Владимировна** — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0003-2540-4303>

**Воронина Наталья Александровна** — аспирант лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-1764-6444>

**Овчинников Руслан Константинович** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук, доцент кафедры биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Кучеряну Валерия Григорьевич** — доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-5071-3581>

**Морозов Сергей Георгиевич** — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>