

УДК 616-092

## **Изменения когнитивных процессов и транскрипционной активности генов *S100A6* и *ASCL1* в различные сроки после хронического введения амилоидогенных олигомеров альфа-синуклеина**

**Грудень М.А., Инокентьева В.И., Соловьева О.А., Михайлова Н.П., Ратмиров А.М., Сторожева З.И.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Образование нейротоксических амилоидогенных форм белка альфа-синуклеина (*α*-син) является ключевым молекулярным звеном патогенеза ряда нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона (БП). Есть основания полагать, что развитие когнитивных нарушений на субклиническом уровне предшествует манифестации моторных симптомов БП, причем имеются весомые свидетельства сопряженности этих нарушений с дезорганизацией механизмов регуляции нейрогенеза в зрелом мозге. Однако сведения о долгосрочном влиянии амилоидогенных форм *α*-син на динамику когнитивной активности и молекулярные процессы в трансляционных моделях синуклеинопатий практически отсутствуют.

**Цель работы** – изучение динамики эффектов интраназального введения олигомеров *α*-син молодым половозрелым животным в отношении исследовательской активности и эпизодической памяти, а также экспрессии генов *S100A6* и *ASCL1*, регулирующих различные стадии нейрогенеза, в гиппокампе, фронтальной коре и мозжечке с одно-временной оценкой структурно-функциональных связей между поведенческими и молекулярными показателями.

**Материалы и методы.** Самцам мышей C57BL/6J 2,5-месячного возраста в течение 14 дней интраназально вводили раствор полученных *in vitro* олигомеров рекомбинантного *α*-син либо физиологический раствор с последующим тестированием поведения в модели «Распознавание нового объекта» в возрасте 3, 6 и 12 месяцев. В каждой из возрастных точек определяли экспрессию генов *S100A6* и *ASCL1* в гиппокампе, фронтальной коре и мозжечке методом полимеразной цепной реакции.

**Результаты исследования.** В возрасте 3 месяцев у мышей, получавших олигомеры *α*-син, обнаружено снижение относительно контроля скорости передвижения в условиях повышения новизны контекста при сохранности других показателей поведения, а также возрастание экспрессии генов *S100A6* и *ASCL1* во фронтальной коре и снижение активности гена *ASCL1* в мозжечке. В возрасте 6 месяцев у животных экспериментальной группы наблюдалось снижение исследовательской активности и эпизодической памяти при отсутствии отличий от контроля по показателям транскрипционной активности исследованных генов. В 12 месяцев в опытной группе выявлены нарушения инициации исследовательского поведения и эпизодической памяти; наблюдалось также снижение экспрессии гена *ASCL1* во фронтальной коре и мозжечке. Выявленные в различных временных точках корреляционные связи молекулярных и поведенческих показателей свидетельствуют о возможной компенсаторной/протекторной роли изменений экспрессии гена *ASCL1* после введения олигомеров *α*-син у 3-месячных животных.

**Заключение.** Результаты проведенных исследований показывают, что динамика развития когнитивного дефицита после введения амилоидогенных форм *α*-син определяется не только их токсическим воздействием, но также компенсаторными процессами, включающими изменения транскрипционной активности генов, регулирующих процессы нейрогенеза в зрелом мозге. Полученные данные позволяют предположить существование специфических для определенных возрастных периодов компенсаторных механизмов, связанных с регуляцией стадий пролиферации и дифференцировки нейрогенеза у взрослых животных. Дальнейшие исследования, направленные на выявление таких механизмов, представляются необходимыми для развития персонализированных стратегий профилактики и терапии нейродегенеративных нарушений.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона; когнитивные нарушения; олигомеры *α*-синуклеина; гены *S100A6* и *ASCL1*; мыши.

**Для цитирования:** Грудень М.А., Инокентьева В.И., Соловьева О.А., Михайлова Н.П., Ратмиров А.М., Сторожева З.И. Изменения когнитивных процессов и транскрипционной активности генов *S100A6* и *ASCL1* в различные сроки после хронического введения амилоидогенных олигомеров альфа-синуклеина. *Патогенез*. 2024; 22(1): 31–40.

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2024.01.31-40

**Для корреспонденции:** Грудень Марина Алексеевна, e-mail: mguden@mail.ru

**Финансирование.** Работа выполнена в подразделении «НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина» ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № АААА-А18-118041090105-6.

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

**Поступила:** 30.01.2024.

# Changes in cognitive processes and transcriptional activity of the S100A6 and ASCL1 genes at different times after chronic administration of amyloidogenic alpha-synuclein oligomers

Gruden M.A., Inokenteva V.I., Solovieva O.A., Mikhailova N.P., Ratmirov A.M., Storozheva Z.I.

Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

The formation of neurotoxic amyloidogenic forms of the protein alpha-synuclein ( $\alpha$ -syn) is a key molecular link in the pathogenesis of a number of neurodegenerative diseases, including Parkinson's disease (PD). There is reason to believe that the development of cognitive impairment at a subclinical level precedes the manifestation of motor symptoms of PD, and there is significant evidence that these disorders are associated with disorganization of the mechanisms regulating neurogenesis in the mature brain. However, information about the long-term influence of amyloidogenic forms of  $\alpha$ -syn on the dynamics of cognitive activity and molecular processes in translational models of synucleinopathies are practically absent.

**The aim** of the work is to study the dynamics of the effects of intranasal administration of  $\alpha$ -syn oligomers to young sexually mature animals in relation to exploratory activity and episodic memory, as well as the expression of the S100A6 and ASCL1 genes, which regulate various stages of neurogenesis, in the hippocampus, prefrontal cortex and cerebellum with simultaneous assessment of the structural functional connections between behavioral and molecular indicators.

**Materials and methods.** Male C57BL/6J mice, 2.5 months old, were intranasally injected with a solution of recombinant  $\alpha$ -syn oligomers or saline for 14 days, followed by behavioral testing in a novel object recognition model at the ages of 3, 6, and 12 months. At each age point, the expression of the S100A6 and ASCL1 genes in the hippocampus, frontal cortex and cerebellum was determined using the polymerase chain reaction method.

**Results.** At the age of 3 months, mice treated with  $\alpha$ -syn oligomers showed a decrease in movement speed relative to control under conditions of increasing context novelty while maintaining other behavioral indicators, as well as an increase in the expression of S100A6 and ASCL1 genes in the cortex and a decrease in ASCL1 activity in the cerebellum. At the age of 6 months, animals in the experimental group showed a decrease in exploratory activity and episodic memory, with no differences from the control in terms of transcriptional activity of the studied genes. At 12<sup>th</sup> months in the experimental group, disturbances in the initiation of exploratory behavior were revealed while maintaining its total duration and episodic memory; there was also a decrease in gene ASCL1 expression in the prefrontal cortex and cerebellum. Correlations of molecular and behavioral parameters identified at different time points indicate a possible compensatory/protective role of changes in gene ASCL1 expression after administration of  $\alpha$ -syn in 3-month-old animals.

**Conclusion.** The results of the studies show that the dynamics of the development of cognitive deficit after administration of  $\alpha$ -syn is determined not only by the toxic effects of amyloidogenic forms of the protein, but also by compensatory processes, including changes in the transcriptional activity of genes that regulate the processes of neurogenesis in the mature brain. The data obtained also suggest the existence of age-specific compensatory mechanisms associated with the regulation of the cellular proliferation/differentiation stages of neurogenesis. Further research aimed at identifying such mechanisms seems necessary for the development of personalized strategies for the prevention and treatment of neurodegenerative disorders.

**Key words:** Parkinson's disease; cognitive impairment;  $\alpha$ -synuclein oligomers; S100A6 and ASCL1 genes; mice.

**For citation:** Gruden M.A., Inokenteva V.I., Solovieva O.A., Mikhailova N.P., Ratmirov A.M., Storozheva Z.I. [Changes in cognitive processes and transcriptional activity of the S100A6 and ASCL1 genes at different times after chronic administration of amyloidogenic alpha-synuclein oligomers]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(1): 31-40. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2024.01.31-40

**For correspondence:** Gruden Marina Alekseevna, e-mail: mguden@mail.ru

**Financing.** The work was carried out in fulfillment of the state assignment of the department «P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology» of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, #AAAA-A18-118041090105-6.

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

**Received:** 30.01.2024.

## Введение

Возрастающий междисциплинарный интерес вызывают исследования лежащих в основе молекулярных механизмов поведенческих, генетических реакций в условиях действия различных форм нейронального белка альфа-синуклеина ( $\alpha$ -син) при развитии возраст-зависимых нейродегенеративных заболеваний, в частности, болезни Паркинсона (БП). Согласно современным представлениям, гиперэкспрессия, а также нарушение конформации  $\alpha$ -син с образованием нейротоксических амилоидогенных форм белка являются ключевым молекулярным звеном патогенеза БП [1, 2]. Образование токсических форм  $\alpha$ -син с последующей их внутриклеточной агрегацией вызывает

гибель определенных видов нервных и/или глиальных клеток в различных структурах мозга, что определяет течение и спектр клинических проявлений БП. Так, деградация и гибель дофаминергических (ДА) нейронов в черной субстанции (ЧС) в области *pars compacta* мозга обуславливают дефицит дофамина в нигростриатной системе и вызывают развитие характерных двигательных нарушений у пациентов с БП. Дисфункция и гибель нейронов передней и височной коры мозга инициирует развитие когнитивного дефицита, который может предшествовать развитию моторных нарушений, и диагностика которого требует разработки комплексного подхода [3].

В то же время, данные литературы убедительно подтверждают существование сопряженных процессов нейрогенеза и программируемой гибели клеток (апоптоза) и подчеркивают их критическую роль у взрослых особей при различных патологических состояниях, включая когнитивную дисфункцию [4, 5]. В частности, современные представления связывают процессы постнатального нейрогенеза и их нарушения в герминативных областях мозга с инициацией и развитием БП. Имеются весомые клинические и экспериментальные свидетельства сопряженности нарушений нейрогенеза в зубчатой фасции (ЗФ) с когнитивными и психоэмоциональными нарушениями у пациентов с БП, а также в трансляционных моделях синуклеинопатий [6, 7].

Следует учитывать, что некоторые факторы, вызывающие нейродегенеративные нарушения, оказывают влияние также и на процессы нейрогенеза у взрослых особей, а дезорганизация процессов нейрогенеза, в свою очередь, может спровоцировать воспалительную реакцию в ЦНС. Такое воспаление может либо способствовать, либо ингибировать нейрогенез, в зависимости от различных факторов, таких как длительность и тяжесть воспаления, а также лежащие в его основе неврологические расстройства [8].

Однако до настоящего времени имеются лишь отдельные экспериментальные факты о процессах постнатального нейрогенеза в различных церебральных отделах и ассоциированных с ними когнитивных и психоэмоциональных состояниях, а также о процессах гибели ДА нейронов в ЧС и состояниях двигательных функций в условиях действия различных амилоидогенных форм  $\alpha$ -син. В нашем предыдущем исследовании показано, что олигомерные формы  $\alpha$ -син при хроническом интраназальном введении в течение 14 суток вызывают у стареющих мышей увеличение количества пролиферирующих клеток и незрелых нейронов в ЗФ гиппокампа, а также снижение числа ДАергических нейронов в ЧС мозга. При этом у животных наблюдали угнетение общей двигательной активности и ориентировочно-исследовательского поведения, нарушение эпизодической памяти и повышение тревожности [9].

Наблюдений по отсроченным динамическим эффектам интраназального введения олигомерных форм  $\alpha$ -син на особенности поведения и показатели генетической регуляции нейрогенеза у грызунов описано недостаточно. Учитывая существенную длительность доклинической стадии БП, такие исследования являются принципиально необходимыми для развития представлений о механизмах патогенеза заболевания. Особенно важным в этой связи представляется комплексное хронологическое изучение моторной и когнитивной активности у животных после введения им олигомеров  $\alpha$ -син в молодом половозрелом возрасте и оценка ассоциации наблюдаемых особенностей поведения с показателями транскрипционной активности генов, продукты которых вовлечены в регуляцию различных стадий нейро-

генеза, таких как пролиферация и дифференцировка нервных клеток.

Продукт кодирования гена *S100A6* белок *S100A6*, также известный как кальциклин, представляет собой кальций-связывающий белок, принадлежащий семейству *S100* [10]. В мозге белок *S100A6* экспрессируется в астроцитах, локализованных в пограничных зонах желудочков мозга, таницитах гипоталамуса и нейронах обонятельной луковицы, гиппокампа, таламуса, коры головного мозга, ствола головного мозга и мозжечка [11]. Внутриклеточная фракция белка взаимодействует с большим количеством белков-лигандов и участвует в регуляции ряда клеточных функций. Показана существенная роль *S100A6* в механизмах пролиферации, в частности, перехода из G0 в G1 фазу, а также выживаемости, миграции и адгезии клеток. Поскольку изменения экспрессии *S100A6* и его основных лигандов в ткани мозга наблюдаются при различных нейродегенеративных заболеваниях, после травм, в условиях стресса [11] и воспаления [12], многие исследователи рассматривают его в качестве потенциального маркера патологических процессов, а также потенциальной мишени терапии [13]. Однако изменения экспрессии *S100A6* у пациентов с БП и у животных в трансляционных моделях синуклеинопатий исследованы не были.

Еще одним ключевым регулятором процессов нейрогенеза, является транскрипционный фактор *Ascl1*, кодируемый геном *ASCL1*. С активностью которого в зрелом мозге связаны механизмы регуляции клеточной дифференцировки и нейронального перепрограммирования [14], в частности, репаративного перепрограммирования глиальных клеток в нейрональные после повреждений нервной ткани [15].

Во взрослом мозге ген *ASCL1* динамически экспрессируется в субгранулярной зоне зубчатой извилины (SGZ) и более ростральной субвентрикулярной зоне (SVZ). Показано, что исходно низкие уровни *Ascl1* в клетках SGZ Type-1 и SVZ В-клетках, повышаются при их переходе на промежуточные стадии развития нейрональных предшественников. Кроме того, обнаружено, что активность гена *ASCL1* не ограничивается транзитно-амплифицируемой популяцией, но также обнаруживается в подгруппе нервных стволовых клеток с долгосрочным нейрогенным потенциалом в мозге взрослого человека. [16]. Снижение экспрессии гена *ASCL1* в гиппокампе крыс наблюдается после травмы спинного мозга одновременно с повышением  $\alpha$ -син, а также со снижением экспрессии маркера незрелых нейронов даблкортина и дофаминовых рецепторов в зубчатой фасции [17]. Однако, как и для *S100A6*, динамика изменений экспрессии гена *ASCL1* в различных структурах мозга в трансляционных моделях БП и их сопоставление с динамикой моторных и немоторных симптомов изучена не была.

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы явилось изучение динамики отсроченных эффектов интраназального введения олигомеров  $\alpha$ -син молодым

половозрелым животным в отношении ориентировочно-исследовательской активности и эпизодической памяти, а также экспрессии генов *S100A6* и *ASCL1* в гиппокампе, фронтальной коре и мозжечке при старении мышей с одновременной оценкой структурно-функциональных связей между поведенческими и генетическими показателями.

### Материалы и методы исследования

Олигомеры  $\alpha$ -син были получены и охарактеризованы по описанному ранее протоколу [18]. Олигонуклеотиды для изучения экспрессии генов-регуляторов нейрогенеза *S100A6* и *ASCL1* были синтезированы «ЗАО Евроген», Москва, Россия. Последовательности использованных праймеров представлена в **табл. 1**.

Исследование выполнено на 72 самцах мышей линии C57Bl/6 J в возрасте 2,5, 6 и 12 месяцев, с начальной массой тела  $22,6 \pm 2,3$  г (ФГБУН НЦБМТ ФМБА питомник «Столбовая», России). Мыши содержались по 6 особей в клетках, в стандартных условиях вивария со сменой тёмной и светлой фаз суток 12/12 часов, при свободном доступе к пище и воде. Все манипуляции с животными были проведены с соблюдением требований, изложенных в директиве по охране животных, используемых в научных целях (2010/63/EU от 22 сентября 2010 г), а также требованиями локального этического комитета (протокол №1 от 01.02.2023).

При включении в исследование животных в возрасте 2,5 месяцев мышей случайным образом распределяли по двум группам – экспериментальной и контрольной. Животным экспериментальной группы ежедневно в интервале времени 10:00–14:00 в течение 14 дней поочередно в каждую ноздрю вводили раствор олигомеров  $\alpha$ -син (8 мкл, 0,48 мг/кг,  $n = 36$ ), а мышам контрольной группы в том же режиме вводили физиологический раствор (ФР, 8 мкл,  $n = 36$ ).

Тестирование поведения проводили трижды после окончания введения препаратов, в возрасте 3, 6 и 12 месяцев, с использованием модели «Распознавание нового объекта (РНО)», характеризующей исследовательскую активность и кратковременную память [19]. Суммарная продолжительность теста составляла 2 дня. В первый день мышей на 5 мин помещали в установку «Открытое поле» (площадь пола  $42,5 \times 42,5$  см, Columbus Instruments, США) для адаптации к обстановке, и регистрировали скорость перемещения (сеанс адаптации). Спустя сутки мышей снова помещали в установку, в ко-

торой находились два одинаковых объекта: стеклянные банки с диаметром около 5,4 см (сеанс экспозиции). Через 1 час после экспозиции проводили оценку эпизодической памяти в сеансе тестирования. В ходе тестирования мышей помещали в ту же установку, при этом один объект был идентично знакомым, другой объект меняли на новый (зеленый пластиковый стакан с диаметром 7,5 см). При экспозиции и тестировании регистрировали положение животных с помощью программы Ethovision XT 8.5 (Noldus, Голландия). Временем исследования объекта считали длительность пребывания в зоне интереса (2 см от контура объекта) с направленной в сторону объекта мордочкой. На основе полученных путей передвижения определяли время исследования и время до первого подхода к каждому из объектов, а также среднюю скорость движения животного. Индекс дискриминации объекта рассчитывали как частное от деления разности во времени исследования нового и знакомого объекта на общую длительность исследования обоих объектов.

Через сутки после окончания поведенческих экспериментов часть животных декапитировали, извлекали мозг и выделяли на холоду образцы гиппокампа, фронтальной коры мозга и мозжечка, которые замораживали в жидком азоте. Из выделенных структур мозга экстрагировали общую фракцию РНК с помощью TRIzol («Invitrogen», США) в соответствии с протоколом производителя и с использованием гомогенизатора «DIAX 100» («Heidolph», Германия), в режиме 5000 об/мин в течение 15 с. Полученные препараты РНК очищали от примесей геномной ДНК, обрабатывая ферментом ДНКазой I в течение 30 мин при  $+37^\circ\text{C}$  в реакционном буфере (40 мМ Трис-НСl (рН 8.0), 10 мМ  $\text{MgSO}_4$ , 1 мМ  $\text{CaCl}_2$ ), а затем добавляли стоп-раствор (2 мМ этиленгликоль-тетрауксусная кислота, рН 8.0) и прогревали 10 мин при  $65^\circ\text{C}$  (RQ1 RNase-Free DNase, Promega, США). Концентрацию РНК определяли на флуориметре Qubit с использованием Qubit RNA Assay Kit (Invitrogen, США) используя рекомендации производителя.

Согласно ранее разработанному протоколу [18] для проведения обратной транскрипции 0,5 мкг выделенных образцов тотальной РНК из церебральных структур инкубировали с олиго-(dT)15 (10 мкМ) и 0.5 единицами ингибитора РНКазы (Promega, США) в течение 2 мин при  $+70^\circ\text{C}$ , после чего сразу помещали на лёд. Обратную транскрипцию проводили в объеме 30 мкл в среде, содержащей 10 мМ Трис-НСl (рН 8.3), 25 мМ KCl, 0.6 мМ

Таблица 1.

Последовательности олигонуклеотидных праймеров, использованных для проведения ПЦР в реальном времени.

Ген	Праймер	
	Прямой	Обратный
<i>S100A6</i>	TCATTGTCGACGTGTGCTTCTAGC	ATCAAAGCCAAGGCCCCAG
<i>ASCL1</i>	CTTCGCAGTCCCGCTTCCTT	TCTCCTGCCATCCTGCTTCCAA

MgCl<sub>2</sub>, 2 мМ дитиотреитол, с добавлением 200 единиц ревертазы M-MLV (Promega, США) и 4 мкл dNTP (10 мМ) и последующей инкубацией в течение 1 ч 45 мин при +37°C. Фермент затем инактивировали нагреванием до +95°C в течение 5 мин. Полученную кДНК разводили деионизированной водой в 10 раз и хранили при –80°C. В качестве отрицательного контроля вместо РНК использовали деионизированную воду.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени проводили в объеме 25 мкл с использованием 1 мкл разведенной кДНК, 0,2 мМ готовой смеси праймеров («SABiosciences», США) и готовой смеси qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия), однократный состав которой включал интеркалирующий краситель SYBR Green I, Taq-полимеразу с горячим стартом, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, по 0,2 мМ каждого нуклеотидтрифосфата. Программа амплификации: 94°C – 1,5 мин; 50 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг праймеров при 64°C – 15 с, элонгация при 72°C – 30 с. С каждым образцом ПЦР проводили трижды и среднее значение их пороговых циклов (Ct) использовали для расчёта непараметрической статистики. Специфичность ПЦР-продуктов подтверждали проведением электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле, окрашенном этидиумом бромида; использовали маркер длин GeneRuler 50 bp DNA Ladder («Fermentas», Литва). Методом ПЦР в режиме реального времени по описанному ранее протоколу, применяя в качестве референсного ген β-актина для последующего расчёта относительного уровня экспрессии изучаемых

генов по методу 2-ΔΔCt, где произведен учет экспрессии генов в группе контроля [20].

*Статистический анализ.* Полученные результаты обрабатывали в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., USA). Данные усредняли, вычисляли стандартную ошибку среднего. Для сравнения исследуемых показателей в двух разных группах применяли z-преобразование и затем – дисперсионный анализ; для оценки корреляционных связей и определения системной структуры изменений поведения применяли корреляционный анализ Спирмена, а также факторный анализ (метод главных компонент).

## Результаты исследования

*Показатели поведения в модели РНО.* Анализ поведения животных в модели РНО через 3 дня после окончания введения олигомеров α-син (в возрасте 3 месяца) выявил у мышей экспериментальной группы статистически значимое снижение скорости передвижения в сравнении с контролем, которое наблюдалось только в сеансе тестирования, но не экспозиции или адаптации. Межгрупповых различий других поведенческих показателей в данной временной точке обнаружено не было (табл. 2).

Через 90 дней после окончания введения (в возрасте 6 месяцев) у мышей, получавших олигомеры α-син, снижение скорости передвижения по сравнению с контролем наблюдалось в сеансах тестирования и экспози-

Таблица 2.

Показатели поведения мышей в тесте «Распознавания нового объекта» в различные сроки после хронического интраназального введения олигомеров α-синуклеина.

Сеанс	Показатель	3-месячные мыши (90 дней после введения)		6-месячные мыши (90 дней после введения)		12-месячные мыши (270 дней после введения)	
		Контроль (n=36)	Олигомеры α-син (n=36)	Контроль (n=28)	Олигомеры α-син (n=28)	Контроль (n=20)	Олигомеры α-син (n=20)
Адаптация	Скорость см/с	4,4±0,4	4,1±0,5	4,3±0,4	3,9±0,6	2,8±0,4 <sup>#</sup>	3,3±0,9
Экспозиция	Скорость см/с	3,8±0,2	3,0±0,3	4,4±0,5	3,6±0,3	2,9±0,5 <sup>#</sup>	2,6±0,8
	Время исследования объектов (суммарно), с	25,9±3,9	23,2±4,0	35,8±4,1	19,8±2,6 <sup>**</sup>	25,7±3,8	22,1±4,2
	Время до начала исследования объектов, с	38,2±11,9	65,1±18,1	29,8±12,9	55,6±19,8	42,0±17,3	188±69 <sup>*</sup>
Тест	Скорость см/с	3,9±0,4	2,6±0,3 <sup>*</sup>	4,5±0,6	2,8±0,8 <sup>**</sup>	2,9±0,4 <sup>#</sup>	2,3±0,7
	Время исследования знакомого объекта, с	11,3±1,8	9,2±1,3	15,4±1,7	9,9±1,1	10,8±2,1	4,8±1,5 <sup>*</sup>
	Время исследования нового объекта, с	18,1±3,2	16,1±2,5	32,9±4,6	18,1±4,0 <sup>*</sup>	24,2±3,7	15,8±7,1
	Время до начала исследования знакомого объекта, с	65,9±13,4	113±28	111±24	121±25	189±26	368±79 <sup>*</sup>
	Время до начала исследования нового объекта, с	65,7±16,8	109±23	33,1±11,6	129±27 <sup>*</sup>	162±53	324±88 <sup>*</sup>
Индекс распознавания		0,18±0,03	0,24±0,05	0,41±0,04	0,25±0,03 <sup>*</sup>	0,41±0,05	0,44±0,07

Примечание: \* – p < 0,05, \*\* – p < 0,01 по сравнению с контролем того же возраста, # – p < 0,01 по сравнению с 6-месячным контролем.

ции, но не адаптации. В этой временной точке у животных экспериментальной группы было также обнаружено снижение относительно контроля общей длительности исследования объектов в сеансе экспозиции и уменьшение длительности исследования нового объекта в сеансе тестирования. При этом у 6-месячных мышей контрольной группы время до начала исследования нового объекта в сеансе тестирования было значимо короче, чем время до начала исследования знакомого, в то время как у животных, получавших олигомеры  $\alpha$ -син, различий между показателями времени до начала исследования этих объектов не наблюдалось, а длительность периода до начала исследования нового объекта была существенно выше, чем у контрольных мышей. Основным показателем эпизодической памяти, индекс распознавания объекта, в группе  $\alpha$ -син был статистически значимо ниже, чем в контроле (табл. 2).

У 12-месячных контрольных животных (через 270 дней после введения) наблюдалось существенное снижение скорости перемещения на всех этапах проведения теста в сравнении с 6-месячными, при этом значимых различий между экспериментальной и контрольной группой выявлено не было. Суммарное время исследования объектов в сеансе экспозиции и величина индекса распознавания у контрольных мышей 12-месячного возраста не отличались от уровня, наблюдаемого у 6-месячных животных, и межгрупповых различий по этим показателям у 12-месячных мышей не обнаружено. В группе контроля у 12-месячных мышей в сравнении с 6-месячными контрольными животными было обнаружено возрастание времени до начала исследования нового объекта в сеансе тестирования. У 12-месячных животных экспериментальной группы показатели времени до начала исследования обоих объектов при тестировании, а также до начала исследования объектов в сеансе экспозиции были выше, чем в контроле. Таким образом, введение  $\alpha$ -син усугубляет возрастное снижение показателя инициации исследовательской активности. Также обнаружено, что время исследования знакомого объекта в сеансе тестирования у 12-месячных мышей, получавших олигомеры  $\alpha$ -син, было значительно меньше, чем в контроле (табл. 2).

**Факторная структура поведения в тесте РНО.** Тест РНО позволяет проводить анализ таких аспектов когнитивной активности, как исследовательское поведение и эпизодическая память. Существенно, что для оценки обеих этих составляющих используют показатели длительности исследования объектов, которые нелинейным образом связаны с уровнем двигательной активности. В ситуации, когда значительного влияния исследуемых факторов на двигательную и ориентировочную активность не предполагается, большинство исследователей пренебрегают этими соображениями и ограничиваются анализом индекса распознавания. Однако при исследовании эффектов олигомеров  $\alpha$ -син принципиально необходимо учитывать их комплексный характер, и в этой связи целесообразным представляется использование многомерных статистических методов.

В частности, применение факторного анализа (метода главных компонент) может стать плодотворным для понимания структуры наблюдаемых поведенческих изменений и выявления ассоциации отдельных ее составляющих с молекулярными событиями.

В анализ были включены значения 9-ти переменных (табл. 3), полученные в 168 измерениях (у животных 2-х групп в 3-х временных точках). Метод независимых компонент (с вращением Varimax normalized) выявил 3 фактора, объясняющие соответственно 53,4%, 20,5% и 13,9% дисперсии (всего 87,8%).

Определение факторных нагрузок показало, что в первый фактор входят переменные, характеризующие ориентировочно-исследовательскую активность: длительность исследования объектов в сеансах экспозиции и тестирования, а также скорость перемещения в сеансе тестирования (но не адаптации или экспозиции). Второй фактор включает показатели инициации исследовательской активности: латентные периоды первого подхода к объектам в сеансах экспозиции и тестирования. Следует отметить, что знак нагрузки в этом случае является отрицательным, таким образом, Фактор 2 отражает воздействия, тормозящие инициацию исследовательской активности. Фактор 3 включает единственную переменную – индекс распознавания объекта, который является основным показателем эпизодической памяти.

Проведенный анализ выявил относительную независимость компонент, характеризующих ориентировочно-исследовательскую активность и эпизодическую память в исследуемых группах животных и, соответственно, предположить специфичные механизмы их нарушения после введения  $\alpha$ -син.

Результаты анализа экспрессии генов *ASCL1* и *S100A6* представлены в табл. 4. Наиболее выраженные изменения активности генов *ASCL1* и *S100A6* после интраназального хронического введения олигомеров  $\alpha$ -син наблюдались в трехмесячном возрасте (через 3 дня после введения). В этой временной точке у экспериментальных животных уровень экспрессии *S100A6* значимо повышался в коре, а экспрессия гена *ASCL1* возрастала во фронтальной коре и снижалась в мозжечке.

У 6-месячных мышей (через 90 дней после введения) в экспериментальной группе значимых отличий от контроля обнаружено не было. У 12-месячных мышей (через 270 дней после введения) в экспериментальной группе наблюдалось снижение экспрессии гена *ASCL1* во фронтальной коре и мозжечке.

Анализ внутри- и межструктурных корреляций показателей экспрессии генов *ASCL1* и *S100A6* выявил возрастную динамику их паттерна у контрольных животных, с увеличением количества связей в период от 3 к 12 месяцам. Обнаружено, что введение  $\alpha$ -син нарушает корреляционные связи между показателями экспрессии обоих изучаемых генов, наблюдавшиеся в контроле в возрасте 3 и 6 месяцев. В возрасте 12 месяцев (через 270 дней после введения) у экспериментальных животных наблюдается избирательная элиминация

межструктурных корреляционных связей экспрессии гена *S100A6* и изменения профиля межструктурных корреляций показателей экспрессии гена *ASCL1*.

Общее количество выявленных корреляций показателей экспрессии генов *ASCL1* и *S100A6* с показателями поведения в тесте РНО было достаточно большим (суммарно – 52), что затрудняет их содержательный анализ и интерпретацию. В связи с этим была проведена оценка корреляционных связей экспрессии генов с индивидуальными значениями факторов, характеризующих интенсивность ориентировочно-исследовательской активности (Фактор 1), задержку ее инициации (Фактор 2) и эпизодическую память (Фактор 3). Результаты проведенного анализа представлены в виде коррелограммы (рис. 1).

Анализ выявил у молодых (3 мес) и зрелых (6 мес) контрольных мышей положительные ассоциации Факторов 1 и 2, характеризующих длительность и скорость инициации ориентировочно-исследовательской активности, с экспрессией *S100A6*, в то время как на этапе начала старения (12 месяцев) выявлены ассоциации этих Факторов с экспрессией *ASCL1*. Как в 3, так и в 6 месяцев Фактор 3, включающий индекс распознавания (главный показатель эпизодической памяти), демонстрирует положительную корреляцию с экспрессией *ASCL1* в гиппокампе. В то же время, у 12-месячных жи-

вотных контрольной группы эффективность эпизодической памяти демонстрирует ассоциацию с экспрессией *S100A6* в гиппокампе и префронтальной коре.

У животных группы  $\alpha$ -син ни в одной из возрастных точек не было обнаружено корреляций Фактора 3 (эпизодическая память) с показателями экспрессии исследованных генов; выявленные ассоциации относились только к Факторам 1 и 2, характеризующим исследовательскую активность. Так, в возрасте 3 месяцев, обнаружены ассоциации между сохранностью ориентировочной активности и изменениями экспрессии гена *ASCL1* – возрастанием в коре и снижением в мозжечке. У 12-месячных мышей наблюдавшееся снижение экспрессии гена *ASCL1* в мозжечке демонстрирует ассоциацию с сохранностью инициации исследовательской активности, а снижение экспрессии гена *ASCL1* в префронтальной коре – с нарушением этой формы поведения [21, 22].

### Обсуждение

Совокупность полученных данных свидетельствует о влиянии амилоидогенных олигомеров  $\alpha$ -син, введенных молодым животным, на возрастную динамику различных компонентов когнитивной активности. Проведенный анализ позволяет полагать, что нарушения исследовательской активности и эпизодической памяти

Таблица 3.

Факторные нагрузки переменных, характеризующих поведение в тесте «Распознавание нового объекта».

Показатель поведения в тесте РНО	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Скорость в сеансе экспозиции	0,578	0,474	0,016
Время исследования объектов при экспозиции (суммарно)	<b>0,869</b>	0,148	0,244
Время до начала исследования объектов в сеансе экспозиции	-0,091	<b>-0,707</b>	-0,273
Скорость в сеансе тестирования	<b>0,759</b>	0,474	0,079
Время исследования знакомого объекта в сеансе тестирования	<b>0,874</b>	0,140	-0,231
Время до начала исследования знакомого объекта в сеансе тестирования	-0,184	<b>-0,882</b>	0,159
Время исследования нового объекта в сеансе тестирования	<b>0,847</b>	0,163	0,375
Время до начала исследования нового объекта в сеансе тестирования	-0,300	<b>-0,780</b>	-0,044
Индекс распознавания	0,119	0,054	0,966

Примечание: Значимый уровень нагрузки принят как  $>0,7$  (выделено жирным курсивом).

Таблица 4.

Изменения уровня экспрессии генов *ASCL1* и *S100A6* у мышей C57Bl/6 в различные сроки после введения олигомеров альфа  $\alpha$ -синуклина (в % по сравнению с контролем).

Возраст (мес)/время после введения олигомеров $\alpha$ -син (дни)	Структура мозга	Ген	
		<i>S100A6</i>	<i>ASCL1</i>
3/3 (n = 8)	Гиппокамп	-29,4	34,0
	Фронтальная кора	<b>2806,6*</b>	<b>571,0*</b>
	Мозжечок	83,6	<b>-235,2*</b>
6/90 (n = 8)	Гиппокамп	67,0	-17,9
	Фронтальная кора	75,0	55,9
	Мозжечок	78,0	-41,0
12/270 (n = 8)	Гиппокамп	55,5	-19,1
	Фронтальная кора	-69,03	<b>-92,2*</b>
	Мозжечок	62,9	<b>-98,6*</b>

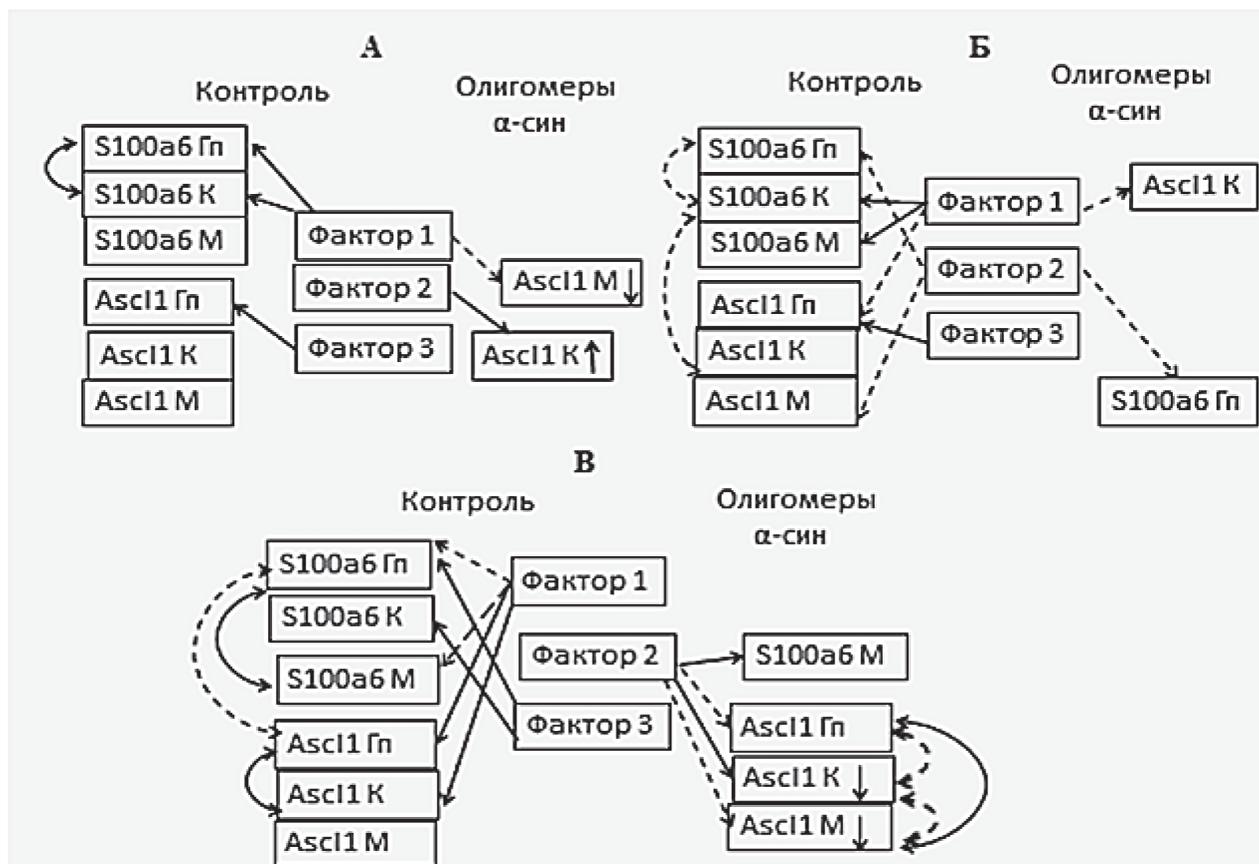
Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , # –  $p < 0,1$  по сравнению с контролем того же возраста.

после введения  $\alpha$ -син в определенной степени независимы друг от друга и от изменения моторных функций. Также можно предположить, что наблюдаемые изменения когнитивной активности обусловлены как собственно патогенетическими, так и компенсаторными процессами, в том числе, связанными с изменениями экспрессии генов, регулирующих процессы пролиферации, дифференцировки и перепрограммирования клеток нервной ткани.

На раннем сроке после введения  $\alpha$ -син (у 3-месячных мышей) наблюдаются лишь ограниченные нарушения исследовательской активности при полной сохранности кратковременной эпизодической памяти. Полученные данные о снижении скорости передвижения экспериментальных мышей в сеансе тестирования согласуются с данными литературы об уменьшении скорости движения у пациентов с БП при легкой когнитивной нагрузке [23]. Результаты наших экспериментов также показывают, что эти особенности проявляются на ранних стадиях развития патологического процесса и могут являться его маркерами. Относительная сохранность когнитивной активности в данной временной точке наблюдается в условиях значительного повышения уровня экспрессии генов *S100A6* и *ASCL1* в коре, а также снижения экспрессии гена *ASCL1* в мозжечке.

Следует отметить, что повышенный уровень экспрессии гена *S100A6* в центральной нервной системе рассматривают как маркер нейродегенеративных процессов различного генеза, при этом высказываются предположения о возможной компенсаторной роли таких изменений [11]. Выявленные в контрольной группе положительные корреляции исследовательской активности с экспрессией гена *S100A6* в коре и гиппокампе согласуются с этими предположениями. Кроме того, наблюдаемые в экспериментальной группе корреляционные связи между сохранностью когнитивной активности и изменениями экспрессии гена *ASCL1* свидетельствуют также о возможной вовлеченности этих изменений в механизмы компенсаторных процессов.

Через 90 дней после введения  $\alpha$ -син у 6-месячных животных существенное снижение исследовательской активности и нарушение эпизодической памяти наблюдаются при отсутствии значимых отличий экспрессии изучаемых генов от контрольного уровня. Эти факты указывают на возможное истощение компенсаторных механизмов, которое может быть обусловлено как длинной временной интервала после введения, так и особенностями физиологических и молекулярных процессов в ЦНС мышей 6-месячного возраста. Исследование, проведенное на трансгенных мышах с повышенной экс-



**Рис. 1.** Профили корреляций исследованных молекулярных и поведенческих показателей у животных различных групп: А – 3-месячного, Б – 6-месячного, В – 12-месячного возраста. Представлены корреляционные связи с  $R > 0,80$ ,  $p < 0,01$ , Сплошные линии – положительные, пунктирные – отрицательные корреляции.

прессией токсичной А30Р формы  $\alpha$ -син показало, что манифестация когнитивного дефицита в тесте РНО происходит у этих животных в 6, но не в 2-месячном возрасте [24]. Примечательно, что протекторный эффект антител к А30Р  $\alpha$ -син в отношении когнитивного дефицита у таких мышей наблюдался только в 6, но не в 11-месячном возрасте.

Эти сведения, как и наши данные, указывают на динамичное взаимодействие токсических эффектов амилоидогенных форм  $\alpha$ -син с молекулярными процессами, регулирующими активность ЦНС на протяжении жизненного цикла, и на возрастную специфичность механизмов компенсации когнитивных функций в этих условиях. Полученные нами результаты также позволяют предположить, что баланс активности генов, вовлеченных в регуляцию пролиферации, дифференцировки и перепрограммирования клеток зрелого мозга, изменяется с возрастом, и что от этих изменений в определенной степени зависит адаптивно-компенсаторный потенциал ЦНС в различные периоды жизни организма. В пользу такого предположения свидетельствуют данные литературы о том, что при относительном постоянстве количества новых зернистых нейронов в зубчатой фасции гиппокампа мышей между 1-м и 9-м месяцами жизни соотношение клеток, экспрессирующих маркеры различных стадий зрелости, а следовательно, и соотношение процессов пролиферации/дифференцировки/клеточной гибели нейронов, демонстрируют сложную нелинейную зависимость от возраста [25].

Согласно полученным нами данным, в возрасте 12 месяцев (через 270 дней после введения) нарушения эпизодической памяти у животных, получавших  $\alpha$ -син, не выявляются, однако изменяется характер исследовательской активности: наблюдается задержка её инициации при сохранении общей продолжительности, а также снижение длительности сканирования знаковых элементов среды. При этом наблюдается снижение экспрессии гена *ASCL1* в коре и мозжечке с увеличением количества корреляционных связей между показателями активности этого гена в исследованных структурах, а также числа корреляций между показателями инициации исследовательской активности и экспрессией гена *ASCL1*. Эти результаты позволяют предположить, что наблюдаемое нарушение инициации исследовательского поведения в данной временной точке связано с изменением паттерна активности гена *ASCL1* в различных структурах мозга.

Полученные результаты представляют интерес в связи с имеющимися в литературе сведениями о дефиците координации между механизмами инициации и торможения двигательных навыков при БП [26], а также в свете гипотезы «когнитивной дисметрии», предполагающей существование общих закономерностей в изменениях двигательной и когнитивной активности при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [27]. Предположительно, нарушение инициации исследо-

вательской активности можно рассматривать как одно из субклинических проявлений БП, и такой подход может быть использован для совершенствования диагностики риска заболевания. Полученные данные указывают на возможную ассоциацию между нарушениями исследовательской активности и снижением экспрессии гена *ASCL1*, однако не позволяют сделать каких-либо предположений относительно молекулярных механизмов поздних компенсаторных процессов, обеспечивающих сохранность эпизодической памяти и длительности исследовательской активности у стареющих животных в отставленные сроки после введения  $\alpha$ -син.

## Заключение

Совокупность полученных результатов свидетельствует, что хроническое интраназальное введение олигомерных форм белка альфа-синуклеина молодым мышам в рамках трансляционной модели болезни Паркинсона вызывает развивающиеся во времени нарушения таких элементов когнитивной активности, как исследовательское поведение и формирование эпизодической памяти. Параллельно наблюдаются изменения экспрессии генов *ASCL1* и *S100A6*, регулирующих различные стадии нейrogenеза. Результаты проведенных исследований приводят к заключению, что динамика развития когнитивного дефицита в этих условиях определяется не только токсическим воздействием амилоидогенных форм белка, но также компенсаторными процессами, включающими изменения экспрессии генов, регулирующих процессы нейrogenеза в зрелом мозге. Полученные данные также позволяют предположить существование специфичных для определенного возрастного периода компенсаторных механизмов, связанных с регуляцией разных стадий нейrogenеза. Дальнейшие исследования, направленные на выявление таких механизмов, представляются необходимыми для развития персонализированных стратегий профилактики и терапии нейродегенеративных нарушений.

## Список литературы / References

1. Mehra S., Sahay S., Maji SK.  $\alpha$ -Synuclein misfolding and aggregation: Implications in Parkinson's disease pathogenesis. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.* 2019; 1867(10): 890–908. DOI: 10.1016/j.bbapap.2019.03.001
2. Goedert M., Jakes R., Spillantini M.G.J. The Synucleinopathies: Twenty Years On. *Parkinsons Dis.* 2017; 7(1): 51–69. DOI: 10.3233/JPD-179005
3. Costa H.N., Esteves A.R., Empadinhas N., Cardoso M.S. Parkinson's Disease: A Multisystem Disorder. *Neurosci Bull.* 2023; 39(1): 113–124. DOI: 10.1007/s12264-022-00934-6
4. Spillantini M.G., Goedert M. Neurodegeneration and the ordered assembly of  $\alpha$ -synuclein. *Cell Tissue Res.* 2018; 373(1): 137–148. DOI: 10.1007/s00441-017-2706-9
5. Horgusluoglu E., Nudelman K., Nho K.J., Saykin A. Adult neurogenesis and neurodegenerative diseases: A systems biology perspective. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2017; 174(1): 93–112. DOI: 10.1002/ajmg.b.32429
6. Terreros-Roncal J., Moreno-Jiménez E.P., Flor-García M., Rodríguez-Moreno C.B., Trinchero M.F., Caffini F., Rábano A., Llorens-Martín M. Impact of neurodegenerative diseases on human adult

- hippocampal neurogenesis. *Science*. 2021; 374(6571): 1106–1113. DOI: 10.1126/science.abl5163
7. Marchetti B., Tirolo C., L'Episcopo F., Caniglia S., Testa N., Smith A.J., Pluchino S., Serapide M.F. Parkinson's disease, aging and adult neurogenesis: Wnt/ $\beta$ -catenin signalling as the key to unlock the mystery of endogenous brain repair. *Aging Cell*. 2020; 19(3): e13101. DOI: 10.1111/acel.13101
  8. Amanollah M., Jameie M., Heidari A., Rezaei N. The Dialogue Between Neuroinflammation and Adult Neurogenesis: Mechanisms Involved and Alterations in Neurological Diseases. *Mol. Neurobiol.* 2023; 60(2): 923–959. DOI: 10.1007/s12035-022-03102-z
  9. Sherstnev V.V., Kedrov A.V., Solov'eva O.A., Gruden M.A., Konovalova E.V., Kalinin I.A., Proshin A.T. The Effects of  $\alpha$ -Synuclein Oligomers on Neurogenesis in the Hippocampus and the Behavior of Aged Mice. *Neurochem. J.* 2017; 11(4): 282–289. DOI: 10.1134/S1819712417040092
  10. Leśniak W., Filipiek A. S100A6 Protein-Expression and Function in Norm and Pathology. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(2): 1341. DOI: 10.3390/ijms24021341
  11. Filipiek A., Leśniak W. S100A6 and Its Brain Ligands in Neurodegenerative Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(11): 3979. DOI: 10.3390/ijms211139792020
  12. Leclerc E., Fritz G., Weibel M., Heizmann C.W., Galichet A. S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation end products) immunoglobulin domains. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(43): 1317–1331. DOI: 10.1074/jbc.M703951200
  13. Donato R., Sorci G., Giambanco I. S100A6 protein: functional roles. *Cell Mol. Life Sci.* 2017; 74(15): 2749–2760. DOI: 10.1007/s00018-017-2526-9
  14. Woods L.M., Ali F.R., Gomez R., Chernukhin I., Marcos D., Parkinson L.M., Tayoun A.A.N.A., Carroll J.S., Philpott A. Elevated ASCL1 activity creates de novo regulatory elements associated with neuronal differentiation. *BMC Genomics.* 2022; 23(1): 255. DOI: 10.1186/s12864-022-08495-8
  15. Jorstad N.L., Matthew W.S., Todd L., Finkbeiner C., Nakamura P., Radulovich N., Hooper M.J., Chitsazan A., Wilkerson B.A., Rieke F., Retina T.A. STA Signaling Modifies Ascl1 Chromatin Binding and Limits Neural Regeneration from Muller Glia in Adult Mouse. *Cell Rep.* 2020; 30(7): 2195–2208. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.01.075
  16. Kim E.J., Ables J.L., Dickel L.K., Eisch A.J., Johnson J.E. Ascl1 (Mash1) defines cells with long-term neurogenic potential in subgranular and subventricular zones in adult mouse brain. *PLoS One.* 2011; 6(3): e18472. DOI: 10.1371/journal.pone.0018472
  17. Kalkhoran A.K., Alipour M.R., Jafarzadehgharehzaadaddin M., Zangbar H.S., Shahabi P. Intersection of hippocampus and spinal cord: a focus on the hippocampal alpha-synuclein accumulation, dopaminergic receptors, neurogenesis, and cognitive function following spinal cord injury in male rats. *BMC Neurosci.* 2022; 23(1): 44. DOI: 10.1186/s12868-022-00729-5
  18. Gruden M.A., Davidova T.V., Yanamandra K., Kucheryanu V.G., Morozova-Roche L.A., Sherstnev V.V., Sewell R.D. Nasal inoculation with  $\alpha$ -synuclein aggregates evokes rigidity, locomotor deficits and immunity to such misfolded species as well as dopamine. *Behav. Brain. Res.* 2013; 15(243): 205–212. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.01.011
  19. Lueptow L.M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J. Vis. Exp.* 2017; 126: 55718. DOI: 10.3791/55718
  20. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using re-al-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods.* 2001; 25: 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
  21. Broersen R., Canto C.B., De Zeeuw C.I. Cerebellar nuclei: Associative motor learning in zebrafish. *Curr. Biol.* 2023; 33(16): 867–870. DOI: 10.1016/j.cub.2023.07.018
  22. Paitel E.R., Nielson K.A. Cerebellar EEG source localization reveals age-related compensatory activity moderated by genetic risk for Alzheimer's disease. *Psychophysiology.* 2023; 60(12): e14395. DOI: 10.1111/psyp.14395
  23. Raffégeau T.E., Krehbiel L.M., Kang N., Thijs F.J., Altmann L.J.P., Cauraugh J.H., Hass C.J. A meta-analysis: Parkinson's disease and dual-task walking. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2019; 6228–6235. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.12.012
  24. Ekmark-Lewén S., Aniszewska A., Molisak A., Gumucio A., Lindström V., Kahle P.J., Nordström E., Möller C., Fälting J., Lannfelt L., Bergström J., Ingelsson M. Reduction of brain stem pathology and transient amelioration of early cognitive symptoms in transgenic mice treated with a monoclonal antibody against  $\alpha$ -synuclein oligomers/protofibrils. *Aging Brain.* 2023; 30(4): 100086. DOI: 10.1016/j.nbas.2023.100086
  25. Ben Abdallah N.M., Slomianka L., Vyssotski A.L., Lipp H.P. Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice. *Neurobiol. Aging.* 2010; 31(1): 151–161. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.002
  26. Sengupta S., Medendorp W.P., Selen L.P.J., Praamstra P. Exploration of sensory-motor tradeoff behavior in Parkinson's disease. *Front. Hum. Neurosci.* 2022; 16: 951313. DOI: 10.3389/fnhum.2022.951313.72
  27. Bonilha P.Á.A.M., Cassarotti B., Nunes T.E.M., Teive H.A.G. Frontal ataxia: historical aspects and clinical definition. *Arg. Neuropsiquiatr.* 2023; 81: 10934–10936. DOI: 10.1055/s-0043-1775886.73

#### Сведения об авторах:

**Грудень Марина Алексеевна** — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-6066-8908>

**Инокентьева Виктория Игоревна** — старший лаборант лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

**Соловьева Ольга Александровна** — научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-5199-6256>

**Михайлова Наталия Павловна** — младший научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0003-0208-2575>

**Ратмиров Александр Максимович** — научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-9551-8416>

**Сторожева Зинаида Ивановна** — доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии и нейрохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; <https://orcid.org/0000-0001-6280-5312>