

Роль альфа-синуклеина в нейродегенеративном процессе

В.Б. Соболев, Р.М. Худоерков

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

В работе рассматриваются многие ключевые вопросы о месте и роли альфа-синуклеина и его модифицированных форм в патологическом процессе нейродегенерации при паркинсонизме. Обсуждаются данные патологической анатомии, цитологии и гистологии, генетики, полученные на материале человека, животных и клеточных моделях.

В статье уделяется внимание заблуждению, что агрегаты альфа-синуклеина, входящие в состав телец Леви, обнаруживаются только в структурах центральной нервной системы. Современные данные показывают активное включение периферической нервной системы в этот процесс.

Накопленные данные демонстрируют большое значение альфа-синуклеина при до сих пор не ясном механизме включения этого белка в патологический процесс.

Ключевые слова: альфа-синуклеин, паркинсонизм, прион, гипотеза Браака, патогенез болезни Паркинсона, тельца Леви

Для корреспонденции: Валерий Борисович Соболев. E-mail: vsobolev@outlook.com

Для цитирования: В.Б. Соболев, Р.М. Худоерков. Роль альфа-синуклеина в нейродегенеративном процессе. Клини. эксп. морфология. 2019; 8(3):5-12. DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 12.04.2019. Получена после реценцирования 22.05.2019. Принята в печать 04.06.2019.

The role of alpha-synuclein in the neurodegenerative process

V.B. Sobolev, R.M. Khudoerkov

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Many key questions about the place and role of alpha-synuclein and its modified forms in the pathological process of neurodegeneration in parkinsonism are reported in this article. The data in pathological anatomy, cytology and histology, genetics obtained from human materials, animal and cellular models are discussed.

The review draws attention to the misleading fact that the aggregates of alpha-synuclein, which are the part of Lewy bodies, are found only in the central nervous system structures, modern data indicate active participation of peripheral nervous system in this process.

The accumulated data demonstrate the great importance of alpha-synuclein with an unclear mechanism of inclusion of this protein in the pathological process.

Key words: alpha-synuclein, parkinsonism, prion, Braak hypothesis, pathogenesis of Parkinson's disease, Lewy bodies

Corresponding author: Valeriy B. Sobolev. E-mail: vsobolev@outlook.com

For citation: V.B. Sobolev, R.M. Khudoerkov. The role of alpha-synuclein in the neurodegenerative process. Clin. exp. morphology. 2019; 8(2): 5-12. (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12

Funding. The work was performed in the framework of the state assignment.

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

Received 12.04.2019. Received in revised forms 22.05.2019. Accepted 04.06.2019.

Длительное время внимание исследователей, изучающих нейродегенеративные заболевания, в первую очередь болезнь Паркинсона (БП), было направлено на небольшой по размеру белок – альфа-синуклеин.

Альфа-синуклеин (α -Syn) составляет до 1% от общего белка цитозоля, что можно объяснить его большим значением во внутриклеточных процессах [1].

Молекула α -Syn состоит из трех частей: N-концевой спирали, центрального участка и отрицательно заряженного C-участка [1]. N-концевой участок обеспечивает липофильные свойства, что способствует фиксации белка с мембранными структурами с образованием липопротеиновых комплексов. Центральный участок молекулы взаимодействует с другими молекулами

α -Syn и формирует нерастворимые олиго- и полимерные белковые образования [2]. Взаимодействие с этой областью потенциально может влиять на агрегационные свойства белка [3]. Тем не менее функции α -Syn до сих пор не выяснены. Предполагается, что он участвует в стабилизации мембран, везикулярном транспорте и пресинаптической сигнализации [4, 5]. В нормальных условиях α -Syn существует преимущественно в мономерном состоянии, но в условиях стресса может формировать физиологически альтернативные конформации, как мономерные, так и димерные. Патологические ди- и полимерные формы, образующие фибриллы, превращаются в цитоплазматические включения – тельца и нейриты Леви [4, 6]. Последние рассматриваются как патоморфологические маркеры БП [2].

Нейротоксины, соли тяжелых металлов и другие факторы окружающей среды, как и мутации гена SNCA, повышают склонность α -Syn к полимеризации и агрегации [5]. Предполагаемые механизмы нейротоксичности измененного α -Syn и его агрегатов связаны с митохондриальной дисфункцией, протеолитическим стрессом, оксидативным повреждением и другими воздействиями [2, 5].

α -Syn: агрегаты, отложения и тельца Леви

Ключевым вопросом при БП являются белковые отложения α -Syn с формированием телец Леви (крупные аномальные агрегаты, включающие большое количество неправильно собранного белка) и, вероятно, вызывающие дисфункцию нейронов, которая затрагивает многие другие области мозга и нейротрансмиттерные системы [7–9].

Тельца Леви, если их расценивать как патоморфологический маркер БП, наиболее характерны для черной субстанции (ЧС) среднего мозга, но они также обнаруживаются в двигательных ядрах блуждающего нерва, базальных ядрах Мейнерта, голубом пятне и располагаются диффузно в других структурах на более поздних сроках болезни [6, 9, 10]. При этом агрегаты α -Syn могут быть маркерами и других нейродегенеративных заболеваний – деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, нейродегенераций с накоплением железа и т.д. При БП и деменции с тельцами Леви агрегаты выявляются не только в телах клеток, но и в отростках нейронов и глии [1, 6]. При мультисистемной атрофии эти агрегаты α -Syn видны как цитоплазматические включения в нейронах и клетках глии. При нейроаксональной дистрофии (нейродегенерации с накоплением железа II типа) они выявляются в виде аксональных сфероидов [6].

Выявление ранних патологических синуклеин-позитивных включений, телец и нейритов Леви легло в основу известной гипотезы Браака, предполагающей периферическое начало нейродегенеративного процесса при БП [4]. В поддержку этой гипотезы получено большое количество данных о периферической локализации иммуногистохимических маркеров, что также подтверждается работами на основе метаанализа [2].

Гипотеза Браака

Гипотеза Хейко Браака была предложена в 2003 году и состояла в том, что неизвестный патоген, например вирус или бактерия, может вызывать в пищеварительной системе условия для развития спорадической формы БП [4]. Браак с соавторами предложили схему ретроградного распространения патологии, предполагая, что на ранних стадиях повреждение при БП начинается не в дофаминергических структурах, в нижнем стволе головного мозга, а в обонятельных луковицах или периферической нервной системе и через обонятельный тракт и блуждающий нерв, соответственно, переносится к центральной нервной системе (ЦНС) и внутри нее.

Кишечный путь экспансии патологии связан с агрегацией α -Syn, попадающего из нервной системы кишечника в головной мозг ретроградно по блуждающему нерву. Вероятно, такое течение справедливо для части случаев спорадической формы болезни Паркинсона [4, 11].

Браак разработал классификацию предсимптомных стадий течения болезни Паркинсона [4]:

- на стадиях 1–2 патология ограничивается преимущественно продолговатым мозгом либо обонятельными луковицами и передним обонятельным ядром;
- на стадиях 3–4 поражаются черная субстанция и другие ядра среднего и переднего мозга и клинически проявляются первоначальные, незначительные нарушения, которые в дальнейшем усиливаются, проявляя себя как серьезные патологические изменения (в этот период предсимптоматический этап переходит в клинически выраженную форму патологии, как правило уже четко диагностируемую неврологами);
- на стадиях 5–6, конечных, патологический процесс поражает верхние отделы мозга, в том числе неокортекс, и болезнь проявляется во всех клинических изменениях [4].

После длительного обсуждения гипотезы Браака ее интерпретация была расширена – о вероятно двойном проникновении агента, через нейроны полости носа и нейроны кишечника [12]. Предполагалось, что на ранних стадиях БП начинается не в дофаминергических структурах, в нижнем стволе головного мозга, а в обонятельных луковицах или, возможно, в периферической вегетативной нервной системе, что объясняет раннее появление немоторных симптомов [4, 11, 14, 30]. Эта немоторная теория возникновения БП также имеет недостатки, поскольку применяется в основном к пациентам с ранним началом и длительно протекающим заболеванием. Не менее спорной является связь между появлением телец Леви и клиническими проявлениями БП [11].

В последнее десятилетие гипотеза Браака как критиковалась, так и подтверждалась разными исследованиями. В обзорных статьях последних лет [11, 13] авторы на основании обобщенного материала пришли к выводу, что гипотеза Браака подтверждается и *in vitro*,

и *in vivo*, и клиническими данными. Тем не менее указывается, что система стадий Браака описывает только определенную группу пациентов с ранним началом и длительной продолжительностью заболевания [11].

Моторная теория имеет недостатки, поскольку она применяется в основном к подгруппе пациентов с ранним началом и длительной продолжительностью заболевания. Спорна также связь между болезнью с тельцами Леви и особенностями клинических проявлений БП [11].

Блуждающий нерв

Важным элементом гипотезы Браака является распространение патологии α -Syn от периферической нервной системы кишечника до ЦНС через блуждающий нерв и его дорсальное моторное ядро. В рамках гипотезы объясняется распространение патологии от периферии до продолговатого мозга. Продолговатый мозг, как нижняя часть ствола мозга, выступает в роли перевалочного пункта по направлению к черной субстанции и в дальнейшем к неокортексу.

Некоторые авторы пишут о малом влиянии патологии, поражающей дорсальное ядро вагуса, на соседние ядра, приводя в пример ядро одиночного пути [11], однако известно, что БП влияет на функции других близко расположенных ядер (например, маскообразное лицо, гиперсаливация указывают на включение в патологию ядер подъязычного, тройничного, лицевого нервов) [14, 15]. Распространение патологии и поражение структур по времени, а не по принципу ближайшего их расположения объясняется, вероятно, тем, что играет роль не только близость локализации самих структур и/или наличие синаптических связей [16], но и действие явления, похожего на волну распространения [17].

В нейронах экзосомальное высвобождение увеличивается благодаря деполяризации, в случае с α -Syn оно зависит от кальция [11, 18]. Эндцитоз, по крайней мере в нервных окончаниях и терминалах, также усиливается благодаря кальцию [11].

Вероятно, важнейшую роль играет какой-то модификатор чувствительности, определяющий восприимчивость клеток к молекулам α -Syn, которые приобрели прионные свойства. Одной из ключевых особенностей маловосприимчивых нейронов, возможно, является значительно повышенная концентрация цитозольного кальция [17].

Огромная площадь аксонального ветвления также может служить мощным каналом для распространения α -Syn, и если для этих целей требуется изменение уровня цитозольного кальция, повышающееся после увеличения активности клеток [17], то паттерн патологии становится более понятным. Это также означало бы, что на уязвимые нейроны идет воздействие в двух направлениях: метаболическом и протеостатическом [17].

У пациентов с БП и болезнью с тельцами Леви были обнаружены патологические изменения в блуждающем нерве [19] и в дорсальном моторном ядре (ДМЯ) ва-

гуса [6, 19]. Наряду с этим сообщалось о потере у пациентов с БП клеток в ДМЯ [20]. Было показано, что патология с тельцами Леви встречается в блуждающих нервах и ДМЯ до того, как распространяется в другие образования ЦНС [4, 15, 19, 21], такие как черная субстанция, голубое пятно, мезокортекс и неокортекс [4]. Кроме того, ваготомия в области усечения нервного ствола, вероятно, уменьшает долгосрочный риск и/или замедляет развитие БП, а возможно, и предотвращает ее проявления. Такие эффекты препятствуют распространению через блуждающий нерв патологических изменений [11], но насколько такой подход корректно переносить на человека, в первую очередь зависит от специфичности распространения процесса через блуждающий нерв.

Когда α -Syn вводили в стенку желудка и двенадцатиперстной кишки крыс, он распространялся по блуждающему нерву к ДМЯ [11]. Если на подобной модели крысам дополнительно вводили ротенон, α -Syn распространялся через нервную систему желудка и кишечника по блуждающему нерву в ДМЯ и затем в ЧС, вызывая гибель ее нейронов [15]. Для проверки специфичности распространения α -Syn на фоне введения ротенона у животных проводили ваготомию [15].

В результате можно сделать заключение, что блуждающий нерв необходим для распространения патологии α -Syn от кишечного отдела периферической нервной системы (ПНС) к ЦНС, по крайней мере у мышей и крыс. Вероятно, этот путь распространения α -Syn справедлив и для отдельных случаев развития БП у людей.

Генетика альфа-синуклеина

В гене α -Syn (SNCA) было обнаружено несколько точечных мутаций, приводящих к БП (A31P, A53T, E46K, H50Q и G51D) или дупликацией локуса) или его трипликацией [8, 22, 23].

Мутации в гене α -Syn, связанные с аутосомно-доминантными ранними формами БП [24], способствуют конверсии *in vitro* изначально развернутого белка без постоянной формы [25]. Предполагается, что упорядоченные префибриллярные олигомеры, а не сама фибрилла могут вызвать прогрессирующую гибель клеток [26]. Замечено, что протофибриллы измененного α -Syn заметно отличаются от фибрилл по взаимодействию с синтетическими мембранами [26].

Причина избирательной гибели дофаминергических нейронов при БП до конца неизвестна, но накопление α -Syn в культивируемых дофаминергических нейронах человека приводит к их апоптозу, который требует эндогенной продукции дофамина и опосредуется активными формами кислорода. Тем не менее α -Syn нетоксичен для недофаминергических нейронов головного мозга человека и, возможно, оказывает нейропротекторное действие [27]. Дофаминзависимая нейротоксичность опосредуется 54 растворимыми белковыми комплексами, содержащими α -Syn и белки 14-3-3, количество которых избирательно выше в ЧС при БП. Таким об-

разом, вероятно, накопление растворимых белковых комплексов α -Syn может сделать эндогенный дофамин токсичным, что предполагает потенциальный механизм селективной потери нейронов при БП [27, 28].

Альфа-синуклеин является основным компонентом фибриллярных агрегатов, входящих в состав телец Леви, и почти 90% этих агрегатов составляет α -Syn, фосфорилированный по серину-129 (Ser-129), однако его роль в биогенезе телец Леви остается не до конца ясной [28].

В работе на трансгенных мышах, экспрессирующих человеческий α -Syn, было продемонстрировано, что нарушения работы кишечника у этих животных проявляются уже на 3–6-м месяце жизни, а после 9-го месяца у них наблюдаются патологические процессы в ЦНС [29].

На животных моделях с применением МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин), а также при анализе ликвора пациентов с БП было показано выявление салсолинола (N-methyl(R)salsolinol), который, вероятно, может играть определенную роль в патологическом процессе при БП [30, 31].

Пока в паузине взаимодействий генетических факторов и окружающей среды разобраться до конца не представляется возможным, но исследовательская работа в этом направлении идет [8]. Возможно, что как экологические, так и генетические факторы взаимодействуют, вызывая спорадические формы БП. В результате поиск потенциальных факторов окружающей среды продолжается и на моделях животных, и в эпидемиологических исследованиях на человеке.

Прионная гипотеза

Нейротоксичность α -Syn объясняет предположение, что он, подобно приону, распространяется по нервной системе при БП [25]. В рамках прионной теории патологический неправильно свернутый – модифицированный α -Syn – представляет собой инфекционный белок, который распространяется по нервной системе, провяля свои токсические свойства и являясь матрицей для неправильной сборки собственного белка в клетке. В результате ранее здоровый белок α -Syn превращается в токсичный белок [25], приводя в дальнейшем к образованию телец и агрегатов Леви [32] и гибели клеток [33].

Прионоподобная теория вписывается в гипотезу Браака [25, 11], поскольку система стадий у него основана на региональном наличии (или отсутствии) агрегатов белков и телец Леви и их распространении, все это увязывается с тяжестью заболевания [4].

Токсичность α -Syn в целом не определена до конца, и в литературе еще обсуждаются эксперименты о цитопротекторной роли агрегированного α -Syn [11]. В то же время есть предположение, что олигомерная форма α -Syn является наиболее токсичной [11, 34] по сравнению с мономерами [18], а также более высока токсичность олигомеров, связанных с экзосомами [35], по сравнению со свободными молекулами олигомеров α -Syn [36].

Обобщенные данные о работе с привнесением чужеродного α -Syn показывают, что происходит ин-

дуцирование копирования чужеродной формы α -Syn и образование агрегатов, подобных агрегатам и тельцам Леви, в нейронах реципиента [33]. Отмечено, что патологический процесс происходит и при нормальной, и при повышенной экспрессии [31].

Интересным моментом является то, что передача патологических молекул между клетками была показана даже от собственных клеток к трансплантированным, в которых выявляются патологические белки и даже агрегаты и тельца Леви [11]. Передача α -Syn от реципиента к трансплантату также была показана для нейрональных стволовых клеток мыши [33] и эмбриональных дофаминергических нейронов [32], имплантированных трансгенным мышам с повышенной экспрессией α -Syn человека. Похожие результаты продемонстрированы и на крысах при использовании эмбриональных дофаминергических нейронов с повышенной экспрессией α -Syn человека на фоне истощения дофаминового пула [11, 37].

Таким образом, показано, что здоровые нейроны в ЦНС чувствительны к патологическому процессу, вероятно, поглощая патологические белки и агрегаты из окружающей среды, в которую те попадают из пораженных нейронов [11].

Пока транспорт α -Syn и фрагментов телец Леви через нервную систему не до конца объяснен, в том числе непонятно, почему распространение идет по определенной схеме, например, как предполагает гипотеза Браака.

Как нейрональные клеточные линии, так и первичные нейроны способны выделять α -Syn мономеры, олигомеры и фрагменты фибрилл через нетрадиционный кальцийзависимый экзоцитоз из везикул или через экзосомы [15, 16, 18, 36].

Если α -Syn появляется в окружающей среде, то клетки, вероятно, поглощают свободные или связанные с экзосомой фибриллы и олигомеры посредством эндоцитоза, после чего они расщепляются в лизосомах. Это показано на культуральной клеточной линии SH-SY5Y до дифференциации [18] или независимо от дифференциации [33], в то время как мономеры, по-видимому, могут диффундировать через клеточную мембрану и не подвергаться лизису и не деградировать [16, 33, 36].

Также на клеточных линиях SH-SY5Y была продемонстрирована передача специфических молекул α -Syn между клетками при культивировании двух модификаций линий, отличающихся флуорохромами либо красного, либо зеленого цвета [32]. Совместное культивирование привело к двойным меченым нейронам, показывая процесс последующего выделения и поглощения α -Syn соседними клетками [32].

Поглощенный подобным образом α -Syn может транспортироваться антероградно или ретроградно через аксоны и передаваться другим нейронам [11, 15], обеспечивая потенциальный путь для распространения патологии между связанными областями нервной системы у пациентов с БП [12].

В литературе описана гипотеза о передаче α -Syn от нейрона к нейрону, связанная с LAG3 геном (ген активации трансмембранного белка лимфоцитов 3) [11]. Вероятно, LAG3 может связывать предварительно сформированные α -Syn фибриллы (PFFs) с высоким показателем аффинности и инициирует эндоцитоз и последующую передачу и токсичность PFF α -Syn, что показано на клетках линии SH-SY5Y. В исследовании на мышах, лишенных белка LAG3, обнаруживали замедление патологии, вызванной предварительно сформированными фибриллами (PFF) α -Syn [11]. Известно, что нейроны головного мозга, пораженные патологией с формированием телец и агрегатов Леви при БП, имеют специфические характеристики, которые, вероятно, связаны с высокой метаболической нагрузкой, что делает эти нейроны особенно чувствительными к окислительному стрессу и неправильному сворачиванию α -Syn [11]. Эти нейроны имеют высокий уровень эндогенного α -Syn, что само по себе не является определяющим параметром, так как областей с высокой экспрессией α -Syn много по всему мозгу [38], но они в основном используют моноаминовые нейротрансмиттеры, имеют длинные и сильно разветвленные по разным областям мозга аксоны с отсутствием миелинизации или плохой миелинизацией и характерными паттернами непрерывной активности [4, 17, 39]. Все условия вместе могли бы объяснить, почему патология БП развивается по определенным принципам, близким к схеме, предложенной Брааком [11].

Кроме того, на аутопсийном материале обонятельных луковиц выявляли агрегаты α -Syn в 95% у пациентов с БП и лишь в 7% случаев у пожилых неврологически здоровых людей [40].

Микробиота

Около 20 лет в литературе обсуждается гипотеза участия микробиоты кишечника в течении нейродегенеративного заболевания.

Группа исследователей под руководством С. Мажманьяна провела ряд экспериментов, демонстрирующих, что трансплантация микробиома от больных паркинсонизмом приводит к развитию патологии у животных, особенно у линии с повышенной экспрессией α -Syn [41].

Кроме того, обсуждается вероятное влияние микробиома кишечника на ЦНС, в том числе на микроглию [42]. К сожалению, систематическая группа бактерий или их некая совокупность не определены, так же, как неизвестен механизм влияния, но предположительными агентами влияния микробиома могут выступать короткие цепочки жирных кислот [42].

Изменение рациона питания животных может существенно влиять на состав кишечного микробиома, возможно, как количественно, так и качественно [11].

Комменсальная, то есть симбиотическая, микрофлора процветает на субстрате, доступном для ферментации в толстой кишке, избегая вышележащей тонкой кишки [11]. Классический пример – увеличение

роста бактерий толстой кишки, которые производят короткие цепочки жирных кислот, при употреблении в пищу продуктов, богатых клетчаткой. Эти короткие цепочки жирных кислот, вероятно, обладают системным противовоспалительным действием [43] и, следовательно, могут влиять на патогенез БП через данный механизм или его нарушение, опосредованное изменением микрофлоры кишечника.

Примером изменения диеты с сокращением доли клетчатки является вариант с высоким содержанием насыщенных жиров и рафинированных углеводов, получивший распространение при современном образе жизни в крупных городах. Подобный рацион может привести к дисбиотическому нарушению, изменению состава микробиоты, например снижению количества бифидобактерий, повышению числа фирмикотов и протеобактерий [11], что вызывает провоспалительные реакции и развитие α -Syn патологии [11]. Отсюда следует много вопросов о том, насколько этническое происхождение определяет встречаемость паркинсонизма и влияет на устойчивость к современной диете. Важно также уточнить, сохраняет ли показатель заболеваемости этническая группа с классическим рационом при жизни в другой стране и приобрела ли европейская популяция с современной диетой устойчивость к этим факторам.

Говоря о расовых или национальных особенностях, безусловно предполагаются данные генетики, в том числе наследственные формы, часто и редко встречаемые мутации и перестройки в генах [8, 11].

Таким образом, продолжение исследований рациона питания, генетических исследований микробиома, функциональных и морфологических исследований поможет определить механизм влияния состояния пищеварительной системы на патогенез БП.

Выявление α -Syn в органах и тканях

Локализация α -Syn в мономерной и олигомерной форме не исчерпывается только нервной системой, α -Syn представлен в эритроцитах, цереброспинальной жидкости, плазме крови, слюне [16], что плохо укладывается в концепцию исключительно внутриклеточной локализации белка. К настоящему времени исследование биологических жидкостей – цереброспинальной и плазмы крови – на различные изоформы α -Syn не давало надежных результатов с выявлением нейродегенеративного процесса [2, 16, 44]. На этом фоне поиск α -Syn в тканях, иннервируемых вегетативной нервной системой, выглядит более перспективным [25, 45].

В работах, подтверждающих гипотезу Браака, было показано присутствие телец, нейритов и агрегатов Леви в нейронах обонятельного тракта [40] и в нервной системе кишечника [4, 46]. Тяжелые формы агрегатов Леви коррелируют с запорами и двигательными проблемами у пациентов с БП [39]. Имеются также клинические данные о том, что агрегаты Леви в носовой и желудочно-кишечной областях потенциально предшествуют диагностике заболевания [4, 21, 46], что приводит к жа-

лобам на работу пищеварительного тракта и нарушение обоняния до появления двигательных расстройств [47].

При исследовании биопсий малых слюнных желез в полости рта α -Syn обнаружили в 60% случаев при БП и в 31% случаев в группе контроля [47]. Согласно другим оценкам, при исследовании слюнных желез специфичность и чувствительность иммуногистохимического метода на α -Syn при БП достигает 100% [2]. В нервах, иннервирующих область гортани, при БП плотность позитивных волокон, содержащих α -Syn, была выше у пациентов с дисфагией [44]. В образцах биопсий кожи α -Syn регистрировали лишь в 20% случаев при специфичности около 80% [2].

На биопсийном материале слизистой оболочки толстой кишки обнаружили 100% специфичность фосфорилированного α -Syn как маркера БП, но чувствительность данного метода не превышала 70–80% [39]. Есть данные, что выявляемость α -Syn в слизистом слое и подслизистом слое кишечника у пациентов с БП определялась на уровне 55%, а в контроле – у одного из 10 [48]. Включения α -Syn были обнаружены в метасимпатической нервной системе кишечника даже на ранних стадиях БП, при этом α -Syn также выявлялся в дорсальном моторном ядре вагуса [4].

В разных ганглиях и сплетениях ПНС показана разная частота выявления α -Syn. Так, в симпатических ганглиях агрегаты α -Syn находили в 80% случаев, в блуждающем нерве – в 73%, в седалищном нерве – в 50%, в желудочно-кишечном тракте – в 65%, в органах дыхательных путей (гортань, первичные бронхи, легкие) – в 12,5%, в эндокринных органах – в 22%, в мочеполовой системе – в 12,5% [2, 40]. При исследовании биопсий кожи показано выявление включений α -Syn [49] от чрезвычайно низкого уровня в контроле до 70% в биопсиях кожи пациентов с БП и с мультисистемной атрофией [49]. В образцах биопсий кожи спины (на уровне нижнего грудного и верхнего поясничного позвонка) α -Syn выявлялся в 16 пробах из 32 (52%), в биоптатах кожи проксимального отдела ноги (внутренняя поверхность бедра) – в шести, в дистальном отделе – в четырех, на указательном пальце – в пяти пробах [49].

Нервные волокна кожи, имеющие включения α -Syn, локализовались в немиелинизированных волокнах ЦНС [4]. Среди этих волокон показана преимущественная выявляемость в нейронах и их отростках, позитивно окрашиваемых на субстанцию Р (SP) и тирозингидроксилазу (ТН) [2, 49]. Также накопления α -Syn встречаются в волокнах, позитивных на вазоактивный интестинальный пептид (VIP) и пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP). Предполагается, что выявление α -Syn в SP-позитивных структурах может быть признаком ранних этапов развития заболевания [4, 49].

Заключение

Продолжительная работа по изучению роли α -Syn в патологическом процессе и нейродегенерации показала большое значение этого белка в распространении

и течения заболевания. При этом механизм перехода нормальной функции α -Syn в патологический процесс до сих пор в достаточной степени не раскрыт. И тем не менее нет сомнений, что даже если в будущем α -Syn выйдет из обсуждения первопричин заболевания, его роль в патологии останется первостепенной.

При болезни Паркинсона локализация агрегатов α -Syn не ограничивается структурами ЦНС. Они выявляются также в периферических тканях и органах, что может иметь большое значение для верификации патологического процесса в наиболее ранней (латентной) стадии, то есть еще до дебюта классических (моторных) признаков заболевания и гибели большей части нейронов черной субстанции [4].

Показано, что неправильное свертывание и агрегация α -Syn приводят к образованию телец Леви в выживших нейронах, и поэтому предполагается, что борьба с агрегацией α -Syn имеет потенциальную терапевтическую ценность [11].

Разнообразие данных до сих пор вызывало ряд вопросов, касающихся условий проводимой работы и стабильности получаемых результатов, и в большом совместном исследовании нескольких клинических центров, в которых проводился забор биопсийного материала и биологических жидкостей с целью оценки содержания α -Syn при болезни Паркинсона, было показано, что наиболее стабильные и высокие показатели выявляемости имел материал биопсий толстой кишки, слюнных желез и кожи [50]. Кроме того, эта работа показала высокую воспроизводимость результатов разными исследователями, что указывает на достаточный потенциал развития методов для применения в клинической практике.

Литература/References

1. *Uversky V.* Neuropathology, biochemistry, and biophysics of alpha-synuclein aggregation. *J. Neurochem.* 2007;103:17–37. doi:10.1111/j.1471-4159.2007.04764.x.
2. *Malek N, Swallow D, Grosset KA, Anichtchik O, Spillantini M, Grosset DG.* Alpha-synuclein in peripheral tissues and body fluids as a biomarker for Parkinson's disease – a systematic review. *Acta Neurol. Scand.* 2014;130:59–72. doi:10.1111/ane.12247.
3. *Bernstein SL, Liu D, Wytenbach T, Bowers MT, Lee JC, Gray HB et al.* Alpha-synuclein: stable compact and extended monomeric structures and pH dependence of dimer formation. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2004;15:1435–43. doi: 10.1016/j.jasms.2004.08.003.
4. *Braak H, Del Tredici K.* Neuropathological Staging of Brain Pathology in Sporadic Parkinson's disease: Separating the Wheat from the Chaff. *J. Parkinsons Dis.* 2017;7(s1):S71–S85. doi:10.3233/JPD-179001.
5. *Breydo L, Wu JW, Uversky VN.* Alpha-synuclein misfolding and Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012;1822:261–85. doi:10.1016/j.bbadis.2011.10.002.
6. *Jellinger KA, Korczyn AD.* Are dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia the same disease? *BMC Med.* 2018;6;16(1):34. doi:10.1186/s12916-018-1016-8. MID: 29510692.

7. Левин О.С., Васенина Е.Е., Аникина М.А., Макотрова Т.А. Деменция с тельцами Леви. Журнал неврологии и психиатрии. 2012;10(2):3–12
Levin OS, Vasenina EE, Anikina MA, Makotrova TA. Dementia with Lewy bodies. Zhurnal neurologii i psikiatrii, 2012;10(2):3–12. (In Russ.)].
8. Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2011;6:46–51
Pchelina SN. Alpha-synuclein as a biomarker of Parkinson's disease. Annaly klinicheskoi i eksperimental'noi neurologii. 2011;6:46–51 (In Russ.).
9. Kosaka K. Lewy body disease and dementia with Lewy bodies. Proc Jpn Acad, Ser B Phys Biol Sci. 2014;90(8):301–6. doi:10.2183/pjab.90.301.
10. Sal'kov VN, Khudoerkov RM, Voronkov DN. Morphometric Characteristics of Cell Structures in the Substantia Nigra in Humans. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2017;47(3):366–9. doi:10.1007/s11055-017-0406-2.
11. Rietdijk CD, Perez-Pardo P, Garssen J, van Wezel RJ, Kraneveld AD. Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease. Front. Neurol. 2017;37(8). doi:10.3389/fneur.2017.00037.
12. Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. Parkinson's disease: the dual hit theory revisited. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2009;1170:615–22. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04365.x.
13. Cova I, Priori A. Diagnostic biomarker for Parkinson's disease at a glance: where are we? J. Neural Transm. Vienna. 2018;125(10):1417–32. doi:10.1007/s00702-018-1910-4.
14. Залылова З.А. Гиперсаливация при болезни Паркинсона: причины и возможности лечения. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2015.115(10):71–77.
Zalyalova ZA. Hypersalivation in Parkinson's disease: causes and treatment options. Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. Spetsvypuski. 2015.115(10):71–77. (In Russ.). doi:10.17116/jnevro201511510271-77.
15. Halliday G, Barker R, Rowe D. Non-dopamine Lesions in Parkinson's Disease. Ed. G. Oxford University Press, 2011. 314 p. doi:10.1093/med/9780195371086.001.0001.
16. Lee HJ, Suk JE, Bae EJ, Lee JH, Paik SR, Lee SJ. Assembly-dependent endocytosis and clearance of extracellular α -synuclein. Int J. Biochem Cell Biol. 2008;40:1835–49. doi:10.1016/j.biocel.2008.01.017.
17. Surmeier DJ, Sulzer D. The pathology roadmap in Parkinson disease. Prion. 2013;7:85–91. doi:10.4161/pri.23582.
18. Emmanouilidou E, Melachroinou K, Roumeliotis T, Garbis SD, Ntzouni M, Margaritis LH et al. Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. J.Neurosci. 2010;30: 6838–51. doi:10.1523/jneurosci.5699-09.2010.
19. Del Tredici K, Hawkes CH, Ghebremedhin E, Braak H. Lewy pathology in the submandibular gland of individuals with incidental Lewy body disease and sporadic Parkinson's disease. Acta Neuropathol. 2010;119:703–13. doi:10.1007/s00401-010-0665-2.
20. Gai WP, Blumbergs PC, Geffen LB, Blessing WW. Age-related loss of dorsal vagal neurons in Parkinson's disease. Neurology. 1992;42:2106–11. doi:10.1212/wnl.42.11.2106.
21. Bloch A, Probst A, Bissig H, Adams H, Tolnay M. α -Synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. Neuro-pathol Appl Neurobiol. 2006;32:284–95. doi:10.1111/j.1365-2990.2006.00727.x.
22. Nishioka K, Hayashi S, Farrer MJ, Singleton AB, Yoshino H, Imai H et al. Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease. Ann Neurol. 2006;59:298–309. doi:10.1002/ana.20753.
23. Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. Метилирование ДНК при нейродегенеративных заболеваниях. Генетика. 2019;55(3):247–254.
Fedotova EYU, Illarioshkin SN. Metilirovanie DNK pri nejrodegenerativnyh zabolevaniyah. Genetika. 2019;55(3):247–254 (In Russ.). doi:10.1134/S001667581903007X.
24. Shulskaya MV, Alieva AKh, Vlasov IN, Zyryn VV, Fedotova EYu, Abramychcheva NYu et al. Whole-exome sequencing in searching for new variants associated with the development of parkinson's disease. Frontiers in Aging Neuroscience. 2018;10:136. doi: 10.3389/fnagi.2018.00136.
25. Goedert M. Neurodegeneration. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A β , tau, and α -Synuclein. Science. 2015;7(349): 6248:1255555. doi:10.1126/science.1255555.
26. Volles MJ, Lee SJ, Rochet JC, Shtilerman MD, Ding TT, Kessler JC et al. Vesicle permeabilization by protofibrillar alpha-synuclein: implications for the pathogenesis and treatment of Parkinson's disease. Biochemistry. 2001;40:7812–9. doi:10.1021/bi0102398.
27. Xu J, Kao SY, Lee FJ, Song W, Jin LW, Yankner BA. Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: a mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. Nat. Med. 2002;8:600–6. doi:10.1038/nm0602-600.
28. Machiya Y, Hara S, Arawaka S, Fukushima S, Sato H, Sakamoto M et al. Phosphorylated alpha-synuclein at Ser-129 is targeted to the proteasome pathway in a ubiquitin-independent manner. J Biol Chem. 2010;285(52):40732–44. doi:10.1074/jbc.M110.141952.
29. Rota L, Pellegrini C, Benvenuti L, Antonioli L, Fornai M, Blandizzi C et al. Constipation, deficit in colon contractions and alpha-synuclein inclusions within the colon precede motor abnormalities and neurodegeneration in the central nervous system in a mouse model of alpha-synucleinopathy. Transl Neurodegener. 2019;8:5. doi:10.1186/s40035-019-0146-z5321.2045.
30. Козина Е.А., Хаиндрава В.Г., Кудрин В.С., Кучеряну В.Г., Клодт П.Д., Бочаров Е.В. и соавт. Экспериментальное моделирование функциональной недостаточности nigrostriатной дофаминергической системы у мышей. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2010;96(3): 270–282.
Kozina EA, Khaindrava VG, Kudrin VS, Kucheryanu VG, Klodt PD, Bocharov EV et al. Experimental modeling of functional deficiency of the nigrostriatal dopaminergic system in mice. Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova. 2010;96(3):270–282 (In Russ.).
31. Угрюмов М.В., Козина Е.А., Хаиндрава В.Г., Кудрин В.С., Кучеряну В.Г., Клодт П.М. и соавт. Моделирование паркинсонизма у мышей при помощи МФТП: от ранней до

- симптомной до поздней симптомной стадии. Технологии живых систем. 2011;8:3–14.
- Ugryumov MV, Kozina EA, Khaindrava VG, Kudrin VS, Kucheryanu VG, Klodt PM et al. Modeling of parkinsonism in mice using the MPTP: from the early pre-symptomatic to the late symptomatic stage. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2011;8:3–14 (In Russ.).
32. Hansen C, Angot E, Bergstrom AL, Steiner JA, Pieri L, Paul G et al. alpha-Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells. *J Clin Invest*. 2011;121:715–25. doi:10.1172/JCI43366.
 33. Desplats P, Lee HJ, Bae EJ, Patrick C, Rockenstein E, Crews L et al. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:13010–5. doi:10.1073/pnas.0903691106.
 34. Roberts HL, Brown DR. Seeking a mechanism for the toxicity of oligomeric α -Synuclein. *Biomolecules*. 2015;5:282–305. doi:10.3390/biom5020282.
 35. Кулабухова Д.Г., Штам Т.А., Пчелина С.Н. Роль экзосом в передаче альфа-синуклеина при болезни Паркинсона. В сб.: Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Новосибирск, 2018. С. 189–197
 - Kulabukhova DG, Shtam TA, Pchelina SN. The role of exosomes in the transfer of alpha-synuclein in Parkinson's disease. V sb.: Molekulyarno-biologicheskie tekhnologii v meditsinskoj praktike. Novosibirsk, 2018. S. 189–197 (In Russ.).
 36. Danzer KM, Kranich LR, Ruf WP, Cagsal-Getkin O, Winslow AR, Zhu L et al. Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Mol Neurodegener*. 2012;7:42. doi:10.1186/1750-1326-7-42.
 37. Kordower JH, Dodiya HB, Kordower AM, Terpstra B, Pautmier K, Madhavan L et al. Transfer of host-derived alpha synuclein to grafted dopaminergic neurons in rat. *Neurobiol Dis*. 2011; 43(3): 552–7. doi:10.1016/j.nbd.2011.05.001
 38. Voronkov DN, Khudoerkov RM, Sal'nikova OV, Sobolev VB. Localization of α -Synuclein in the Rat Brain and Its Relationship with Dopaminergic Structures. *Neurosci. Behav. Physiol*. 2017;47:1147. doi:10.1007/s11055-017-0522-z.
 39. Lebowier T, Neunlist M, des Varannes SB, Coron E, Drouard A, N'Guyen JM et al. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One*. 2010.5:e12728. doi:10.1371/journal.pone.0012728.
 40. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL et al. Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*. 2010;119:689–702. doi:10.1007/s00401-010-0664-3.
 41. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*. 2016;1;167(6):1469–80.e12. doi:10.1016/j.cell.2016.11.018.
 42. Abdel-Haq R, Johannes CM, Glass CK, Mazmanian SK. Microbiome–microglia connections via the gut–brain axis. *JEM Home*. 2019;216(1):41. doi:10.1084/jem.20180794.
 43. Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity*. 2014;40:128–39. doi:10.1016/j.immuni.2013.12.007.
 44. Mu L, Sobotka S, Chen J, Su H, Sanders I, Nyirenda T et al. Parkinson disease affects peripheral sensory nerves in the pharynx. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2013;72: 614–23. doi:10.1097/NEN.0b013e3182965886.
 45. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M. Alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998;95:6469–73. doi:10.1073/pnas.95.11.6469.
 46. Shannon KM, Keshavarzian A, Mutlu E, Dodiya HB, Daian D, Jaglin JA et al. Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012;27:709–15. doi:10.1002/mds.23838.
 47. Cersosimo MG, Raina GB, Pecci C, Pellene A, Calandra CR, Gutiérrez C et al. Gastrointestinal manifestations in Parkinson's disease: prevalence and occurrence before motor symptoms. *J Neurol*. 2013;260:1332–8. doi:10.1007/s00415-012-6801-2.
 48. Pouclet H, Lebowier T, Coron E, des Varannes SB, Neunlist M, Derkinderen P et al. A comparison between colonic submucosa and mucosa to detect Lewy pathology in Parkinson's disease. *Neurogastroenterol. Motil*. 2012;24:e202–205. doi:10.1111/j.1365-2982.2012.01887.x.
 49. Doppler K, Jentschke HM, Schulmeyer L, Vadasz D, Janzen A, Luster M et al. Dermal phospho-alpha-synuclein deposits confirm REM sleep behaviour disorder as prodromal Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 2017;133(4):535–45. doi:10.1007/s00401-017-1684-z.
 50. Chahine LM, Beach TG, Seedorff N, Caspell-Garcia C, Coffey CS, Brumm M et al. α -Systemic Synuclein Sampling study. Feasibility and Safety of Multicenter Tissue and Biofluid Sampling for α -Synuclein in Parkinson's Disease: The Systemic Synuclein Sampling Study (S4). *J Parkinsons Dis*. 2018;8(4):517–27. doi:10.3233/JPD-181434.

Информация об авторах

Валерий Борисович Соболев – младший научный сотрудник лаборатории функциональной морфохимии отдела исследований мозга Научного центра неврологии.

Рудольф Михайлович Худоевков – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией функциональной морфохимии отдела исследований мозга Научного центра неврологии.

Author information

Valeriy B. Sobolev – Junior Researcher, Laboratory of Functional Morphochemistry, Brain Research Department, Research Center of Neurology. <http://orcid.org/0000-0002-7704-1092>.

Rudolf M. Khudoerkov – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Functional Morphochemistry, Brain Research Department, Research Center of Neurology, Brain Research Department, Research Center of Neurology. <http://orcid.org/0000-0002-6951-3918>.