

DOI: 10.7868/S086981391806014X

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ  
АЛЬФА-СИНУКЛЕИНОВОЙ ПАТОЛОГИИ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ  
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ  
ПАРКИНСОНА У КРЫС**

© Д. В. Плаксина, И. В. Екимова

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия  
E-mail: daf205@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — неизлечимое нейродегенеративное заболевание, одним из патоморфологических признаков которого является формирование в нейронах патологических  $\alpha$ -синуклеин-позитивных включений. В модели доклинической стадии БП у крыс среднего возраста и при старении, созданной на основе нарастающего угнетения активности протеасом в головном мозге, с помощью методов световой и конфокальной микроскопии изучено наличие и локализация патологических  $\alpha$ -синуклеин-позитивных включений в дофамин(ДА)ергических нейронах компактной части черной субстанции (кчЧС) и обонятельной луковицы. Установлено, что при моделировании БП агрегаты  $\alpha$ -синуклеина локализируются в цитоплазме ДАергических нейронов обонятельной луковицы, а также в цитоплазме и ядрах ДАергических нейронов кчЧС. Особенностью проявления  $\alpha$ -синуклеиновой патологии у крыс при старении является отложение в телах их нервных клеток более крупных агрегатов  $\alpha$ -синуклеина по сравнению с крысами среднего возраста.

*Ключевые слова:* болезнь Паркинсона, лактацистин, агрегаты  $\alpha$ -синуклеина, черная субстанция, обонятельная луковица, старение, крысы.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 6. С. 709—716. 2018

*D. V. Plaksina, I. V. Ekimova. AGE-RELATED FEATURES OF ALPHA-SYNUCLEIN PATHOLOGY IN THE BRAIN IN THE MODEL OF PRECLINICAL STAGE OF PARKINSON'S DISEASE IN RATS. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia, e-mail: daf205@yandex.ru.*

Parkinson's disease (PD) is an incurable neurodegenerative disease of the nervous system, one of the pathomorphological signs of which is the formation of abnormal  $\alpha$ -synuclein-positive inclusions in neurons. In the model of the preclinical stage of PD in middle-aged and aged rats, created on the basis of increasing inhibition of proteasome activity in the brain, using the methods of light and confocal microscopy, the presence and localization of abnormal  $\alpha$ -synuclein-positive inclusions in dopamine (DA)-ergic neurons of substantia nigra pars compacta (SNpc) and an olfactory bulb are studied. It is shown that in the model of PD the aggregates of  $\alpha$ -synuclein are localized in the cytoplasm of the olfactory bulb DA-ergic neurons, as well as in the cytoplasm and nuclei of SNpc DA-ergic neurons. A feature of the  $\alpha$ -synuclein pathology in aged rats is the deposition in the neurons of larger aggregates of  $\alpha$ -synuclein in comparison with middle-aged rats.

*Key words:* Parkinson's disease, lactacystin,  $\alpha$ -synuclein aggregates, substantia nigra, olfactory bulb, aging, rats.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 6. P. 709—716. 2018

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое неизлечимое нейродегенеративное заболевание, занимающее второе место в мире по частоте встречаемости, уступая лишь болезни Альцгеймера [13]. БП — системное заболевание нервной системы. Основным патоморфологическим признаком клинической стадии БП является прогрессирующая дегенерация дофамин(ДА)ергической nigростриатной системы, сопряженная с формированием в нейронах черной субстанции телец Леви и развитием нейровоспаления [7]. Основанием для постановки диагноза БП служит появление моторных нарушений в результате гибели более 60 % ДАергических нейронов в компактной части черной субстанции (кчЧС) и их аксонов в дорсальном стриатуме [3]. Нейродегенеративный процесс при БП не ограничивается только nigростриатной системой и охватывает другие отделы мозга (олифакторную и мезокортиколимбическую системы, голубое пятно, ядра шва) и периферическую нервную систему, участвующие в регуляции многих функций мозга и внутренних органов [5].

На сегодняшний день в литературе превалирует мнение, что основной причиной гибели нервных клеток при БП является образование в телах нейронов токсичных агрегатов белка  $\alpha$ -синуклеина. Считается, что ослабление работы убиквитин-протеасомной системы, вызванное различными эндогенными (окислительный стресс, накопление реактивных форм кислорода и аномальных белков и т. д.) и экзогенными (ксенобиотики, тяжелые металлы, нейротоксины) факторами, вносит основной вклад в нарушение конформации белка  $\alpha$ -синуклеина. В «здоровых» нейронах везикулярный белок  $\alpha$ -синуклеин локализуется в цитоплазме и ядре и предположительно вовлекается в процессы регуляции синаптической пластичности. При взаимодействии с фосфолипидами пресинаптической плазматической мембраны  $\alpha$ -синуклеин принимает конформацию  $\alpha$ -спирали [4]. Однако молекулы  $\alpha$ -синуклеина, не связанные с фосфолипидами, не имеют определенной упорядоченной структуры и обладают способностью к агрегации из-за наличия гидрофобного участка в центральной части полипептидной цепи. Считается, что мутации и посттрансляционные модификации, такие как фосфорилирование и гликозилирование, могут служить индукторами патологического процесса агрегации  $\alpha$ -синуклеина [8]. Результатом агрегации является формирование токсичных протофибрилл — олигомерных структур, содержащих  $\alpha$ -синуклеин в  $\beta$ -складчатой форме, которые затем агрегируют в нерастворимые фибриллы [16]. В последние годы показано, что протофибриллы  $\alpha$ -синуклеина могут распространяться между нейронами по прионподобному механизму [15]. Проникая в «здоровые» нейроны, протофибриллы инициируют переход  $\alpha$ -синуклеина из мономерной растворимой конформации в фибриллярную. Так  $\alpha$ -синуклеиновая патология распространяется от нейрона к нейрону. Кроме того, имеются данные, свидетельствующие о том, что патологические формы  $\alpha$ -синуклеина способны связывать субъединицы протеасом и ингибировать работу протеасомной системы [7]. В свою очередь, нарушения в работе этой системы приводят к накоплению в клетках молекул-регуляторов клеточной гибели (p53, NF $\kappa$ B, Bax), которые запускают апоптоз, усугубляя тем самым нейрональную патологию [14].

Согласно классификации стадий развития БП по Брауку [5], основанной на исследовании  $\alpha$ -синуклеиновой патологии у пациентов с БП *post mortem*, на 1-й и 2-й доклинических стадиях агрегаты  $\alpha$ -синуклеина выявляются в обонятельных луковицах, голубом пятне, дорсальном моторном ядре блуждающего нерва, ядрах шва, ретикулярной формации. На 3-й доклинической стадии — в кчЧС и миндалине, а при переходе к клинической стадии заболевания (4—6-я стадии по: [5]) — обнаруживаются в базальных ганглиях, таламусе, сенсорной и префрон-

тальной коре. Несмотря на определенные успехи в изучении патогенеза БП, молекулярные механизмы этого заболевания до сих пор до конца не изучены. Поздняя постановка диагноза в клинической стадии, когда уровень нейродегенерации в кЧС превышает 50—60 %, и применение симптоматической терапии ставят это заболевание в ряд неизлечимых. Считается, что создание адекватных животных моделей доклинической стадии БП будет способствовать развитию инновационных технологий как доклинической диагностики БП, так и нейропротективной терапии. Ранее нами создана пролонгированная модель доклинической стадии БП, основанная на нарастающем угнетении убиквитин-протеасомной системы головного мозга у крыс среднего возраста. Показано, что данная модель характеризуется допороговым уровнем дегенерации ДАергических нейронов в обонятельной луковице, кЧС, вентральной тегментальной области, голубом пятне и развитием нейровоспаления в изученных структурах, а также воспроизводит признаки нарушения сна и когнитивных функций [1, 2, 12]. Однако в данной модели у крыс среднего возраста не был изучен один из основных патоморфологических признаков БП — наличие  $\alpha$ -синуклеиновой патологии в головном мозге. БП — заболевание пожилых людей. Молекулярно-генетические повреждения при старении снижают надежность регуляции клеточного белкового гомеостаза (протеостаза), что является основным фактором риска развития и прогрессирования БП. Поэтому важным представляется получить знания о морфологических особенностях  $\alpha$ -синуклеиновой патологии в головном мозге по мере старения при БП.

Задача настоящего исследования — с помощью методов световой и конфокальной микроскопии провести сравнительный морфологический анализ наличия и локализации патологических  $\alpha$ -синуклеин-позитивных включений в ДАергических нейронах кЧС и обонятельной луковицы при моделировании доклинической стадии БП у крыс среднего возраста и при старении.

## МЕТОДИКА

Опыты проводились на крысах-самцах линии Вистар среднего возраста (6 месяцев) и при старении (20—22 месяца), которых содержали в виварии при постоянной температуре окружающей среды  $23 \pm 1$  °С и свободном доступе к воде и пище. Манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с протоколом, утвержденным комитетом по охране животных ИЭФБ РАН, находящимся в соответствии с национальными и международными требованиями.

Для моделирования доклинической стадии БП использовали специфический ингибитор ферментативной активности протеасом лактацистин (ЛЦ, Enzo, США), который растворяли в апирогенном фосфатном буфере и вводили в дозе 100 мкг/8 мкл в каждую ноздрю крысы дважды с недельным интервалом: общая доза на одну крысу составила 400 мкг. Контрольной группе животных вводили растворитель ЛЦ.

На 21-й день после первой микроинъекции ЛЦ крыс декапитировали, головной мозг извлекали из черепной коробки и фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида при +4 °С в течение 5 дней, промывали в фосфатном буфере (ФБ, рН 7.4) и переносили в 20%-ный раствор сахарозы при +4 °С для криопротекции. Спустя 3—5 дней мозг замораживали в изопентане при температуре –45 °С и хранили при –80 °С. При помощи криостата Leica (Германия) при –20 °С приготавливали чередующиеся серии фронтальных срезов головного мозга толщиной 10 мкм, содержащие обонятельную луковицу и кЧС. Локализацию структур осуществляли с помощью стереотаксического атласа [11].

Для анализа наличия телец Леви, содержащих агрегаты  $\alpha$ -синуклеина в нейронах кЧС, использовали биотин-стрептавидиновый метод. Срезы промывали в ФБ, затем в течение 10 мин выполняли термическую демаскировку антигенов в

цитратном буфере (96—98 °С; рН 6.0). Для гашения активности эндогенной пероксидазы срезы выдерживали в 0.3%-ом растворе пероксида водорода 20 мин. После трехкратной промывки в ФБ срезы на 10 мин помещали в ФБ с добавлением Triton X-100 (Sigma, США) для повышения проницаемости плазматических мембран и затем преинкубировали в блокирующем растворе [3%-й раствор сыворотки козы (Sigma, США) с 0.01%-ным раствором Triton X-100 на ФБ] в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого срезы инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против  $\alpha$ -синуклеина (Novus Biologicals, США, 1:250) в течение 48 ч при температуре +4°С. После трехкратной промывки в ФБ срезы инкубировали в течение 1 ч во вторичных антителах козы против кролика (1:400), конъюгированных с биотином (Vector Lab., США), затем в комплексе стрептавидин-пероксидаза (1:400) (Vector Lab., США). Далее срезы промывали в ФБ и синхронно визуализировали реакцию с помощью 0.05%-го раствора диаминобензидина (Sigma, США) с 0.015 % пероксида водорода на ФБ, проводили по восходящим спиртам и заключали под покровное стекло с помощью среды BioMount (Италия). Срезы хранили при комнатной температуре. Гистологические препараты изучали с помощью микроскопа Karl Zeiss (Imager A1) со встроенной видеокамерой.

Методом двойного иммуноочечения с применением антител против  $\alpha$ -синуклеина и скорость-лимитирующего фермента синтеза ДА-тирозингидроксилазы (ТГ) изучена локализация  $\alpha$ -синуклеина и наличие его агрегатов в ДАергических нейронах обонятельной луковицы и кчЧС. После стандартной предварительной обработки, описанной выше, срезы преинкубировали в блокирующем растворе [3%-й раствор бычьего сывороточного альбумина (Sigma, США) на ФБ] в течение 1 ч при комнатной температуре, затем инкубировали с первичными поликлональными антителами кролика против  $\alpha$ -синуклеина в течение 48 ч при температуре +4 °С. После трехкратной промывки в ФБ срезы инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре во вторичных антителах козы против кролика, конъюгированных с флуоресцентной меткой CF<sup>TM</sup> 488 (1:600) (Sigma, США), затем срезы промывали в ФБ и инкубировали с первичными моноклональными антителами мыши против ТГ (1:1000) (Sigma, США) в течение ночи при комнатной температуре, промывали в ФБ и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре во вторичных антителах козы против мыши, конъюгированных с флуоресцентной меткой CF<sup>TM</sup> 568 (1:600) (Sigma, США). После трехкратной промывки в 0.1М ФБ (рН 7.4) срезы заключали под покровное стекло с помощью среды Mowiol (Sigma, США) и хранили при температуре +4°С. Специфичность всех иммуногистохимических реакций проверяли негативным контролем без первичных или вторичных антител.

Флуоресцентную микроскопию проводили с помощью конфокального микроскопа DM16000 и лазерной установки SP5 II (Leica Microsystems, Германия). Использовали иммерсионный объектив х63 и лазеры с длиной волны возбуждения 488 и 568 нм. Изображения анализировали с помощью пакета программ Leica LAS AF. Для световой микроскопии использовали микроскоп Carl Zeiss (Axio Imager A1, Германия). Подготовку к демонстрации проводили с помощью программы Photoshop CS3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью антител против  $\alpha$ -синуклеина и световой микроскопии установлено, что в контрольных условиях  $\alpha$ -синуклеин распределен диффузно в цитоплазме нейронов кчЧС, что согласуется с исследованиями других авторов [17, 18]. При моделировании доклинической стадии БП на 21-й день после первого введения ЛЦ у крыс в телах нервных клеток кчЧС обнаруживаются тельца Леви. Они имеют характерную морфологию: плотное ядро, иммунопозитивное к антителам

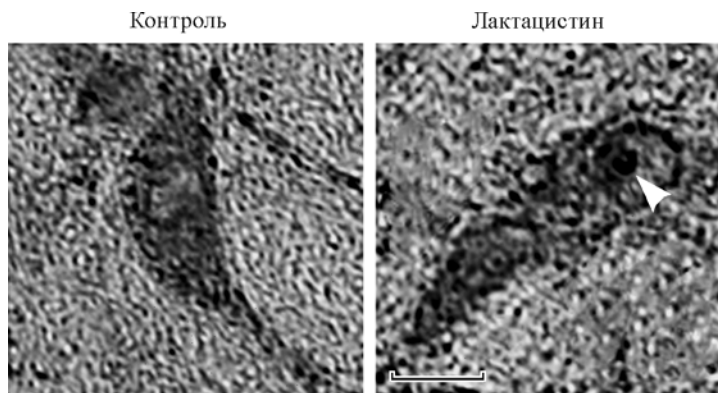


Рис. 1. Тельца Леви в нейронах компактной части черной субстанции при моделировании доклинической стадии болезни Паркинсона у крыс.

Световая микроскопия нейронов компактной части черной субстанции после иммуногистохимической реакции с антителами против  $\alpha$ -синуклеина. *Стрелкой* показано тельце Леви, содержащее агрегированный  $\alpha$ -синуклеин. Масштаб: 5 мкм.

против  $\alpha$ -синуклеина, с бледным ореолом вокруг него (рис. 1). Тельца Леви сходной морфологии наблюдаются у пациентов БП [5]. Образование телец Леви отмечается и при системном введении ингибиторов протеасом эпоксимицина и PSI при моделировании клинической стадии БП у крыс [10].

Методами двойного иммуномечения с использованием антител против ТГ,  $\alpha$ -синуклеина и конфокальной микроскопии проведен морфологический анализ наличия и локализации патологических  $\alpha$ -синуклеин-позитивных включений в ДАергических нейронах кЧС и обонятельной луковицы при моделировании доклинической стадии БП у крыс среднего возраста и при старении. Установлено, что в контрольных условиях  $\alpha$ -синуклеин равномерно распределен в цитоплазме ДАергических нейронов обонятельной луковицы и кЧС у крыс среднего возраста. При моделировании доклинической стадии БП у крыс на 21-й день после введения ЛЦ на результирующем изображении обонятельной луковицы обнаруживались агрегаты белка  $\alpha$ -синуклеина среднего размера в цитоплазме ДАергических нейронов (рис. 2). В ядрах этих клеток  $\alpha$ -синуклеин был распределен диффузно, тельца Леви не выявлялись. При анализе результирующего изображения кЧС агрегаты  $\alpha$ -синуклеина визуализировались не только в цитоплазме, но и в ядрах ДАергических нейронов (рис. 3). У пациентов с БП *post mortem* в нейронах кЧС также обнаруживаются агрегаты  $\alpha$ -синуклеина, локализованные как в цитоплазме, так и в ядре [6].

На результирующих изображениях срезов головного мозга старых крыс показано, что в контрольных условиях  $\alpha$ -синуклеин распределен диффузно в ДАергических нейронах кЧС и обонятельной луковицы, особенностей его локализации по сравнению с контрольными животными среднего возраста обнаружено не было. Однако у пожилых людей, не имеющих в анамнезе БП, отмечается возрастное накопление агрегатов  $\alpha$ -синуклеина в нейронах головного мозга [9]. При моделировании доклинической стадии БП у старых крыс в ДАергических нейронах кЧС и обонятельной луковицы обнаруживались тельца Леви, локализованные в тех же клеточных компартментах, что и у модельных животных среднего возраста. Однако агрегаты  $\alpha$ -синуклеина у старых крыс были более крупного размера по сравнению с агрегатами у крыс среднего возраста, что свидетельствует об усилении процессов агрегации белка  $\alpha$ -синуклеина по мере старения (рис. 2, 3). Так, в посмертных образцах ткани мозга пациентов с БП агрегаты  $\alpha$ -синуклеина гораздо крупнее, чем в образцах ткани людей такого же возраста, не страдающих БП [9].

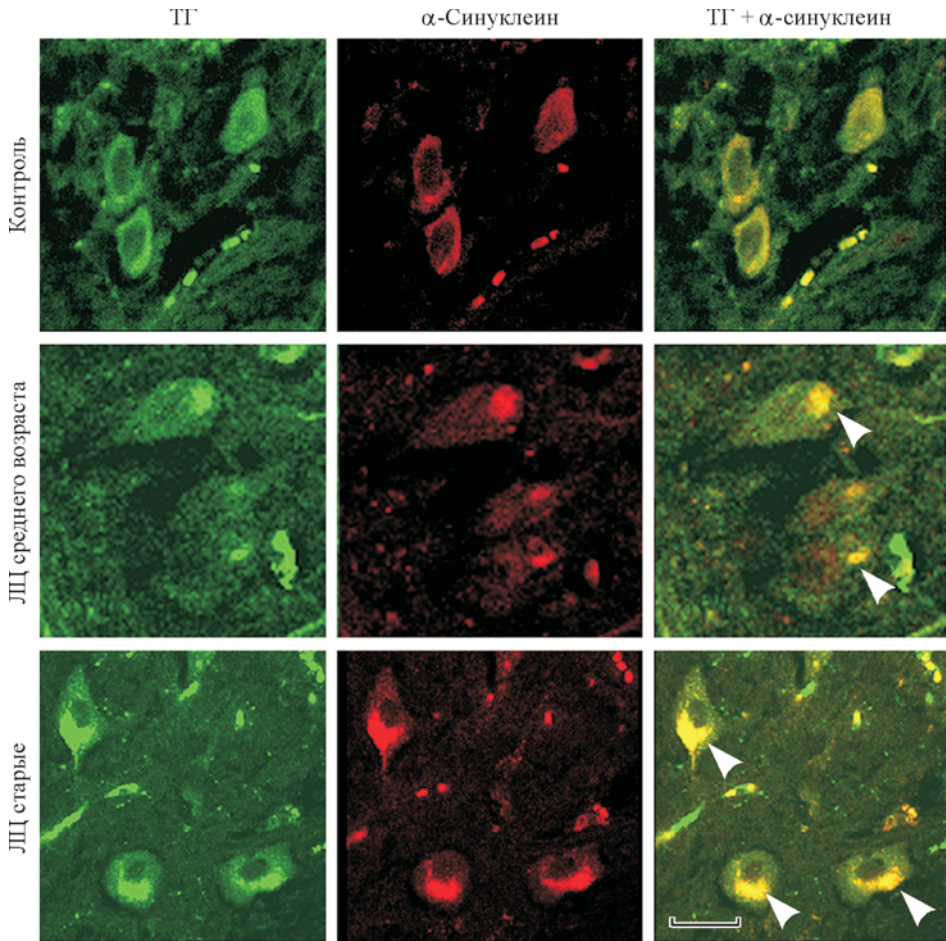


Рис. 2. Локализация агрегатов  $\alpha$ -синуклеина в дофаминергических нейронах обонятельной луковицы при моделировании доклинической стадии болезни Паркинсона с помощью интраназального введения лактацистина (ЛЦ) у крыс среднего возраста и при старении.

Здесь и на рис. 3 конфокальная микроскопия. Двойное иммуномечение с антителами против тирозингидроксилазы (ТГ, зеленый) и  $\alpha$ -синуклеина (красный) и их колокализация (желтый). На результирующих изображениях *стрелками* показаны агрегаты  $\alpha$ -синуклеина в нейронах. Масштаб: 15 мкм.

Таким образом, полученные данные указывают, что интраназальное введение ЛЦ позволяет воспроизводить у крыс один из основных патоморфологических признаков доклинической стадии БП — наличие в дофаминергических нейронах кЧС и обонятельной луковицы телец Леви, содержащих патологические агрегаты белка  $\alpha$ -синуклеина.

При анализе наложения двух изображений обонятельной луковицы или кЧС, зарегистрированных в зеленой (для ТГ) и красной (для  $\alpha$ -синуклеина) областях спектра, обнаружена колокализация (желтый сигнал) обоих белков (рис. 2, 3). Эти данные могут указывать на белок-белковое взаимодействие между агрегированным  $\alpha$ -синуклеином и ТГ. Данное предположение требует дальнейшего изучения, поскольку этот механизм может вносить вклад в уменьшение пула цитозольной ТГ, необходимой для синтеза ДА.

Суммируя вышеприведенные данные, можно заключить, что модель доклинической стадии БП, созданная на основе нарастающего угнетения ферментатив-

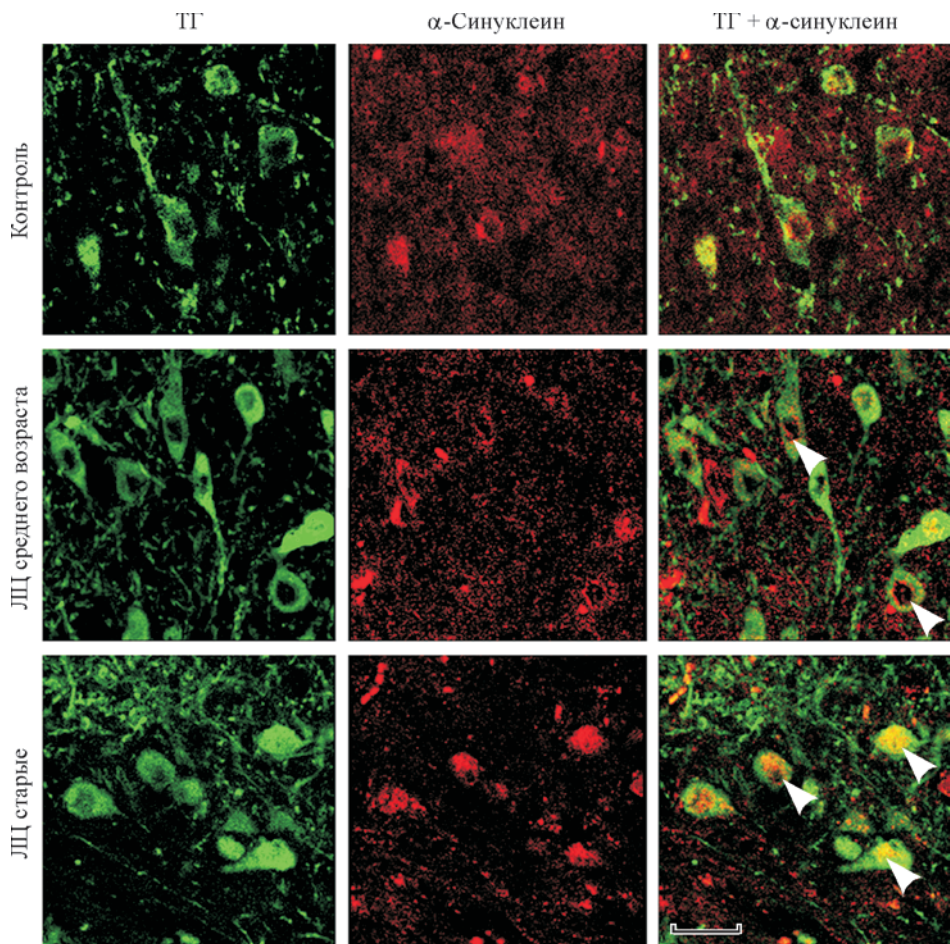


Рис. 3. Локализация агрегатов  $\alpha$ -синуклеина в дофаминергических нейронах компактной части черной субстанции при моделировании доклинической стадии болезни Паркинсона с помощью интраназального введения лактацистина (ЛЦ) у крыс среднего возраста и при старении. Масштаб: 15 мкм.

ной активности протеасом в головном мозге у крыс среднего возраста и при старении, воспроизводит один из основных патоморфологических признаков БП — формирование телец Леви, содержащих агрегаты белка  $\alpha$ -синуклеина в телах Дофаминергических нейронов nigростриатной и обонятельной систем. Особенностью проявления  $\alpha$ -синуклеиновой патологии у крыс при старении является отложение в телах их нервных клеток более крупных агрегатов  $\alpha$ -синуклеина по сравнению с крысами среднего возраста. По совокупности патоморфологических и нейрохимических признаков интраназальное введение ЛЦ крысам среднего возраста и при старении воспроизводит основные признаки доклинической стадии БП.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-00278). Морфологические исследования проведены на базе Центра коллективного пользования для иммуноцитохимических исследований ИЭФБ РАН.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Абдурасулова И. Н., Екимова И. В., Мацулевич А. В., Газизова А. Р., Клименко В. М., Пастухов Ю. Ф. Нарушение неассоциативного обучения у крыс в условиях экспериментальной модели доклинической стадии болезни Паркинсона. Доклады АН. 476(3): 353—356. 2017.
- [2] Екимова И. В., Симонова В. В., Гусев М. А., Лапшина К. В., Чернышев М. В., Пастухов Ю. Ф. Изменения характеристик сна в модели доклинической стадии болезни Паркинсона у крыс, созданной на основе ослабления активности убиквитин-протеасомной системы головного мозга. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 52(6): 413—422. 2016.
- [3] Bernheimer H., Birkmayer W., Hornykiewicz O., Jellinger K., Seitelberger F. L. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 20(4): 415—455. 1973.
- [4] Bisaglia M., Mammi S., Bubacco L. Structural insights on physiological functions and pathological effects of  $\alpha$ -synuclein. *FASEB J.* 23(2): 329—340. 2009.
- [5] Braak H., Ghebremedhin E., Rab U., Bratzke H., Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res.* 318(1): 121—134. 2004.
- [6] Fares M. B., Ait-Bouziad N., Dikiy I., Mbefo M. K., Jovicic A., Kiely A., Lashuel H. A. The novel Parkinson's disease linked mutation G51D attenuates in vitro aggregation and membrane binding of  $\alpha$ -synuclein, and enhances its secretion and nuclear localization in cells. *Hum. Mol. Genet.* 23(17): 4491—4509. 2014.
- [7] Fujita K. A., Ostaszewski M., Matsuoka Y., Ghosh S., Glaab E., Trefois C., Diederich N. Integrating pathways of Parkinson's disease in a molecular interaction map. *Mol. Neurobiol.* 49(1): 88—102. 2014.
- [8] Giasson B. I., Duda J. E., Murray I. V., Chen Q., Souza J. M., Hurtig H. I., Lee V. M. Y. Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective  $\alpha$ -synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science.* 290(5493): 985—989. 2000.
- [9] Hindle J. V. Ageing, neurodegeneration and Parkinson's disease. *Age Ageing.* 39(2): 156—161. 2010.
- [10] McNaught K. S. P., Perl D. P., Brownell A. L., Olanow C. W. Systemic exposure to proteasome inhibitors causes a progressive model of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 56(1): 149—162. 2004.
- [11] Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. SDG: Acad. Press. 1998.
- [12] Plaksina D. V., Chernyshev M. V., Karpenko M. N., Gazizova A. R., Pazi M. B., Ekimova I. V. Experimental modeling of a preclinical Parkinson's disease stage in rats by intranasal lactacystin administration. *Neurodeg. Dis. (Suppl. 1).* 17: 1655. 2017.
- [13] Schapira A. H. Recent developments in biomarkers in Parkinson disease. *Curr. Opin. Neurol.* 26(4): 395. 2013.
- [14] Tanaka Y., Engelender S., Igarashi S., Rao R. K., Wanner T., Tanzi R. E., Ross C. A. Inducible expression of mutant  $\alpha$ -synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum. Mol. Gen.* 10(9): 919—926. 2001.
- [15] Uchihara T., Giasson B. I. Propagation of alpha-synuclein pathology: hypotheses, discoveries, and yet unresolved questions from experimental and human brain studies. *Acta Neuropathol.* 131(1): 49—73. 2016.
- [16] Waxman E. A., Giasson B. I. A novel, high-efficiency cellular model of fibrillar  $\alpha$ -synuclein inclusions and the examination of mutations that inhibit amyloid formation. *J. Neurochem.* 113(2): 374—388. 2010.
- [17] Webb J. L., Ravikumar B., Atkins J., Skepper J. N., Rubinsztein D. C.  $\alpha$ -Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. *J. Biol. Chem.* 278(27): 25 009—25 013. 2003.
- [18] Yu S., Li X., Liu G., Han J., Zhang C., Li Y., Ueda K. Extensive nuclear localization of  $\alpha$ -synuclein in normal rat brain neurons revealed by a novel monoclonal antibody. *J. Neurosci.* 145(2): 539—555. 2007.

Поступила 17 IV 2018