

ПРИОННЫЕ СВОЙСТВА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

© 2019 г. А. Л. Шварцман^а, К. А. Сенкевич^{а, б}, А. К. Емельянов^{а, б}, С. Н. Пчелина^{а, б, *}

^аПетербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Гатчина, Ленинградская обл., 188300 Россия

^бПервый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, 197022 Россия

*e-mail: pchelina_sn@pnpi.nrcki.ru

Поступила в редакцию 28.12.2018 г.

После доработки 10.01.2019 г.

Принята к печати 10.01.2019 г.

Прионные свойства белка альфа-синуклеина, агрегация которого рассматривается как ключевое звено нейродегенерации при синуклеинопатиях (болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви, мультисистемная атрофия), привлекают большое внимание. Показано, что альфа-синуклеин может распространяться между клетками по типу прионной трансмиссии. Описано существование различных конформеров альфа-синуклеина. Схожесть агрегации прионных белков и альфа-синуклеина подтверждается существованием начальной лаг-фазы (нуклеация) с последующей фазой роста (элонгация) и стационарной фазой, когда агрегаты и мономеры находятся в равновесии. При этом конформация альфа-синуклеина, как и у приона, изменяется от альфа-спиральной структуры до бета-складчатой конформации. В настоящее время данных о том, что прионоподобная патология при болезни Паркинсона может передаваться от человека к человеку, не существует. В обзоре рассмотрены прионные свойства альфа-синуклеина, возможные пути его межклеточного распространения, а также методы диагностики болезни Паркинсона, основанные на прионных свойствах белка.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, альфа-синуклеин, прионы, трансмиссия альфа-синуклеина

DOI: 10.1134/S0026898419030182

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени установлено, что в основе патогенеза многих нейродегенеративных заболеваний, включая болезни Паркинсона (БП) и Альцгеймера (БА), хорею Гентингтона, лежит агрегация белков в клетке [1].

Основным гистопатологическим признаком БП считается присутствие в цитоплазме клеток телец Леви – небольших белковых включений, состоящих преимущественно из альфа-синуклеина [2].

Белок альфа-синуклеин состоит из 140 аминокислот, в водных растворах он имеет α -конформацию, а в составе агрегатов и фибрилл обогащен β -структурами [3]. Роль альфа-синуклеина в патогенезе БП многократно подтверждена [1, 4, 5]. Точковые мутации, а также дубликации и трипликации гена, кодирующего альфа-синуклеин, приводят к развитию аутосомно-доминантных форм БП [6–8]. К заболеваниям, связанным с агрегацией альфа-синуклеина (синуклеинопатиям), помимо БП относят также деменцию с тельцами Леви (ДТЛ) и мультисистемную атрофию (МСА). При каждой из синуклеинопатий агрега-

ты альфа-синуклеина обнаруживаются в различных районах мозга, поражая как нейрональные, так и глиальные клетки.

Недавно высказано предположение о том, что различия в патогенезе заболеваний человека, связанных с агрегацией альфа-синуклеина (БП, ДТЛ, МСА), могут объясняться существованием различных патологических конформеров белка. Имеются данные о трансмиссивности агрегатов альфа-синуклеина и их способности распространяться от клетки к клетке [9]. При этом пути передачи агрегатов и распределение пораженных нейронов могут зависеть от конформации олигомеров альфа-синуклеина [10–12]. Можно предположить, что различные конформеры белка служат затравками для формирования нейротоксичных агрегатов в различных типах клеток при развитии синуклеинопатий.

ПРИОННЫЕ СВОЙСТВА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

“Прионная история” альфа-синуклеина началась в 2008 году, когда две независимые группы ис-

следователей представили результаты трансплантации дофаминергических нейронов от эмбрионов человека в средний мозг пациентов с БП. В аутопсийном материале, полученном через 14 лет с момента проведения трансплантации, в пересаженных нейронах выявлены тельца Леви, характерные для БП, [13, 14]. Это было первым доказательством того, что альфа-синуклеин может распространяться от клеток “хозяина” к трансплантированным клеткам, а фактически свидетельствовало о том, что альфа-синуклеин может распространяться от нейрона к нейрону. Спустя год эти результаты получили подтверждение в эксперименте, проведенном Desplats и соавт. [15], в ходе которого меченые здоровые кортикальные нейроны мыши инъецировали в мозг модельного животного (мышь с паркинсонизмом). В аутопсийном материале обнаружили накопление альфа-синуклеина в пересаженных нейронах, а в некоторых даже образование телец Леви. Этот эксперимент показал, что белок передавался непосредственно от клеток хозяина к пересаженным клеткам. Наиболее приемлемое объяснение этого феномена заключается в том, что неправильно свернутый альфа-синуклеин транспортировался от патологических нейронов к нормальным и на стадии новосинтезированных цепей индуцировал превращение нормального белка в неправильно свернутый альфа-синуклеин. Такой же механизм, очевидно, имел место при накоплении неправильно свернутого альфа-синуклеина и формирования телец Леви после трансплантации дофаминергических нейронов пациентам с БП [13, 14].

Согласно теории, выдвинутой Braak и соавт. [16] на основании изучения аутопсийного материала от пациентов, умерших на разных стадиях БП, распространение телец Леви протекает стереотипно и зависит от стадии заболевания. При этом тельца Леви изначально представлены в обонятельной луковице и дорсальном моторном ядре языкоглоточного и блуждающего нервов, с дальнейшим распространением к стволу мозга, достигая продолговатый мозг и покрышку моста с дальнейшим распространением до миндалевидного тела и черной субстанции. При этом важно отметить, что на стадии распространения агрегатов альфа-синуклеина до черной субстанции у пациентов проявляются только немоторные симптомы, такие как нарушение обоняния, запоры, расстройства сна, тревога и другие. При дальнейшем распространении альфа-синуклеинопатии до стадии поражения дофаминергических нейронов черной субстанции развиваются классические симптомы БП, а именно брадикинезия, тремор покоя, ригидность. Таким образом, теория Braak укладывается в представление о распространении патологических конформеров альфа-синуклеина путем транспорта от клетки к клетке.

Активно обсуждается гипотеза, согласно которой формирование агрегатов альфа-синуклеина при БП начинается в нервных клетках кишечника с дальнейшим распространением трансинаптическим путем из клетки в клетку через симпатическую и парасимпатическую нервную систему в центральную нервную систему [17]. Инокуляция агрегированного альфа-синуклеина в желудочно-кишечный тракт мышей вызывает появление телец Леви в стволе головного мозга, что объясняется их транспортом через блуждающий нерв [18]. Другой группой исследователей показано, что инъекция фибрилл альфа-синуклеина в обонятельные луковицы мышей дикого типа приводит к агрегации эндогенного альфа-синуклеина в патологические фибриллы, которые распространяются транснейронально к различным регионам головного мозга [19]. Полученные результаты подтверждают, что передача агрегатов альфа-синуклеина в организме может проходить от тканей к мозгу через соседствующие нервные клетки и поддерживают гипотезу о межклеточном распространении агрегированного альфа-синуклеина у пациентов с синуклеинопатиями [20].

Группа исследователей во главе со Стэнли Прузинером, ранее получившим Нобелевскую премию за открытие прионного белка, в 2015 году впервые показала, что причиной МСА может быть накопление неправильно свернутого альфа-синуклеина в конформации, отличной от конформации, приводящей к развитию БП [21]. Доказательства прионных свойств этого конформера альфа-синуклеина получены путем инъекции гомогенатов головного мозга пациентов с МСА трансгенным мышам, экспрессирующим мутантный альфа-синуклеин (гетерозиготы по мутации A53T). Введение гомогенатов приводило к накоплению патологически свернутого альфа-синуклеина, его распространению и развитию неврологического дефицита у мышей. При этом инъекция гомогенатов головного мозга от пациентов с БП не приводила к распространению агрегатов белка и развитию неврологического дефицита. В 2018 году показано, что альфа-синуклеин, выделенный из цитоплазмы глиальных клеток (олигодендроцитов) или телец Леви (нейрональные включения), имеет конформационные различия. Это говорит о том, что различия во внутриклеточном цитоплазматическом составе могут приводить к формированию различных конформеров альфа-синуклеина [22]. Интересно отметить, что олигомеры альфа-синуклеина, выделенные из глиальных клеток пациентов с МСА, используемые в качестве “затравки” для индукции агрегации альфа-синуклеина в нейрональной культуре клеток, обладали в 1000 раз большей способностью инициировать агрегацию в сравнении с белком, выделенным из нейрональных включений пациентов с БП, что согласуется с бо-

лее агрессивным течением МСА по сравнению с другими синуклеинопатиями.

Большое внимание уделяется не только сходству в распространении приона и неправильно свернутого альфа-синуклеина, но и механизму превращения растворимого альфа-синуклеина в нерастворимые фибриллы. Возможность фрагментации фибрилл считается важной детерминантой их распространения [23]. В агрегации прионных белков всегда существует начальная лаг-фаза (нуклеация) с последующей фазой роста (элонгация) и стационарная фаза, когда агрегаты и мономеры находятся в равновесии. Предполагается, что альфа-синуклеин, подобно прионному белку, претерпевает конформационные изменения от альфа-спиральной структуры до бета-складчатой конформации [24–26].

Общая черта ряда нейродегенеративных заболеваний – существование мутаций, которые могут влиять на конформацию белков и скорость их агрегации. В 1999 году впервые показано, что мутации в гене, кодирующем альфа-синуклеин, увеличивают скорость агрегации по сравнению с белком дикого типа [27]. Позднее установили, что фибриллы мутантной формы А30Р, выполняющие роль затравки, ускоряют нуклеацию и агрегацию по сравнению с белком дикого типа [28]. Важным доказательством прионных свойств альфа-синуклеина стало создание структурно различных конформеров рекомбинантного белка в растворах, различающихся величиной рН, солевым составом и температурными условиями [29]. Важно отметить, что конформеры, которые вводили в мозг животных моделей, служили затравками для полимеризации мономерного альфа-синуклеина с дальнейшим распространением в разные области мозга и проявлением различных поведенческих фенотипов [30]. В 2016 году была создана кинетическая модель агрегации альфа-синуклеина [31], согласно которой для образования фибрилл необходимы высокие концентрации агрегатов. Между тем агрегаты альфа-синуклеина могут проявлять цитотоксичность при значительно более низких концентрациях. Предполагается, что “затравки” для образования фибрилл вряд ли можно рассматривать как основной механизм распространения БП, но они могут играть роль в развитии заболевания на фоне клеточного стресса, вызванного олигомерами альфа-синуклеина [31].

Существует также модель образования фибрилл, обладающих большим количеством конформационных состояний, из мономерных форм альфа-синуклеина. При этом каждому конформационному состоянию присуща собственная аффинность к агрегации. Могут существовать как “тупиковые конформации”, не способные к индукции агрегации, так и конформации, приводящие к агрегации и

образованию фибрилл [11]. Получены интересные данные о других белках, участвующих в распространении альфа-синуклеина между клетками, одним из которых оказался прионный белок PrP^{sc}. Показано снижение распространения альфа-синуклеина, инъецированного в мозг мышей с нокаутом гена *PrP^c* [32].

СПОСОБЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

Обсуждаются разные пути передачи фибриллярного альфа-синуклеина между клетками, в частности, путем экзоцитоза и передачи по нанотрубкам [33]. Высказано предположение, что одним из путей передачи белка могут быть небольшие (40–100 нм) внеклеточные везикулы, экзосомы [34]. В 2011 году опубликовано исследование, показавшее, что экзосомы из клеток SH-SY5Y со сверхэкспрессией гена альфа-синуклеина человека эффективно переносят альфа-синуклеин в клетки-реципиенты. Более того, при высвобождении альфа-синуклеина из экзосом его концентрация в клетках-реципиентах увеличивается [35]. На клетках нейроглиомы и первичной нейрональной культуре мышей показано, что олигомеры альфа-синуклеина могут секретироваться во внеклеточное пространство как в свободном виде, так и в составе внеклеточных везикул [36]. Путем обработки фракции экзосом различными детергентами получены данные о том, что половина переносимого экзосомами белка находится внутри везикул, в то время как оставшаяся часть локализуется на внешней мембране экзосом. В 2015 году показано, что экзосомы, выделенные из клеток нейробластомы, сверхэкспрессирующей ген альфа-синуклеина, могут вызывать агрегацию альфа-синуклеина в клетках-реципиентах [37].

Установлено, что экзосомы спинно-мозговой жидкости (СМЖ), полученные от пациентов с БП, содержат патогенные формы альфа-синуклеина и могут инициировать олигомеризацию растворимого альфа-синуклеина в клетках-реципиентах [38]. Ведется поиск факторов, которые усиливают выброс из клеток альфа-синуклеина в составе экзосом. Получены данные о том, что мутации, приводящие к развитию наследственных форм БП, в частности, в генах киназы 2, обогащенной лейциновыми повторами (LRRK2), лизосомной АТФазы (АТФ13А2) и глюкоцереброзидазы (GBA), могут влиять на формирование пула внеклеточных везикул. Опубликованы результаты исследований, дающие основание предполагать, что мутации в гене *GBA* могут влиять на пул внеклеточных везикул крови. Так, ингибирование активности GBA у мышей приводило к увеличению выброса экзосом, содержащих альфа-синуклеин, клетками мозга [39]. Также на клеточной линии нейробластомы с мутантной глюкоцеребро-

зидазой показано, что ингибирование глюкоцереброзидазы приводит к распространению альфа-синуклеина между клетками [40]. Снижение функции лизосом может стать триггером, запускающим увеличение пула внеклеточных везикул. Нами обнаружено превалирование везикул CD9 плазмы крови (экзосомы) у пациентов с болезнью Гоше, ассоциированной с носительством гомозиготных мутаций в гене *GBA* (неопубликованные данные). Предполагается, что *LRRK2* может принимать непосредственное участие в секреции внутриклеточных белков посредством экзосом. В частности, экспрессия *LRRK2* с мутацией R1441C приводит к усилению выброса внеклеточных везикул [41]. Повышенная экспрессия *ATP13A2* стимулирует перенос альфа-синуклеина в экзосомы, что приводит к снижению внутриклеточного уровня альфа-синуклеина, в то время как дисфункция *ATP13A2* (экспрессия мутантных форм) приводит к снижению выброса альфа-синуклеина с участием экзосом и его накоплению внутри клетки [42].

ПОДХОДЫ К ВЫЯВЛЕНИЮ НЕЙРОТОКСИЧНЫХ ФОРМ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА, ОСНОВАННЫЕ НА ПРИОННЫХ СВОЙСТВАХ БЕЛКА

Понимание механизма образования амилоидных фибрилл особенно важно, поскольку позволяет разработать методы диагностики нейродегенеративных заболеваний, основанные на индукции олигомерами-затравками образования патологического продукта из экзогенного мономерного белка [43, 44]. Разработаны несколько методов оценки прионной активности белков, к которым относятся метод *PMCA* (protein misfolding cyclic amplification), *RT-QuIC* (real-time quaking-induced conversion), *QuIC* (quaking-induced conversion), *eQuIC* (enhanced quaking-induced conversion, amyloid seeding assay) – более чувствительная модификация *RT-QuIC* [45]. В настоящее время наиболее распространены такие методы оценки прионной активности белков, как *PMCA* [46] и *RT-QuIC* [47, 48]. Следует отметить, что эти методы обладают высокой чувствительностью и специфичностью, позволяя определить концентрацию патогенного прионного белка в образце, начиная с 1 фг.

Суть данных методов – действие *in vitro* патогенного белка, выступающего в качестве затравки, на непатогенный белок (например, рекомбинантный белок, белок гомогената клеток или головного мозга), который служит субстратом. Эта смесь патогенных и непатогенных белков претерпевает множественные циклы механического разрушения (например, ультразвуковая обработка, встряхивание), что способствует образованию все новых затравок, инициируя экспоненциальное увеличение уровня неправильно сложенного агрегированного белка. Затем агрегированные

формы белка оценивают с использованием либо иммуноблотинга (метод *PMCA*), позволяющего определить количество агрегатов белка, резистентных к действию протеаз, либо определить уровень флуоресценции тиофлавина Т (метод *RT-QuIC*), связывающегося с агрегированным белком [44–48].

Основные различия методов *PMCA* и *RT-QuIC* заключаются в инициации и элонгации процесса прионизации белков (в *PMCA* изначально использовали циклическую ультразвуковую обработку; в *RT-QuIC* – периодическое встряхивание), а также в методах детекции образования прионов или агрегатов белков, описанных выше. Кроме того, в методе *RT-QuIC* субстратом для конверсии и агрегации прионного белка служит рекомбинантный непатогенный прионный белок. В методе *PMCA* ранее в качестве субстрата и источника нативного непатогенного прионного белка использовали гомогенат мозга. Изначально описанные выше методы амплификации белка были разработаны для диагностики различных прионных заболеваний, из которых наиболее распространена спорадическая болезнь Крейтцфельда-Якоба. Предприняты попытки адаптации этих методов к определению агрегации патогенных белков при различных нейродегенеративных заболеваниях [51, 52]. Следует отметить, что методы циклической амплификации неправильно свернутых белков претерпели ряд изменений. Так, сегодня при проведении анализа *PMCA* формирующиеся олигомеры определяют с использованием метода связывания белковых агрегатов с тиофлавином Т.

К настоящему времени описаны результаты оценки прионной активности альфа-синуклеина при БП с использованием указанных методик [49]. Так, в одном исследовании проведен *RT-QuIC*-анализ с использованием СМЖ пациентов с БП ($N = 20$) и индивидов контрольной группы ($N = 15$) [50]. Положительный ответ получен у 19 пациентов с БП, в то время как у всех индивидов контрольной группы агрегированные формы белка не обнаружены. Таким образом, чувствительность и специфичность метода в этом исследовании, выполненном для группы пациентов с БП, составила 95 и 100% соответственно. Длительность эксперимента составляла 5 дней. В другом подобном исследовании применен тот же метод, что и в первом, но в качестве субстрата использован альфа-синуклеин с мутацией K23Q, что позволило ускорить процесс агрегации и сократить продолжительность анализа до 1–2 дней [51]. Анализ проведен с использованием СМЖ пациентов с БП ($N = 12$), ДТЛ ($N = 17$), БА ($N = 16$), прогрессирующим надъядерным параличом ($N = 2$), кортикобазальной дегенерацией ($N = 1$) и индивидов контрольной группы ($N = 12$). Почти все образцы СМЖ пациентов с БП (11 из 12) и ДТЛ (16 из 17) дали положительный ответ, в то время как

ни в одном из образцов СМЖ пациентов других групп, а также индивидов контрольной группы не обнаружено образования агрегатов. Таким образом, в данном исследовании чувствительность и специфичность метода в группе пациентов с БП и ДТЛ составила 93 и 100% соответственно. В третьем (и самом большом на данный момент исследовании) прионная активность альфа-синуклеина СМЖ пациентов с БП изучена с использованием метода РМСА [52]. Следует отметить, что в данном исследовании в качестве субстрата использован рекомбинантный белок, образуемые агрегаты разрушали механически с помощью циклического перемешивания, агрегацию белка оценивали по флуоресценции тиофлавина Т. Анализ проведен на СМЖ пациентов с БП ($N = 76$), ДТЛ ($N = 10$), МСА ($N = 10$), БА ($N = 14$), пациентов с другими хроническими нейродегенеративными заболеваниями, а также индивидов контрольной группы ($N = 65$). Продолжительность анализа — 13 дней. Чувствительность анализа составила 88% в группе пациентов с БП, 100% — ДТЛ и 80% — МСА. Специфичность по отношению к группе контроля и пациентам с нейродегенеративными заболеваниями составила 94%. Интересно отметить, что в данном исследовании из СМЖ был удален альфа-синуклеин с использованием коктейля антител к данному белку. В таких образцах обнаружено снижение скорости процесса образования агрегатов альфа-синуклеина. Кроме того, с использованием РМСА показано, что скорость образования агрегатов белка коррелирует с тяжестью БП, а именно, выявлена обратная корреляция времени, требуемого для того, чтобы половина белка конвертировалась в агрегаты, с тяжестью заболевания по шкале Хен и Яра.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наряду с ролью окислительного стресса, дисфункции митохондрий и наследственных факторов в формировании патологических нейротоксичных белковых агрегатов при развитии нейродегенеративной патологии [41, 53, 54], в настоящее время широко обсуждается прионоподобный механизм межклеточного распространения агрегированных белков. Эта патогенетическая особенность характерна для различных нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с агрегацией белков, а именно при амилоидных протеинопатиях: А β и тау при БА [55], альфа-синуклеина при БП [56, 57] и других синуклеинопатиях [58], TDP-43 при боковом амиотрофическом склерозе [59], гентингина при хорее Гентингтона [60]. Можно предположить, что эти и другие белки содержат в своей структуре прионоподобные аминокислотные последовательности [61, 62].

Несмотря на то что при нейродегенеративных заболеваниях многие белки могут распростра-

няться между клетками подобно прионам, существует важное и принципиальное их отличие от прионных болезней: к настоящему моменту нет твердых доказательств того, что они могут передаваться от человека к человеку, как это происходит при прионных инфекциях. Передача инфекции прионоподобными белками при БП и БА проверена экспериментально путем исследования аутопатов мозга пациентов с задержкой роста, которым в период с 1958 по 1985 год проводили терапию гормоном роста, выделенным из гипофиза умерших людей. Более 7000 пациентов получили данную терапию, когда в 1985 году этот метод был запрещен законодательно из-за выявленных случаев болезни Крейтцфельда–Якоба. Исследование аутопатов мозга восьми пациентов, умерших от ятрогенной болезни Крейтцфельда–Якоба, выявило у четырех из них выраженные признаки БА (агрегаты белка β -амилоида) [63] и полное отсутствие признаков БП (агрегатов альфа-синуклеина) [64].

Таким образом, нами описан ряд свойств альфа-синуклеина, позволяющих говорить о прионных свойствах этого белка. Показана возможность распространения агрегатов альфа-синуклеина между клетками, охарактеризованы его конформеры, различающиеся трансмиссивностью и нейротоксичностью. В целом, исследования последних лет указывают на процесс олигомеризации альфа-синуклеина как на ключевой процесс патогенеза БП и на его прионоподобный характер. Однако случаи передачи БП от человека к человеку до сих пор не описаны, что не позволяет отнести данную патологию к прионным заболеваниям. В то же время следует отметить, что прионные свойства альфа-синуклеина могут использоваться в разработке подходов к диагностике БП, позволяющих выявлять заболевание на ранних доклинических стадиях [65].

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (№ 18-015-00262).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шелковникова Т.А., Куликова А.А., Цветков Ф.О., Петерс О., Бачурин С.О., Бухман В.Л., Нинкина Н.Н. (2012) Протеинопатии — формы нейродегенеративных заболеваний в основе которых лежит патологическая агрегация белков. *Молекуляр. биология.* **46**(3), 402–415.
2. Spillantini M.G., Schmidt M.L., Lee V.M., Trojanowski J.Q., Jakes R., Goedert M. (1997) Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature.* **388**(6645), 839–840.
3. Conway K., Harper J., Lansbury P. (1998) Accelerated *in vitro* fibril formation by a mutant α -synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat. Med.* **11**, 1318–1320.
4. Goedert M., Jakes R., Spillantini M.G. (2017) The synucleinopathies: twenty years on. *J. Parkinson Dis.* **7**(s1), S51–S69. doi 10.3233/JPD-179005

5. Bridi J., Hirth F. (2018) Mechanisms of α -synuclein induced synaptopathy in Parkinson's disease. *Front. Neurosci.* **12**, 80. doi 10.3389/fnins.2018.00080
6. Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E., Ide S.E., Dehejia A., Dutra A., Pike B., Root H., Rubenstein J., Boyer R., Stenroos E.S., Chandrasekharappa S., Athanassiadou A., Papapetropoulos T., Johnson W.G., Lazzarini A.M., Duvoisin R.C., Di Iorio G., Golbe L.I., Nussbaum R.L. (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*. **5321**, 2045–2047.
7. Chartier-Harlin M., Kachergus J., Roumier C., Mouroux V., Douay X., Lincoln S., Leveque C., Larvor L., Andrieux J., Hulihan M., Waucquier N., Defebvre L., Amouyel P., Farrer M., Destée A. (2004) α -synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet*. **364**, 1167–1169.
8. Singleton A.B., Farrer M., Johnson J. (2003) α -Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*. **302**, 841.
9. Tofaris G. (2017) A critical assessment of exosomes in the pathogenesis and stratification of Parkinson's disease. *J. Parkinsons Dis.* **7**, 569–576.
10. Melki R. (2018) How the shapes of seeds can influence pathology. *Neurobiol. Dis.* **109**, 201–208.
11. Brundin P., Melki R. (2017) Prying into the prion hypothesis for Parkinson's disease. *J. Neurosci.* **37**, 9808–9818.
12. Brás I., Lopes L., Outeiro T. (2018) Sensing α -synuclein from the outside via the prion protein: implications for neurodegeneration. *Mov. Disord.* **33**, 1675–1684.
13. Kordower J.H., Chu Y., Hauser R.A., Freeman T.B., Olanow C.W. (2008) Parkinson's disease pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nat. Med.* **14**, 504–506.
14. Li J.Y., Englund E., Holton J.L., Soulet D., Hagell P., Lees A.J., Lashley T., Quinn N.P., Rehnroona S., Björklund A., Widner H., Revesz T., Lindvall O., Brundin P. (2008) Lewy bodies in grafted neurons in people with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat. Med.* **14**, 501–503.
15. Desplats P., Lee H.J., Bae E.J., Patric C., Rockenstein E., Crews L., Spencer B., Masliah E., Lee S.J. (2009) Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**, 13004–13005.
16. Braak H., Del Tredici K., Rüb U., de Vos R.A., Jansen Steur E.N., Braak E. (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging*. **24**, 197–211.
17. Kujawska M., Jodanis-Liebert J. (2018) What is the evidence that Parkinson's disease is a prion disorder, which originates in the gut? *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 3573.
18. Uemura N., Yagi H., Uemura M.T., Hatanaka Y., Yamakado H., Takahashi R. (2018) Inoculation of α -synuclein preformed fibrils into the mouse gastrointestinal tract induces Lewy body-like aggregates in the brainstem via the vagus nerve. *Mol. Neurodegener.* **13**, 21.
19. Rey N., Steiner J., Maroof N., Luk K., Madaj Z., Trojanowski J., Lee V., Brundin P. (2016) Widespread transneuronal propagation of α -synucleinopathy triggered in olfactory bulb mimics prodromal Parkinson's disease. *J. Exp. Med.* **213**, 1759–1778.
20. Recasens A., Ulusov A., Kahle P.J., Di Monte D.A., Dehay B. (2018) *In vivo* models of alpha-synuclein transmission and propagation. *Cell Tissue Res.* **373**, 183–193.
21. Prusiner S.B., Woerman A.L., Mordes D.A., Watts J.C., Rampersaud R., Berry D.B., Patel S., Oehler A., Lowe J.K., Kravitz S.N., Geschwind D.H., Glidden D.V., Halliday G.M., Middleton L.T., Gentleman S.M., Grinberg L.T., Giles K. (2015) Evidence for α -synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **112**, E5308–E53017
22. Peng C., Gathagan R., Covell D., Medellin C., Stieber A., Robinson J., Zhang B., Pitkin R., Olufemi M., Luk K., Trojanowski J., Lee V. (2018) Cellular milieu imparts distinct pathological α -synuclein strains in α -synucleinopathies. *Nature*. **557**, 558–563.
23. Knowles T., Waudby C., Devlin G., Cohen S., Aguzzi A., Vendruscolo M., Terentjev E., Welland M., Dobson C. (2009) An analytical solution to the kinetics of breakable filament assembly. *Science*. **326**, 1533–1537.
24. Lee V.M., Trojanowski J.Q. (2006) Mechanisms of Parkinson's disease linked to pathological alpha-synuclein: new targets for drug discovery. *Neuron*. **52**, 33–38.
25. Lashuel H.A., Overk C.R., Oueslati A., Masliah E. (2013) The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat. Rev. Neurosci.* **14**, 38–48
26. Oueslati A., Ximerakis M., Vekrellis K. (2014) Protein transmission, seeding and degradation: key steps for α -synuclein prion-like propagation. *Exp. Neurobiol.* **23**, 324–336
27. Narhi L., Wood S.J., Steavenson S., Jiang Y., Wu G.M., Anafi D., Kaufman S.A., Martin F., Sitney K., Denis P., Louis J.-C., Wypych J., Biere A.L., Citron M. (1999) Both familial Parkinson's disease mutations accelerate α -synuclein aggregation. *J. Biol. Chem.* **274**, 9843–9846.
28. Yonetani M., Nonaka T., Masuda M., Inukai Y., Oikawa T., Hisanaga S., Hasegawa M. (2009) Conversion of wildtype α -synuclein into mutant-type fibrils and its propagation in the presence of A30P mutant. *J. Biol. Chem.* **284**, 7940–7950.
29. Bousset L., Pieri L., Ruiz-Arlandis G., Gath J., Jensen P., Habenstein B., Madiona K., Olieric V., Böckmann A., Meier B., Melki R. (2013) Structural and functional characterization of two alpha-synuclein strains. *Nat. Commun.* **4**, 2575. doi 10.1038/ncomms3575
30. Peelaerts W., Bousset L., Van der Perren A., Moskalyuk A., Pulizzi R., Giugliano M., Van den Haute C., Melki R., Baekelandt V. (2015) α -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. *Nature*. **522**, 340–344.
31. Iijina M., Garcia G., Horrocks M., Tosatto L., Choi M., Ganzinger K., Abramov A., Gandhi S., Wood N., Cremades N., Dobson C., Knowles T., Klenerman D. (2016) Kinetic model of the aggregation of alpha-synuclein provides insights into prion-like spreading. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **113**, E1206–E1215.

32. Aulić S., Masperone L., Narkiewicz J., Isopi E., Bistaffa E., Ambrosetti E., Pastore B., De Cecco E., Scaini D., Zago P., Moda F., Tagliavini F., Legname G. (2017) α -Synuclein amyloids hijack prion protein to gain cell entry, facilitate cell-to-cell spreading and block prion replication. *Sci. Rep.* **7**, 10050.
33. Bieri G., Gitler A., Brahic M. (2018) Internalization, axonal transport and release of fibrillar forms of alpha-synuclein. *Neurobiol. Dis.* **109**, 219–225.
34. Delenclos M., Trendafilova T., Mahesh D., Baine A., Moussaud S., Yan I., Patel T., McLean P. (2017) Investigation of endocytic pathways for the internalization of exosome-associated oligomeric alpha-synuclein. *Front. Neurosci.* **11**, 172. doi 10.3389/fnins.2017.00172
35. Alvarez-Erviti L., Seow Y., Schapira A.H., Gardiner C., Sargent I.L., Wood M.J., Cooper J.M. (2011) Lysosomal dysfunction increases exosome-mediated alpha-synuclein release and transmission. *Neurobiol. Dis.* **42**, 360–367.
36. Danzer K., Kranich L., Ruf W., Cagsal-Getkin O., Winslow A., Zhu L., Vanderburg C., McLean P. (2012) Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Mol. Neurodegeneration.* **7**, 42.
37. Grey M., Dunning C., Gaspar R., Grey C., Brundin P., Sparr E., Linse S. (2015) Acceleration of α -synuclein aggregation by exosomes. *J. Biol. Chem.* **290**, 2969–2982.
38. Stuehl A., Kunadt M., Kruse N., Bartels C., Moebius W., Danzer K., Mollenhauer B., Schneider A. (2016) Induction of α -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain.* **139**, 481–494.
39. Papadopoulos V., Nikolopoulou G., Antoniadou I., Karachaliou A., Arianoglou G., Emmanouilidou E., Sardi S., Stefanis L., Vekrellis K. (2018) Modulation of β -glucocerebrosidase increases α -synuclein secretion and exosome release in mouse models of Parkinson's disease. *Hum. Mol. Genet.* **27**, 1696–1710.
40. Bae E., Yang N., Song M., Lee C., Lee J., Jung B., Lee H., Kim S., Masliah E., Sardi S., Lee S. (2014) Glucocerebrosidase depletion enhances cell-to-cell transmission of α -synuclein. *Nat. Commun.* **5**, 4755. doi 10.1038/ncomms5755
41. Пчелина С.Н., Емельянов А.К., Усенко Т.С. (2014) Молекулярные основы болезни Паркинсона, обусловленной мутациями в гене *LRRK2*. *Молекуляр. биология.* **48**, 3–14.
42. Kong S.M., Chan B.K., Park J.S. Hill K.J., Aitken J.B., Cottle L., Farghaian H., Cole A.R., Lay P.A., Sue C.M., Cooper A.A. (2014) Parkinson's disease-linked human PARK9/ATP13A2 maintains zinc homeostasis and promotes alpha-synuclein externalization via exosomes. *Hum. Mol. Genet.* **23**, 2816–2833.
43. Soto C., Estrada L., Castilla J. (2006) Amyloids, prions and the inherent infectious nature of misfolded protein aggregates. *Trends Biochem. Sci.* **31**, 150–155.
44. Saborio G.P., Permanne B., Soto C. (2001) Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature.* **411**(6839), 810–813.
45. Kalia L.V. (2018) Diagnostic biomarkers for Parkinson's disease: focus on α -synuclein in cerebrospinal fluid. *Parkinsonism Relat. Disord.* pii: S1353-8020(18), 30514–30515. doi 10.1016/j.parkreldis
46. Atarashi R., Sano K., Satoh K., Nishida N. (2011) Real-time quaking-induced conversion: a highly sensitive assay for prion detection. *Prion.* **5**, 150–153.
47. Schmitz M., Cramm M., Llorens F., Müller-Cramm D., Collins S., Atarashi R., Satoh K., Orrù C.D., Groveman B.R., Zafar S., Schulz-Schaeffer W.J., Caughey B., Zerr I. (2016) The real-time quaking-induced conversion assay for detection of human prion disease and study of other protein misfolding diseases. *Nat. Protoc.* **11**, 2233–2242.
48. Atarashi R., Moore R., Sim V., Hughson A., Dorward D., Onwubiko H., Priola S., Caughey B. (2007) Ultrasensitive detection of scrapie prion protein using seeded conversion of recombinant prion protein. *Nat. Methods.* **4**, 645–650.
49. Paciotti S., Bellomo G., Gatticchi L., Parnetti L. (2018) Are we ready for detecting α -synuclein prone to aggregation in patients? The case of “protein-misfolding cyclic amplification” and “real-time quaking-induced conversion” as diagnostic tools. *Front. Neurol.* **9**, 415.
50. Fairfoul G., McGuire L., Pal S., Ironside J., Neumann J., Christie S., Joachim C., Esiri M., Evetts S., Rolinski M., Baig F., Ruffmann C., Wade-Martins R., Hu M., Parkkinen L., Green A. (2016) Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* **3**, 812–818.
51. Groveman B., Orrù C., Hughson A., Raymond L., Zanusso G., Ghetti B., Campbell K., Safar J., Galasko D., Caughey B. (2018) Rapid and ultra-sensitive quantitation of disease-associated α -synuclein seeds in brain and cerebrospinal fluid by α Syn RT-QuIC. *Acta Neuropathol. Commun.* **6**, 7.
52. Shahnawaz M., Tokuda T., Waragai M., Mendez N., Ishii R., Trenkwalder C., Mollenhauer B., Soto C. (2017) Development of a biochemical diagnosis of Parkinson disease by detection of α -synuclein misfolded aggregates in cerebrospinal fluid. *JAMA Neurol.* **74**, 163.
53. Григоренко А.П., Погоев Е.И. (2007) Молекулярные основы болезни Альцгеймера. *Молекуляр. биология.* **41**, 331–345.
54. Шадрин М.И., Сломинский П.А. (2008) Значение митохондриальной дисфункции и окислительных повреждений в молекулярной патологии болезни Паркинсона. *Молекуляр. биология.* **42**, 809–819.
55. Шварцман А.Л., Саранцева С.В. (2017) Трансмиссия патогенного белка при болезни Альцгеймера. *Молекуляр. биология.* **51**, 418–422
56. Chauha A., Jeans A.F. (2015) Is Parkinson's disease truly a prion-like disorder? An appraisal of current evidence. *Neurol. Res. Int.* **2015**, 345285.
57. Brundin P., Ma J., Kordower J.H. (2016) How strong is the evidence that Parkinson's disease is a prion disorder? *Curr. Opin. Neurol.* **29**, 459–466.
58. Woerman A.L., Kazmi S.A., Patel S., Freyman Y., Oehler A., Aoyagi A., Mordes D.A., Halliday G.M., Middleton L.T., Gentleman S.M., Olson S.H., Prusiner S.B. (2018) MSA prions exhibit remarkable stability and resistance to inactivation. *Acta Neuropathol.* **135**, 49–63.
59. Neumann M., Sampathu D.M., Kwong L.K., Truax A.C., Micsenyi M.C., Chou T.T., Bruce J., Schuck T.,

- Grossman M., Clark C.M., McCluskey L.F., Miller B.L., Masliah E., Mackenzie I.R., Feldman H., Feiden W., Kretzschmar H.A., Trojanowski J.Q., Lee V.M. (2006) неправильно свернутый. *Science*. **314**, 130–133.
60. DiFiglia M., Sapp E., Chase K.O., Davies S.W., Bates G.P., Vonsattel J.P., Aronin N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science*. **277**, 1990–1993.
61. Ross E.D., Minton A., Wickner R.B. (2005) Prion domains: sequences, structures and interactions. *Nat. Cell. Biol.* **7**, 1039–1044
62. Ashe K.H., Aguzzi A. (2013) Prions, prionoids and pathogenic proteins in Alzheimer disease. *Prion*. **7**, 55–59.
63. Jaunmuktane Z., Simon Mead S., Ellis M., Wadsworth J.D.F., Nicoll A.J., Kenny J., Launchbury F., Linehan J., Richard-Loendt A., Sarah Walker S., Rudge P., Collinge J., Brandner S. (2015) Evidence for human transmission of amyloid- β -pathology and cerebral amyloid angiopathy. *Nature*. **525**, 247–250.
64. Irwin D.J., Abrams J.Y., Schonberger L.B., Leschek E.W., Mills J.L., Lee V.M., Trojanowski J.Q. (2013) Evaluation of potential infectivity of Alzheimer and Parkinson disease proteins in recipients of cadaver-derived human growth hormone. *JAMA Neurol.* **70**, 462–468.
65. Rees R., Noyce A., Schrag A. (2018) The prodromes of Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci.* doi 10.1111/ejn.14269

PRION PROPERTIES OF ALPHA-SYNUCLEIN

A. L. Schwarzman¹, K. A. Senkevich^{1,2}, A. K. Emelyanov^{1,2}, and S. N. Pchelina^{1,2,*}

¹Konstantinov Saint Petersburg Nuclear Physics Institute, National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Leningradskaya oblast, 188300 Russia

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, 197022 Russia

*e-mail: pchelina_sn@pnpi.nrcki.ru

The prion properties of alpha-synuclein, a key aggregating protein contributing to pathogenesis of so-called synucleinopathies, including Parkinson's disease (PD), dementia with Lewy bodies (DLB), multiple system atrophy (MSA), and its various conformers, are discussed. In particular, alpha-synuclein may be transferred between cells by prion-like propagation. As other prions, alpha-synuclein aggregates starting with initial lag-phase (nucleation) with a subsequent growth phase (elongation) and a stationary phase when the aggregates and monomers exist in equilibrium. Similarly to prions, alpha-synuclein undergoes conformational changes from an alpha-helix to a beta-folded structure. However, so far no evidence indicates that that alpha-synuclein-dependent PD can be transmitted from person to person. This review describes the prion properties of alpha-synuclein, possible ways for its intercellular distribution, as well as novel approaches for PD diagnostics.

Keywords: Parkinson's disease, alpha-synuclein, prions, alpha-synuclein transmission