

АЛЬФА-СИНУКЛЕИН И ДИСФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Долгачева Л. П.¹, Федотова Е. И.¹, Абрамов А. Ю.², Бережнов А. В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, 142290, Московская область, город Пущино, ул.

Институтская д. 3, Россия

²Department of Molecular Neuroscience, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, United Kingdom

электронная почта: g_56@rambler.ru

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний. Развитие патологии связано с гибелью дофаминергических нейронов, главным образом в черной субстанции головного мозга. Недостаточность дофамина вызывает целый набор тяжелых симптомов, среди которых брадикинезия, постуральная неустойчивость, ригидность мышц и тремор. Генетические исследования показали первопричинную роль белка альфа-синуклеина (α -Син) в этом нейродегенеративном заболевании. Большое количество данных свидетельствует о различных механизмах токсического действия альфа-синуклеина. Кроме того, среди ключевых факторов, способствующих развитию нейродегенерации при БП, выделяют существенные нарушения функций митохондрий и/или генетические мутации. В число мутируемых генов при наследственной и спорадической формах БП входят гены, кодирующие белки PINK1 и Parkin, которые являются основными компонентами системы «контроля качества» митохондрий. Самые ранние биохимические признаки заболевания проявляются в нарушениях взаимодействия митохондрий и эндоплазматического ретикулаума, митохондриальной динамики, гомеостаза кальция и повышении уровня митохондриальных активных форм кислорода. Все эти факторы оказывают повреждающее действие на дофаминергические нейроны.

Ключевые слова: нейродегенерация, болезнь Паркинсона, альфа-синуклеин, митохондрия.

ВВЕДЕНИЕ

В 1817 году Джеймс Паркинсон описал симптомы болезни дрожательного паралича, которая впоследствии была изучена более подробно Жаном-Мартинном Шарко и названа по имени Паркинсона. Болезнь Паркинсона (БП) является наиболее распространенным нейродегенеративным нарушением двигательной активности [1]. Кроме возрастной группы БП (1% среди людей старше 60 лет, 4% – к 80 годам) выделяют: ювенильный паркинсонизм (18-30 лет), симптоматический паркинсонизм вследствие повреждения головного мозга (травма, токсины, энцефалит, гипоксия), паркинсонизм развивается при других нейродегенеративных заболеваниях (хорея Гентингтона, деменция с тельцами Леви, мультисистемная атрофия). Клинически БП характеризуется четырьмя симптомами: тремор в конечностях в состоянии покоя, скованность движений (ригидность), брадикинезия (замедленность движения: ходьбы, действий, речи, чтения и т.д.), постуральная неустойчивость. Помимо нарушений двигательной функции это заболевание сопровождается желудочно-кишечными и обонятельными нарушениями, расстройством сна, когнитивными и другими расстройствами.

Эти симптомы являются результатом потери функции и гибели большинства дофаминергических нейронов черной субстанции с последующим нарушением дофаминергической нейротрансмиссии в дорзальном стриатуме, в котором расположены пресинаптические окончания этих нейронов.

Глубокое истощение нейромедиатора дофамина (ДА) в стриатуме является основной причиной двигательных симптомов БП. ДА выполняет важную функцию нейротрансмиттера в нервной системе животных и человека. Синаптическая передача нервного импульса с участием ДА используется в нейронных сетях, вовлеченных в регуляцию фундаментальных физиологических процессов. Нарушения дофаминовой нейротрансмиссии приводят к развитию неврологических заболеваний, и в частности БП, занимающей второе место среди всех нейродегенеративных заболеваний. Основным морфологическим признаком БП, как спорадических, так и генетических форм заболевания, является наличие телец Леви в нейронах центральной нервной системы, в том числе и в дофаминергических нейронах нигростриатной системы. Впервые белковые агрегаты в некоторых областях головного мозга за пределами черной субстанции при БП идентифицировал Фриц Генрих Леви в 1912 году. В 1919 году Константин Николаевич Третьяков нашел сходные агрегаты в черной субстанции и назвал их тельцами Леви [2].

Патологическое истощение ДА является следствием потери дофаминергических нейронов в черной субстанции. Повреждения дофаминергических нейронов могут быть

следствием воздействия олигомерных форм альфа-синуклеина (α -Син), нарушения аутофагии, стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР), митохондриальной дисфункции и дисфункции кальциевого гомеостаза.

Митохондрии (МХ) играют центральную роль в выживании и гибели нейронов [3]. МХ динамика является важной функцией ДА-нейронов, т.к. аксоны нейронов nigrostriatной системы образуют один из самых длинных трактов в мозге, что требует дополнительного АТФ для транспортировки компонентов к дистально расположенным синаптическим терминалям [4]. МХ дисфункция является одним из признаков спорадической и наследственной форм БП [5]. Показано, что в трансгенных мышках с избыточной экспрессией α -Син дикого типа, происходит увеличение кривизны МХ мембран и фрагментация МХ [6,7]. Высокая степень кривизны мембран МХ и присутствие кардиолипина вносят вклад во взаимодействие α -Син с МХ. При патогенезе БП имеет место: снижение активности комплекса I дыхательной цепи митохондрий в nigrostriatной системе на 25-30%, увеличение производства митохондриями активных форм кислорода (АФК), АФК-опосредованное повреждение митохондриальной ДНК, а также функциональные нарушения митохондриальной динамики и митофагии. При самых ранних биохимических признаках БП наблюдаются ухудшения процесса взаимодействия митохондрий и ЭР, нарушения в функционировании дыхательной цепи МХ, повышение уровня митохондриальных АФК и дефицит энергии. [8].

АЛЬФА-СИНУКЛЕИН И Ca^{2+} В ПАТОГЕНЕЗЕ БП

В 1990-х годах α -Син был идентифицирован как основной компонент телец Леви, и генетические исследования показали первопричинную роль α -Син в нейродегенеративных заболеваниях, таких как α -синуклеинопатии, к которым относится и БП. Фибриллярные формы α -Син являются основными структурными компонентами телец Леви и играют главную роль в патогенезе БП. Накопление телец Леви увеличивается при точечных мутациях, дупликациях или трипликациях гена α -Син [9]. До настоящего времени точные механизмы цитотоксичности α -Син окончательно не изучены, тем не менее большое количество данных свидетельствует о том, что токсический эффект α -Син включает в себя различные механизмы: 1) потеря нормальной функции α -Син в процессах нейротрансмиссии, особенно в регуляции секреции ДА [10,11], инициация селективной дисфункции или дегенерации дофаминергических нейронов при БП; 2) α -Син ингибирует активность комплекса I, стимулирует производство АФК [12,13]; 3) растворимые префибриллярные олигомеры α -Син инициируют изменение мембранного потенциала,

нарушение гомеостаза Ca^{2+} и усиленное высвобождение цитохрома *c* [14]; 4) α -Син нарушает везикулярный транспорт ЭР-Гольджи и приводит к стрессу ЭР [15]; 5) α -Син ингибирует системы деградации белков, в том числе системы убиквитин-протеасомную (UPS) и эндосомально-лизосомальную [16]; 6) α -Син способствует пермеабиллизации мембран, что было показано на мембранных везикулах *in vitro* в работе [17]; 7) «прион-подобное» распространение патологических агрегатов α -Син между близлежащими областями мозга является важным механизмом, вызывающим прогрессирующую потерю дофаминергических нейронов при БП [18].

Концентрация внутриклеточного кальция играет решающую роль в контроле нормальной функции нейронов и нарушения Ca^{2+} -сигнализации наблюдаются при многих невропатологиях. При БП нарушение гомеостаза кальция, инициированного агрегацией α -Син, также является важным патологическим признаком [19-23]. Агрегация α -Син приводит к образованию олигомерных интермедиатов, которые могут обеспечивать повышение проницаемости мембран [24]. В недавних исследованиях авторы использовали рекомбинантный α -Син различной степени агрегации на отдельных нейронах и срезах головного мозга и показали, что олигомерные интермедиаты α -Син, обогащенные β -складчатыми структурами приводят к нарушению Ca^{2+} гомеостаза и Ca^{2+} -зависимой гибели клеток [25]. При нейродегенеративных заболеваниях способность нейронов поддерживать адекватный уровень энергии уменьшается, что приводит и к нарушению Ca^{2+} -гомеостаза [26,27]. Вход Ca^{2+} через потенциал-зависимые и лиганд-управляемые каналы плазматической мембраны является сигналом для высвобождения нейромедиаторов из пресинаптических терминалей и регуляции постсинаптических ответов нейронов [28,29]. Пресинаптическое накопление α -Син вызывает нарушение внутриклеточного гомеостаза кальция и динамики процессов, регулируемых Ca^{2+} [30].

Показано, что потенциал зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа вовлечены в патогенез БП [23,26,31,32-34]. Дофаминергические нейроны черной субстанции являются автономными осцилляторами (пейсмекерами), периодически генерируя потенциалы действия (спайки) в отсутствие внешней постсинаптической деполяризации [35,36]. Расширения спайков этих нейронов способствуют замедлению ритмической активности [37]. Пейсмекерная активность сопровождается медленными колебаниями внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , вызванной открытием потенциал зависимых (Ca_v1) Ca^{2+} -каналов L-типа плазматической мембраны и выходом Ca^{2+} из ЭР [38,39]. Каналы с порообразующей субъединицей $Ca_v1.2$ и каналы с субъединицей $Ca_v1.3$ способствуют этим осцилляциям в дофаминергических нейронах черной субстанции. Каналы $Ca_v1.3$ заслуживают особого внимания, потому что они открываются, когда плазматическая мембрана находится в

относительно гиперполяризованном состоянии [40-42]. Также было показано, что низкопороговые Ca^{2+} -каналы L-типа (наиболее вероятно, $\text{Ca}_v1.3$ -каналы) вносят значительный вклад в ретроградное распространение спайков в дендритах, дополнительно увеличивая проникновение Ca^{2+} и модулируя синаптическое усиление при стимуляции [43]. Ритмичная пейсмекерная активность дофаминергических нейронов необходима для поддержания базального уровня дофамина в стриатуме [44].

Митохондрии являются одним из основных регуляторов кальциевой сигнализации. Они могут проявлять свойства буфера Ca^{2+} , ограничивая чрезмерное повышение Ca^{2+} в цитозоле во время физиологических кальциевых сигналов [45]. Митохондрии способны осуществлять регуляцию цитозольной концентрации Ca^{2+} локально в различных частях нейрона. Такие локальные изменения концентрации Ca^{2+} и система транспорта МХ вовлечены в патогенез некоторых нейродегенеративных заболеваний, включая БП [46,47]. Триггером нейродегенеративных заболеваний [48] могут быть нарушения Ca^{2+} -зависимых процессов активации ферментов цикла трикарбоновых кислот и производства АТФ, митохондриальной NO-синтазы или производства АФК [49]. Учитывая ограниченную буферную способность митохондрий, чрезмерная концентрация этого иона может оказать серьезное деструктивное влияние на эти биохимические процессы.

МИТОФАГИЯ, PINK1, PARKIN

МХ гомеостаз регулируется несколькими путями, в том числе МХ биогенезом, ремоделированием (слияние/деление), удалением поврежденных митохондрий путем митофагии. Аутофагия является основным путем клеточного ремоделирования и выживания, который нарушается при дегенеративных процессах [50]. Митофагия является конститутивно активным процессом у здоровых нейронов, селективно элиминируя поврежденные (нефункциональные) МХ. Нарушения митофагии сопровождается развитием различных патологий. Так при БП показаны нарушения митофагии [51] и накопление «поврежденных» МХ [52], что может сопровождаться увеличением продукции АФК, понижением жизнеспособности дофаминергических нейронов черной субстанции, способствуя патогенезу БП [53]. В настоящее время рассматривают три варианта митофагии: 1) удаление митохондрий в процессе развития ретикулоцитов, 2) избирательное устранение отцовских МХ из оплодотворенных яйцеклеток, и 3) деградация поврежденных МХ [54]. Во всех трех вариантах используются одни и те же компоненты аутофагической машинерии. Различны лишь процессы инициации этих событий. В клетках млекопитающих митофагия осуществляется с помощью таких

ключевых белков как МХ киназа PINK1 и лигаза Parkin [55], которые являются центральными элементами контроля качества МХ. Система контроля качества защищает клетки от окислительного стресса и, в конечном счете, удаляет поврежденные МХ. Митофагия стимулируется при накоплении PINK1 в активной форме на наружной мембране МХ (Рис. 1). Накопление PINK1 происходит при деполяризации МХ, при нарушении импорта белка, при сверхэкспрессии PINK1, или при ингибировании протеаз, расщепляющих PINK1 [56]. Таким образом, PINK1 действует как сенсор повреждения митохондрий, накапливаясь на внешней мембране митохондрий. При этом он фосфорилирует Parkin и убиквитин (Ser65 в Ubl домене E3 лигазы и аналогичный Ser65 в домене убиквитина) [57,58]. Далее Parkin инициирует элиминацию поврежденных митохондрий аутофагией [59].

Мутации генов PINK1 и Parkin, в норме контролирующих процесс митофагии деградирующих МХ, связывают с наследственной и спорадической формами БП [60,61]. Мутации гена *PINK1*, вызывающие аутосомно-рецессивный ювенильный паркинсонизм, впервые были идентифицированы у уроженцев Сицилии [62]. В норме серин/треониновая киназа PINK1 импортируется в МХ через транслоказы наружной (Tom) и внутренней (Tim) мембран [63]. Внутри митохондрий PINK1 фосфорилирует ряд белков. К МХ субстратам PINK1 относят: Hsp90-подобный шаперон матрикса TRAP1 [64]; 2) межмембранную протеазу HtrA2/Omi (PARK13) [65]; 3) Miro – Ca²⁺-связывающую GTPазу на наружной мембране и регулирующую антероградное движение МХ [53,66]; 4) Митофузин-2 (Mfn2 - GTPаза наружной мембраны) – ключевой белок, обеспечивающий слияние МХ [67]; 5) антиапоптотический белок Bcl-xL (член семейства Bcl-2) [68]; 6) субъединицу NdufA10 комплекса I дыхательной цепи [69,70] (Рис. 1).

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ТРАНСЛОКАЗА ТОМ КАК МИШЕНЬ α -СИН

Около 90% МХ белков, кодируемых ядерной ДНК и синтезируемых на цитозольных рибосомах, импортируются в МХ. Митохондрии используют несколько молекулярных машин для доставки белков в различные компартменты органеллы [71]. Все ядерно-кодированные белки, предназначенные для одного из внутренних митохондриальных компартментов, входят в межмембранное пространство через канал Tom40, а затем расходятся по специализированному пути импорта в конечный пункт назначения. Сигнальные последовательности импортируемых белков распознаются рецепторными белками мультипротеинового комплекса ТОМ на цитозольной

поверхности наружной мембраны МХ [71]. Транслокатор Tom40, расположенный на наружной мембране МХ, функционирует как входные ворота для большинства МХ белков. Tom20 является главной субъединицей периферического рецептора импорта. Субъединица Tom22 относится к ядру (сердцевине) комплекса и экспонирует N-терминальный домен в цитозоль и С-терминальный домен в межмембранное пространство [72,73]. Цитозольные домены Tom20 и Tom22 взаимодействуют с образованием рецепторного сайта, называемого цис-сайтом, служащим для распознавания специфических МХ сигналов [74,75]. Предшественники белков, после распознавания рецепторными субъединицами комплекса TOM40, транслоцируются через внешнюю мембрану с помощью канала Tom40 (β -barrel Tom40) [76,77]. Показано, что некоторые посттрансляционно модифицированные виды α -Син связываются с высоким сродством с рецептором Tom20 (Рис. 1). Это связывание предотвращает взаимодействие Tom20 с N-терминальным доменом Tom22 и нарушает митохондриальный импорт белков через наружную МХ мембрану. Центральным каналом TOM-комплекса, инициирующего сортировку белков-предшественников в митохондриальные субкомпарменты при участии других транслоказ, является Tom40 (40 kDa) [78-80]. Показано, что при взаимодействии посттрансляционно модифицированных видов α -Син с МХ нарушается импорт белков, связанных с окислительным фосфорилированием, и, как следствие, ухудшается окислительно-восстановительный баланс [81], наблюдается недостаточность МХ дыхания, повышенное образование АФК, и потеря МХ мембранного потенциала. Также было показано, что комплекс TOM является ключевым молекулярным переключателем в программе аутофагии поврежденных МХ, контролируемой путем PINK1-Parkin, и блокада МХ импорта белка инициирует прикрепление PINK1-Parkin к наружной МХ мембране [82]. Исследование посмертной ткани головного мозга у пациентов с БП выявили aberrантное взаимодействие белка α -Син и рецептора Tom20 в нигростриатных дофаминергических нейронах, которое коррелировало с подавлением импорта белков в МХ [81].

Рост и функционирование МХ невозможны без импорта белков, кодируемых ядерным геномом и синтезированных на цитоплазматических рибосомах. Очевидными следствиями нарушения импорта белков-предшественников в МХ являются дисбаланс в системах, обеспечивающих мембранную динамику, биоэнергетическую активность, а также активация системы «контроля качества» МХ.

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА I ЭЛЕКТРОН- ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ

Комплекс I (протон-транслоцирующая NADH:убихинон-оксидоредуктаза) в клетках млекопитающих выполняет не менее трех важнейших функций: 1) обеспечивает главный путь окисления NADH, образующегося в ходе окислительного распада белков, жиров и углеводов, поддерживая таким образом физиологически необходимое соотношение $NAD^+/NADH$; 2) служит источником электронов для генерации $\Delta\mu_{H^+}$, и переносит протоны на внешнюю сторону внутренней мембраны МХ; 3) сам комплекс представляет собой энергопреобразующее устройство, обеспечивающее около трети общего запаса энергии, освобождающейся при окислении NADH кислородом [83].

В независимых исследованиях было установлено снижение активности комплекса I в нейронах черной субстанции среднего мозга у больных со спорадической формой БП [84-86]. Снижение активности комплекса I, приводило к селективной дофаминергической нейродегенерации в результате окислительного стресса [86]. Производство АФК в МХ в норме может быть использовано в качестве триггера для сигнальных каскадов в центральной нервной системе, однако избыточное производство АФК может приводить к патологии БП [87].

Ранее было показано, что токсин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МРТР), вызывает паркинсонизм в результате селективного ингибирования комплекса I. Другие ингибиторы комплекса I (пиридабен, ротенон, трихлорэтилен) также инициировали дегенерацию дофаминергических нейронов у грызунов и человека и дисфункцию митохондрий [88]. Результаты на животных и клеточных моделях БП свидетельствуют о том, что растворимые префибриллярные олигомеры α -Син вызывают дисфункцию комплекса I, изменение мембранного потенциала, нарушение Ca^{2+} гомеостаза и повышение высвобождения цитохрома c [14]. Ингибирование комплекса I, наблюдаемое в некоторых экспериментальных моделях паркинсонизма, увеличивает образование АФК в МХ, что в свою очередь может приводить к окислению МХ ДНК и компонентов дыхательной цепи, способствуя окислительному стрессу [89].

КОНТАКТНЫЕ САЙТЫ МЕЖДУ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКИМ РЕТИКУЛУМОМ И МИТОХОНДРИЯМИ

Самые ранние биохимические признаки БП проявляются в нарушениях взаимодействия митохондрий и эндоплазматического ретикула. Эндоплазматический ретикулум (ЭР) является мультифункциональной органеллой, которая контролирует широкий спектр клеточных процессов, таких как биосинтез стеролов, синтез и

модификацию белков и обеспечивает защиту от нарушений этого процесса, принимает участие во многих сигнальных путях, регулирующих экспрессию генов и апоптоз, а также процесс запасаения ионов Ca^{2+} .

Показано, что олигомеры α -Син способны инициировать стресс ЭР [90].

Субкомпарменты эндоплазматического ретикулула, ассоциированные с митохондриями (MAMs), играют важную роль во взаимодействии ЭР-МХ. MAMs сайты действуют как сигнальный центр, играющий важную роль в липидном обмене и гомеостазе ионов кальция и участвующий в регуляции таких фундаментальных процессов как контроль морфологии митохондрий, индукция окислительного стресса, аутофагия и апоптоз. MAMs позволяют эффективно переносить ионы кальция из ЭР в МХ без повышения уровня цитозольного $[\text{Ca}^{2+}]$. Микродомены с высокой $[\text{Ca}^{2+}]$ (> 10 мкМ) формируются скоротечно в регионах между МХ и Ca^{2+} -каналами ЭР [91].

α -Син взаимодействует с MAMs и влияет на Ca^{2+} -вход в МХ [92]. Роль Ca^{2+} -выхода из ЭР, как усилителя митохондриального апоптоза, поддерживается открытием взаимодействия между рецептором к инозитол-3-фосфату (IP_3R) и цитохромом *c* [93,94]. На ранних стадиях апоптоза цитохром *c* выходит из митохондрий и селективно связывается с IP_3R в области структур MAMs (Рис. 1). Известно, что α -Син дикого типа присутствует в MAMs структурах. Было показано, что локализация α -Син с точечными мутациями между цитозолем и MAMs структурами изменяется при патогенезе БП. Это изменение связано с уменьшением активности комплекса MAMs и с увеличением фрагментации митохондрий [92].

Связывание цитохрома *c* с IP_3R отменяет опосредованное кальцием ингибирование высвобождения кальция через IP_3 канал. В результате ингибирования цитохромом *c* цепи ($[\text{Ca}^{2+}]-\text{IP}_3\text{R}$) отрицательной обратной связи значительно увеличивается вход Ca^{2+} в МХ, который вызывает дальнейшее высвобождение цитохрома *c*.

Известно, что α -Син дикого типа присутствует в MAMs структурах, тогда как количество связанного с БП мутантного α -Син снижается и увеличивается фрагментация митохондрий по сравнению с диким типом [95].

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

Низкие концентрации АФК выполняют сигнальные функции в качестве вторичных посредников в редокс-чувствительных сигнальных путях [96].

Высокие концентрации АФК в клетках (кроме профессиональных фагоцитов – клеток врожденного иммунитета) являются признаком окислительного стресса и

причиной гибели клеток. Известно, что окислительный стресс, состояние, возникающее из-за дисбаланса в продукции и утилизации АФК, играет важную роль в патофизиологии нейродегенеративных заболеваний, включая БП [13].

Получено большое количество доказательств, свидетельствующих о том, что окислительный стресс и дисфункция митохондрий способствуют дегенерации дофаминергических нейронов [97-101]. В мозге эндогенное производство АФК опосредуется митохондриальными и не митохондриальными АФК-генерирующими ферментами.

Основным источником супероксид-аниона в результате одноэлектронного восстановления кислорода в митохондриях является дыхательная цепь и системы NOX (никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH) оксидаза). Кроме того, митохондриальными источниками супероксида являются моноаминоксидаза, цитохром *b5* редуктаза, глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, цитохромы P450, аконитаза. Результаты, полученные в экспериментах *in vivo*, свидетельствуют о том, что супероксид-анион вносит существенный вклад в инициацию нейродегенеративного повреждения при болезни Паркинсона [102].

Повышенная продукция АФК индуцируют окислительное повреждение молекул ДНК, особенно митохондриальной ДНК, белков, липидов, вызывая различного рода дисфункции или окислительный стресс. Повреждение ДНК под действием АФК является одной из характерных особенностей БП [103].

Окислительный стресс с накоплением в тканях и биологических жидкостях АФК и вторичных продуктов оксидативной модификации макромолекул обнаружен при многих болезнях и патологических синдромах, а также играет важную роль в дегенерации дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона [104]. Ряд факторов могут модулировать скорость и уровень производства АФК митохондриями.

Так, например, белки с нарушенной укладкой (альфа-синуклеин, бета-амилоид и тау) играют роль в нейродегенеративных процессах, оказывая в том числе влияние на митохондриальную функцию и производство АФК [105]. Олигомерные формы альфа-синуклеина в сочетании с ионами металлов могут индуцировать производство супероксида и перекиси водорода [106]. Следует отметить, что при действии токсичных форм α -Син главной причиной гибели нервных клеток является избыточная продукция АФК и окислительный стресс клеток.

В ряде работ показано, что мономерные и олигомерные формы α -Син непосредственно взаимодействуют с липидами мембран, формируют пору и иницируют повышение внутриклеточного уровня Ca^{2+} [25,87]. Цитозольный Ca^{2+} непосредственно

стимулирует продукцию АФК ферментами, находящимися на внешней мембране митохондрий – моноаминоксидазой (МАО) и α -глицерофосфатдегидрогеназой (mGPDH). Ca^{2+} перегрузка митохондрий в результате захвата избыточного $[\text{Ca}^{2+}]_c$ и АФК являются основными триггерами неспецифической поры высокой проводимости (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) во внутренней мембране МХ [107].

В недавних исследованиях показано, что олигомеры α -Син, обогащенного β -складчатыми структурами, и, в меньшей степени, фибриллы α -Син инициируют увеличение продукции АФК и активируют перекисное окисление липидов, продукты которого способствуют накоплению токсичных олигомеров α -Син [106,108]. Это может быть обусловлено ухудшением МХ импорта белков через наружную МХ мембрану при связывании α -Син с высоким сродством с рецептором Tom20 транслоказного комплекса TOM40.

Таким образом, способность олигомерного (но не мономерного) α -син индуцировать не только повышение $[\text{Ca}^{2+}]_c$ и $[\text{Ca}^{2+}]_m$, но и производство АФК, увеличивает вероятность открытия неспецифической поры высокой проводимости.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (уникальный идентификатор соглашения RFMEFI61615X0054).

ЛИТЕРАТУРА

1. Zaltieri M., Grigoletto J., Longhena F., Navarria L., Favero G., Castrezzati S., Colivicchi M.A., Della Corte L., Rezzani R., Pizzi M., Benfenati F., Spillantini M.G., Missale C., Spano P., Bellucci A. 2015. α -synuclein and synapsin III cooperatively regulate synaptic function in dopamine neurons. *J. Cell Sci.* **128** (13), 2231-2243.
2. Goedert M., Spillantini M.G., Del Tredici K., Braak H. 2013. 100 years of Lewy pathology. *Nat. Rev. Neurol.* **9** (1), 13-24.
3. Nicholls D.G., Budd S.L. 2000. Mitochondria and neuronal survival. *Physiol. Rev.* **80** (1): 315-360.
4. Lim K.L., Ng X.H., Grace L.G., Yao T.P. 2012. Mitochondrial dynamics and Parkinson's disease: focus on parkin. *Antioxid. Redox Signal.* **16** (9), 935-949.
5. Hang L., Thundiyil J., Lim K.L. 2015. Mitochondrial dysfunction and Parkinson disease: a Parkin-AMPK alliance in neuroprotection. *Ann. N Y Acad. Sci.* **1350**, 37-47.
6. Song D.D., Shults C.W., Sisk A., Rockenstein E., Masliah E. 2004 Enhanced substantia nigra mitochondrial pathology in human alpha-synuclein transgenic mice after treatment with MPTP. *Exp. Neurol.* **186** (2), 158-172.
7. Nakamura K., Nemani V.M., Azarbal F., Skibinski G., Levy J.M., Egami K., Munishkina L., Zhang J., Gardner B., Wakabayashi J., Sesaki H., Cheng Y., Finkbeiner S., Nussbaum R.L., Masliah E., Edwards R.H. 2011. Direct membrane association drives mitochondrial fission by the Parkinson disease-associated protein alpha-synuclein. *J. Biol. Chem.* **286**, 20710–20726.
8. Requejo-Aguilar R., Bolaños J.P. 2016 Mitochondrial control of cell bioenergetics in Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* **100**:123-137.
9. Singleton A.B., Farrer M., Johnson J., Singleton A., Hague S., Kachergus J., Hulihan M., Peuralinna T., Dutra A., Nussbaum R., Lincoln S., Crawley A., Hanson M., Maraganore D., Adler C., Cookson M.R., Muentner M., Baptista M., Miller D., Blancato J., Hardy J., Gwinn-Hardy K. 2003. alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science.* **302** (5646), 841.
10. Murphy D.D., Rueter S.M., Trojanowski J.Q., Lee V.M. 2000. Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J. Neurosci.* **20** (9), 3214-3220.
11. Chen R.H., Wislet-Gendebien S., Samuel F., Visanji N.P., Zhang G., Marsilio D.,

- Langman T., Fraser P.E., Tandon A. 2013. α -Synuclein membrane association is regulated by the Rab3a recycling machinery and presynaptic activity. *J. Biol Chem.* **288** (11), 7438-7449.
12. Devi L., Raghavendran V., Prabhu B.M., Avadhani N.G., Anandatheerthavarada H.K. 2008. Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain. *J. Biol. Chem.* **283** (14), 9089-9100.
13. Dias V., Junn E., Mouradian M.M. 2013. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J. Parkinsons Dis.* **3** (4), 461-491.
14. Luth E.S., Stavrovskaya I.G., Bartels T., Kristal B.S., Selkoe D.J. 2014. Soluble, Prefibrillar α -Synuclein Oligomers Promote Complex I-dependent, Ca^{2+} -induced Mitochondrial Dysfunction. *J. Biol. Chem.* **289** (31), 21490–21507.
15. Thayanidhi N., Helm J.R., Nycz D.C., Bentley M. Liang Y., Hay J.C. 2010. Alpha-synuclein delays endoplasmic reticulum (ER)-to-Golgi transport in mammalian cells by antagonizing ER/Golgi SNAREs. *Mol. Biol. Cell.* **21** (11), 1850-1863.
16. Ebrahimi-Fakhari D., Cantuti-Castelvetri I., Fan Z., Rockenstein E., Masliah E., Hyman B.T., McLean P.J., Unni V.K. 2011. Distinct roles in vivo for the ubiquitin-proteasome system and the autophagy-lysosomal pathway in the degradation of α -synuclein. *J. Neurosci.* **31** (41), 14508-14520.
17. Volles M.J., Lee S.J., Rochet J.C., Shtilerman M.D., Ding T.T., Kessler J.C., Lansbury P.T.Jr. 2001. Vesicle permeabilization by protofibrillar alpha-synuclein: implications for the pathogenesis and treatment of Parkinson's disease. *Biochemistry.* **40** (26), 7812-7819.
18. Oueslati A., Ximerakis M., Vekrellis K. 2014 Protein Transmission, Seeding and Degradation: Key Steps for α -Synuclein Prion-Like Propagation. *Exp. Neurobiol.* **23** (4), 324-336.
19. Caraveo G., Auluck P.K., Whitesell L., Chung C.Y., Baru V., Mosharov E.V., Yan X., Ben-Johny M., Soste M., Picotti P., Kim H., Caldwell K.A., Caldwell G.A., Sulzer D., Yue D.T., Lindquist S. 2014. Calcineurin determines toxic versus beneficial responses to α -synuclein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **111** (34), E3544-3552
20. Goldberg J.A., Guzman J.N., Estep C.M., Ilijic E., Kondapalli J., Sanchez-Padilla J., Surmeier D.J. 2012. Calcium entry induces mitochondrial oxidant stress in vagal neurons at risk in Parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* **15** (10), 1414-1421.

21. Hurley M.J., Brandon B., Gentleman S.M., Dexter D.T. 2013. Parkinson's disease is associated with altered expression of CaV1 channels and calcium-binding proteins. *Brain*. **136** (Pt 7), 2077-2097.
22. Surmeier D.J., Guzman J.N., Sanchez-Padilla J. 2010. Calcium, cellular aging, and selective neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Cell Calcium*. **47** (2), 175-182.
23. Surmeier D.J., Schumacker P.T., Guzman J.D., Ilijic E., Yang B., Zampese E. 2017. Calcium and Parkinson's disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **483** (4), 1013-1101.
24. Danzer K.M., Haasen D., Karow A.R., Moussaud S., Habeck M., Giese A., Kretzschmar H., Hengerer B., Kostka M. 2007. Different species of alpha-synuclein oligomers induce calcium influx and seeding. *J. Neurosci.* **27** (34), 9220-9232.
25. Angelova P.R., Ludtmann M.H., Horrocks M.H., Negoda A., Cremades N., Klenerman D., Dobson C.M., Wood N.W., Pavlov E.V., Gandhi S., Abramov A.Y. 2016. Ca²⁺ is a key factor in α -synuclein-induced neurotoxicity. *J Cell Sci.* **129** (9), 1792-1801.
26. Calì T., Ottolini D., Brini M. 2014. Calcium signaling in Parkinson's disease. *Cell Tissue Res.* **357** (2), 439-454.
27. Angelova P.R., Abramov A.Y. 2016. Functional role of mitochondrial reactive oxygen species in physiology. *Free Radic Biol Med.* **S0891-5849** (16), 30293-30298.
28. Burnashev N., Rozov A. 2005. Presynaptic Ca²⁺ dynamics, Ca²⁺ buffers and synaptic efficacy. *Cell Calcium*. **37** (5), 489-495.
29. Hartmann J., Konnerth A. 2005. Determinants of postsynaptic Ca²⁺ signaling in Purkinje neurons. *Cell Calcium*. **37** (5), 459-466.
30. Nemani V.M., Lu W., Berge V., Nakamura K., Onoa B., Lee M.K., Chaudhry F.A., Nicoll R.A., Edwards R.H. 2010. Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle reclustering after endocytosis. *Neuron*. **65** (1), 66-79.
31. Hurley M.J., Dexter D.T. 2012. Voltage-gated calcium channels and Parkinson's disease. *Pharmacol. Ther.* **133**, 324-333.
32. Ortner N.J., Striessnig J. 2016. L-type calcium channels as drug targets in CNS disorders. *Channels*. **10**, 7-13.

33. Schapira A.H. 2013. Calcium dysregulation in Parkinson's disease. *Brain*. **136**, 2015-2016.
34. Zamponi G.W. 2016. Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **15**, 19-34.
35. Grace A.A., Bunney B.S. 1983. Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons—1. Identification and characterization. *Neuroscience*. **10**, 301-315.
36. Chan C.S., Guzman J.N., Ilijic E., Mercer J.N., Rick C., Tkatch T., Meredith G.E., Surmeier D.J. 2007. 'Rejuvenation' protects neurons in mouse models of Parkinson's disease. *Nature*. **447**, 1081-1086.
37. Bean B.P. 2007. The action potential in mammalian central neurons. *Nat. Rev. Neurosci.* **8**, 451-465.
38. Foehring R.C., Zhang X.F., Lee J.C., Callaway J.C. 2009. Endogenous calcium buffering capacity of substantia nigral dopamine neurons. *J. Neurophysiol.* **102**, 2326-2333.
39. Guzman J.N., Sánchez-Padilla J., Chan C.S., Surmeier D.J. 2009. Robust pacemaking in substantia nigra dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* **29** (35), 11011-11019.
40. Lipscombe D., Helton T.D., Xu W. 2004. L-type calcium channels: the low down. *J. Neurophysiol.* **92**, 2633-2641.
41. Koschak A., Reimer D., Huber I., Grabner M., Glossmann H., Engel J., Striessnig J. 2001. Alpha 1D (Cav1.3) subunits can form l-type Ca²⁺ channels activating at negative voltages. *J. Biol. Chem.* **276**, 22100-22106.
42. Xu W., Lipscombe D. 2001. Neuronal Ca(V)1.3alpha(1) L-type channels activate at relatively hyperpolarized membrane potentials and are incompletely inhibited by dihydropyridines. *J. Neurosci.* **21**, 5944-5951.
43. Hage T.A., Khaliq Z.M. 2015. Tonic firing rate controls dendritic Ca²⁺ signaling and synaptic gain in substantia nigra dopamine neurons. *J. Neurosci.* **35**, 5823-5836.
44. Surmeier D.J., Schumacker P.T. 2013. Calcium, bioenergetics, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *J. Biol. Chem.* **288**, (15), 10736-10741.
45. Werth J.L., Thayer S.A. 1994. Mitochondria buffer physiological calcium loads in cultured rat dorsal root ganglion neurons. *J. Neurosci.* **14** (1), 348-356.

46. Fluegge D., Moeller L.M., Cichy A., Gorin M., Weth A., Veitinger S., Cainarca S., Lohmer S., Corazza S., Neuhaus E.M., Baumgartner W., Spehr J., Spehr M. 2012. Mitochondrial Ca^{2+} mobilization is a key element in olfactory signaling. *Nat. Neurosci.* **15** (5), 754-762.
47. Rizzuto R., De Stefani D., Raffaello A., Mammucari C. 2012. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13** (9), 566-578.
48. Abeti R., Abramov A.Y. Mitochondrial Ca^{2+} in neurodegenerative disorders. 2015. *Pharmacol Res.* **99**, 377-381.
49. Gleichmann M., Mattson M.P. 2011. Neuronal calcium homeostasis and dysregulation. *Antioxid Redox Signal.* **14** (7), 1261-1273.
50. Matus S., Castillo K., Hetz C. 2012. Hormesis: protecting neurons against cellular stress in Parkinson disease. *Autophagy.* **8** (6), 997-1001.
51. de Vries R.L., Przedborski S. 2013. Mitophagy and Parkinson's disease: be eaten to stay healthy. *Mol. Cell Neurosci.* **55**, 37-43.
52. Osellame L.D., Duchen M.R. 2013. Defective quality control mechanisms and accumulation of damaged mitochondria link Gaucher and Parkinson diseases. *Autophagy.* **9** (10), 1633-1635.
53. Wang X., Winte D., Ashrafi G., Schlehe J., Wong Y.L., Selkoe D., Rice S., Steen J., LaVoie M.J., Schwarz T.L. 2011. PINK1 and Parkin target Miro for phosphorylation and degradation to arrest mitochondrial motility. *Cell.* **147** (4), 893-906.
54. Ashrafi G., Schwarz T.L. 2013. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death Differ.* **20** (1), 31-42.
55. Youle R.J., Narendra D.P. 2011 Mechanisms of mitophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **12** (1), 9-14.
56. Matsuda N., Sato S., Shiba K., Okatsu K., Saisho K., Gautier C.A., Sou Y.S., Saiki S., Kawajiri S., Sato F., Kimura M., Komatsu M., Hattori N., Tanaka K. 2010. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J. Cell Biol.* **189** (2), 211-221.

57. Kane L.A., Lazarou M., Fogel A.I., Li Y., Yamano K., Sarraf S.A., Banerjee S., Youle R.J. 2014. PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity. *J. Cell Biol.* **205** (2), 143-153.
58. Koyano F., Okatsu K., Kosako H., Tamura Y., Go E., Kimura M., Kimura Y., Tsuchiy H., Yoshihara H., Hirokawa T., Endo T., Fon E.A., Trempe J.F., Saeki Y., Tanaka K., Matsuda N. Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. 2014. *Nature.* **510** (7503) 162-166.
59. Geisler S., Holmström K.M., Treis A., Skujat D., Weber S.S., Fiesel F.C., Kahle P.J., Springer W. 2010. The PINK1/Parkin mediated mitophagy is compromised by PD-associated mutations. *Autophagy.* **6** (7), 871-878.
60. Ryan B.J., Hoek S., Fon E.A., Wade-Martins R. 2015. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's: from familial to sporadic disease. *Trends Biochem. Sci.* **40** (4), 200-210.
61. Hernandez D.G., Reed X., Singleton A.B. 2016. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance. *J. Neurochem.* **139** (1), 59-74.
62. Valente E.M., Abou-Sleiman P.M., Caputo V., Muqit M.M., Harvey K., Gispert S., Ali Z., Del Turco D., Bentivoglio A.R., Healy D.G., Albanese A., Nussbaum R., González-Maldonado R., Deller T., Salvi S., Cortelli P., Gilks W.P., Latchman D.S., Harvey R.J., Dallapiccola B., Auburger G., Wood N.W. 2004. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science.* **304**, 1158-1160.
63. Lazarou M., Jin S.M., Kane L.A., Youle R.J. 2012. Role of PINK1 binding to the TOM complex and alternate intracellular membranes in recruitment and activation of the E3 ligase Parkin. *Dev. Cell.* **22**, 320-333.
64. Pridgeon J.W., Olzmann J.A., Chin L.S., Li L. 2007. PINK1 protects against oxidative stress by phosphorylating mitochondrial chaperone TRAP1. *PLoS Biol.* **5**, e172.
65. Plun-Favreau H., Klupsch K., Moiso N., Gandhi S., Kjaer S., Frith D., Harvey K., Deas E., Harvey R.J., McDonald N., Wood N.W., Martins L.M., Downward J. 2007. The mitochondrial protease HtrA2 is regulated by Parkinson's disease-associated kinase PINK1. *Nat Cell Biol.* **9**, 1243-1252.

66. Weihofen A., Thomas K.J., Ostaszewski B.L., Cookson M.R., Selkoe D.J. 2009. Pink1 forms a multiprotein complex with Miro and Milton, linking Pink1 function to mitochondrial trafficking. *Biochemistry*. 2009. **48** (9), 2045-2052.
67. Chen Y., Dorn G.W. 2nd. 2013. PINK1-phosphorylated mitofusin 2 is a Parkin receptor for culling damaged mitochondria. *Science*. **340** (6131), 471-475.
68. Arena G., Gelmetti V., Torosantucci L., Vignone D., Lamorte G., De Rosa P., Cilia E., Jonas E.A., Valente E.M. 2013. PINK1 protects against cell death induced by mitochondrial depolarization, by phosphorylating Bcl-xL and impairing its pro-apoptotic cleavage. *Cell Death Differ*. **20** (7), 920-930.
69. Abramov A.Y., Gegg M., Grunewald A., Wood N.W., Klein C., Schapira A.H. 2011. Bioenergetic consequences of PINK1 mutations in Parkinson disease. *PLoS One*. **6** (10):e25622.
70. Morais V.A., Haddad D., Craessaerts K., De Bock P.J., Swerts J., Vilain S., Aerts L., Overbergh L., Grunewald A., Seibler P., Klein C., Gevaert K., Verstreken P., De Strooper B. 2014. PINK1 loss-of-function mutations affect mitochondrial complex I activity via NdufA10 ubiquinone uncoupling. *Science*. **344**, 203-207.
71. Chacinska A., Koehler C.M., Milenkovic D., Lithgow T., and Pfanner N. 2009. Importing mitochondrial proteins: machineries and mechanisms. *Cell*. **138**, 628-644.
72. Lithgow T., Junne T., Suda T., Gratzler S., Schatz G. 1994. The mitochondrial outer membrane protein Mas22p is essential for protein import and viability of yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91**, 11973-11977.
73. Nakai M., Endo T. 1995. Identification of yeast MAS17 encoding the functional counterpart of the mitochondrial receptor complex protein MOM22 of *Neurospora crassa*. *FEBS Lett*. **357**, 202-206.
74. Abe Y., Shodai T., Muto T., Mihara K., Torii H., Nishikawa S., Endo T., Kohda D. 2000. Structural basis of presequence recognition by the mitochondrial protein import receptor Tom20. *Cell*. **100**, 551-560.
75. Yamano K., Yatsukawa Y., Esaki M., Hobbs A.E., Jensen R.E., Endo T. 2008. Tom20 and Tom22 share the common signal recognition pathway in mitochondrial protein import. *J. Biol. Chem*. **283**, 3799-3807.

76. Künkele K.P., Heins S., Dembowski M., Nargang F.E., Benz R., Thieffry M., Walz J., Lill R., Nussberger S., Neupert W. 1998. The preprotein translocation channel of the outer membrane of mitochondria. *Cell*. **93**, 1009-1019.
77. Model K., Prinz T., Ruiz T., Radermacher M., Krimmer T., Kühlbrandt W., Pfanner N., Meisinger C. 2003. Protein translocase of the outer mitochondrial membrane: role of import receptors in the structural organization of the TOM complex. *J. Mol. Biol.* **316**, 657–666.
78. Esaki M., Shimizu H., Ono T., Yamamoto H., Kanamori T., Nishikawa S., Endo T. 2004. Mitochondrial protein import: Requirement of the presequence elements and TOM components for precursor binding to the TOM complex. *J. Biol. Chem.* **279**, 45701-45707.
79. Gabriel K., Egan B., Lithgow T. 2003. Tom40, the import channel of the mitochondrial outer membrane, plays an active role in sorting imported proteins. *EMBO J.* **22** (10), 2380-2386.
80. Straub S.P., Stiller S.B., Wiedemann N., Pfanner N. 2016. Dynamic organization of the mitochondrial protein import machinery. *Biol Chem.* **397** (11), 1097-1114.
81. Di Maio R., Barrett P.J., Hoffman E.K., Barrett C.W., Zharikov A., Borah A., Hu X., McCoy J., Chu C.T., Burton E.A., Hastings T.G., Greenamyre J.T. 2016. α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease. *Sci Transl Med.* **8** (342), 342ra78.
82. Bertolin G., Ferrando-Miguel R., Jacoupy M., Traver S., Grenier K., Greene A.W., Dauphin A., Waharte F., Bayot A., Salamero J., Lombès A., Bulteau A.L., Fon E.A., Brice A., Corti O. 2013. The TOMM machinery is a molecular switch in PINK1 and PARK2/PARKIN-dependent mitochondrial clearance. *Autophagy.* **9** (11), 1801-1817.
83. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. 2003. *Успехи биологической химии.* **43**, 19-58.
84. Hattori N., Tanaka M., Ozawa T., Mizuno Y. 1991. Immunohistochemical studies on complexes I, II, III, and IV of mitochondria in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* **30** (4), 563-571.
85. Hattingen E., Magerkurth J., Pilatus U., Mozer A., Seifried C., Steinmetz H., Zanella F., Hilker R. 2009. Phosphorus and proton magnetic resonance spectroscopy demonstrates

- mitochondrial dysfunction in early and advanced Parkinson's disease. *Brain*. **132** (12), 3285-3297.
86. Schapira A.H., Mann V.M., Cooper J.M., Dexter D., Daniel S.E., Jenner P., Clark J.B., Marsden C.D. 1990. Anatomic and disease specificity of NADH CoQ1 reductase (complex I) deficiency in Parkinson's disease. *J. Neurochem*. **55** (6), 2142-2145.
87. Angelova P.R., Abramov A.Y. 2017. Alpha-synuclein and beta-amyloid - different targets, same players: calcium, free radicals and mitochondria in the mechanism of neurodegeneration. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. **483** (4): 1110-1115.
88. Chaturvedi R.K., Beal M.F. 2008. Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Ann N.Y. Acad. Sci*. **1147**: 395-412
89. Murphy M.P. 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*. **417** (1), 1-13.
90. Colla E., Jensen P.H., Pletnikova O., Troncoso J.C., Glabe C., Lee M.K. 2012. Accumulation of toxic α -synuclein oligomer within endoplasmic reticulum occurs in α -synucleinopathy in vivo. *J. Neurosci*. **32** (10), 3301-3305.
91. Giacomello M., Drago I., Pizzo P., Pozzan T. 2007. Mitochondrial Ca^{2+} as a key regulator of cell life and death. *Cell Death Differ*. **14** (7), 1267-1274.
92. Guardia-Laguarta C., Area-Gomez E., Rbb C., Liu Y., Magranñ J., Becker D., Voos W., Schon E.A., Przedborski S. 2014. α -Synuclein is localized to mitochondria-associated ER membranes. *J. Neurosci*. **34**, 249-259.
93. Boehning D., Patterson R.L., Sedaghat L., Glebova N.O., Kurosaki T., Snyder S.H. 2003. Cytochrome c binds to inositol (1,4,5) trisphosphate receptors, amplifying calcium-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol*. **5** (12): 1051-1061.
94. Boehning D., van Rossum D.B., Patterson R.L., Snyder S.H. 2005. A peptide inhibitor of cytochrome c/inositol 1,4,5-trisphosphate receptor binding blocks intrinsic and extrinsic cell death pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **102** (5), 1466-1471.
95. Guardia-Laguarta C., Area-Gomez E., Schon E.A., Przedborski .S. 2015. A new role for α -synuclein in Parkinson's disease: Alteration of ER-mitochondrial communication *Mov Disord*. **30** (8), 1026-1033.

96. Petry A., Weitnauer M., Görlach A. 2010. Receptor activation of NADPH oxidases. *Antioxid Redox Signal.* **13** (4), 467-487.
97. Schapira A.H., Jenner P. 2011. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord.* **26**, 1049-1055.
98. Zhu J., Chu C.T. 2010. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *J. Alzheimers Dis.* **20** (2), 325-334.
99. Parker W.D., Parks J.K., Swerdlow R.H. 2008. Complex I deficiency in Parkinson's disease frontal cortex. *Brain Res.* **16**, 215-218.
100. Jenner P., Olanow C.W. 2006. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Neurology.* **66** (4), 24-36.
101. Beal M.F. 2005. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol.* **58**: 495-505.
102. Zhelev Z., Bakalova R., Aoki I., Lazarova D., Saga T. 2013. Imaging of superoxide generation in the dopaminergic area of the brain in Parkinson's disease, using mito-TEMPO. *ACS Chem Neurosci.* **4** (11), 1439-1445.
103. Cadet J.L., Brannock C. 1998. Invited review Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochemistry International.* **32** (2), 117-131.
104. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. 1991. Свободные радикалы в живых системах. *Итоги науки и техники. Сер. Биофизика.* **29**.
105. Abramov A.Y., Canevari L., Duchen M.R. 2004. Beta-amyloid peptides induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in astrocytes and death of neurons through activation of NADPH oxidase. *J. Neurosci.* **24** (2), 565-575.
106. Deas E., Cremades N., Angelova P.R., Ludtmann M.H., Yao Z., Chen S., Horrocks M.H., Banushi B., Little D., Devine M.J., Gissen P., Klenerman D., Dobson C.M., Wood N.W., Gandhi S., Abramov A.Y. 2016. Alpha-synuclein oligomers interact with metal ions to induce oxidative stress and neuronal death in parkinson's disease. *Antioxid. Redox Signal.* **24** (7), 376-391.
107. Bernardi P., Rasola A., Forte M., Lippe G. 2015. The Mitochondrial Permeability Transition Pore: Channel Formation by F-ATP Synthase, Integration in Signal Transduction, and Role in Pathophysiology. *Physiol. Rev.* **95** (4), 1111-1155.

108. Jiang P., Gan M., Yen S.H. 2013. Dopamine prevents lipid peroxidation-induced accumulation of toxic α -synuclein oligomers by preserving autophagy-lysosomal function. *Front Cell Neurosci.* **7**, 81.

ALPHA-SINUKLEIN AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION
IN PARKINSON DISEASE

*Ludmila P. Dolgacheva¹, Evgeniya I. Fedotova¹,
Andrey Y. Abramov² and Alexey V. Berezhnov¹*

¹Institute of Cell Biophysics of Russian Academy of Sciences, 3 Institutskaya st., Pushchino,
142290, Russian Federation

²Department of Molecular Neuroscience, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London
WC1N 3BG, United Kingdom

e-mail: g_56@rambler.ru

Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurodegenerative diseases. The development of pathology is associated with the loss of dopaminergic neurons, mainly in the substantia nigra pars compacta. Insufficiency of dopamine causes a whole range of severe motor symptoms, including bradykinesia, postural instability, rigidity of muscles and tremor. Genetic studies have shown the primary cause of the alpha-synuclein protein in this neurodegenerative disease. A large amount of data indicates different mechanisms of the toxic effect of alpha-synuclein. The process of neurodegeneration in PD is the result of significant disturbances in mitochondrial functions and/or genetic mutations. PINK1 and Parkin which are the main participants in the "quality control" system of mitochondria, are included in mutated genes in hereditary and sporadic forms of PD and disrupt this control under the influence of toxic forms of alpha-synuclein. The earliest biochemical signs of the disease are manifested in disturbances of the mitochondrial interaction with endoplasmic reticulum, mitochondrial dynamics, Ca²⁺ homeostasis, and an increase in the level of mitochondrial reactive oxygen species. All these factors have a damaging effect on dopaminergic neurons.

Рисунок 1. Посттрансляционно модифицированные и мутантные формы α -синуклеина вызывают дисфункцию МХ.

Сокращения: ER – эндоплазматический ретикулум, α -syn – альфа-синуклеин; MAMs – субкомпарменты эндоплазматического ретикулума, ассоциированные с митохондриями; Grp75 – (75 kDa glucose regulated protein) белок митохондриального матрикса, член семейства белков теплового шока 70; VDAC – потенциал зависимый анионный канал; MCU – МХ Ca^{2+} -унипортер; TCA – цикл трикарбоновых кислот; TOM – транслоказа наружной мембраны; Tom20 – главная субъединица периферического рецептора импорта; Tom22 – субъединица ядра комплекса, которая совместно с Tom20 формирует рецепторный цис-сайт для распознавания специфических МХ сигналов; TIM – транслоказа внутренней мембраны; PINK1 – серин/треониновая киназа; Parkin – E3 убиквитин лигаза; Ub – убиквитин; Hsp90 – белок теплового шока, подобный шаперону матрикса TRAP1; HtrA2/Omi (PARK13) – межмембранная протеаза; Miro – Ca^{2+} - связывающая GTPаза; Mfn2 – митофузин-2; Bcl-xL – антиапоптотический белок; NdufA10 – субъединица комплекса I дыхательной цепи.

Посттрансляционно модифицированные виды α -Син связываются с высоким сродством с рецептором Tom20. Это связывание предотвращает взаимодействие Tom20 с N-терминальным доменом Tom22 и нарушает импорт белков через наружную МХ мембрану. Следствием нарушения импорта белков-предшественников в МХ являются снижение активности комплекса I ЭТЦ, деполяризация МХ, увеличение производства АФК, нарушение Ca^{2+} гомеостаза и повышение высвобождения цитохрома *c*. На ранних стадиях апоптоза цитохром *c* селективно связывается с IP_3R в области MAMs структур и отменяет опосредованное кальцием ингибирование высвобождения кальция через IP_3 канал. Таким образом увеличивается вход Ca^{2+} в МХ, который вызывает дальнейшее высвобождение цитохрома *c* и активацию апоптоза. Следствием деполяризации МХ является накопление киназы PINK1 на наружной мембране МХ, фосфорилирование Parkin и убиквитина и инициация элиминации поврежденных митохондрий аутофагией.

В норме серин/треониновая киназа PINK1 фосфорилирует следующие белки: Hsp90, HtrA2/Omi (PARK13); Miro; Mfn2; Bcl; NdufA10.

Патогенные точечные мутации в α -Син человека приводят к уменьшению его ассоциации с МАМs, снижению функциональности МАМs, увеличению фрагментации митохондрий по сравнению с диким типом и активации программы апоптоза.

