

# Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона

С.Н. Пчелина

*Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН;  
Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург)*

*В качестве основного звена патогенеза болезни Паркинсона (БП) рассматривается формирование нейротоксических агрегатов небольшого пресинаптического белка альфа-синуклеина. Сегодня не существует диагностических тестов БП, основанных на биохимических исследованиях доступных биологических жидкостей (кровь, цереброспинальная жидкость). Поиск биомаркеров, позволяющих проводить диагностику и мониторинг заболевания, остается крайне актуальным. В ряде исследований предложено использование уровня периферического альфа-синуклеина в качестве прогностического маркера БП, однако до настоящего момента этот вопрос остается открытым. Работы по сопоставлению уровня мономерного альфа-синуклеина лимфоцитов периферической крови, плазмы и цереброспинальной жидкости у пациентов с БП и в контроле носят противоречивый характер. Разработка методов выявления и количественной оценки олигомерных форм альфа-синуклеина в сочетании с развитием методов нейровизуализации может рассматриваться как наиболее перспективное направление.*

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, биомаркеры, альфа-синуклеин.

Болезнь Паркинсона – распространенное прогрессирующее нейродегенеративное заболевание. Нарастающая симптоматика (тремор, ригидность, брадикинезия) может привести к полной обездвиженности пациентов. В большинстве развитых стран до 2% населения в возрасте старше 65 лет страдает БП. При этом в настоящее время в 20% случаев начало заболевания приходится на трудоспособный возраст – до 50 лет. Хотя чаще всего этиология заболевания носит мультифакторный характер, по разным данным, около 10–15% больных БП имеют семейную форму БП, когда заболевание проявляется у нескольких родственников из одного или разных поколений [6]. Сейчас идентифицирован ряд генов, мутации в которых приводят к развитию наследственных форм БП. Выявление мутаций, приводящих к развитию наследственных форм БП, позволяет проводить ДНК-диагностику БП в семьях с установленным молекулярным дефектом [2]. Для большинства популяций, однако, распространенность наследственных форм с известной этиологией не превышает 1–2% от всех случаев заболевания.

Важно отметить, что независимо от этиологии симптомы БП коррелируют с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции среднего мозга [7]. Сегодня не существует лекарственных средств, способных предотвратить или замедлить процесс нейродегенерации. Подбор нейропротекторной терапии осложняется тем, что клиническая симптоматика заболевания проявляется при гибели около 80% нейронов черной субстанции, а также отсутствием лабораторных методов диагностики заболевания на пре-клинической стадии и мониторинга ответа на применяемую лекарственную терапию. Методы нейровизуализации, в частности, метод позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), не получил широкого распространения в клинической практике в силу высокой себестоимости исследования и отсутствия корреляции с характером течения заболевания [60]. В разное время в качестве биохимических маркеров БП рассматривались такие параметры, как уровень гомоцистеина плазмы крови, количество дофамина в лимфоцитах периферической крови, уровень дофаминавого транспортера на мембране лимфоцитов и др. [3, 17, 46].

Однако ни один из предлагаемых подходов не нашел применения в клинической практике. Таким образом, вопрос о разработке методов пре-клинической диагностики БП является крайне актуальным.

В настоящее время в качестве основного звена патогенеза БП рассматривается формирование нейротоксических агрегатов небольшого нейронального белка альфа-синуклеина [1, 19]. Механизмы нейродегенерации остаются неизвестными, однако пристальное внимание уделяется исследованию как факторов, влияющих на формирование агрегатов альфа-синуклеина, так и изучению роли посттрансляционной модификации этого белка в регуляции его функций и метаболизма [8]. В настоящем обзоре рассматриваются свойства и структура альфа-синуклеина, его возможные физиологические функции, а также роль агрегации этого белка в процессах нейродегенерации. Обсуждаются различные подходы к разработке прогностических тестов БП с использованием оценки уровня альфа-синуклеина и/или его агрегатов в мозге, крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ).

## Структура и свойства альфа-синуклеина

Альфа-синуклеин – небольшой нейрональный белок, обнаруживаемый в основном в пресинаптических терминалах. Выявляется в различных отделах головного мозга, преимущественно в неокортексе, гиппокампе и черной субстанции [19]. Присутствует также и в других клетках головного мозга – астроцитах и олигодендроглиоцитах. Количество альфа-синуклеина составляет около 1% от общего пула растворимого белка мозга. Альфа-синуклеин обнаруживается и в других типах клеток, например, клетках крови.

Ген, кодирующий белок альфа-синуклеин (*SNCA*), расположен на четвертой хромосоме (локус 4q21) и состоит из шести экзонов, из которых транскрибируются пять. В результате альтернативного сплайсинга образуются три изоформы белка (140 аминокислот, 126 аминокислот и 112 аминокислот), из которых 140-изоформа является основной [13].

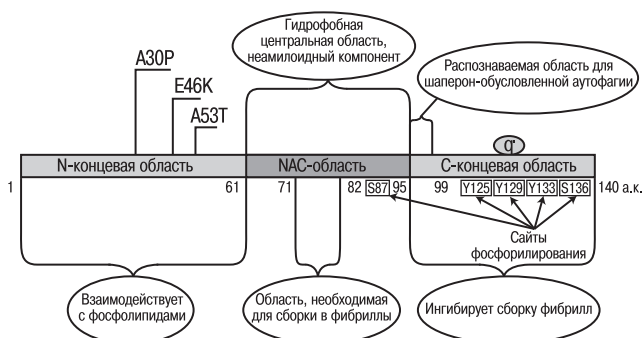


рис. 1: Структура альфа-синуклеина.

Первоначально белок под названием альфа-синуклеин был выявлен в электрическом органе ската при скринировании синаптических белков [36]. Альфа-синуклеин человека впервые был выделен из амилоидных скоплений лобной зоны коры людей с типичными клиническими и нейропатологическими проявлениями болезни Альцгеймера [59]. Позднее было обнаружено, что альфа-синуклеин является основным компонентом телец Леви при БП [57].

Основная изоформа альфа-синуклеина (140 аминокислот, 19 кДа) состоит из аминоконцевой области, содержащей несколько повторяющихся последовательностей аминокислот (KTKEGV), гидрофобной центральной области, известной как неамилоидный компонент (non-amyloid component, NAC), и отрицательно заряженной кислотой С-концевой области [13, 25] (рис. 1). В С-концевой области располагаются несколько сайтов фосфорилирования (Туг-125, -133, -136 и Ser-129), а также домен, отвечающий за шаперонную активность альфа-синуклеина (основания 125–140). N-концевая область имеет большое сходство с липид-связывающим доменом аполипопротеинов, свидетельствуя о том, что альфа-синуклеин может взаимодействовать с липидным слоем мембран. Показано его взаимодействие с везикулярной мембраной, содержащей фосфолипиды [20]. Считается, что небольшая центральная часть (NAC) ответственна за его фибриллизацию, в то время как С-концевой участок (основания 96–140) обладает ингибирующим влиянием на образование фибрилл [24].

Предполагается, что в клетке альфа-синуклеин существует в двух равновесных состояниях – в нативной и мембран-связанной формах. В нативной форме он представляет собой растворимый несвернутый белок, который обладает слабо упорядоченной или совсем неупорядоченной структурой с отсутствием определенной пространственной организации. Связывание альфа-синуклеина с мембранами сопровождается конформационным переходом в альфа-спираль [13]. Альфа-синуклеин относится к белкам, способным к агрегации. При повышенной концентрации альфа-синуклеина в растворе образуются фибриллы и дискретные сферические структуры, подобные тем, которые присутствуют в тельцах Леви [18].

### Функции альфа-синуклеина

В настоящее время описан ряд гипотетических функций альфа-синуклеина, однако точное физиологическое значение этого белка остается неизвестным. Локализация белка в пресинаптических терминалях и его способность взаимодействовать с мембранами предполагает участие в регуляции везикулярного нейронального транспорта. Выявленное

у нокаутных по гену *SNCA* мышей истощение везикулярного пула в гиппокампальных синапсах позволило предположить вовлеченность альфа-синуклеина в поддержание резерва пресинаптического везикулярного пула [15]. Показано также, что альфа-синуклеин способен влиять на внутриклеточное содержание дофамина путем прямого взаимодействия с белками, регулируемыми его синтез и обратный захват. Регулируя количество дофамина в плазматической мембране, альфа-синуклеин может выступать в роли регулятора дофаминовой токсичности путем контроля входящего и выходящего в клетку дофамина [31]. Показано также, что альфа-синуклеин может влиять на синтез дофамина, являясь ингибитором скорости-лимитирующего фермента синтеза дофамина – тирозингидроксилазы [48].

Интересно, что мышцы с нокаутом гена *SNCA* не имеют выраженной дисфункции ЦНС и не показывают признаков нейродегенерации [15]. Только тройной нокаут генов альфа-, бета- и гамма-синуклеина сопровождается изменением в структуре синапсов, нарушением нейротрансмиссии и возрастной нейродегенерацией [26]. Это наблюдение свидетельствует о том, что механизм нейродегенерации при БП связан, скорее всего, не с потерей функциональной активности альфа-синуклеина. Гиперэкспрессия альфа-синуклеина у трансгенных мышей приводит к снижению выброса дофамина и синаптической дисфункции [42].

### Моногенные формы БП, обусловленные мутациями в гене *SNCA*

Исследование роли альфа-синуклеина в патогенезе БП началось с открытия в 1997 г. мутаций в гене *SNCA*, приводящих к развитию аутосомно-доминантных форм заболевания. Первая мутация альфа-синуклеина (A53T) была открыта в одной итальяно-американской семье [50] и позднее она же описана еще в нескольких итальянских и греческих семьях с аутосомно-доминантной формой БП. Идентифицированы еще две точечные мутации: A30P – в немецкой семье [31] и E46K – в семье баско-испанского происхождения [63]. При этом точечные мутации гена *SNCA* являются крайне редкими. В настоящее время описано не более 15 семей с БП, ассоциированной с точечными мутациями *SNCA*.

Более распространенными среди пациентов с наследственной формой БП оказались мультипликации гена *SNCA*, приводящие к развитию аутосомно-доминантной формы заболевания [56]. Интересно отметить различия в клинической картине заболевания у пациентов с дупликацией и трипликацией гена *SNCA*. Тяжесть заболевания коррелирует с числом копий гена: у пациентов с дупликацией гена *SNCA* начало заболевания приходилось на возраст старше 40 лет и не отличалось от идиопатической БП [28]. При наличии трипликации гена *SNCA* наблюдается раннее начало БП (до 40 лет) и нередкое развитие более тяжелого фенотипа деменции с тельцами Леви. Мультипликации гена *SNCA* обнаруживаются у 1,5% пациентов с семейной формой БП [28, 43]. У пациентов с БП, обусловленной мультипликацией *SNCA*, в нейронах черной субстанции наблюдалось повышение уровня мРНК гена *SNCA* и увеличение количества растворимого альфа-синуклеина, а также образование агрегатов этого белка. Интересно отметить, что у пациентов с мультипликацией гена *SNCA* в клетках крови также наблюдается увеличение количества мономерного альфа-синуклеина, но не его агрегированных форм [40].

## Агрегация альфа-синуклеина и нейродегенерация

Как отмечалось выше, мультимпликации нормальной последовательности гена *SNCA*, приводящей к увеличению внутриклеточного уровня альфа-синуклеина, достаточно для развития БП. Возраст начала и тяжесть заболевания коррелируют с количеством копий гена [56]. Филаменты альфа-синуклеина являются основным ультраструктурным компонентом не только телец Леви при БП, ассоциированной с мультимпликацией *SNCA*, но также при спорадической БП и при других синуклеопатиях. В частности, данные белковые агрегаты были выявлены в теллах Леви, обнаруживаемых в нейронах пациентов с деменцией с теллами Леви и в глиальных цитоплазматических включениях, которые формируются в олигодендроцитах у пациентов с множественной системной атрофией [19].

Аллельные варианты промоторной области гена *SNCA*, ассоциированные с повышенной экспрессией гена, повышают риск развития БП [23]. Более того, три независимых исследования по полногеномному сканированию выявили ассоциацию локуса, содержащего ген *SNCA*, с повышенным риском БП [44, 52, 55]. Убедительным доказательством нейротоксичности альфа-синуклеина стало создание трансгенных животных (дрозофила, мышь) на основе гиперэкспрессии гена *SNCA* человека, демонстрирующих нейрональные альфа-синуклеин-позитивные включения и дегенерацию дофаминергических нейронов мозга [22, 37]. Нейротоксичность агрегатов альфа-синуклеина была также многократно продемонстрирована *in vitro* [12, 61].

Способность альфа-синуклеина к формированию фибрилл *in vitro*, напоминающих фибриллы, наблюдаемые в теллах Леви, а также тот факт, что мутация A53T ускоряет образование фибрилл [18], свидетельствует о том, что полимеризация альфа-синуклеина может быть непосредственно связана с патогенезом БП. Несмотря на множество данных, указывающих на патогенную роль фибриллярного альфа-синуклеина в клетке, механизмы токсичности фибрилл остаются неизвестными. В настоящее время доминирует гипотеза о том, что токсичны не сами фибриллы альфа-синуклеина, а некие интермедиаты, образующиеся в процессе их формирования, называемые протофибриллами. Протофибриллы – маленькие олигомеры, которые содержат β-складчатую структуру. Всего *in vitro* наблюдалось несколько видов протофибрилл: протофибриллы сферической либо кольцеобразной структуры и протофибриллы трубочек [61]. Интересно, что посттрансляционные модификации альфа-синуклеина (окисление, фосфорилирование, нитрозилирование) влияют на его способность к агрегации [19]. Показано, что большая часть альфа-синуклеина, входящего в состав телец Леви, фосфорилирована в положении Ser129 [10].

Механизмы нейротоксичности протофибрилл альфа-синуклеина неясны. Имеется предположение, что протофибриллы могут формировать поры, способные к встраиванию в мембрану и изменяющие ее проницаемость и, как следствие, клеточный гомеостаз. Последние данные указывают на прионоподобные свойства альфа-синуклеина [35]. Показана способность альфа-синуклеина и его агрегатов к секреции с последующим захватом соседними клетками. Предполагается, что экзогенный фибриллярный альфа-синуклеин может в дальнейшем служить центром агрегации расторможенного мономерного белка [61]. В сумме приведенные данные подтверждают гипотезу о нейротоксичности фибриллярных форм альфа-синуклеина и их роли в патогенезе БП, однако точный механизм нейродегенерации остается неизвестным.

## Альфа-синуклеин крови и ЦСЖ

За последние шесть лет рядом исследователей высказано предположение, что уровень периферического альфа-синуклеина может служить маркером развития БП. В этой связи предпринимались попытки сопоставления уровня альфа-синуклеина клеток крови и физиологических жидкостей (ЦСЖ, плазма) у пациентов с БП и в контроле. Результаты исследований суммированы в табл. 1.

Противоречивость первых данных объяснялись малочисленностью анализируемых выборок и разнообразием применяемых методов оценки уровня альфа-синуклеина. Результаты исследований последних лет показывают, что из всех клеток крови эритроциты являются основным источником альфа-синуклеина (> 95%) [11, 54]. Полученные результаты дают основание предполагать, что противоречивость данных об уровне альфа-синуклеина в физиологических жидкостях может объясняться также фактором внутреннего и внешнего гемолиза. Учет этого фактора (подсчет эритроцитов, нормировка на уровень гемоглобина), а также расширение анализируемой выборки пациентов (до 300) не позволили тем не менее получить однозначный результат [9, 27, 54]. Важно отметить, что во всех исследованиях по оценке уровня

таблица 1: Исследования по сопоставлению уровня альфа-синуклеина в периферических тканях и жидкостях у пациентов с БП и в контроле.

Объект исследования	Результат*	Ссылка
<b>Спорадическая БП</b>		
Альфа-синуклеин тромбоцитов и биоптатов кожи	Изменений нет	Michell A. et al., 2005 [38]
Альфа-синуклеин плазмы крови	Повышен	Lee P. et al., 2006 [33]
Альфа-синуклеин плазмы крови	Снижен	Li Q. et al., 2007 [34]
Альфа-синуклеин плазмы крови при учете гемолиза	Изменений нет	Shi M. et al., 2010 [54]
Альфа-синуклеин лимфоцитов	Повышен	Kim S. et al., 2004 [30]
Альфа-синуклеин лимфоцитов периферической крови	Изменений нет	Fuchs J. et al., 2007 [23]
Альфа-синуклеин лимфоцитов периферической крови	Изменений нет	Brighina L. et al., 2010 [14]
Альфа-синуклеин лимфоцитов периферической крови	Изменений нет	Пчелина С.Н. и др., 2010 [4]
Альфа-синуклеин ЦСЖ	Снижен	Westerlund M. et al., 2008 [62]
Альфа-синуклеин ЦСЖ	Изменений нет	Mollenhauer B. et al., 2008 [41]
Альфа-синуклеин ЦСЖ при учете гемолиза	Снижен	Hong Z. et al., 2010 [27]
Альфа-синуклеин ЦСЖ при учете гемолиза	Изменений нет	Aerts M. et al., 2011 [9]
Агрегаты альфа-синуклеина в ЦСЖ	Повышены	Tokuda T. et al., 2010 [58]
Нитрозилированный альфа-синуклеин	Повышен	Prigione A. et al., 2010 [51]
<b>Наследственные формы БП с известной этиологией</b>		
Альфа-синуклеин крови, пациенты с трипликацией гена <i>SNCA</i>	Повышен	Miller D. et al., 2004 [40]
Альфа-синуклеин крови, пациент с мутацией в гене <i>PARK2</i>	Изменений нет	Miller D. et al., 2005 [39]
Альфа-синуклеин лимфоцитов периферической крови у пациентов с мутацией в гене <i>LRRK2</i>	Снижен	Пчелина С.Н. и др., 2010 [4]

Примечание: \* уровень альфа-синуклеина/агрегатов альфа-синуклеина в группе пациентов с БП по сравнению с контролем.



альфа-синуклеина в лимфоцитах периферической крови фракцию лимфоцитов получали путем центрифугирования цельной крови в градиенте фикола. Применяемый метод не позволяет полностью исключить контаминацию получаемой фракции лимфоцитов эритроцитами. В этой связи в будущем информативным могли бы стать исследования, выполненные на клетках крови, полученных путем клеточного сортирования.

Предпринимались также попытки оценки уровня альфа-синуклеина клеток крови при БП известной этиологии с выявленным молекулярным дефектом [39]. Нами выявлены пациенты с БП, обусловленной мутациями в гене обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (*LRRK2*-ассоциированная БП) [5, 45, 46], и впервые проведено исследование по измерению уровня альфа-синуклеина у этих пациентов [4]. В качестве объекта исследования нами выбраны лимфоциты периферической крови, поскольку известно, что именно эти клетки могут являться модельной системой для изучения дисфункции, характерной для БП, в силу схожести синтеза и обмена дофамина в клетках иммунной и нейрональной систем.

С использованием метода вестерн-блоттинга нами показано снижение альфа-синуклеина лимфоцитов периферической крови у пациентов с *LRRK2*-ассоциированной БП (в т.ч. и в группе носителей мутации G2019S) по сравнению с пациентами со спорадической БП и контролем [4]. Carballo-Carbajal и соавт. показали *in vitro* способность белка *LRRK2* регулировать транскрипцию гена *SNCA* [16]. Выявленное нами снижение уровня альфа-синуклеина у пациентов с мутациями в гене *LRRK2* нельзя объяснить влиянием *LRRK2* на транскрипцию гена *SNCA*, поскольку мы не наблюдали снижения уровня мРНК гена *SNCA* у пациентов с *LRRK2*-ассоциированной БП. Полученные результаты, скорее, позволяют предположить изменения на посттрансляционном уровне. В нашем исследовании мы использовали антитела к альфа-синуклеину человека (BD Transduction Labs, США), иммуногенные к аминокислотам 15–123; это позволяло выявлять формы альфа-синуклеина, содержащие все известные на сегодняшний день сайты фосфорилирования (y125, s129, y133, s136), кроме белка, фосфорилированного по серину в позиции 87 (s87). Нельзя исключить накопление фосфорилированной формы s87 или агрегатов альфа-синуклеина. С другой стороны, влияние *LRRK2* на уровень альфа-синуклеина может быть опосредованным. В частности, показана активация аутофагии при изменении активности *LRRK2* (при наличии мутации G2019S) [49], что может приводить к усилению деградации альфа-синуклеина в клетках. *LRRK2* является мультидоменной протеинкиназой. Мутация G2019S, локализованная в киназном домене *LRRK2*, повышает киназную активность *LRRK2*. Неизвестным остается наличие функциональной связи между аномальной функцией *LRRK2* и агрегацией альфа-синуклеина. Всего одно исследование показало фосфорилирование рекомбинантного альфа-синуклеина лизатом клеток с гиперэкспрессией *LRRK2* [52], в то время как нет данных о прямом участии *LRRK2* в фосфорилировании альфа-синуклеина в клетках или на модельных животных. Для подтверждения выявленного нами влияния мутации гена *LRRK2* на метаболизм альфа-синуклеина необходимы дальнейшие исследования.

Противоречивость результатов по оценке мономерного немодифицированного альфа-синуклеина в периферических тканях и физиологических жидкостях у пациентов с

БП и в контроле не позволяет в настоящее время говорить об использовании оценки периферического альфа-синуклеина в качестве прогностического маркера БП. В качестве перспективных следует отметить попытки выявления модифицированных форм данного белка. Так, в исследовании Prigione и соавт. в лимфоцитах периферической крови пациентов БП выявлено повышение нитрозилированной формы альфа-синуклеина [51].

Наиболее интересными представляются исследования по оценке агрегированных форм альфа-синуклеина. В 2006 г. El-Agnaf и соавт. предложили первый метод оценки олигомерных форм альфа-синуклеина в физиологических жидкостях на основе иммуноферментного анализа (ELISA) и показали повышение олигомеров альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с БП [21]. При этом наблюдалось значительное перекрытие получаемых величин между группами. Впоследствии чувствительность метода была повышена за счет использования хемилюминесцентной детекции и показано увеличение олигомерных форм альфа-синуклеина в ЦСЖ пациентов с БП. Чувствительность и специфичность метода повышались при сопоставлении отношения количества олигомерных форм альфа-синуклеина к общему альфа-синуклеину – соответственно 89,3% и 90,6% [58]. К сожалению, исследования по выявлению агрегированных форм альфа-синуклеина остаются единичными и требуют подтверждения на расширенных выборках.

Следует отметить перспективность усовершенствования современных методов нейровизуализации путем создания новых радиоактивно меченных лигандов, позволяющих селективно окрашивать агрегаты альфа-синуклеина [29, 60]. Использование подобных лигандов при проведении ПЭТ позволит проводить прижизненную диагностику синуклеопатий. Данное направление является новым. Необходим ряд исследований для оценки чувствительности данного метода для диагностики БП, а также выявления корреляции тяжести заболевания с формированием альфа-синуклеин-позитивных включений в мозге человека.

## Заключение

В настоящее время участие альфа-синуклеина в патогенезе БП подтверждается в ряде исследований. Разработка диагностических тестов БП, основанных на оценке уровня альфа-синуклеина в различных тканях человека, остается, однако, задачей нерешенной. Отсутствие таких тестов обусловлено в первую очередь отсутствием ясного понимания того, какие агрегаты альфа-синуклеина обладают нейротоксичностью, а также сложностью разработки методов выявления олигомерных форм альфа-синуклеина. Анализ литературных данных, а также результаты собственных исследований предполагают, что оценка уровня немодифицированного мономерного альфа-синуклеина крови и ЦСЖ сегодня не может быть использована в качестве прогностического маркера БП. Результаты остаются противоречивыми даже при учете фактора внутреннего и внешнего гемолиза. Альтернативно, перспективным может быть измерение модифицированных форм альфа-синуклеина в крови, а также развитие методов детекции олигомерных форм альфа-синуклеина. Наиболее успешным может стать развитие методов нейровизуализации, способных выявлять накопление альфа-синуклеина в мозге.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00934-а.

## Список литературы

1. Иллариошкин С.Н. Конформационные болезни мозга. М.: Янус-К, 2003.
2. Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. М.: МИА, 2002.
3. Литвиненко И.В., Одинак М.М., Сологуб О.С. и др. Гипергомоцистеинемия при болезни Паркинсона – новый вариант осложнений проводимой терапии или специфический биохимический маркер заболевания? Анн. клин. эксп. неврол. 2008; 2: 13–17.
4. Пчелина С.Н., Емельянов А.К., Якимовский А.Ф. и др. Сниженный уровень альфа-синуклеина в лейкоцитах периферической крови у пациентов с *LRRK2*-ассоциированной болезнью Паркинсона. Бюл. эксп. биол. мед. 2010; 12: 619–621.
5. Пчелина С.Н., Иванова О.Н., Емельянов А.К. и др. Мутации в гене *LRRK2* у больных с болезнью Паркинсона в России. Мед. ген. 2006; 5: 48–51.
6. Пчелина С.Н., Якимовский А.Ф., Шварц Е.И. Наследственные основы болезни Паркинсона. Мед. ген. 2003; 9: 411–425.
7. Скоромец А.А., Скоромец А.П., Скоромец Т.А. Нервные болезни. М.: МЕДпресс-информ, 2005.
8. Угрюмов М.В. (ред.) Нейродегенеративные заболевания. Фундаментальные и прикладные аспекты. М.: Наука, 2010.
9. Aerts M.B., Esselink R.A., Abdo W.F. et al. CSF  $\alpha$ -synuclein does not differentiate between parkinsonian disorders. Neurobiol. Aging 2011 (e-pub ahead of print).
10. Anderson J., Walker D.E., Goldstein J.M. et al. Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of alpha-synuclein in familial and sporadic Lewy body disease. J. Biol. Chem. 2006; 281: 29739–29752.
11. Barbour R., Kling K., Anderson J.P. et al. Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood. Neurodegen. Dis. 2008; 5: 55–59.
12. Bisaglia M., Greggio E., Dragan M. et al.  $\alpha$ -Synuclein overexpression increases dopamine toxicity in BE(2)-M17. Cells BMC Neuroscience 2010; 11: 41.
13. Bisaglia M., Mammi S., Bubacco L. Structural insights on physiological functions and pathological effects of alpha-synuclein. FASEB J. 2009; 23: 329–340.
14. Brighina L., Prigione A., Begni B. et al. Lymphomonocyte alpha-synuclein levels in aging and in Parkinson disease. Neurobiol. Aging 2010; 31: 884–885.
15. Cabin D.E., Shimazu K., Murphy D. et al. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. J. Neurosci. 2002; 22: 8797–8807.
16. Carballo-Carbajal I., Weber-Endress S., Rovelli G. et al. Leucine-rich repeat kinase 2 induces alpha-synuclein expression via the extracellular signal-regulated kinase pathway. Cell Signal. 2010; 22: 821–827.
17. Carotini B., Tanda G., Colosimo C. Reduced dopamine in peripheral blood lymphocytes in Parkinson's disease. NeuroReport 1999; 10: 2907–2920.
18. Conway K.A., Harper J.D., Lansbury P.T. Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. Nat. Med. 1998; 4: 1318–1320.
19. Cookson M.R., van der Brug M. Cell systems and the toxic mechanism(s) of alpha-synuclein. Exp Neurol. 2008; 209: 5–11.
20. Davidson W.S., Jonas A., Clayton D.F., George J.M. Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. J. Biol. Chem. 1998; 273: 9443–9449.
21. El-Agnaf O.M., Salem S.A., Paleologou K.E. et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. FASEB J. 2006; 20: 419–425.
22. Feany M.B., Bender W.W. A drosophila model of Parkinson's disease. Nature 2000; 404: 394–398.
23. Fuchs J., Tichopad A., Golub Y. et al. Genetic variability in the SNCA gene influences alpha-synuclein levels in the blood and brain. FASEB J. 2008; 22: 1327–1334.
24. Giasson B.I., Murray I.V., Trojanowski J.Q., Lee V.M. A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. J. Biol. Chem. 2001; 276: 2380–2386.
25. Greggio E., Bisaglia M., Civiero L., Bubacco L. Leucine-rich repeat kinase 2 and alpha-synuclein: intersecting pathways in the pathogenesis of Parkinson's disease? Mol. Neurodegen. 2011; 6: 6.
26. Greten-Harrison B., Polydoro M., Morimoto-Tomita M. et al.  $\alpha\beta$ -Synuclein triple knockout mice reveal age-dependent neuronal dysfunction. PNAS 2010; 107: 19573–19578.
27. Hong Z., Shi M., Chung K.A. et al. DJ-1 and alpha-synuclein in human cerebrospinal fluid as biomarkers of Parkinson's disease. Brain 2010; 133: 713–726.
28. Ibáñez P., Lesage S., Janin S. et al. Alpha-synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: frequency, phenotype, and mechanisms. Arch. Neurol. 2009; 66: 102–108.
29. Kikuchi A., Takeda A., Okamura N. et al. In vivo visualization of alpha-synuclein deposition by carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy]benzoxazole positron emission tomography in multiple system atrophy. Brain 2010; 133: 1772–1778.
30. Kim S., Seo J.H., Suh Y.H. Alpha-synuclein, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease. Parkinsonism. Relat. Disord. 2004; 10: S9–13.
31. Kruger R., Kuhn W., Muller T. et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alphasynuclein in Parkinson's disease. Nat. Genet. 1998; 18: 106–108.
32. Lee F.J.S., Liu F., Pristupa Z.B., Niznik H.B. Direct binding and functional coupling of alpha-synuclein to the dopamine transporters accelerate dopamine-induced apoptosis. FASEB J. 2001; 15: 916–926.
33. Lee P.H., Lee G., Park H.J. et al. The plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. J. Neural Transm. 2006; 13: 1435–1439.
34. Li Q.X., Mok S.S., Laughton K.M. et al. Plasma alpha-synuclein is decreased in subjects with Parkinson's disease. Exp. Neurol. 2007; 204: 583–588.
35. Luk K.C., Song C., O'Brien P. et al. Exogenous alpha-synuclein fibrils seed the formation of Lewy body-like intracellular inclusions in cultured cells. PNAS 2009; 106: 20051–20056.
36. Maroteaux L., Campanelli J.T., Scheller R.H. Synuclein — a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. J. Neurosci. 1988; 8: 2804–2815.
37. Masliah E., Rockenstein E., Veinbergs I. et al. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. Science 2000; 287: 1265–1269.
38. Michell A.W., Luheshi L.M., Barker R.A. Skin and platelet alpha-synuclein as peripheral biomarkers of Parkinson's disease. Neurosci. Lett. 2005; 381: 294–298.
39. Miller D.W., Crawley A., Gwinn-Hardy K. et al. Unaltered alpha-synuclein blood levels in juvenile Parkinsonism with a parkin exon 4 deletion. Neurosci. Lett. 2005; 374: 189–191.
40. Miller D.W., Hague S.M., Clarimon J. et al. Alpha-synuclein in blood and brain from familial Parkinson disease with SNCA locus triplication. Neurology 2004; 62: 1835–1838.
41. Mollenhauer B., Cullen V., Kahn I. et al. Direct quantification of CSF alpha-synuclein by ELISA and first cross-sectional study in patients with neurodegeneration. Exp. Neurol. 2008; 213: 315–325.
42. Nemani V.M., Lu W., Berge V. et al. Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle recluster after endocytosis. Neuron 2010; 65: 66–79.
43. Nishioka K., Hayashi S., Farrer M.J. et al. Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease. Ann. Neurol. 2006; 59: 298–309.
44. Pankratz N., Nichols W.C., Elsaesser V.E. et al. Alpha-synuclein and familial Parkinson's disease. Mov. Disord. 2009; 24: 1123–1125.

45. Pchelina S.N., Yakimovskii A.F., Emelyanov A.K. et al. Screening for *LRRK2* mutations in patients with Parkinson's disease in Russia: identification of a novel *LRRK2* variant. *Eur. J. Neurol.* 2008; 15: 692–696.
46. Pchelina S.N., Yakimovskii A.F., Ivanova O.N. et al. G2019S *LRRK2* mutation in familial and sporadic Parkinson's disease in Russia. *Mov Disord.* 2006; 21: 2234–2236.
47. Pellicano C., Buttarelli F.R., Circella A. et al. Dopamine transporter immunoreactivity in peripheral blood lymphocytes discriminates Parkinson's disease from essential tremor. *J. Neural Transm.* 2007; 114: 935–938.
48. Perez R., Waymire J.C., Lin E. et al. A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J. Neurosci.* 2002; 22: 3090–3099.
49. Polwey E.D., Cherra S.J., Liu Y., Chu C.T. Role of autophagy in G2019S-*LRRK2*-associated neurite shortening in differentiated SH-SY5Y cells. *J. Neurochem.* 2008; 105: 1048–1056.
50. Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E. et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045–2047.
51. Prigione A., Piazza F., Brighina L. et al. Alpha-synuclein nitration and autophagy response are induced in peripheral blood cells from patients with Parkinson disease. *Neurosci. Lett.* 2010; 477: 6–10.
52. Qing H., Wong W., McGeer E.G. et al. *Lrrk2* phosphorylates alpha-synuclein at serine 129: Parkinson disease implications. *BBRC* 2009; 387: 149–152.
53. Satake W., Nakabayashi Y., Mizuta I. et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 2009; 41: 1303–1307.
54. Shi M., Bradner J., Hancock A.M. et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for Parkinson disease diagnosis and progression. *Ann. Neurol.* 2011; 69: 570–580.
55. Simón-Sánchez J., Schulte C., Bras J.M. et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 2009; 41: 1308–1312.
56. Singleton A.B., Farrer M., Johnson J. et al. alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003; 302(5646): 841.
57. Spillantini M.G., Schmidt M.L., Lee V.M.Y. et al. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997; 388: 839–840.
58. Tokuda T., Qureshi M.M., Ardah M.T. et al. Detection of elevated levels of alpha-synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology* 2010; 75: 1766–1772.
59. Ueda K., Fukushima H., Masliah E. et al. Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *PNAS* 1993; 90: 11282–11286.
60. Vernon A.C., Ballard C., Modo M. Neuroimaging for Lewy body disease: is the *in vivo* molecular imaging of alpha-synuclein neuropathology required and feasible? *Brain Res. Rev.* 2010; 65: 28–55.
61. 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.* 2010; 113: 374–88.
62. Westerlund M., Belin A.C., Anvret A. et al. Cerebellar alpha-synuclein levels are decreased in Parkinson's disease and do not correlate with *SNCA* polymorphisms associated with disease in a Swedish material. *FASEB J.* 2008; 22: 3509–3514.
63. Zarranz J.J., Alegre J., Gomez-Esteban J.C. et al. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann. Neurol.* 2004; 55: 164–173.

## Alpha-synuclein as a biomarker of Parkinson's disease

S.N. Pchelina

*Petersburg Nuclear Physics Institute RAS;*

*St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov (St. Petersburg)*

**Key words:** Parkinson's disease, biomarkers, alpha-synuclein.

Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disorder. Toxic aggregation of a small presynaptic protein alpha-synuclein is considered to be the main step in the pathogenesis of PD. Today there are no suitable diagnostic tests based on biochemical investigation of such readily accessible tissues as blood and cerebrospinal fluid (CSF). A search for PD biomarkers aimed at diagnosis and monitoring of the disease remains very actual. As suggested in several studies, the use of the peripheral alpha-

synuclein level might be a prognostic marker for PD, but until now this question remains open. Evaluation of blood and CSF alpha-synuclein levels in patients with PD compared with age-matched controls provided conflicting results. Specific detection and quantification of oligomeric forms of alpha-synuclein in combination with the improvement of imaging techniques may be considered as most perspective direction.

**Контактный адрес:** Пчелина Софья Николаевна – канд. биол. наук, зав. лаб. высокотехнологических методов молекулярного анализа ДНК Отдела молекулярно-генетических технологий НИЦ СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, старш. науч. сотр. лаборатории молекулярной генетики человека ПИЯФ РАН. 197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8. Тел./факс: +7 (812) 347-55-46; e-mail: sopchelina@hotmail.com