

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2017  
УДК 577.1:611.81:599.323.4

*Д.Н.Воронков, Р.М.Худоерков, О.В.Сальникова, В.Б.Соболев*

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В МОЗГУ КРЫСЫ И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИМИ СТРУКТУРАМИ

Лаборатория функциональной морфохимии (зав. — д-р мед. наук Р.М.Худоерков), отдел исследований мозга, ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва

Иммуногистохимически в головном мозгу интактных крыс линии Вистар ( $n = 5$ ) исследовали локализацию альфа-синуклеина ( $\alpha$ -Syn) — белка, обнаруживаемого в тельцах Леви при болезни Паркинсона (БП), и тирозингидроксилазы — маркера дофамин- и норадренергических нейронов и сопоставляли с данными, полученными при разрушении черного вещества ( $n = 3$ ). Локализация  $\alpha$ -Syn в синаптических структурах базальных ядер соответствовала кортико-стриатным и стрио-нигральным проекциям, что подтверждалось экспериментом. В телах дофамин- и норадренергических нейронов  $\alpha$ -Syn выявлялся в черном веществе, голубоватом месте и дорсальном ядре блуждающего нерва, подверженных нейродегенерации при БП. Сенсорные обонятельные нейроны и гломерулы обонятельных лукович также имели высокое содержание  $\alpha$ -Syn.

**Ключевые слова:** головной мозг, базальные ядра, дофаминергические системы, альфа-синуклеин, тирозингидроксилаза

Альфа-синуклеин ( $\alpha$ -Syn) широко распространен в мозгу. Он составляет приблизительно 0,5–1% от массы общего цитозольного белка и является основным компонентом телец Леви — патологических нейрональных включений, обнаруживаемых при болезни Паркинсона (БП) и других нейродегенеративных заболеваниях, объединяемых по этому признаку в группу синуклеинопатий; также он входит в состав сенильных бляшек, характерных для болезни Альцгеймера [4, 7]. С накоплением  $\alpha$ -Syn в мозгу могут быть связаны ранние проявления когнитивных расстройств первично-дегенеративного генеза [3]. Мутации в гене, кодирующем  $\alpha$ -Syn (SNCA), обнаружены при ряде наследственных форм БП, причем в этих случаях чаще всего заболевание проявляется в молодом возрасте и протекает довольно агрессивно [2, 4].

В норме в нейронах выявлена ядерная и пресинаптическая локализация  $\alpha$ -Syn, а также растворимая и мембрано-связанные формы [7]. Показана ассоциация  $\alpha$ -Syn с митохондриями, синаптическим везикулярным аппаратом и обнаружены его сплайсинговые варианты и фосфорилированные формы [4, 7]. Выявлена зависимость патологической агрегации  $\alpha$ -Syn от его фосфорилирования [4, 7]. Вероятно, в связи с разнообразием форм  $\alpha$ -Syn иммуногистохимические данные о его локализации в нервной системе значительно

различаются в зависимости от распознаваемых антителами эпитопов. Так, при сопоставлении двух антител, выработанных к разным участкам молекулы  $\alpha$ -Syn, было обнаружено, что в одном случае они связывались с ядерной, в другом — с синаптической фракцией белка [22].

Роль  $\alpha$ -Syn в нейродегенерации связывают с его предрасположенностью к формированию фибрилл, образующих нерастворимые агрегаты, по прионо-подобному механизму, когда «затравкой» служит молекула с патологической конформацией [4, 8, 7]. Фибриллы  $\alpha$ -Syn могут переноситься по аксону как в прямом, так и обратном направлении [6]. Распространение агрегатов  $\alpha$ -Syn от нейрона к нейрону подтверждено как *in vitro*, так и *in vivo* [14]. По-видимому, образование телец Леви и дегенерация нейронов при БП на ранних стадиях заболевания начинается в периферической нервной системе, захватывая затем отделы ЦНС, в том числе дофаминергические структуры среднего мозга [8]. В качестве точек проникновения предполагаемого патогена, вызывающего агрегацию белка, называют обонятельный эпителий и пищеварительный тракт [8]. Рассматривают различные пути распространения патологических форм  $\alpha$ -Syn в структуры мозга [8, 21], в том числе в каудо-ростральном направлении по блуждающему нерву, и росто-каудально — через структуры обонятельного

### Сведения об авторах:

Воронков Дмитрий Николаевич (e-mail: voronkovdm@gmail.com), Худоерков Рудольф Михайлович (e-mail: rolfbraint@yandex.ru), Сальникова Ольга Владимировна (e-mail: fial88@mail.ru), Соболев Валерий Борисович (e-mail: sobolevalera@gmail.com), лаборатория функциональной морфохимии, отдел исследований мозга, ФГБНУ «Научный центр неврологии», 105064, Москва, пер. Обуха, 5

анализатора, а также по спинальным проводящим путям, однако точно это еще не установлено.

Несмотря на возрастающий интерес к  $\alpha$ -Syn, работы, посвященные анализу его распределения в интактном мозгу, немногочисленны, причем отмечаются расхождения в результатах, связанные со специфичностью антител и возможными межлинейными и видовыми различиями лабораторных животных [12, 17, 20, 22].

Цель данной работы — изучить и сопоставить локализацию  $\alpha$ -Syn и тирозингидроксилазы (ТГ) в ЦНС у интактных крыс.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар массой 300–350 г. Использовали интактных животных ( $n = 5$ ), и животных ( $n = 3$ ) через 4 нед после одностороннего стереотаксического введения (стереотаксический манипулятор, Stoelting, США) 6-гидроксидофамина гидрохлорида (6-OHDA, Sigma-Aldrich, США), 6 мкг в 3 мкл 0,05% раствора аскорбиновой кислоты в черное вещество среднего мозга [5]. При работе соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». Крыс наркотизировали хлоралгидратом и декапитуировали гильотиной. Мозг и хрящи, формирующие полость носа, фиксировали 24 ч в 4% нейтральном формалине на фосфатном солевом буфере (0,01M, pH 7,2). Структуры полости носа после фиксации промывали и декальцинировали 14 сут в 10% растворе ЭДТА-Na (доведенный 10 N NaOH до pH 7,2–7,4). Срезы толщиной 10–15 мкм готовили на криотоме Tissue-Tek Sakura Cryo3 (Япония) и раскладывали на покрытые желатином стекла. Для демаскировки антигена срезы выдерживали 5 мин в микроволновой печи при температуре 90–95 °C, в цитратном буфере (0,01M, pH 6,0), после остывания их промывали и обрабатывали 10 мин 0,03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Растворы антител готовили на фосфатном солевом буфере (0,01M, pH 7,2), содержащем 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,1% Тритона X100. Антитела к  $\alpha$ -Syn (кроличьи, поликлональные, S3062, Sigma-Aldrich, США) применяли в разведениях 1:200–1:500, антитела к ТГ (кроличьи поликлональные, T8700, Sigma-Aldrich, США) — в разведениях 1:500–1:1000 и инкубировали 18 ч при комнатной температуре. Для каждой серии препаратов выполняли негативный контроль. Связывание выявляли при помощи биотинилированных антител козы к иммуноглобулинам кролика и экстравидин-пероксидазы (набор EXTRA3-KIT, Sigma-Aldrich, США), по протоколу производителя. В качестве хромогена использовали 3,3-диаминобензидин с 0,01% CoCl<sub>2</sub> или NiCl<sub>2</sub>, а для реакции на ТГ без солей металлов. Препараты заключали в среду DPX (Surgipath Europe, Великобритания) и исследовали под микроскопом Leica DMLB с цифровой камерой Leica DC300 (Leica, ФРГ), или под стереомикроскопом Motic SMZ-161, камера Moticam 5 (Motic, КНР). Структуры мозга идентифицировали по стереотаксическому атласу [19].

**Результаты исследования.** При проведенном иммуногистохимическом исследовании диффузное окрашивание нейропиля, отражающее синаптическую локализацию  $\alpha$ -Syn, было обнаружено во всех отделах мозга у интактных животных (рис. 1), но наибольшая иммунореактивность выявлена в конечном мозгу. В неокортексе  $\alpha$ -Syn

был распределен неравномерно, наиболее интенсивно окрашивались слой IV и молекулярный слой. Диффузное окрашивание было характерно для базальных ядер, при этом вентральный паллидум отличался наибольшей его интенсивностью. Мозолистое тело, передняя спайка и внутренняя капсула не окрашивались. Структуры, входящие в состав обонятельного мозга: обонятельные луковицы, обонятельный бугорок и пириформная кора, — окрашивались интенсивно. В разных слоях гиппокампа экспрессия  $\alpha$ -Syn различалась, а наибольшей была в мшистых волокнах в поле СА3 и в молекулярном слое зубчатой извилины. Миндалевидное тело также отличалось высоким содержанием  $\alpha$ -Syn с наибольшим окрашиванием в центральном ядре. В промежуточном мозгу распределение  $\alpha$ -Syn было неравномерным: интенсивное окрашивание было отмечено в дорсальных ядрах таламуса, умеренное — в латеральном и медиальном колленчатых телах, слабое — в субталамическом ядре. В гипоталамусе  $\alpha$ -Syn, локализованный в синаптических окончаниях, был выявлен в вентральной и латеральной областях, причем в латеральном и среднебугорно-сосцевидном ядрах обнаружены и окрашенные нейроны. В среднем мозгу наиболее высокая экспрессия  $\alpha$ -Syn была выявлена в ретикулярной части черного вещества, и умеренная — в вентральной покрышечной области и в центральном сером веществе. В мозжечке  $\alpha$ -Syn располагался диффузно в зернистом и молекулярном слоях, но не в слое клеток Пуркинье. В стволе мозга наиболее интенсивное окрашивание при реакции на  $\alpha$ -Syn было обнаружено в околоручковых ядрах, голубоватом месте, ядре одиночного пути, дорсальном ядре блуждающего нерва и двойном ядре; в этих структурах, кроме того, были выявлены окрашенные нейроны. На уровне грудных сегментов спинного мозга наибольшей экспрессией белка отличались задние рога (слои I–III по Рекседу).

Хотя  $\alpha$ -Syn, выявляемый в синаптических окончаниях, был широко распространен в мозгу, его соматическую локализацию наблюдали, как правило, в нейронах дофамин- или норадренергических ТГ-позитивных структур. Нейроны, содержащие  $\alpha$ -Syn, располагались в компактной части черного вещества, в вентральной покрышечной области, голубоватом месте и дорсальном ядре блуждающего нерва. При этом соматическая локализация  $\alpha$ -Syn отмечалась не во всех дофаминергических нейронах черного вещества (см. рис. 1). В целом характер распределения ТГ и  $\alpha$ -Syn в базальных ядрах различался (см. рис. 1) — хвостатое ядро окрашивалось интенсивно как при реакции на ТГ, так и на  $\alpha$ -Syn, а в бледном шаре

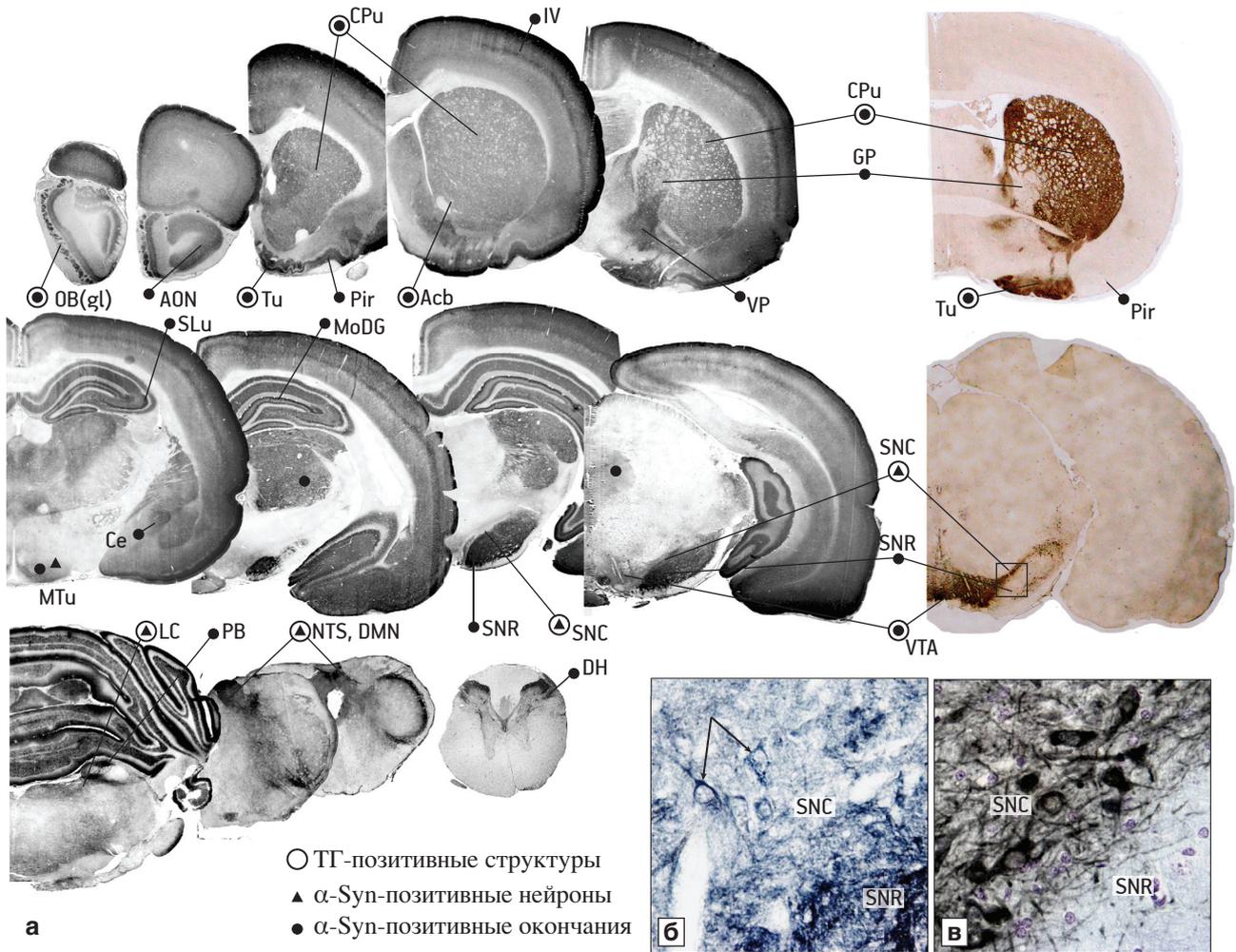


Рис. 1. Локализация  $\alpha$ -синуклеина ( $\alpha$ -Syn) и тирозингидроксилазы (ТГ) в структурах мозга у intactных крыс. а — сопоставление локализации  $\alpha$ -Syn и ТГ. На врезке: область черного вещества, отмеченная квадратом. Иммуногистохимическая реакция: б — на  $\alpha$ -Syn, в — на ТГ. Ув.: а — об. 0,75; б, в — об. 40.

Стрелки —  $\alpha$ -Syn позитивные нейроны. Сплошные черные круги — структуры с высокой экспрессией  $\alpha$ -Syn в нервных окончаниях, треугольники — в телах нейронов, контуры круга — некоторые ТГ-позитивные структуры. OB(gl) — гломерулы обонятельных луковец; AON — переднее обонятельное ядро; Tu — обонятельный бугорок; Pir — древняя (пирiformная) кора; CPu — полосатое тело; IV — слой IV неокортекса; Acb — прилежащее ядро; VP — вентральный паллидум; GP — бледный шар; MTu — среднебугорно-сосцевидное (туберомамиллярное) ядро гипоталамуса; Ce — центральное ядро миндалевидного тела; SLu — stratum lucidum гиппокампа; MoDG — молекулярный слой зубчатой извилины гиппокампа; Th — таламус; PAG — центральное серое вещество; SNC, SNR — компактная и ретикулярная части черного вещества соответственно; VTA — вентральная покрышечная область среднего мозга; LC — голубоватое место; PB — околоручковое (парабрахиальное) ядро; NTS — ядро одиночного пути; DMN — дорсальное ядро блуждающего нерва; DH — задний рог спинного мозга

выявлялись только отдельные волокна, содержащие ТГ, тогда как  $\alpha$ -Syn в нем был распределен диффузно. Ретикулярная часть черного вещества, содержащая мало ТГ-позитивных нейронов и волокон, вместе с тем интенсивно окрашивалась при реакции на  $\alpha$ -Syn. Для проверки предположения об отсутствии  $\alpha$ -Syn в нигростриатных дофаминовых окончаниях мы исследовали его экспрессию при одностороннем разрушении черного вещества под действием 6-OHDA (рис. 2). В полосатом теле, на стороне введения токсина, ТГ не выявлялся, однако реакция на  $\alpha$ -Syn в базальных ядрах оставалась неизменной, что

указывает на отсутствие  $\alpha$ -Syn в дофаминергических окончаниях.

$\alpha$ -Syn был обнаружен в обонятельном эпителии, в цитоплазме и апикальных отростках сенсорных обонятельных нейронов, но он отсутствовал в клетках базального слоя, в поддерживающих клетках и в респираторном эпителии (рис. 3). Пучки нервных волокон в собственной пластинке слизистой оболочки носа были интенсивно окрашены, хотя в обонятельном нерве на уровне обонятельных луковец  $\alpha$ -Syn выявлен не был. В гломерулярном слое обонятельных луковец экспрессия  $\alpha$ -Syn была наиболее высокой, но не однородной — часть гломерул имели

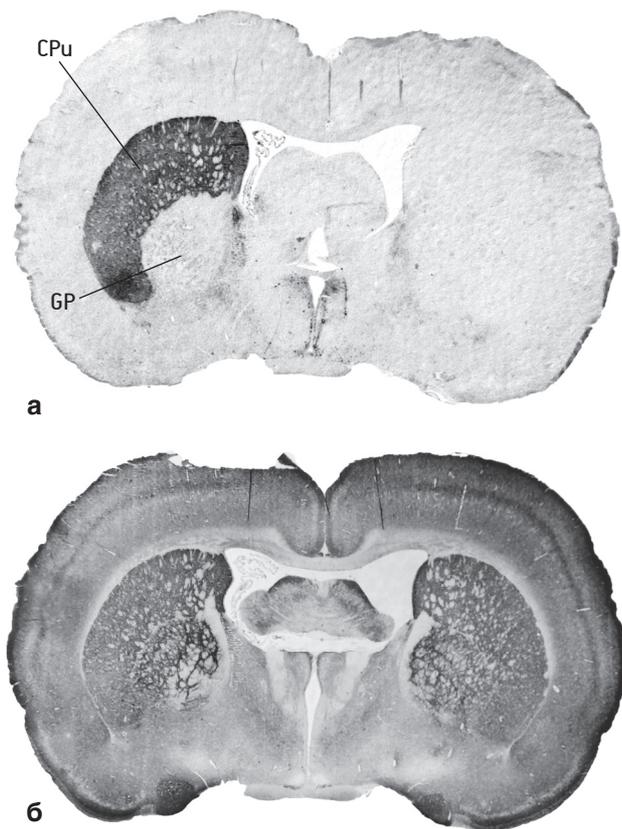


Рис. 2. Локализация тирозингидроксилазы (а) и  $\alpha$ -синуклеина (б) в полосатом теле крысы после одностороннего введения в черное вещество 6-гидроксидофамина (правая сторона). Иммуногистохимическая реакция: а — на тирозингидроксилазу, б — на  $\alpha$ -синуклеин. Ув. — об. 0,75. Обозначения те же, что на рис. 1

слабое или умеренное окрашивание, а наружный плексиформный слой при реакции на  $\alpha$ -Syn окрашивался диффузно. Распределение ТГ и  $\alpha$ -Syn в обонятельных луковицах различалось: ТГ была обнаружена в перигломерулярных клетках и их отростках, тогда как  $\alpha$ -Syn выявлен только в гломерулах. Другие структуры центрального отдела обонятельного анализатора: переднее обонятельное ядро, обонятельные бугорки и пириформная кора — также содержали  $\alpha$ -Syn, причем из этих структур лишь обонятельный бугорок имел значительную экспрессию ТГ.

**Обсуждение полученных данных.** Проведенное исследование показало, что локализация  $\alpha$ -Syn в мозгу у крыс линии Вистар в целом сопоставима с результатами, полученными на крысах Sprague-Dawley [12] и мышьях линии C57Bl/J6 [20]. Однако, по нашим данным, в отличие от ряда авторов [17, 22], распространение нейронов, содержащих  $\alpha$ -Syn в структурах мозга, было довольно ограничено, и данный белок не выявлялся в их ядрах. Локализация  $\alpha$ -Syn была лишь отчасти ассоциирована с дофаминергическими

образованиями nigростриатной и обонятельной систем, хотя структуры, вовлекаемые в патологический процесс при БП, отличались наибольшей его экспрессией, что согласуется с исследованиями, демонстрирующими зависимость образования телец Леви от концентрации  $\alpha$ -Syn [16]. Пресинаптический  $\alpha$ -Syn ранее был выявлен в глутаматергических и ГАМК-ергических окончаниях [20], что подтверждается и нашим исследованием. Проведенный нами эксперимент с односторонним разрушением черного вещества под действием 6-ОНДА выявил различия в распределении ТГ и  $\alpha$ -Syn в структурах nigростриатной системы, свидетельствующие, что синаптический  $\alpha$ -Syn в полосатом теле относится к кортико-стриатным окончаниям. Интенсивное окрашивание при реакции на  $\alpha$ -Syn структур бледного шара и ретикулярной части черного вещества и слабое их окрашивание в субталамическом ядре указывают на экспрессию  $\alpha$ -Syn нейронами, образующими прямой стрио-нигральный путь, что согласуется с данными литературы [20].

Как следует из полученных результатов,  $\alpha$ -Syn, по-видимому, локализуется в телах и синаптических окончаниях разных популяций нейронов. В телах нейронов  $\alpha$ -Syn обнаруживали в катехоламинергических структурах: черном веществе, голубоватом месте и дорсальном (моторном) ядре блуждающего нерва, подверженных нейродегенерации при БП [8]. Предполагают, что ядра блуждающего нерва служат начальной мишенью ретроградного распространения агрегатов  $\alpha$ -Syn из периферической нервной системы в головной мозг [8]. Однако при синуклеинопатиях агрегация  $\alpha$ -Syn выявляется не только в дофаминергических и норадренергических структурах, но и в неокортексе, гиппокампе, миндалевидном теле, сосцевидных ядрах гипоталамуса и структурах обонятельного анализатора [8, 11], что совпадает с обнаруженной в них высокой экспрессией  $\alpha$ -Syn в норме. Повреждение упомянутых структур связывают с рано проявляющимися при БП вегетативными и обонятельными нарушениями и когнитивной дисфункцией [1, 8, 11].

Структуры обонятельного анализатора и их связи с лимбической системой и вентральной покрышечной областью среднего мозга образуют другой вероятный путь распространения  $\alpha$ -Syn при БП. Выявленная в нашей работе экспрессия  $\alpha$ -Syn сенсорными обонятельными нейронами была ранее описана у человека [9], кроме того, мы выявили локализацию  $\alpha$ -Syn в пучках волокон иннервирующих эпителий полости носа и следующих в составе ветвей тройничного нерва [13]. Литературные данные об изменениях нервных

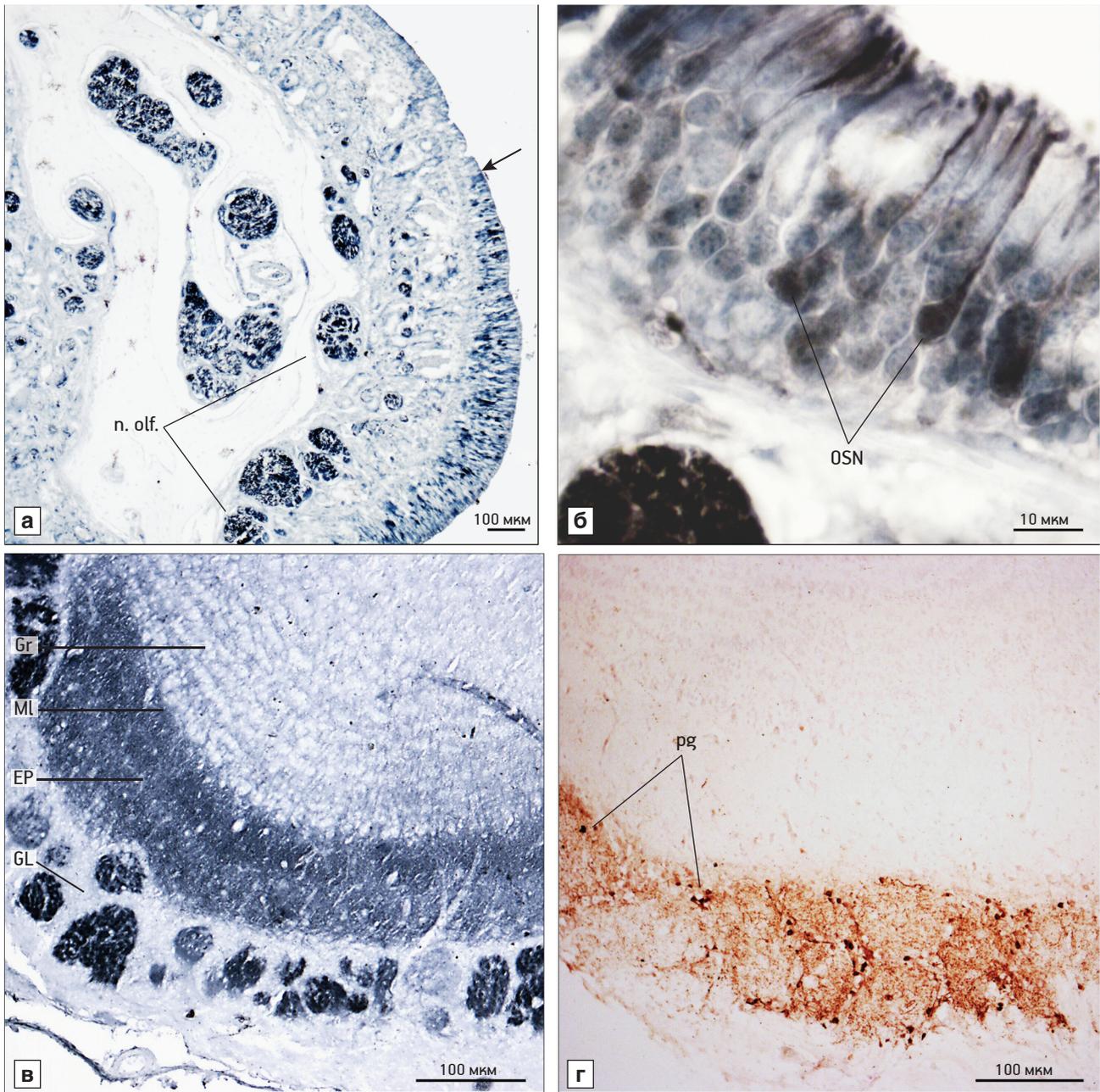


Рис. 3. Локализация  $\alpha$ -синуклеина и тирозингидроксилазы в периферическом отделе обонятельного анализатора у интактных крыс.

а, б — эпителий полости носа; в, г — обонятельные луковичи. n.olf — обонятельный нерв, OSN — сенсорный обонятельный нейрон; стрелка — граница респираторного и обонятельного эпителия. Структуры обонятельных лукович: Gr — гранулярный; MI — митральный; EP — внешний плексиформный; GL — гломерулярный; g — гломерулы; pg — перигломерулярные нейроны. Иммуногистохимическая реакция: а, б, в — на  $\alpha$ -синуклеин; г — на тирозингидроксилазу

элементов обонятельного эпителия при БП противоречивы [8, 23], хотя наличие телец Леви на ранних стадиях БП в обонятельных луковичах отражено в многочисленных работах [21]. Высокое содержание  $\alpha$ -Syn в обонятельных гломерулах может быть связано с его наличием в синаптических окончаниях обонятельных нейронов или митральных клеток. В то же время не все гломерулы содержат  $\alpha$ -Syn, возможно, в связи с разным

уровнем экспрессии этого белка в обонятельных нейронах, поскольку отростки однотипных сенсорных нейронов приходят в одну гломерулу [13]. Выявленное распределение  $\alpha$ -Syn в гломерулах может указывать на уязвимость отдельных типов обонятельных нейронов при БП, что может быть причиной нарушения распознавания запахов [1].

Точная причина обонятельных нарушений при БП не установлена [21]. Роль дофамина в обо-

нению подтверждается экспериментами с повреждением дофаминовых нейронов черного вещества [21], но при БП могут иметь значение и нарушения периферической иннервации обонятельного эпителия, предположительно модулирующей активность сенсорных нейронов [13]. Снижение обоняния при БП также связывают с дисфункцией перигломерулярных дофаминовых нейронов [15]. В то же время было показано увеличение числа ТГ-позитивных нейронов обонятельных луковиц при БП [18]. Отсутствие, по нашим данным,  $\alpha$ -Syn в телах перигломерулярных клеток может быть связано с их устойчивостью к нейродегенерации при БП. Среди ключевых структур предполагаемого ольфакторного пути распространения  $\alpha$ -Syn при БП указывают на переднее обонятельное ядро [8, 21], а также на обонятельный бугорок и пириформную кору, богатые  $\alpha$ -Syn и имеющие многочисленные связи, в том числе с дофаминергическими образованиями среднего мозга [21]. С другой стороны, недавно описанные прямые дофаминергические нигро-ольфакторные проекции [10], по-видимому, имеют важное значение для ретроградного распространения  $\alpha$ -Syn из обонятельных структур в средний мозг.

Таким образом, в базальных ядрах головного мозга у крыс линии Вистар  $\alpha$ -Syn локализован в пресинаптических кортико-стриатных и стрионигральных, но не в нигро-стриатных окончаниях. Его высокое содержание выявлено и в лимбической системе и структурах обонятельного мозга. В телах нейронов  $\alpha$ -Syn обнаруживается в дофамин- и норадренергических структурах подверженных нейродегенерации при БП: черном веществе, голубоватом месте и дорсальном ядре блуждающего нерва, а также выявляется в сенсорных обонятельных нейронах. В целом локализация  $\alpha$ -Syn лишь отчасти ассоциирована с дофаминергическими структурами мозга, однако полученные нами данные поддерживают гипотезу о периферическом начале БП и указывают на важную роль структур обонятельного анализатора в распространении патологических агрегатов  $\alpha$ -Syn в головном мозгу.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алексеева Н.С., Иллариошкин С.Н., Пономарева Т.А., Иванова-Смоленская И.А. Нарушения обоняния при болезни Паркинсона // Невролог. журн. 2012. Т. 17, № 1. С. 10–14.
- Иллариошкин С.Н. Паркинсонизм с ранним началом // Нервные болезни. 2006. № 3. С. 14–20.
- Иллариошкин С.Н. Ранние (додементные) формы когнитивных расстройств // Consilium Medicum. 2007. Т. 9, № 2. С. 107–111.
- Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона. *Анналы клин. и экск. неврол.* / 2011. Т. 5, № 4. С. 46–51.
- Худоерков Р.М., Воронков Д.Н., Ямщикова Н.Г. Иммуногистохимические и морфологические изменения нейронов и нейроглии в нигростриарных структурах мозга при моделировании нейродегенерации черной субстанции // Бюл. экпер. биол. 2012. Т. 153, № 6. С. 876–880.
- Brahic M., Bousset L., Bieri G., et al. Axonal transport and secretion of fibrillar forms of  $\alpha$ -synuclein, A $\beta$ 42 peptide and HTTExon // *Acta Neuropathol.* 2016. Vol. 131. P. 539–548.
- Breydo L., Wu J.W., Uversky V.N. Alpha-synuclein misfolding and Parkinson's disease // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1822, № 2. P. 261–85.
- Del Tredici K., Braak H. Review: Sporadic Parkinson's disease: development and distribution of  $\alpha$ -synuclein pathology // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2016. Vol. 42, № 1. P. 33–50.
- Duda J.E., Shah U., Arnold S.E. et al. The expression of alpha-beta- and gamma-synucleins in olfactory mucosa from patients with and without neurodegenerative diseases // *Exp. Neurol.* 1999. Vol. 160. P. 515–522.
- Hoglinger G.U., Alvarez-Fischer D., Arias-Carrion O. et al. A new dopaminergic nigro-olfactory projection // *Acta Neuropathol.* 2015. Vol. 130, № 3. P. 333–348.
- Jellinger K.A. Neuropathobiology of non-motor symptoms in Parkinson disease // *J. Neural Transm. (Vienna).* 2015. Vol. 122, № 10. P. 1429–1440.
- Li J., Henning J.P., Dahlstrom A. Differential localization of alpha-, beta- and gamma-synucleins in the rat CNS // *Neuroscience.* 2002. Vol. 113, № 2. P. 463–478.
- Lucero M.T. Peripheral modulation of smell: fact or fiction? // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2013. Vol. 24, № 1. P. 58–70.
- Luk K.C., Lee V.M. Modeling Lewy pathology propagation in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2014. Vol. 20, Suppl 1. P. 85–87.
- Marxreiter F., Regensburger M., Winkler J. Adult neurogenesis in Parkinson's disease // *Cell Mol. Life Sci.* 2013. Vol. 70, № 3. P. 459–73.
- Mochizuki H., Yamada M., Mizuno Y. Alpha-synuclein overexpression model // *J. Neural Transm. Suppl.* 2006. Vol. 70. P. 281–284.
- Mori F., Tanji K., Yoshimoto M., et al. Immunohistochemical comparison of alpha- and beta-synuclein in adult rat central nervous system // *Brain Res.* 2002. Vol. 941, № 1–2. P. 118–126.
- Mundinano I.C., Caballero M.C., Ordóñez C., et al. Increased dopaminergic cells and protein aggregates in the olfactory bulb of patients with neurodegenerative disorders // *Acta Neuropathol.* 2011. Vol. 122, № 1. P. 61–74.
- Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Amsterdam: Elsevier Acad. Press, 2014.
- Taguchi K., Watanabe Y., Tsujimura A., Tanaka M. Brain region-dependent differential expression of alpha-synuclein // *J. Comp. Neurol.* 2016. Vol. 524, № 6. P. 1236–1258.
- Ubeda-Banon I., Saiz-Sanchez D, de la Rosa-Prieto C, Martinez-Marcos A.  $\alpha$ -synuclein in the olfactory system in Parkinson's disease: role of neural connections on spreading pathology // *Brain Struct. Funct.* 2014. Vol. 219, № 5. P. 1513–1526.
- Vivacqua G., Gasini A., Vaccaro R., et al. Different sub-cellular localization of alpha-synuclein in the C57BL/6J mouse's central

nervous system by two novel monoclonal antibodies // J. Chem. Neuroanat. 2011. Vol. 41. P. 97–110.

23. Witt M., Bormann K., Gudziol V., et al. Biopsies of olfactory epithelium in patients with Parkinson's disease // Mov. Disord. 2009. Vol. 24, № 6. P. 906–914.

Поступила в редакцию 15.06.2016  
Получена после доработки 12.01.2017

## LOCALIZATION OF ALPHA-SYNUCLEIN IN RAT BRAIN AND ITS INTERRELATION WITH THE DOPAMINERGIC STRUCTURES

*D.N. Voronkov, R.M. Khudoyerkov, O.V. Sal'nikova, V.B. Sobolev*

Localization of alpha-synuclein ( $\alpha$ -Syn — the protein found in Lewy bodies in Parkinson's disease) and tyrosine hydroxylase

(a marker of dopamin- and noradrenergic neurons) were studied by immunohistochemical methods in brain structures of intact Wistar rats ( $n = 5$ ) and compared with the data obtained after destruction of substantia nigra ( $n = 3$ ). Localization of  $\alpha$ -Syn in synaptic structures of basal ganglia corresponded to cortico-striatal and strio-nigral projections, which was confirmed experimentally. In the cell bodies of dopamin- and noradrenergic neurons,  $\alpha$ -Syn was found in the substantia nigra, locus coeruleus and in the dorsal nucleus of nervus vagus, prone to neurodegeneration in Parkinson's disease. High  $\alpha$ -Syn content was also found in sensory olfactory neurons and glomeruli of the olfactory bulbs.

**Key words:** brain, basal ganglia, dopaminergic systems, alpha-synuclein, tyrosine hydroxylase

Laboratory of Functional Morpho-chemistry, Department of Brain Research, Research Center of Neurology, Moscow

© Коллектив авторов, 2017  
УДК 611.813.3:612.67:599.323.4

*А.В.Смирнов<sup>1,3</sup>, Н.В.Григорьева<sup>1</sup>, М.Р.Экова<sup>1</sup>, М.В.Шмидт<sup>1,3</sup>, И.Н.Тюренок<sup>2</sup>, Д.В.Куркин<sup>2</sup>, Е.В.Волотова<sup>2</sup>*

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕНТРАЛЬНОГО ОТДЕЛА ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ С УЧЕТОМ ЭКСПРЕССИИ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗ

<sup>1</sup> Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. А.В.Смирнов), <sup>2</sup> кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей (зав. — чл.-кор. РАН И.Н.Тюренок), Волгоградский государственный медицинский университет, <sup>3</sup> лаборатория морфологии, иммуногистохимии и канцерогенеза (зав. — проф. А.В.Смирнов), Волгоградский медицинский научный центр

Изучены структурные изменения в полях CA1 и CA3 вентрального отдела гиппокампа у 12- и 24-месячных крыс ( $n = 20$ ). Парафиновые срезы головного мозга окрашивали по методу Ниссля, определяли удельное количество сморщенных нейронов с гиперхроматозом цитоплазмы, изменение уровня экспрессии индуцибельной и эндотелиальной NO-синтаз (iNOS, eNOS). У старых (24-месячных) крыс выявлены наиболее выраженные признаки повреждения нейронов в пирамидном слое поля CA3 гиппокампа. Обнаружено увеличение доли сморщенных нейронов с гиперхроматозом цитоплазмы, уменьшение относительной плотности расположения нейронов, перичеселлюлярный отёк, вакуолизация цитоплазмы. Выявлено также увеличение экспрессии iNOS в нейронах пирамидного слоя поля CA3 и снижение экспрессии eNOS в полях CA1 и CA3 как в нейронах, так и в эндотелиоцитах сосудов микроциркуляторного русла по сравнению с таковыми у 12-месячных животных.

**Ключевые слова:** гиппокамп, нейроны, старение, iNOS, eNOS

В процессе физиологического старения человека когнитивные функции постепенно снижаются, при этом вероятность возникновения нейродегенеративных расстройств увеличивается,

начиная с 6-го десятилетия жизни [18]. Старение приводит к функциональным изменениям в головном мозгу, в частности в гиппокампе, который играет ключевую роль в механизмах памяти и

### Сведения об авторах:

*Григорьева Наталья Владимировна* (e-mail: ngrigorievavsmu@gmail.com), *Экова Мария Рафаэлевна* (e-mail: maria.ekova@mail.ru),

*Тюренок Иван Николаевич* (e-mail: fibfuv@mail.ru), *Куркин Денис Владимирович* (e-mail: strannik986@mail.ru),

*Волотова Елена Владимировна* (e-mail: evv.md.@yandex.ru), кафедра патологической анатомии, кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей, Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

*Смирнов Алексей Владимирович* (e-mail: alexey-smirnov@rambler.ru), *Шмидт Максим Вячеславович* (e-mail: schmidtmed@mail.ru), лаборатория морфологии, иммуногистохимии и канцерогенеза, Волгоградский медицинский научный центр, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1