

## ОБЗОРЫ

---

УДК 616-009  
©Бунеева, Медведев

### НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИЙ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

*О.А. Бунеева\*, А.Е. Медведев*

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, 119121 Москва, Погодинская ул. 10, эл. почта: [olga.buneeva@ibmc.msk.ru](mailto:olga.buneeva@ibmc.msk.ru)

Рассмотрены нарушения структуры и функции митохондрий при болезни Паркинсона и экспериментальных моделях этой патологии у животных. Особое внимание уделено нарушению активности митохондриальных ферментов, мутациям в митохондриальной и ядерной ДНК, а также данным геномных и протеомных исследований митохондриальных белков при болезни Паркинсона и экспериментальном паркинсонизме на животных.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, митохондрии, митохондриальные ферменты, геномика, протеомика.

**ВВЕДЕНИЕ.** Почти два столетия прошли с тех пор, как в 1817 году Джеймс Паркинсон в своей классической монографии описал основные клинические симптомы одного из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний человека, связанных со старением, – брадикинезию, тремор, мышечную ригидность и общее снижение двигательной активности. После этого открытия более века понадобилось, чтобы выявить основную причину этих симптомов – угнетение дофаминергических нейронов черной субстанции среднего мозга (*substantia nigra pars compacta*), приводящее к критическому снижению уровня дофамина в полосатом теле [1, 2]. Лечение болезни Паркинсона (БП) с тех пор основывалось на пероральном введении больным предшественника дофамина леводофа (L-3,4-дигидроксифенилаланина), которое поначалу снимало

---

\* - адресат для переписки

основные двигательные нарушения, но через несколько лет приводило к развитию дискинезии (непроизвольных движений), что существенно снижало качество жизни больных. Все современные способы лечения БП являются симптоматическими, ни один из них не предотвращает дегенерацию дофаминергических нейронов [3]. От болезни Паркинсона страдает более 0,1% всего населения старше 40 лет [4], около 1% населения старше 65 лет и 4–5% – в возрасте старше 85 лет [5, 6]. Поэтому этиология болезни Паркинсона и поиски новых подходов к ее лечению до сих пор остаются актуальной темой современных исследований.

Сегодня называют несколько возможных причин нейродегенерации при БП. Многие авторы считают, что основная причина – неправильная укладка (т.н. мисфолдинг) белков и нарушение функционирования (т.н. дисфункция) убиквитин-протеасомной системы, что приводит к накоплению нейротоксичных белков и, в частности, к появлению в нейронах определенных отделов мозга одного из диагностических признаков БП – телец Леви (Lewy bodies) [7, 8], характерных эозинофильных цитоплазматических включений округлой формы, основное содержимое которых составляет пресинаптический белок  $\alpha$ -синуклеин [9]. Другие полагают, что, по крайней мере, случаи идиопатической БП могут быть обусловлены неизвестным патогеном, способным преодолевать барьер слизистой желудочно-кишечного тракта, поражать нейроны брюшной полости и затем достигать центральной нервной системы. Например, Н. Braak выявил шесть стадий невропатологического процесса при БП, постепенно затрагивающих различные отделы нервной системы [10].

Исследования экспериментальных моделей паркинсонизма и данные аутопсийных исследований позволяют говорить о первичной роли митохондриальной дисфункции и окислительного стресса в патогенезе БП. Изучение аутопсийного материала мозга больных БП позволило выявить повреждения митохондрий [11, 12]. Ингибиторы митохондриального Комплекса I (МРТР, ротенон, паракват) вызывают симптомы паркинсонизма в экспериментальных моделях и у людей [13, 14].

Не так давно было открыто несколько генов, мутации которых вызывают различные типы наследственных форм БП [15–25]. По мнению разных авторов, наследственные формы БП составляют от 5 до 10% всех случаев паркинсонизма [26, 27], однако исследование этих форм открывает широкие перспективы для выяснения причин этого заболевания. При этом данные, полученные на мутантных по генам  $\alpha$ -синуклеин и *Uch-L1* организмах свидетельствуют в пользу первичной роли повреждения убиквитин-протеасомной системы в этиологии БП. Результаты исследований мутантов по *PINK1*, *DJ-1*, *LRRK-2* и *Omi/HTRA2* свидетельствуют в пользу первичной роли окислительного стресса и митохондриальной дисфункции, а данные о мутантах по гену *паркин* позволяют говорить о равноправном существовании обеих гипотез [15–25, 28].

До сих пор остается неясным, является ли нарушение деятельности убиквитин-протеасомной системы первичным патогенным фактором БП, ведущим к гибели нейронов черной субстанции, или лишь следствием окислительного стресса и митохондриальной дисфункции [29, 30]. В любом случае, исследование роли митохондриальной дисфункции в этиологии болезни Паркинсона представляет несомненный интерес для фундаментальной науки и поиска новых подходов к терапии этого распространенного заболевания.

### 1. МИТОХОНДРИИ: СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ.

Форма и размеры митохондрий, а также их количество могут варьировать в зависимости от типа и функционального состояния клеток, но все митохондрии имеют сходную структуру: матрикс – внутреннее пространство, ограниченное от цитоплазмы внутренней и внешней мембранами. Внутренняя мембрана образует многочисленные кристы – гребневидные складки, обращенные во внутреннее пространство и увеличивающие её площадь и контакт с матриксом.

Пять мультисубъединичных комплексов дыхательной цепи, встроенные во внутреннюю мембрану митохондрий и обозначаемых римскими цифрами I-V, осуществляют окислительное фосфорилирование, которое служит основным источником энергии эукариотической клетки. В составе этих комплексов насчитывают в общей сложности до 85-ти различных субъединиц [31]. Рисунок 1 схематически иллюстрирует основные принципы работы дыхательной цепи. Субстраты поставляют восстановительные эквиваленты комплексам I (NADH CoQ редуктаза) и II (сукцинат CoQ редуктаза), и электроны передаются затем по дыхательной цепи через убихинон и цитохром с комплексам III (убихинол цитохром с редуктаза) и IV (цитохром с оксидаза). Электрохимический градиент поддерживается перекачкой протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану в межмембранное пространство. Энергия, получаемая при обратном переносе протонов в матрикс, используется для синтеза АТФ, катализируемого комплексом V (АТФ синтаза) (рис. 1).

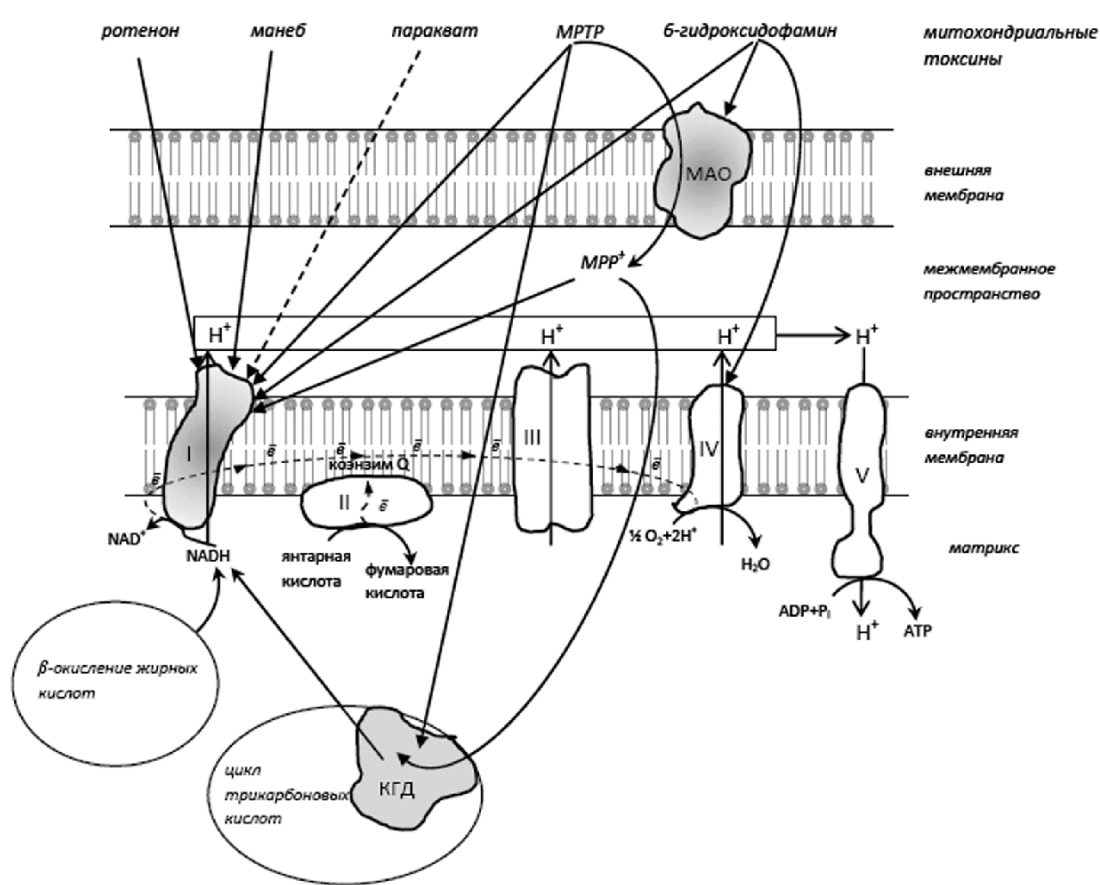


Рисунок 1.  
Митохондриальные мишени болезни Паркинсона.

Помимо энергетической функции, митохондриям различных типов клеток также принадлежит ключевая роль во многих метаболических процессах, таких, как биосинтез аминокислот, окисление жирных кислот, метаболизм стероидов, поддержание гомеостаза кальция, утилизация свободных радикалов [31, 32]. Показано, что митохондрии играют важную роль в передаче сигналов, в частности,

## ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

в случае апоптотической гибели клеток, когда из межмембранного пространства высвобождаются в цитозоль специфические апоптогенные факторы [31, 32]. Первоначальное представление о митохондриях как о небольших изолированных друг от друга внутриклеточных органеллах сейчас меняется на картину сложной разветвленной митохондриальной сети, плотность которой зависит от типа ткани и связана с потребностью ткани в окислительном фосфорилировании и производстве энергии. Митохондрии путем слияния и разделения могут образовывать динамичные сети, в регуляции и организации которых участвуют белки цитоскелета. Наряду с клетками сердечной и скелетных мышц, нейроны характеризуются чрезвычайно высокой плотностью митохондриальной сети, что, вероятно, и объясняет их чувствительность к нарушениям энергетического обмена при митохондриальных аномалиях [31].

Уникальность митохондрий состоит в том, что это единственные клеточные органеллы, белки которых кодируются как ядерным, так и своим собственным геномом, сохранившимся, вероятно, ещё с тех времен, когда митохондрии были самостоятельными организмами и не вступили в симбиотические отношения с эукариотами [31]. Геном митохондрий человека представляет собой мультикопийную кольцевую двухцепочечную ДНК длиной 16596 пар нуклеотидов (п. н.) [32], кодирующую всего 13 полипептидов (все они являются структурными компонентами комплексов дыхательной цепи), две рибосомные РНК и 22 транспортные РНК, необходимые для их трансляции [33, 34] (таблица). Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека очень компактна и не содержит интронов. Несмотря на то, что в собственном геноме митохондрий закодирован основной аппарат синтеза белков, сам процесс синтеза в большой степени зависит от ядра, «поставляющего» ферменты для репликации, репарации, транскрипции и трансляции. Эта зависимость лежит в основе причин ряда недавно открытых заболеваний, характеризующихся вторичными аномалиями мтДНК [31].

Таблица. Участие митохондриального генома в кодировании компонентов дыхательной цепи.

<b>Комплекс</b>	<b>Ферментативная активность</b>	<b>Общее количество субъединиц</b>	<b>Субъединицы, кодируемые митохондриальным геномом*</b>
<b>Комплекс I</b>	<b>NADH-убихинон редуктаза</b>	<b>43</b>	<b>7 (MTND1, MTND2, MTND3, MTND4, MTND4L, MTND5, MTND6)</b>
<b>Комплекс II</b>	<b>Сукцинат-убихинон редуктаза</b>	<b>4</b>	—
<b>Комплекс III</b>	<b>Убихинол-цитохром c редуктаза</b>	<b>11</b>	<b>1 (Cytochrome b (MTCYB))</b>
<b>Комплекс IV</b>	<b>Цитохром c оксидаза</b>	<b>13</b>	<b>3 (MTCO1, MTCO2, MTCO3)</b>
<b>Комплекс V</b>	<b>АТФ синтаза</b>	<b>14</b>	<b>2 (ATPase 6, ATPase 8)</b>

Примечание. MTND - *mitochondrial NADH dehydrogenase* (митохондриальная NADH-дегидрогеназа); MTCO - *mitochondrial cytochrome oxidase* (митохондриальная цитохромоксидаза).

\* - согласно базе данных OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), Johns Hopkins University.

Митохондриальная ДНК наследуется по материнской линии. Большинство исследователей убеждены, что отцовская мтДНК вообще не попадает в оплодотворенную яйцеклетку в процессе зачатия [35, 36]; некоторые полагают, что митохондрии спермы избирательно метятся для деградации уже после оплодотворения [37-39]. Так или иначе, постулат о том, что у человека наследование мтДНК происходит по материнской линии, используется при генетическом консультировании.

В клетке содержится несколько тысяч мтДНК, и все они имеют идентичную нуклеотидную последовательность (гомоплазмия). В процессе старения организма и при заболеваниях, связанных с митохондриальной дисфункцией, накапливаются соматические мутации, и в клетке сосуществуют в различном соотношении мтДНК дикого типа и мутантные (гетероплазмия). При этом процент мутантных форм пропорционален степени выраженности заболевания [40].

Наиболее распространенная причина мутаций мтДНК – свободные радикалы “активных форм кислорода”, генерируемые самой же дыхательной цепью. Они вызывают повреждение клеточных мембран и тем самым способствуют увеличению скорости мутаций мтДНК в различных тканях и органах [41]. Ткань мозга особенно уязвима к окислительному повреждению из-за высокого содержания легко окисляемых ненасыщенных жирных кислот, высокой скорости потребления кислорода и относительно низкой концентрации антиоксидантных ферментов по сравнению с другими органами [42, 43]. Митохондриальная ДНК еще более чувствительна к этим повреждениям, чем ядерная, из-за соседства источника активных форм кислорода – дыхательной цепи, – отсутствия защиты гистонов и недостаточно эффективной системы репарации, поэтому мтДНК мутирует с большой скоростью. В последние годы преобладает точка зрения, что именно мутации мтДНК вносят решающий вклад в патофизиологические изменения и, в первую очередь, нейродегенерацию, связанные со старением [44].

Помимо высокой частоты соматических мутаций, характерной чертой мтДНК также является генетический полиморфизм. Существуют предположения, что полиморфизм мтДНК может создать тончайшие различия в кодируемых ей белках и, таким образом, вызвать минимальные изменения в активности ферментов окислительного фосфорилирования и в сверхпродукции свободных радикалов. Это могло бы предопределять у индивидов или у популяции с соответствующим генотипом мтДНК раннее начало апоптотических процессов: накопление мутаций мтДНК и повреждение системы окислительного фосфорилирования. Напротив, у популяции с другим генотипом мтДНК может наблюдаться “полезная” повышенная скорость окислительного фосфорилирования и уменьшение образования активных форм кислорода. Полиморфизм мтДНК позволяет выделить множество специфических для каждой популяции генотипов митохондрий, называемых гаплотипами. В Европе различают девять митохондриальных гаплотипов (H, I, J, K, T, U, V, W, X) [42]. Ряд экспериментальных работ свидетельствует о связи некоторых митохондриальных гаплотипов с увеличением продолжительности жизни [45-48], однако, достоверные механизмы этой связи еще не установлены [49]. Попытки прояснить связь специфического генетического полиморфизма с клиническими проявлениями некоторых нейродегенеративных заболеваний привели к противоречивым результатам [50-53]. Некоторые исследователи, однако, отмечают связь полиморфизма мтДНК с риском развития БП [54-56].

Таким образом, несмотря на очевидную ключевую роль митохондрий в развитии нейродегенеративных заболеваний, связанных со старением, всё ещё не ясно до конца, являются ли окислительный стресс и митохондриальные дисфункции причиной возникновения и прогрессирования этих заболеваний, или же все эти нарушения – лишь последствия нейродегенерации [42].



## 2. БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА И НАРУШЕНИЯ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ.

Связь между болезнью Паркинсона и митохондриальными нарушениями впервые была установлена в 1989 году. В чёрной субстанции (*substantia nigra*) [57], а затем и в периферических тканях больных БП [58-60] было обнаружено 25-35%-ное ингибирование активности компонента дыхательной цепи комплекса I (митохондриальной протон-транслоцирующей NADH:убихинон-оксидоредуктазы; КФ 1.6.99.3). Вместе с этим, выяснилось, что действие токсина 1-метил-4-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиридина (МРТР), вызывающего хронический паркинсонизм у людей и в модельных опытах на животных, приводит к дефициту активности комплекса I [61]. В клетках глии МРТР превращается моноаминоксидазой В (МАО В) в активный нейротоксин MPP<sup>+</sup> (ион N-метил-4-фенилпиридиния), который с помощью дофаминового транспортера поступает в дофаминергические нейроны, где накапливается в митохондриях, ингибируя комплекс I (рис. 1). Последнее приводит к торможению синтеза АТФ, аккумуляции свободных радикалов и гибели клеток [62, 63]. В модельных опытах на животных было показано, что хроническое системное воздействие другого ингибитора комплекса I, пестицида ротенона, вызывает гибель дофаминергических нейронов в чёрной субстанции, повреждения протеасомной системы, белка DJ-1, включения  $\alpha$ -синуклеина и поведенческие симптомы (брадикинезию, мышечную ригидность, нарушение осанки, скованность движений), характерные для БП [62-65]. Ингибиторами комплекса I являются и другие нейротоксины: паракват, манеб, 6-гидроксидофамин (ингибирующий также митохондриальный комплекс IV и моноаминоксидазу), вызывающие признаки БП у людей и экспериментальных животных [66-69].

Обнаружение взаимосвязи между снижением активности комплекса I и симптомами БП оставляло открытым вопрос о роли функциональной недостаточности комплекса I в патогенезе паркинсонизма. Исследованные аутопсийные препараты мозга были взяты от пациентов, долгое время страдавших БП и получавших целый ряд лекарств, например, леводофа. Однако, в полосатом теле у них не наблюдалось недостаточности активности комплекса I, которую можно было бы ожидать на основании модельных опытов на крысах по токсичности леводофа [70]. Более того, у пациентов с множественной системной атрофией, принимавших леводофа в течение того же времени и в тех же количествах, что и пациенты с БП, недостаточность функции митохондрий в чёрной субстанции не была обнаружена [71]. Нет данных о том, что другие лекарственные препараты, включая агонисты дофамина и ингибиторы МАО В, тормозят активность комплекса I [71].

Вслед за сообщением о недостаточности комплекса I в чёрной субстанции пациентов с БП, аномалии дыхательной цепи были обнаружены в митохондриях скелетных мышц больных паркинсонизмом, правда, результаты, полученные различными исследователями, не согласовывались между собой [72-74]. Затем снижение активности комплекса I было найдено и в митохондриях тромбоцитов больных БП. В этом случае результаты разных лабораторий совпадают и свидетельствуют о снижении активности комплекса I на 20-25% [75-77]. К сожалению, такой уровень падения активности комплекса I не позволяет использовать его в качестве биомаркера БП [34].

Кроме того, нарушение энергетического обмена при БП может быть связано со снижением активности митохондриального полиферментного – кетоглутаратдегидрогеназного комплекса (КГД), катализирующего одну из ключевых реакций метаболизма – окислительное декарбоксилирование кетоглутарата, единственную реакцию цикла Кребса, приводящую к образованию макроэргической связи на субстратном уровне. Инактивация КГД при БП может вызываться действием свободных радикалов, а может быть обусловлена генетическими нарушениями. Тот факт, что МРТР и MPP<sup>+</sup> ингибируют КГД

*in vitro*, стимулировал исследование активности этого полиферментного комплекса в мозге больных БП. Было показано снижение активности КГД в чёрной субстанции пациентов с БП и уменьшение иммунного окрашивания на содержание КГД пропорционально степени тяжести заболевания [78-80]. Генетические исследования также подтверждают роль КГД в этиологии БП. Биаллельный полиморфизм гена компонента E2  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса выражается в одонуклеотидной замене аденина (аллель 2) на гуанин (аллель 1), не отражающейся на аминокислотной последовательности фермента. Тем не менее, в группе больных БП частота генотипа людей, несущих аллель 2, существенно выше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о принадлежности данной мутации к факторам риска, если речь идёт о БП [81, 82].

В опытах *in vitro* была показана чувствительность липоамиддегидрогеназы, компонента E3 пируватдегидрогеназного,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов и комплекса дегидрогеназы  $\alpha$ -кетокислот с разветвленной цепью, к MPTP и MPP<sup>+</sup> [83]. В составе мультиферментных комплексов E3 участвует в окислении пирувата,  $\alpha$ -кетоглутарата и  $\alpha$ -кетокислот с разветвлённой цепью. Находясь на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий, липоамиддегидрогеназа в присутствии ионов цинка и NADH способна превращать компонент дыхательной цепи митохондрий коэнзим Q (убихинон) в убихинол [84]. Эта восстановленная форма убихинона (QH<sub>2</sub>), содержание которой в ткани невелико по сравнению с окисленной формой, обладает ещё большими антиоксидантными свойствами и таким образом выполняет нейропротекторную функцию. Следовательно, ингибирование липоамиддегидрогеназы приведет к уменьшению концентрации убихинола, препятствующего образованию токсичных радикалов, что может вызвать окислительный стресс, индуцирующий БП<sup>+</sup> [83].

### **3. МУТАЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК И БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА.**

С целью доказательства связи недостаточности активности Комплекса I с мутацией мтДНК несколько групп исследовали структуру мтДНК больных паркинсонизмом. Однако первоначальные результаты об общем увеличении делеций в мтДНК мозга больных БП не подтвердились, так как выяснилось, что это увеличение не превышает то, которое происходит просто в результате старения [34]. Появление новых, более чувствительных методов, позволяющих исследовать накопление делеций мтДНК в индивидуальных клетках, дало возможность выявить, что в мтДНК единичных нейронов чёрной субстанции существенное возрастание делеций происходит после 65 лет [85, 86]. Делеции мтДНК были клональными и сопровождалась отрицательным гистохимическим анализом на активность цитохромоксидазы. В этих исследованиях уровень делеций мтДНК был несколько выше при БП [86]. Тем не менее, A. Shapira, например, считает полученную разницу недостаточно достоверной [34]. По его мнению, эти эксперименты лишь подтвердили, что чёрная субстанция человека – участок мозга, наиболее подверженный свободно-радикальному повреждению мтДНК, которое усугубляется в процессе старения.

В ряде исследований была секвенирована мтДНК пациентов с БП, но не было проведено корреляции полученных результатов с активностью комплекса I [87, 88]. Попытки связать предрасположенность к заболеванию БП с полиморфизмом мтДНК привели к противоречивым результатам. По данным одних авторов, гаплотипы J и K характеризуются достоверным уменьшением риска этого заболевания по сравнению с наиболее распространенным гаплотипом H, что связано с наличием точечного одонуклеотидного полиморфизма A10398G [50]. Другие авторы отмечали меньшее число заболеваний БП у представителей гаплотипов U, K, J, T [89]. В то же время, в соответствии с результатами представителей еще одной исследовательской группы, гаплотипы J и T отличаются как раз повышенным риском заболевания БП [90].

Убедительные доказательства определяющей роли мтДНК больных БП в недостаточности комплекса I были получены с помощью методов генной трансплантации [91, 92]. После внедрения митохондрий из тромбоцитов пациентов с БП и митохондрий из контрольных тромбоцитов в клетки нейробластомы человека, не содержащие митохондриальной ДНК, и культивирования в течение 5-6 недель клеточные линии таких цитоплазматических гибридов анализировали на активность ферментов дыхательной цепи, продукцию форм активного кислорода и чувствительность к MPP<sup>+</sup>. В цитоплазматических гибридах с митохондриями больных БП были обнаружены 20-25%-ное снижение активности комплекса I, увеличение образования свободных радикалов кислорода и повышенная чувствительность к MPP<sup>+</sup>-индуцируемому апоптозу. В экспериментах Gu и соавторов в клонированных клетках цитоплазматического гибрида тромбоцитов одного из пациентов было показано 25 и 20% снижение активности комплекса I и комплекса IV, соответственно. Гистохимическое и иммунохимическое исследование этих клонов и методы визуализации функционального состояния клеток выявили, что клетки в составе клонов гетерогенны в отношении активности и содержания цитохром с оксидазы и активности митохондриальной дыхательной цепи. Дальнейшие эксперименты показали, что клетки реципиента также отличались аномальным транспортом кальция и низким потенциалом митохондриальной мембраны [34]. Это свидетельствует о том, что нарушения мтДНК могут приводить к митохондриальным дефектам по крайней мере у части больных БП, и разработанная авторами технология может служить средством выявления подгруппы пациентов, у которых дефекты мтДНК вносят существенный вклад в развитие заболевания [92].

В лимфоцитах больных ранним паркинсонизмом, поддающимся терапии леводофой и наследуемым по материнской линии, была исследована патогенная точечная мутация митохондриальной ДНК [93]. Авторы осуществили перенос генов 12S рибосомной РНК, кодируемой мтДНК, в реципиентные клетки, и у трансформированных лимфобластов была обнаружена мутация 12S рРНК T1095C и сопутствующее значительное снижение активности цитохром с оксидазы. По-видимому, эта мутация затрагивает высококонсервативную петлю малой субъединицы рибосомной РНК, необходимую для инициации синтеза митохондриального белка, и таким образом препятствует нормальному окислительному фосфорилированию [93]. В мозге больных идиопатической формой БП Parker и Parks обнаружили значимое увеличение гетероплазмических мутаций по сравнению с контролем в определенном районе ND5, митохондриального гена, кодирующего субъединицу комплекса I [94].

Таким образом, полученные разными авторами результаты не дают оснований говорить об однозначном соответствии между генетической аномалией мтДНК и снижением активности комплекса I при БП.

#### **4. ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ ЯДЕРНОЙ ДНК НА МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДИСФУНКЦИИ ПРИ БП.**

Долгое время БП вообще не причисляли к генетически обусловленным заболеваниям, подчеркивая её “спорадический” характер. В настоящее время очевидно, что, по крайней мере, у 5-10% пациентов, страдающих БП, – это моногенная форма заболевания. За последние годы открыто 13 хромосомных локусов и 9 генов, повреждение которых ведет к возникновению БП, как аутосомно-доминантных (*PARK1* и *PARK4/α-синуклеин*, *PARK 5/UCHL1*, *PARK8/LRRK2*, *PARK11/GIGYF2*, *PARK13/Omi/Htra2*), так и аутосомно-рецессивных (*PARK2/Parkin*, *PARK6/ PINK1*, *PARK7/ DJ-1*, *PARK9/ATP13A2*) [15-25]. Несмотря на то, что наследственные формы составляют малую часть всех случаев паркинсонизма, их исследование позволяет пролить свет на общие для патогенеза различных типов БП молекулярные механизмы, ведущие к гибели дофаминергических нейронов (рис. 2) [31, 34, 95].



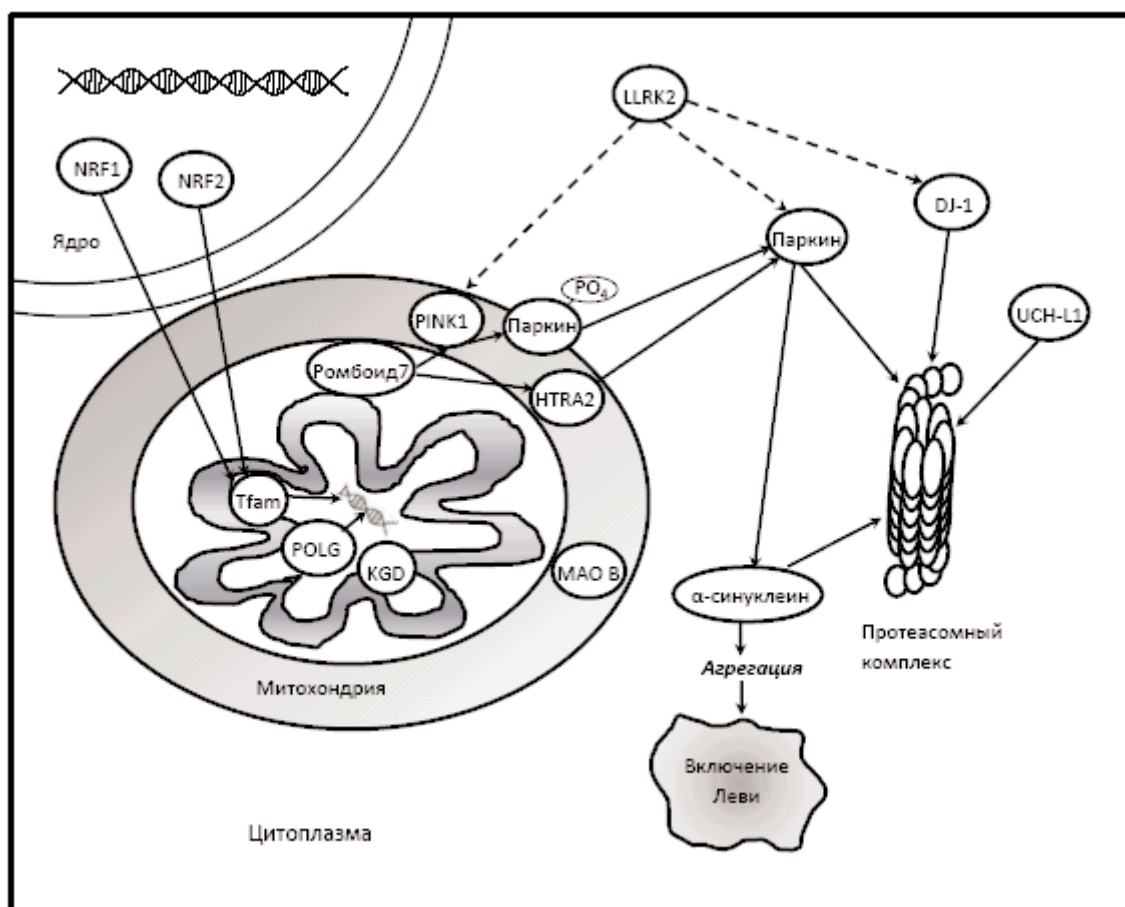


Рисунок 2.

Участие белков, кодируемых ядерным геномом, в патогенезе болезни Паркинсона.

#### 4.1. Мутации гена $\alpha$ -синуклеина.

В 1996 году было показано, что аутосомно-доминантное наследование БП может быть связано с хромосомой 4q21-q23 (локус PARK1). Так был идентифицирован первый ген, мутации которого вели к БП [96, 97]. Белок  $\alpha$ -синуклеин, кодируемый этим геном, изначально получил название по месту своей локализации: он был впервые обнаружен в синапсах и ядрах электрического угря [98]. В зависимости от микроокружения этот полипептид из 140 аминокислот может оставаться неструктурированным или формировать богатые  $\beta$ -структурой олигомеры (протофибриллы) и амилоидоподобные образования (фибриллы), агрегирующие и преципитирующие с образованием телец Леви, являющихся диагностическим признаком БП [99].  $\alpha$ -Синуклеин широко распространён в тканях мозга; особенно богаты им пресинаптические нервные окончания, где он связан с мембранами и везикулярными структурами [100]. С использованием метода фотосшивки показано, что  $\alpha$ -синуклеин может специфически реагировать с различными белками, в частности, с кальмодулином. Взаимодействие  $\alpha$ -синуклеина с кальмодулином в интактных клетках является кальций-зависимым, и кальмодулин способствует изменению конформации  $\alpha$ -синуклеина и формированию его фибриллярных форм [101].

Физиологическая роль  $\alpha$ -синуклеина до конца не ясна. Результаты экспериментов на мышах с направленной делецией гена  $\alpha$ -синуклеина свидетельствуют о роли этого белка в кругообороте синаптических везикул и нейротрансмиссии дофамина [102]. Это подтверждают и опыты *in vitro*, в которых

была продемонстрирована способность  $\alpha$ -синуклеина встраиваться в везикулы, образованные “кислыми” фосфолипидами [103], связываться с фосфолипазой D млекопитающих и ингибировать её [104]. В экспериментах на клеточных культурах было показано участие  $\alpha$ -синуклеина в липидном обмене и его способность регулировать объём пула пресинаптических везикул [105, 106], а в опытах на дрожжах этот белок селективно взаимодействовал с плазматической мембраной, ингибировал фосфолипазу D и влиял на транспорт везикул [107]. Таким образом, вероятно участие  $\alpha$ -синуклеина в регуляции размера и кругооборота синаптических везикул и образовании запаса дофамина.

Поскольку фибриллярные формы  $\alpha$ -синуклеина представляют собой основной структурный компонент телец Леви при БП и других синуклеинопатиях, роль этого белка в патогенезе БП очевидна [108]. Трипликация гена  $\alpha$ -синуклеина приводит к увеличению его экспрессии почти в два раза, и сверхэкспрессии гена дикого типа достаточно для того, чтобы вызвать заболевание. Некоторые исследователи считают основной патогенной структурой не сами фибриллы, а промежуточные формы процесса их образования, так называемые протофибриллы. Показано, что мутантные формы  $\alpha$ -синуклеина, обнаруженные при наследственной БП, образуют кольцевые протофибриллы, сходные с бактериальными токсинами, влияющими на проницаемость клеточных мембран [109, 110]. Катехоламины, в частности, дофамин, могут ковалентно связываться с  $\alpha$ -синуклеином и таким образом препятствовать превращению протофибрилл в фибриллы и способствовать накоплению протофибрилл [111]. Гипотезу о цитотоксичности протофибрилл подтверждают исследования линии трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий  $\alpha$ -синуклеин дикого типа, у которых наряду с двигательными нарушениями и деградацией дофаминовых нервных волокон наблюдали нефибриллярные  $\alpha$ -синуклеиновые включения [112]. В то же время, в опытах на трансгенных мышах [113] и мухах [114] с мутантными формами  $\alpha$ -синуклеина нейродегенерацию обнаруживали только при формировании фибрилл и фибриллярных включений, что ставит под сомнение определяющую роль цитотоксичных протофибрилл в развитии симптомов БП. Вероятно, как протофибриллы, так и фибриллы  $\alpha$ -синуклеина вносят свой вклад в патогенез этого заболевания [99].

До конца не ясно, каким образом происходит агрегация  $\alpha$ -синуклеина дикого типа при спорадических формах БП. Выяснилось, что посттрансляционная модификация  $\alpha$ -синуклеина нитрованием способствует формированию цитоплазматических включений, характерных для БП. С помощью антител к нитротирозину было показано, что при БП и других синуклеинопатиях в очагах заболевания наблюдается избирательное нитрование тирозина 39  $\alpha$ -синуклеина [115]. В опытах с изолированными нитрованными различными олигомерными формами  $\alpha$ -синуклеина подтвердилась повышенная способность модифицированных таким образом мономеров и димеров  $\alpha$ -синуклеина к образованию фибрилл и снижение скорости их протеасомной деградации [116].

Различными методами было показано, что полимеризация  $\alpha$ -синуклеина с образованием фибрилл ускоряется в присутствии ассоциированного с микротрубочками тау-белка, а также  $\beta$ -амилоида [117, 118]. Сравнение двух форм олигомеров  $\alpha$ -синуклеина, выделенных из различных участков нервной системы трансгенных мышей, экспрессирующих мутантный A53T  $\alpha$ -синуклеин, показало, что идентичные по биохимическим свойствам белки из богатой характерными включениями и не затронутой болезнью ткани отличаются иммунохимически и имеют разную конформацию. Это, в свою очередь, определяло различную способность двух конформационных типов белков к образованию патогенных фибрилл [119]. Не исключена роль таких посттрансляционных модификаций  $\alpha$ -синуклеина, как фосфорилирование и вслед за этим избирательное убиквитинирование, в его способности к агрегации и образованию фибрилл [120-122].

Патогенные формы  $\alpha$ -синуклеина более устойчивы к протеасомной деградации. Известно, что различные олигомерные формы этого белка могут связываться к 20S либо с 26S протеасомой и снижать протеолитическую активность [123-125]. С другой стороны, введение протеасомных ингибиторов вызывает образование внутриклеточных включений, подобных тельцам Леви, содержащих  $\alpha$ -синуклеин и убиквитин, в характерных для БП отделах нервной системы у лабораторных животных и в опытах на культурах нервных клеток [126, 127].

Локализованный в цитоплазме и синаптических везикулах нервных окончаний,  $\alpha$ -синуклеин напрямую не связан с митохондриями, но известно, что мутации гена  $\alpha$ -синуклеина могут вызвать митохондриальные дисфункции. Сверхэкспрессия мутантного  $\alpha$ -синуклеина в культурах нервных клеток гипоталамуса GT1-7 препятствовала нормальному функционированию митохондрий и вызывала нарушения окислительных процессов [128]. Трансгенные мыши со сверхэкспрессией  $\alpha$ -синуклеина человека отличались повышенной чувствительностью к ингибитору МРТР, необычно большими размерами митохондрий черной субстанции и различными митохондриальными нарушениями [129]. Известно, что ингибиторы митохондриального Комплекса I ротенон и паракват способствуют агрегации и накоплению  $\alpha$ -синуклеина в опытах *in vitro* и с мутантными животными [130-133]. В то же время, дефицитные по  $\alpha$ -синуклеину мыши более устойчивы к действию ингибиторов дыхательной цепи МРТР, малонату и 3-нитропропионовой кислоте [134, 135]. В экспериментах с трансгенными мышами сверхэкспрессия мутантного  $\alpha$ -синуклеина коррелировала с дегенерацией нейронов, снижением активности комплекса IV в нейронах спинного мозга и накоплением в них включений, состоящих из  $\alpha$ -синуклеина и поврежденных митохондрий. Наблюдалась также выраженная положительная реакция клеточных популяций таких отделов нервной системы, как нейроны ствола головного мозга, кора, передние рога серого вещества спинного мозга, на маркеры апоптоза [136].

Олигомеры  $\alpha$ -синуклеина, образующиеся при мутациях, ведущих к БП, могут также генерировать пороподобные структуры, разрушающие мембраны, и таким образом способствовать фрагментации митохондрий [137].

Приведённые выше экспериментальные данные указывают на вероятную роль  $\alpha$ -синуклеина в развитии митохондриальной дисфункции, окислительного стресса и гибели нейронов при БП.

#### 4.2. Мутации гена *паркин*.

Впервые мутации гена *паркин* были обнаружены Shimura и соавт. в 2000 году при исследовании аутосомно-рецессивной ювенильной формы болезни Паркинсона [138]. Позже они были найдены и у пациентов с БП, характеризующейся поздним началом и по своим симптомам практически не отличающейся от идиопатических, спорадических форм заболевания [139].

Ген *паркин* локализован на хромосоме 6q и кодирует одноименный белок, обладающий убиквитин-протеинлигазной активностью [139]. Убиквитинируя различные субстраты (белки синаптических везикул, белки регуляции клеточного цикла, белки микротрубочек, полиглутаминовые белки и др.), паркин “метит” их для протеасомной деградации. Поэтому при недостаточности паркина в центральной нервной системе происходит накопление нейротоксичных белков в эндоплазматическом ретикулуме и в цитоплазме, что вызывает симптомы БП [28, 140, 141].

Паркин обнаружен и в митохондриях [142], и ряд экспериментальных фактов свидетельствует в пользу того, что мутации гена *паркин* могут играть не последнюю роль в нарушении митохондриальных функций в патогенезе БП [19, 143]. Так, Darios и соавторы показали, что сверхпродукция паркина клетками PC12 защищает последние от индуцированной церамидом гибели, замедляя набухание митохондрий и высвобождение цитохрома c из них. Паркин в этих клетках был ассоциирован с внешней митохондриальной мембраной.

## ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

В лимфоцитах пациентов с мутацией по гену *паркин* была снижена активность Комплекса I [144].

Эксперименты *in vivo* с мутантными по гену паркина животными также подтверждают гипотезу о связи недостаточности паркина с нарушением функций митохондрий в патогенезе БП. Такие исследования были проведены на мутантных мушках *Drosophila* [145, 146] и мышах [12, 141, 147, 148]. Мутанты *Drosophila* отличались фенотипически от дикого типа; у них была снижена продолжительность жизни, наблюдались двигательные нарушения и стерильность самцов, обусловленная дефектом индивидуализации сперматид на поздней стадии сперматогенеза. Характерной морфологической чертой этих мутантов оказалась патология митохондрий клеток летательных мышц и сперматид, что, вероятно, и явилось причиной апоптотической гибели соответствующих клеток, для нормального функционирования которых необходим большой запас энергии [143]. Такой тканеспецифический эффект может свидетельствовать о том, что сходные митохондриальные нарушения являются причиной избирательной гибели нервных клеток при аутосомно-рецессивной форме ювенильного паркинсонизма [145].

Парадоксальным оказалось то, что мыши, у которых отсутствовал паркин, были жизнеспособны и имели, за одним исключением [149], нормальную морфологию мозга без характерного угнетения дофаминергических нейронов в черной субстанции, хотя уровень внеклеточного дофамина в полосатом теле этих мышей был повышен. Лишь в экспериментах Von Coelln и соавторов, которые создали линию мышей с нулевой мутацией в гене паркина, наряду с полной потерей каталитической функции паркина у животных наблюдались существенные изменения в катехоламинергических нейронах *locus coeruleus* и соответствующее падение уровня норэпинефрина в различных отделах центральной нервной системы. Кроме того, у этих мышей была сильно снижена реакция вздрагивания на неожиданный стимул, в то время как полосатое тело и чёрная субстанция не претерпевали видимых изменений [149].

У дефицитных по паркину мышей были выявлены нарушения дыхания митохондрий и снижение устойчивости к окислительному стрессу, свойственное БП [146]. С использованием протеомных методов в вентральной части среднего мозга этих мышей были найдены изменения в соотношении различных митохондриальных белков электрон-транспортной цепи и некоторых белков, защищающих от окислительного стресса [150].

Совокупность этих экспериментальных данных позволяет предположить, что паркин способствует деградации митохондриальных субстратов, необходимой для нормального функционирования дофаминергических нейронов мозга [28].

По данным Kuroda и соавторов [151] в различных исследованных культурах клеток в процессе пролиферации паркин локализован исключительно в митохондриальном матриксе. Это принципиально отличается от ранее опубликованных работ, согласно которым паркин находится в цитозоле, сети комплекса Гольджи и синаптических везикулах [28, 140, 141]. (Возможно, это связано с тем, что прежде изучали ткань мозга, а клетки мозга относятся к наиболее высокодифференцированным). Авторы описали специфический механизм выхода паркина из митохондрий в цитозоль, не зависимый от высвобождения цитохрома *c*, который функционирует при дифференцировке клеток. Предполагается, что паркин выходит из митохондрий через специальные поры при участии белков-посредников, взаимодействующих с ним только в условиях дифференцировки клеток; в пролиферирующих же клетках *in vivo* паркин находится в комплексе с другими белками. В пролиферирующих клетках паркин, вероятно, связывается с мтДНК через TFAM (белковый фактор, необходимый для инициации транскрипции мтДНК и стабилизации пула мтДНК): взаимодействие паркина с TFAM доказано в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. В пролиферирующих клетках паркин способствует транскрипции и репликации



мтДНК и экспрессии митохондриальных дыхательных комплексов. По-видимому, в процессе пролиферации клеток паркин функционирует как регулятор биогенеза митохондрий, а в дифференцированных клетках, уже после выхода в микросомы или цитозоль, – как убиквитин-протеин лигаза E3 [151].

#### 4.3. Мутации гена *PINK1*.

Мутации гена *PINK1*, вызывающие ауtosомно-рецессивный ювенильный паркинсонизм, впервые были обнаружены у уроженцев Сицилии [152, 153]. Этот ген кодирует митохондриальную PTEN-индуцируемую протеинкиназу 1 (phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase 1). Эта киназа принадлежит к семейству серин/треонин киназ и локализована в цитозоле и в митохондриях клеток.

В гене *PINK1* описано 10 различных миссенс- и нонсенс-мутаций; гомозиготность или компаундная гетерозиготность по этим мутациям приводит к БП. У гетерозигот наблюдается более позднее начало и медленное развитие заболевания, но его клиническая картина (дистония, чувствительность к препаратам L-DOPA) у гомозигот и гетерозигот одинакова [153-156]. Посмертные невропатологические исследования показывают, что у таких больных развивается типичная патология с включениями Леви [157].

В экспериментальной модели на *Drosophila* мутации *PINK1* приводят к фенотипическим и физиологическим проявлениям (стерильность самцов, дегенерация мышц, изменение морфологии и фрагментация митохондрий, повышенная чувствительность к окислительному стрессу), похожим на результаты мутаций гена паркина. Примечательно, что сверхэкспрессия паркина компенсирует мутации *PINK1* у дрозофил. Предполагается, что паркин и *PINK1* являются компонентами одного метаболического пути, причем *PINK1* предшествует паркину в метаболической цепи, что позволяет последнему влиять на ход патогенного процесса при мутациях гена *PINK1*. Роль этого метаболического пути в регуляции функции митохондрий дает возможность назвать митохондриальную дисфункцию центральным механизмом патогенеза БП [158, 159].

В линии дофаминергических клеток человека SH-SY5Y подавление экспрессии гена *PINK1* на 80% при помощи микроРНК резко повышает чувствительность клеток к MPP<sup>+</sup> и ротенону, “запускающим” процесс апоптоза [160]. Напротив, усиленная экспрессия белка *PINK1* дикого типа повышает устойчивость клеток к апоптозу [161]. Эти данные подтверждают гипотезу о нейропротекторной роли *PINK1*. “Выключение” экспрессии *PINK1* в клетках этой линии приводит к снижению уровня мтДНК и прекращению её синтеза, падению мембранного потенциала митохондрий, сокращению синтеза митохондриального АТФ, при этом в наибольшей степени затронутой оказывается активность комплекса IV электрон-транспортной цепи. У таких клеток признаки окислительного стресса отмечаются даже в стандартных условиях, а при действии параквата наблюдается интенсивная гибель клеток. Всё это свидетельствует о роли *PINK1* в биогенезе митохондрий и поддержании активности электронно-транспортной цепи, дисфункция которой может быть ключевым моментом в патогенезе БП [162].

Pridgeon и соавторы идентифицировали субстрат *PINK1*. Это митохондриальный шаперон TRAP1 (TNF (*tumor necrosis factor*) receptor-associated protein 1), также известный как белок теплового шока heat shock protein 75 (Hsp75). *PINK1* связывается с TRAP1 в митохондриях и фосфорилирует TRAP1 *in vitro* и *in vivo*. *PINK1* защищает клетки от гибели, вызванной окислительным стрессом, подавляя выход цитохрома c из митохондрий, и это протекторное действие *PINK1* зависит от ее киназной активности – способности фосфорилировать TRAP1. Определенные мутации *PINK1* (G309D, L347P и W437X), вызывающие БП, нарушают способность этого фермента фосфорилировать TRAP1 и снижают устойчивость клеток к окислительному стрессу [163].



#### 4.4. Мутации гена *DJ-1*.

Третий ген, мутации которого вызывают аутосомно-рецессивную ювенильную форму БП, - ген *DJ-1*. Случаи наследования заболевания, связанного с мутацией гена, кодирующего белок DJ-1, были впервые зафиксированы в Италии и в Дании и составляют около 1% всех случаев БП [164]. DJ-1 – консервативный белок, принадлежащий к суперсемейству DJ-1/ThiJ/PfpI; он состоит из 189 аминокислотных остатков и имеет димерную структуру. DJ-1 присутствует практически во всех тканях млекопитающих; в мозге он есть как в нейронах, так и в глии [165]. Известна его кристаллическая структура и предполагаемый активный центр, сходный с активным центром цистеиновых протеаз [166]. Однако очищенные препараты DJ-1 не обладают протеазной активностью [167]. Shendelman и соавторы считают этот белок редокс-зависимым молекулярным шапероном, препятствующим неправильному сворачиванию белков и образованию, например, агрегатов  $\alpha$ -синуклеина [168].

У дрозофил делеции в гомологичных генах *DJ-1a* и *DJ-1b* вызывают уменьшение двигательной активности [169], повышенную чувствительность к перекиси водорода, параквату и ротенону [170]. У мух также была отмечена стерильность самцов и снижение продолжительности жизни [171]. В опытах по направленному мутагенезу на дрозофилах было продемонстрировано, что модификация остатка цистеина-104 белка DJ-1 (аналог цистеина 106 в DJ-1 человека) определяет утрату протекторной активности этого белка при окислительном стрессе (уменьшается устойчивость к параквату). С возрастом у человека, как и у мух и мышей, накапливаются модифицированные формы DJ-1, подобные тем, которые возникают под действием токсинов [172]. У мышей мутации DJ-1 приводят к нарушению обратного захвата дофамина [173] и увеличению чувствительности к МРТР [174]. У мутантных по DJ-1 мышей и мух наблюдали нарушения энергетических функций митохондрий и снижение уровня АТФ [171]. На клеточных моделях (дофаминергические нейроны, выращенные из стволовых эмбриональных клеток, дефицитных по DJ-1) также была продемонстрирована протекторная роль этого белка: у таких клеток был снижен срок жизни и повышена чувствительность к окислительному стрессу [167].

Ряд исследователей отмечают регуляторную функцию DJ-1 на уровне транскрипции: этот белок способен связываться с различными ядерными белками и способствовать “выключению” апоптоза и усилению ответа клетки на окислительный стресс [175].

У дрозофил утрата функции *DJ-1* вызывает те же признаки, что и мутации генов паркин и *PINK1* [171], причем DJ-1 может частично компенсировать утрату белка PINK1, что указывает на расположение DJ-1 дистальнее PINK1 в метаболической цепи. При этом DJ-1 не может компенсировать мутации гена *паркина*, поэтому DJ-1 не может располагаться сразу вслед за PINK1, или между PINK1 и паркином, или сразу вслед за паркином. Авторы предполагают, что белок DJ-1 определяет метаболический путь, параллельный пути PINK1/паркин, и между этими цепями существует своего рода конвергенция [171].

Недавно было показано, что паркин, PINK1 и DJ-1 образуют комплекс в культурах клеток нейробластомы SH-SY5Y и HEK293 и в лизатах мозга человека [176]. Этот комплекс, локализованный в митохондриях и в цитоплазме, обладает убиквитин-лигазной активностью и играет важную роль в убиквитин-протеасомной деградации неправильно свернутых и агрегированных белков – субстратов паркина, среди которых – собственно паркин и синфилин-1. В условиях усиленной экспрессии PINK1 ускоряется деградация паркином (в составе комплекса) неправильно свернутых белков, индуцированных действием теплового шока. Напротив, у БП-патогенных мутантов по *паркину* и *PINK1* наблюдается уменьшение убиквитинирования эндогенного паркина и увеличение накапливающихся aberrантных форм субстратов паркина [176]. Вероятно, белки PINK1 и DJ-1 в составе комплекса регулируют убиквитин-лигазную активность паркина и обеспечивают протеасомную деградацию неправильно свернутых белков.

Li и Guo предлагают несколько моделей функционирования такого комплекса в связи с различной компартиментализацией его компонентов [177]. Возможно, в случае окислительного стресса паркин и DJ-1, локализованные в цитоплазме, связываются с PINK1, которая, по последним данным, “заякорена” на внешней стороне внешней мембраны митохондрий [177]. После этого “запускаются” механизм полиубиквитинилирования и последующей протеасомной деградации белков-субстратов паркина и процесс фрагментации митохондрий. Другая модель предполагает высвобождение при стрессе PINK1 из митохондрий. В этом случае происходит отщепление части молекулы этого белка, которая вместе с DJ-1 присоединяется к паркину и повышает его лигазную активность, так что полиубиквитинилирование идет не на поверхности митохондрий, а в цитозоли. При этом целостность митохондрий также нарушается. Авторы допускают и такой вариант, при котором комплекс трех белков может образовываться и работать в цитоплазме, а механизм регуляции целостности и функции митохондрий осуществляется PINK1 и паркином независимо [177].

#### 4.5. Мутации гена *LRRK2*.

Новый локус PARK8, связанный с аутосомно-доминантной формой БП, был открыт в 2002 году [178], а два года спустя появились сообщения о соответствующем гене [179, 180]. Кодированный этим геном белок LRRK2 (Leucine-rich repeat kinase 2) относится к семейству киназ, имеющих повторяющиеся последовательности, богатые лейцином (LRR-области) [181, 182]. Еще одно название этого белка – дардарин (от баскского слова “дрожать”, так как заболевание, связанное с мутацией гена *LRRK2*, распространено среди басков). К *LRRK2* приковано внимание многих исследователей, поскольку мутации гена *LRRK2* характерны не только для БП с аутосомно-доминантным наследованием, но также и для спорадической формы заболевания, и патологические признаки при этом идентичны [183]. Кроме того, LRRK2 – мультидоменный белок, в котором наряду с киназным есть GTPазный домен [184, 185]. LRRK2 и его гомолог LRRK1 [186] – единственные ферменты, обладающие одновременно киназной и GTPазной активностью. Последние, как известно, играют ключевую роль в регуляции внутриклеточных процессов, а мутации, вызывающие БП, затрагивают именно эти домены.

LRRK2 находится в основном в цитоплазме, но также может быть ассоциирована с мембранными и везикулярными структурами клетки, в том числе и с митохондриями [187, 188]. Субклеточное фракционирование показывает, что в мозге грызунов 10% всей LRRK2 связано с внешней мембраной митохондрий [187, 188]. Возможно (хотя экспериментально это еще не доказано), она может фосфорилировать те же субстраты, что и PINK1 (тау,  $\alpha$ -синуклеин и собственно PINK1) [189].

Данные о мутациях, затрагивающих киназный домен, несколько противоречивы, возможно, из-за различных способов определения активности фермента в разных исследовательских группах и использования различных субстратов [183]. Однако, тот факт, что мутации, затрагивающие эту область, приводят к повышению киназной активности и усиленному автофосфорилированию LRRK2 [184, 185], открывает новые пути для поиска терапевтических средств – специфических ингибиторов LRRK2. Сверхэкспрессия мутантных форм этого белка вызывает дегенерацию нейронов коры у мышей [190-192], причем мутации, повышающие киназную активность, способствуют уменьшению длины нейритов и ветвления нейронной сети *in vivo* и *in vitro* (в культурах клеток и у грызунов). Напротив, дефицит LRRK2 увеличивает ветвление и длину нейритов [193].

Идентификация субстратов LRRK2 могла бы пролить свет на механизмы БП. По-видимому, к субстратам этого белка принадлежит ряд белков цитоскелета. Экспрессия мутантной LRRK2 вызывает образование в нейронах заметных фосфо-тау-положительных включений, колокализованных с маркерами лизосом, и ускоренный апоптоз [193]. Известно, что гиперфосфорилирование тау-белка

приводит к образованию агрегатов и отмиранию нейронов при многих нейродегенеративных заболеваниях [194]. Возможно, тау – молекулярная мишень для киназной активности LRRK2. Эти два белка расположены рядом во включениях, хотя прямое фосфорилирование тау LRRK2 в опытах *in vitro* не показано [193]. Появились экспериментальные данные о том, что субстратом LRRK2 может быть белок моэзин, играющий связующую роль между цитоскелетом и цитоплазматическими мембранами, а также другие белки этого семейства – эзрин и радиксин [195]. Опыты на культуре клеток трансгенных мышей свидетельствуют о возможной роли фосфорилирования этих белков LRRK2 в формировании актинового цитоскелета в морфогенезе нейронов в [196], а очищенный фермент из мозга быка специфически фосфорилирует  $\beta$ -тубулин [197], что также подтверждает роль LRRK2 в регуляции стабильности цитоскелета.

В качестве возможных физиологических субстратов, фосфорилирующихся LRRK2, были также идентифицированы некоторые белки из семейства MAPKK (Mitogen-Activated Protein Kinase kinases), участников сигнального каскада [198], и белок регуляции трансляции 4E-BP (initiation factor 4E-binding protein) [199].

БП-специфические мутации, затрагивающие GTPазный домен LRRK2 [200, 201], в отличие от мутаций киназного домена, приводят к снижению соответствующей активности. При определенных мутациях не меняется сродство GTP к ферменту, но уменьшается скорость его гидролиза. Несколько групп исследователей показали, что некоторые мутации, затрагивающие GTPазный домен LRRK2, приводящие к невозможности связывания GTP, вызывают существенное снижение киназной активности фермента, что, вероятно, свидетельствует о функциональной связи между двумя каталитическими способностями LRRK2 [183].

LRRK2, экспрессирующаяся в клеточной культуре, ассоциирует с паркином, и доля клеток со сверхэкспрессией LRRK2, содержащих белковые агрегаты, существенно увеличивается при коэкспрессии паркина [191]. Кроме того, паркин ускоряет убиквитинирование агрегированного белка. Авторы этого исследования делают вывод о механизме “усиления функции” в LRRK2-опосредованном патогенезе БП и предполагают, что LRRK2 может быть вовлечена в тот же патогенный метаболический путь, что и паркин [191]. В экспериментах моделирования БП на нематодах *Caenorhabditis elegans* [202] и на дрозофилах [203] была установлена способность LRRK2 взаимодействовать с паркином, DJ-1 и с PINK1.

LRRK2 может связываться с шаперонами, например, с белками теплового шока Hsp 90 и Hsp70, а также с CHIP (Carboxyl terminus of Hsp70-Interacting Protein), убиквитинирующим LRRK2 и способствующим ее протеасомной деградации [204]. Более того, белок Hsp 90 препятствует этой деградации, что позволяет говорить о механизме регуляции стабильности LRRK2 [205].

Ещё один белок, взаимодействующий с LRRK2, - FADD (Fas-Associated protein with Death Domain), адапторный белок, участвующий в передаче сигналов апоптоза. Ингибирование FADD предотвращает опосредованную LRRK2 гибель нейронов в клеточных культурах, что указывает на прямую связь между дегенерацией нейронов, вызванной LRRK2, и активацией апоптоза [206]. LRRK2 взаимодействует и с фосфопротеинами семейства DVL1-3 (Dishevelled 3), ключевыми компонентами регуляторного комплекса Wnt (Wingless/Int) [207], что свидетельствует о возможном участии LRRK2 в сигнальных путях, определяющих рост и направленность аксонов, образование синапсов и функционирование нейронов. Эти результаты существенны для понимания патогенеза БП и поиска новых терапевтических подходов.

#### 4.6. Мутации гена *Omi/HTRA2*.

Митохондриальная олигомерная сериновая протеаза Omi/HtrA2 (High temperature requirement protein A2) кодируется ядерной ДНК и содержит трипсиноподобный протеазный домен и С-концевой регуляторный PDZ домен

(от начальных букв названий белков: *postsynaptic density 95*, PSD-95; *discs large; zonula occludens-1*, ZO-1), отвечающий за связывание С-концевых пептидов белков-мишеней и регуляцию протеазной активности [208]. Фермент локализуется в межмембранном пространстве митохондрий и высвобождается в цитоплазму в ответ на различные проапоптотические стимулы [209]. В цитоплазме он может индуцировать каспазный каскад или механизмы каспазозависимого апоптоза [208, 210]. В неапоптотических клетках протеолитическая активность HTRA2 необходима для поддержания митохондриального гомеостаза, о чём свидетельствуют эксперименты Jones и соавторов на *mnd2*-мутантных мышах [211] и Martins и соавторов на HTRA2-нокаутных мышах [24]. У мышей с выключенным геном HTRA2 отмечено угнетение нейронов в полосатом теле, что приводит к раннему развитию нейродегенеративного заболевания с паркинсоническими симптомами и гибели животных примерно на 30-й день после рождения.

Идентификация специфической гетерозиготной миссенс-мутации p.Gly399Ser гена *Omi/HtrA2* у пациентов со спорадической формой БП послужила прямым доказательством связи нарушения функции HTRA2 с развитием заболевания [23]. Мутация затрагивала С-концевой PDZ домен HTRA2 и вызывала увеличение протеазной активности HTRA2.

В экспериментах на устойчивой линии трансфицированных клеток БП-специфическая мутация p.Gly399Ser HTRA2 (и сверхэкспрессия HTRA2) существенно снижала протеолитическую активность, вызывала набухание митохондрий, снижение мембранного потенциала митохондрий и ускоряла тауроспорин-индуцированную гибель клеток [209].

Другая БП-специфическая мутация HTRA2 в том же функциональном PDZ домене p.Arg404Trp вызывала утрату протеазной активности [212].

По сообщению Plun-Favreau и соавт., существуют регуляторные взаимодействия между протеазой HTRA2 и вышеописанным ассоциированным с наследственной формой БП белком – киназой PINK1; оба эти фермента являются компонентами одного стресс-зависимого сигнального пути [213]. При PINK1-зависимой активации MAP-киназного пути митоген-активируемой протеинкиназы p38 наблюдается фосфорилирование HTRA2 по остатку, расположенному близко к участку, мутации в котором характерны для БП. У пациентов с БП с мутациями по гену PINK1 фосфорилирование HTRA2 снижено. Эти результаты позволяют предположить, что PINK1-зависимое фосфорилирование HTRA2 влияет на протеолитическую активность последней, увеличивая таким образом устойчивость клеток к окислительному стрессу [213].

В модельных экспериментах по эктопической экспрессии мутантных генов при развитии глаз у *Drosophila melanogaster* установлена связь между четырьмя ответственными за митохондриальную целостность и защиту клетки от стресса белками: HTRA2/Omi, PINK1, паркином и впервые открытой БП-ассоциированной протеазой Rhomboid-7 [214]. С использованием биохимического и генетического подходов удалось доказать, что в регуляторной цепочке HTRA2 действует вслед за PINK1 и независимо от гена паркина, тогда как ген *Rhomboid-7* влияет на PINK1, паркин и HTRA2. Белок PINK1 активирует HTRA2 и паркин. Белок Rhomboid-7 находится в начале сигнального пути, отщепляя пептидные фрагменты от белков-предшественников PINK1 и HTRA2 и влияя таким образом на локализацию этих ферментов: отщепление трансмембранного домена приводит к высвобождению изначально “заякоренных” в митохондриальной мембране PINK1 и HTRA2 в межмембранное митохондриальное пространство и в цитоплазму.

Поскольку Rhomboid-7 – достаточно консервативный белок, гомологичный белку PARL (митохондриальной ромбоидной протеазе человека), вероятно, что регуляция митохондриальных белков и целостности митохондрий в патогенезе БП происходит по тому же самому механизму, что заставляет обратить внимание на PARL как на возможную новую терапевтическую мишень в лечении БП [214].



#### 4.7. Мутации гена *UCH-L1*.

Убиквитин-С-концевая гидролаза L1 (UCH-L1) – фермент, специфичный для нейронов мозга: его содержание в ткани мозга составляет 1-2% от общего содержания белков, в то время как в других тканях он практически отсутствует [215, 216]. С использованием скрининга генов-кандидатов в 1998 году была выявлена гетерозиготная 193М мутация гена *UCH-L1* у пациентов с аутосомно-доминантной БП [215]. UCH-L1 – типичная цистеиновая гидролаза, содержащая остатки цистеина, гистидина и аспарагиновой кислоты в активном центре и катализирующая гидролиз С-концевых эфиров и амидов убиквитина [217, 218]. Помимо гидролазной, фермент обладает также лигазной активностью и может катализировать присоединение убиквитина к лизиновому остатку белков или к другой молекуле убиквитина. Лигазная активность характерна для димерной формы фермента [220]. Биологическая функция UCH-L1 и ее субстраты *in vivo* долгое время оставались загадкой; неясно было даже, является ли этот белок истинным ферментом, так как активность его в опытах *in vitro* была значительно ниже активности других известных гидролаз или лигаз [220]. Данные рентгеноструктурного анализа позволили говорить об UCH-L1 как о жёстко регулируемом ферменте, энзиматическая активность которого существенно изменяется после связывания субстрата [216].

Существуют противоречивые литературные данные о связи между полиморфизмом (S18Y) гена *UCH-L* и выраженностью признаков БП [218-223]. Сопоставление многочисленных данных свидетельствует в пользу того, что генетическая вариабельность гена *UCH-L* играет существенную роль в развитии идиопатической БП с поздним началом [224]. В случае подтверждения этой гипотезы ген *UCH-L* и кодируемый им фермент могут служить молекулярными мишенями для терапии БП.

По-видимому, ключевая роль этого фермента *in vivo* состоит в отщеплении убиквитина от его аддукта с белком-мишенью, который затем подвергается протеасомной деградации. Поэтому мутантные формы UCH-L1 приводят к увеличению дефектных белков и дефициту мономеров убиквитина, необходимых для элиминации остальных неправильно свернутых белков [215]. Ингибирование UCH способствует дегенерации дофаминергических нейронов и формированию включений в клетках культуры ткани мозга крыс [225]. Lowe и соавторы, исследовавшие аутопсический материал, полученный от больных БП и другими нейродегенеративными расстройствами, отметили присутствие UCH в тельцах Леви [226]. Мутации *UCH-L1* (утрата участка из 42-х аминокислот, включая существенные для активности аминокислотные остатки) обнаружены у мышей линии *gad* (*gracile axonal dystrophy*), отличительными чертами которых являются сенсорная и моторная атаксия, дегенерация аксонов и формирование сферических включений в нервных окончаниях [227].

Эксперименты Liu и соавторов на культуре клеток показали, что добавление UCH-L1, особенно её мутантных форм, ассоциированных с БП, вызывало накопление в клетках  $\alpha$ -синуклеина, к которому присоединялись полиубиквитиновые цепи, – эффект, который не может объясняться гидролазной активностью фермента и протеасомной деградацией, а связан с убиквитин-лигазной активностью димера фермента [220]. Для полиморфного варианта UCH-L1, отличающегося пониженным риском заболевания БП (S18Y), была характерна сниженная лигазная, но сравнимая с диким типом фермента гидролазная активность, и аккумуляция  $\alpha$ -синуклеина в этом случае не наблюдается. Таким образом, обе активности этого фермента могут играть существенную роль в патогенезе БП [220].

#### 4.8. Мутации гена *POLG*.

POLG (ДНК-полимераза гамма) – фермент, функция которого связана с репликацией и репарацией мтДНК. POLG человека выделена из клеток культуры HeLa практически в гомогенном виде [228] и представляет собой



гетеродимер, состоящий из каталитической субъединицы 140 кДа, обладающей ДНК-полимеразной и 3'-5'-экзонуклеазной активностью, и вспомогательной субъединицы 54 кДа, функция которой неизвестна. Как и другие ферменты репликации мтДНК, ДНК-полимеразы гамма кодируются ядерным геном. Мутации *POLG* выявлены у пациентов, страдающих прогрессивной внешней офтальмоплегией с аутосомно-доминантным или рецессивным типом наследования и довольно ранним началом, с возрастом сопровождающейся симптомами БП [229-231]. У таких больных было снижено накопление дофамина в полосатом теле, и лечение их препаратами леводофа и агонистами дофамина давало хорошие результаты [230-232]. Гистологические и молекулярно-биологические исследования аутопсийного материала пациентов показали угнетение дофаминергических нейронов черной субстанции мозга и множественные делеции митохондриальной ДНК [229, 233]. Такие делеции наблюдались у пациентов с БП и при старении и коррелировали с нарушением работы дыхательной цепи митохондрий [232-234]: в частности, снижена была активность комплексов дыхательной цепи, содержащих субъединицы, кодируемые мтДНК [232, 235].

Ген каталитической субъединицы *POLG* человека содержит тринуклеотидную микросателлитную CAG повторяющуюся последовательность, кодирующую полиглутаминовый фрагмент вблизи N-концевого участка белка. Хотя увеличение CAG-повторов характерно для некоторых нейродегенеративных заболеваний, у пациентов с БП не было выявлено изменений в CAG-участках, связанных с модификацией мтДНК [236]. Тем не менее, была продемонстрирована роль *POLG* в регуляции синтеза, репликации и репарации мтДНК [237], и многие исследователи связывают мутации *POLG* с нарушением клеточного дыхания и сопутствующим избирательным угнетением нейронов определенных отделов мозга при старении и БП [34, 42, 231].

#### 4.9. Мутации других генов, приводящие к БП.

В последнее время усилия многих исследователей направлены на выявление возможной связи с БП полиморфизма ряда генов-кандидатов [56, 238-242]. Показана достоверная ассоциация с риском развития БП полиморфных локусов генов моноаминоксидазы (MAO) B [56, 238], глутатион S-трансферазы [56, 242], N-ацетилтрансферазы 2 [56], индуцибельной синтазы оксида азота [239-241] и некоторых других ферментов.

Из двух изоформ (A и B) MAO, ключевого фермента метаболизма дофамина, лишь для гена MAO B была установлена достоверная ассоциация с БП полиморфизма интрона 13 с заменой одного нуклеотида, при этом эффект был заметно более выражен у женщин (ген MAO расположен на X-хромосоме) [238].

Для гена индуцибельной синтазы оксида азота, фермента, катализирующего реакцию образования NO, избыток которого вызывает окислительный стресс и митохондриальные нарушения в нейронах мозга, была показана обратная ассоциация полиморфизма экзона 22 с риском БП [239, 240]. Была также обнаружена значимая обратная ассоциация курения и вероятности заболевания паркинсонизмом у тех, кто не несет аллель повышенного риска БП, но у носителей этого аллеля значимость этой корреляции уменьшалась [241].

Wider и соавторы, анализируя результаты исследований генетической ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с БП, называют среди генов-кандидатов *Phactr2* (ген регулятора 2 фосфатазы и актина) [243].

Отмечена значимая ассоциация с дебютом болезней Паркинсона и Альцгеймера полиморфизма генов глутатион S-трансферазы омега-1 и глутатион S-трансферазы омега-2, ферментов, играющих важную роль в обезвреживании экзогенных и эндогенных токсических субстратов [244, 245].

Выявлена значимая ассоциация с БП мутаций гена, кодирующего лизосомную глюкоцереброзидазу; недостаточность этого фермента приводит к болезни Гоше, связанной с накоплением в лизосомах глюкоцереброзида [246]. Поскольку существуют варианты болезни Гоше, не связанные с симптомами

паркинсонизма, однозначного объяснения эта ассоциация пока не находит. Некоторые авторы считают, что накопление глюкоцереброзида может нарушать процессы деградации белков или сродство липидов к  $\alpha$ -синуклеину, что приводит к накоплению  $\alpha$ -синуклеина в цитоплазме и образованию агрегатов [247].

Сравнительный генетический анализ пациентов с БП и здоровых людей, а также исследования клеточных линий показали, что мутации, ассоциированные с БП, характерны для гена *NR4A2*, кодирующего фактор регуляции транскрипции, играющий важную роль в дифференциации дофаминергических нейронов чёрной субстанции. Мутации *NR4A2* вызывали дисфункцию дофаминергических путей, влияя, в частности, на транскрипцию гена, кодирующего тирозингидролазу [248].

Большое количество мутаций митохондриальных ДНК, которые могут нарушать функционирование ферментов дыхательной цепи, – отличительная черта дофаминергических нейронов среднего мозга пациентов с БП. Поэтому интерес исследователей вызывает генетический полиморфизм факторов регуляции транскрипции мтДНК. Противоречивые результаты получены для гена *TFAM*, кодирующего митохондриальный фактор транскрипции А (Tfam) – ключевой белок, регулирующий транскрипцию, репликацию и репарацию мтДНК. С одной стороны, исследования генетического полиморфизма довольно большой выборки больных БП (250 человек) в сравнении со здоровыми пациентами (225 человек) показали, что мутации *TFAM* не связаны с риском заболевания БП [249]. В то же время, у мышей с нокаут-мутацией по гену *TFAM* наблюдали снижение экспрессии мтДНК и нарушения работы дыхательной цепи в дофаминергических нейронах среднего мозга, что, в свою очередь, приводило к паркинсоническому фенотипу, формированию характерных для БП внутриклеточных включений, содержащих митохондриальные белки и мембранные компоненты, и отмиранию дофаминергических нейронов [250].

Таким образом, приведенные данные показывают, что большинство рассмотренных генов-кандидатов предрасположенности к БП кодирует белки, имеющие отношение к функционированию митохондрий и ответу организма на окислительный стресс, что подтверждает патофизиологическую значимость митохондриальных нарушений при БП.

### **5. ПРОТЕОМНЫЙ И ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.**

Протеомный и геномный анализ аутопсийных образцов мозга больных БП, а также мозга животных с экспериментальным паркинсонизмом позволил выявить изменения экспрессии ряда белков, в том числе и митохондриальных [150, 251-266]. Basso и сотрудники сравнили профили белков в аутопсийных образцах черной субстанции больных БП и пациентов без данной патологии. Из 44-х идентифицированных белков у 9-ти исследователи обнаружили количественные различия между двумя группами. Нейрофиламенты (лёгкие и средние цепи) присутствовали у больных БП в меньшем количестве, в то время как пероксиредоксин II, митохондриальный комплекс III, АТФ-синтаза (D цепь), комплексин I, профилин, дельта-субъединица кальциевых каналов L-типа и белки, связывающие жирные кислоты, – в существенно большем количестве. Эти результаты подтверждают мнение о роли окислительного стресса в патогенезе БП (что иллюстрируется сверхэкспрессией митохондриальных белков и белков, ответственных за удаление активных форм кислорода) и о возможном механизме усиления афферентных сигналов, ведущих к дегенерации дофаминергических нейронов [251, 252].

Werner и соавторы, сравнивая протеомные профили *substantia nigra* больных БП и контрольной группы, обнаружили, что из 37 идентифицированных белков 16 экспрессировались по-разному. Среди них – участники метаболизма железа (Н-ферритин) и глутатион-зависимых окислительно-восстановительных процессов (глутатион-S-трансферазы GST M3, GST P1, GST O1, белок SH3BGRL). Выявлены отличия в экспрессии многих глиальных белков (GFAP, GMFB, галектин-1, сорцин), а также в экспрессии белков, относящихся к метаболическим путям,

редко упоминающимся в связи с БП (аденозилгомоцистеиназа (метилование), альдегиддегидрогеназа 1, клеточный ретинол связывающий белок 1 (метаболизм альдегидов)). Группа отличающихся в норме и при патологии белков также включала аннексин V, кофактор А бета-тубулина, CLP (coactosin-like protein) и субъединицу 1 АТРАЗЫ V-типа.

Одинаково экспрессируются в черной субстанции больных БП и людей без данной патологии следующие белки, выполняющие базовые клеточные функции: COX5A, Rho GDI альфа, актин гамма 1, креатинкиназа В, лактатдегидрогеназа В, дисульфидизомераза ER-60, Rab GDI бета, метилглиоксалаза 1, глутаминсинтетаза. Как ни странно, даже известные маркеры наследственной БП белки DJ-1 и UCH-L1 экспрессировались одинаково. Это позволило сделать вывод, что нарушения в экспрессии белков в клетках чёрной субстанции при БП затрагивают гораздо больше белков, чем считалось ранее, что указывает на гетерогенный характер патогенеза этого заболевания. Кроме того, нарушение функций некоторых белков, наблюдающееся в случае наследственной БП, необязательно для идиопатической формы БП [266].

Исследования экспрессии белков в клетках пораженных органов человека не дают возможности увидеть изменения на ранних стадиях заболевания, до появления характерной симптоматики. С этой точки зрения интерес представляют эксперименты по моделированию БП на трансгенных животных и клеточных культурах. Протеомные исследования модели БП у *Drosophila*, экспрессирующих ген  $\alpha$ -синуклеина с миссенс-мутацией *A30P*, на пресимптоматической, ранней и выраженной стадии заболевания выявили количественные отличия в экспрессии 49-ти белков. Авторы показали, что изменения в протеоме коррелируют с изменениями, выявленными ранее в транскриптоме тех же модельных животных. 44% изменённых транскриптов проявлялись в виде изменённых белков. Однако для многих генов изменения в экспрессии наблюдаются только на уровне транскриптов либо белков. Протеомные исследования позволяют сделать вывод, что нарушения синтеза группы белков, связанных с актиновым цитоскелетом (7 белков) и функционированием митохондрий (8 белков), выявляемые на ранних стадиях заболевания, могут обуславливать развитие симптомов БП на поздних стадиях [254, 261].

Periquet и соавторы с помощью протеомного исследования изучали роль гена *паркин* в патогенных механизмах преклинических стадий БП на модельных мышях с нокаут-мутацией по этому гену [150]. Было идентифицировано 87 белков, и различие в их количестве в мозге контрольных и нокаутных по паркину мышей составляло не менее 45%. Большинство из них принадлежали к группе белков, определяющих энергетический метаболизм. Уровни белков, ответственных за детоксикацию, защиту от стресса (шаперонов) и компонентов убиквитин-протеасомного пути также были изменены, что свидетельствует о включении адаптивных механизмов, направленных на удаление активных форм кислорода и накапливающихся поврежденных белков в тканях мозга нокаутных по паркину животных. Повышение уровня нескольких белков семейства мембран-ассоциированных гуанилаткиназ и нескольких септинов, включая субстрат паркина CDCRel-1 (cell division control related protein 1), может объяснять нарушения в высвобождении нейротрансмиттеров, ранее обнаруженное у нокаутных по паркину мышей. Эти результаты свидетельствуют о возможных компенсаторных механизмах, защищающих дофаминергические нейроны от гибели у нокаутных по паркину мышей и помогают понять доклинические нарушения, обнаруженные при БП, обусловленных мутацией гена паркина [150]. Другие авторы, также изучавшие протеомные профили у дефицитных по паркину мышей, обнаружили уменьшение количества белков, ответственных за функционирование митохондрий и ликвидацию последствий окислительного стресса [256].

В экспериментах Diedrich и соавторов протеомные методы были использованы для исследования воздействия сверхэкспрессии трансмембранного белка, ответственного за адгезию клеток, - L1cam (L1 cell adhesion molecule) - в МРТР-индуцированной модели паркинсонизма у контрольных и L1cam-трансгенных мышей [253]. Сравнение протеомных профилей подвергнутых действию МРТР контрольных и трансгенных животных показало, что у контрольных животных под воздействием МРТР кратковременно уменьшилось количество митохондриальных, гликолитических и цитоскелетных белков, а через некоторое время их число вернулось к исходному уровню. У L1cam-трансгенных животных под воздействием МРТР в острой фазе оказалось затронуто гораздо большее количество белков, и эти изменения даже усугубились в стадии восстановления. Количество многих белков, вовлеченных в окислительное фосфорилирование, уменьшилось, в то время как количество гликолитических ферментов возросло, что свидетельствует о более длительном и сильном воздействии МРТР на процессы выработки энергии в клетке у L1cam-трансгенных мышей [253].

Chin и соавторы использовали сочетание протеомных и транскриптомных подходов для изучения нарушений в полосатом теле мозга мышей при использовании двух моделей БП (МРТР- и метамфетамин-индуцированной). Протеомные методы позволили обнаружить значимые количественные изменения 86-ти белков в результате действия нейротоксинов. Параллельно с этим анализ с использованием ДНК-микрочипов выявил существенные изменения синтеза мРНК 181 гена. Функциональный анализ белков, обнаруженных с помощью этих двух независимых методов, позволил выделить следующие группы: митохондриальная дисфункция, ответ на окислительный стресс, апоптоз [263].

Zhang и соавторы использовали МРТР-индуцированную модель БП у мышей с применением протеомных методов для изучения изменений белковых профилей в различных отделах мозга: полосатом теле, мозжечке, коре и остальных отделах. Всего после воздействия МРТР авторы обнаружили изменения в количестве 518 белков, причём 270 из них принадлежали к белкам полосатого тела и “остальной” части мозга (содержащей в своём составе чёрную субстанцию), что подтверждает поражение именно этих отделов мозга при БП. Большинство обнаруженных изменений касается белков, ответственных за передачу дофаминергических сигналов, функции митохондрий, убиквитиновую деградацию, кальциевую сигнальную систему, ответ на окислительный стресс и апоптоз [265].

В нашей лаборатории протеомные методы были использованы для исследования взаимодействия белков мозга мышей и крыс с изатином (индолдион-2,3) - эндогенным регулятором, обладающим широким спектром метаболического и фармакологического действия [267], включая торможение эффектов МРТР у мышей [268]. Среди идентифицированных белков были обнаружены ферменты, функция и/или экспрессия которых меняется при различных нейродегенеративных заболеваниях, включая экспериментальный паркинсонизм [269, 270]. К их числу относится дигидролипоамиддегидрогеназа [269, 270], фермент, входящий в состав митохондриальных пируват- и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназных комплексов.

На модели БП, индуцированной у крыс введением катехоламинергического нейротоксина 6-гидроксидофамина, De Iuliis и сотрудники с помощью протеомных методов идентифицировали 2 белка ( $\alpha$ -енолазу и  $\beta$ -актин), экспрессия которых в чёрной субстанции и стриатуме изменялась по сравнению с контролем [257].

Исследование протеомных профилей митохондрий мозга крыс, подвергавшихся действию ДОФА-хинона, вызывающего избирательную дегенерацию дофаминергических нейронов, позволило выявить потерю ряда специфических белков, вызванную этим воздействием. К их числу относятся митохондриальная креатинкиназа, митофинлин, морталин, 75кДа субъединица NADH-дегидрогеназы и супероксиддисмутаза 2 [262].



Pennington и соавторы изучали особенности протеома митохондрий созданной ими линии клеток нейробластомы, экспрессирующих A53T-мутантный  $\alpha$ -синуклеин человека (мутация, ассоциированная с БП), в сравнении с теми же клетками, экспрессирующими  $\alpha$ -синуклеин дикого типа. В мутантных клетках была нарушена экспрессия 23-х белков – интегральных компонентов митохондрий, вовлеченных в процессы синтеза АТФ, окисления-восстановления, двигательной активности клетки, метаболизма углеводов, транскрипции и фолдинга белков [264].

Jin и соавторы исследовали клеточную культуру MES (дофаминергические клетки, способные формировать включения, подобные тельцам Леви, после обработки ротеноном) с использованием протеомного метода SILAC (stable isotope labeling by amino acids in cell culture), принцип которого подробно описан в [271], в сочетании с электрофоретическими, хроматографическими и масс-спектрометрическими подходами. Сравнивая протеомные профили интактных и подвергшихся действию ротенона клеток, авторы обнаруживают значимые изменения в экспрессии 110-ти из 950 идентифицированных ими митохондриальных белков. Для нескольких белков эти изменения под действием ротенона подтверждены независимыми методами (конфокальная микроскопия, вестерн-блоттинг) [260].

Изучение профилей экспрессии генов при БП с помощью сравнения набора транскриптов с использованием ДНК-биочипов также помогает понять патогенез этого заболевания [272-275]. Исследуя разные отделы мозга больных и контрольных пациентов, Bossers и соавторы обнаружили изменения в 287 определённых транскриптах в черной субстанции, 16 в хвостатом ядре и 4 в *putamen*, что свидетельствовало об уменьшении обеспечения нейротрофического действия и стимуляции ветвления аксонов черной субстанции при БП [272].

Используя лазерные ультратонкие микросрезы, позволяющие изучать единичные дофаминергические нейроны чёрной субстанции, Simunovic и соавторам удалось получить профили экспрессии генов пациентов с идиопатической формой БП в сравнении с контрольными. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в патогенезе БП затронуты гены семейства PARK, гены апоптоза, рецепторов нейротрансмиттеров и рецепторов ионных каналов [273].

Mandel с сотрудниками, впервые применив в 2005 году метод ДНК-микрочипов для исследования профилей экспрессии генов чёрной субстанции пациентов со sporadic БП, обнаружили уменьшение экспрессии 68 и увеличение экспрессии 69 генов [274]. Классификация по функциональным группам показала, что гены, экспрессия которых заметно уменьшалась при БП, кодировали белки, участвующие в передаче сигнала, деградации белков (компоненты убиквитин-протеасомной системы), метаболизме дофаминергических нейронов, транспорте ионов, фосфорилировании и других модификациях белков и в гликолизе. Повышение уровня экспрессии было характерно для генов, кодирующих белки, участвующие в процессах клеточной адгезии и поддержания цитоскелета, модификации белков, белкового метаболизма и транскрипции, воспаления и гипоксии, компоненты внеклеточного матрикса, белки клеточного цикла. Это исследование впервые подтвердило корреляцию между патогенетическими процессами, характерными для наследственных и sporadic форм БП [274, 275].

На основе метода учёта маркерных экспрессирующихся последовательностей (EST, expressed sequence tags), анализа результатов геномных и протеомных исследований Yang и соавторы создали базу данных, включающую 2698 генов, связанных с БП (экспрессия которых в *substantia nigra* отличается у здоровых людей и страдающих БП пациентов) [276]. Эти данные (доступные по адресам <http://bioportal.kobic.re.kr/PDbase> и <http://bioportal.kobic.re.kr/PDbase/suppl.jsp>) существенно обогащают современные взгляды на молекулярные механизмы патогенеза БП и могут служить основой для создания биомаркеров для ранней диагностики БП и поиска терапевтических средств для её лечения.



**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Результаты исследований последних лет позволяют рассматривать митохондрии не только как “энергетические станции” клетки, но также и как компартменты, где интегрируются регуляторные сигналы, отвечающие за клеточный рост, дифференцировку, поддержание жизни или апоптоз [277]. Митохондрии функционируют согласованно с другими клеточными органеллами и в соответствии с различными внешними и внутриклеточными сигналами. В митохондриях обнаружено большое количество ядерных рецепторов и факторов транскрипции, определяющих процессы клеточного роста, метаболизма и дифференцировки [278]. Эти факторы влияют не только на транскрипцию ядерных, но и митохондриальных белков. Таким образом, чтобы приспособляться к меняющимся условиям окружающей среды, клетке необходимо согласовывать экспрессию геномов ядра и митохондрий.

Например, в ответ на такое патогенное действие среды, как окислительный стресс, в дофаминергических нейронах изменяется количество митохондрий, число копий и целостность мтДНК. Активные радикалы кислорода могут вызывать повреждение мтДНК и других биомолекул дофаминергических нейронов, индуцируя нарушение проницаемости митохондриальных мембран и высвобождение таких проапоптотических факторов, как, например, цитохром *c*, что неизбежно приводит к дегенерации дофаминергических нейронов. В условиях окислительного стресса митохондриям необходимо производить больше энергии для поддержания процессов репарации и сохранения жизнедеятельности клетки. Поэтому сигналы, посылаемые в ядро, индуцируют пролиферацию митохондрий и амплификацию мтДНК. Количество митохондрий в клетке контролируется активацией кодируемых ядерной ДНК факторами транскрипции NRF1 и NRF2 (nuclear respiratory factors 1 and 2). Эти факторы регулируют экспрессию ядерных генов, кодирующих белки митохондриальной дыхательной цепи, и многих других генов, определяющих репликацию митохондриальной ДНК [279]. Они также могут регулировать экспрессию митохондриального фактора транскрипции A (Tfam), влияющего на репликацию и транскрипцию митохондриального генома [280]. Это обеспечивает уникальный механизм сопряжения экспрессии белков, кодируемых ядерным геномом, с транскрипцией генов мтДНК. Приведенные выше результаты экспериментов на линии мышей с нокаут-мутацией по гену *TFAM* свидетельствует в пользу гипотезы о решающем значении биогенеза митохондрий для поддержания жизнедеятельности нейронов.

Открытия новых и новых мутаций, приводящих к симптомам БП, исследования аутопсийного материала, эксперименты на модельных животных и клеточных линиях, использование геномных и протеомных технологий, позволяющих выявить тонкие различия в спектрах белков здоровых людей и пациентов с БП, приносят все больше доказательств определяющей роли митохондриальных нарушений в патогенезе этого заболевания. Очевидно, что предотвращение митохондриальной дисфункции и восстановление биогенеза митохондрий могло бы затормозить процесс развития заболевания. Понимание механизмов взаимосвязи между различными метаболическими и регуляторными процессами в клетке, определяющими нормальную жизнедеятельность или гибель нейронов, их ответ на окислительный стресс, и роли митохондрий в осуществлении этих взаимодействий позволит найти новые терапевтические подходы, новые перспективы нейропротекции, позволяющие восстановить нормальное функционирование нервных клеток на ранней стадии заболевания.

Работа поддержана грантами РФФИ 09-04-00462а и 10-04-00530а. Авторы благодарны Н.И. Бунееву за помощь в подготовке данной статьи к публикации.

# ЛИТЕРАТУРА

1. Mandel S., Grünblatt E., Riederer P., Gerlach M., Levites Y., Youdim M.B. (2003) *CNS Drugs*, **17**(10), 729-762.
2. Forno L.S. (1996) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **55**, 259-272.
3. Giasson B.I., Lee V.M.-Y. (2001) *Neuron*, **31**, 885-888.
4. Siderowf A., Stern M. (2003) *Ann. Intern. Med.*, **138**, 651-658.
5. Lang A.E., Lozano A.M. (1998) *N. Engl. J. Med.*, **339**, 1044-1053.
6. Lees A.J., Hardy J., Revesz T. (2009) *Lancet*, **373**(9680), 2055-2066.
7. Goedert, M. (2001) *Nat. Rev. Neurosci.*, **2**, 492-501.
8. Braak H., Braak E., Yilmazer D., Schultz C., de Vos R.A., Jansen E.N. (1995) *J. Neural Transm., Suppl.*, **46**, 15-31.
9. Shastri B.S. (2003) *Neurochem. Intern.*, **43**, 1-7.
10. Braak H., Rub U., Gai W.P., Del Tredici K. (2003) *J. Neural. Transm.*, **110**, 517-536.
11. Beal M.F. (2003) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **991**, 120-131.
12. Jenner P., Olanow C.W. (1998) *Ann. Neurol.*, **44**, S72-S84.
13. Betarbet R., Sherer T.B., MacKenzie G., Garcia-Osuna M., Panov A.V., Greenamyre J.T. (2000) *Nat. Neurosci.*, **3**, 1301-1306.
14. Daue, W., Przedborski S. (2003) *Neuron*, **39**, 889-909.
15. Bonifati V. (2005) *Minerva Med.* **96**, 175-186.
16. Dawson T.M., Dawson V.L. (2003) *J. Clin. Invest.*, **111**, 145-151.
17. Klein C., Pramstaller P.P., Kis B., Page C.C., Kann M., Leung J., Woodward H., Castellon C.C., Schreier M., Vieregge P., Breakfield X.O., Kramer P.L., Ozelius L.J. (2000) *Ann. Neurol.*, **48**, 65-71.
18. Ramsden D.B., Parsons R.B., Ho S.I., Waring R.H. (2001) *J. Clin. Pathol.: Mol. Pathol.*, **54**, 369-380.
19. Cookson M.R. (2005) *Ann. Rev. Biochem.*, **74**, 29-52.
20. Gasser T., Muller-Myhsok B., Wszolek Z.K., Oehlmann R., Calne D.B., Bonifati V., Bereznoi B., Fabrizio E., Vieregge P., Horstmann R.D. (1998) *Natl. Genet.*, **18**, 262-265.
21. Funayama M., Hasegawa K., Kowa H., Saito M., Tsuji S., Obata F. (2002) *Ann. Neurol.*, **51**, 296-301.
22. Wszolek Z.K., Pfeiffer R.F., Tsuboi Y., Uitti R.J., McComb R.D., Stoessl A.J., Strongosky A.J., Zimprich A., Muller-Myhsok B., Farrer M.J., Gasser T., Calne D.B., Dickson D.W. (2004) *Neurology*, **62**, 1619-1622.
23. Strauss K.M., Martins L.M., Plun-Favreau H., Marx F.P., Kautzmann S., Berg D., Gasser T., Wszolek Z., Müller T., Bornemann A., Wolburg H., Downward J., Riess O., Schulz J.B., Krüger R. (2005) *Hum. Mol. Genet.*, **14**, 2099-2111.
24. Martins L.M., Morrison A., Klupsch K., Fedele V., Moiso N., Teismann P., Abuin A., Grau E., Geppert M., Livi G.P., Creasy C.L., Martin A., Hargreaves I., Heales S.J., Okada H., Brandner S., Schulz J.B., Mak T., Downward J. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 9848-9862.
25. Lesage S., Brice A. (2009) *Hum. Mol. Genet.*, **18**(R1), R48-59.
26. Gasser T. (2001) *J. Neurol.*, **248**, 833-840.
27. Dodson M.W., Guo M. (2007) *Current Opinion in Neurobiol.*, **17**, 331-337.
28. Бунеева О.А., Медведев А.Е. (2006) *Биохимия*, **71**, 851-860.
29. Sun F., Kanthasamy A., Anantharam V., Kanthasamy A.G. (2007) *Pharmacology & Therapeutics*, **114**, 327-344.
30. Jenner P. (2003) *Ann. Neurol.*, **53** (suppl.), S26-S38.
31. Shapira A.H.V. (2006) *Lancet*, **368**, 70-82.
32. Kwong J.Q., Beal M.F., Manfredi G. (2006) *J. Neurochem.*, **97**, 1659-1675.
33. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., de Bruijn M.H.L., Coulson A.R., Drouin J., Eperon K., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J., Staden R., Young I.G. (1981) *Nature*, **290**, 457-465.

34. *Shapira A.H.V.* (2007) *Cell Death and Differentiation*, **14**, 1261-1266.
35. *Marchington D.R., Scott Brown M.S., Lamb V.K., van Golde R.J., Kremer J.A., Tuerlings J.H., Mariman E.C., Balen A.H., Poulton J.* (2002) *Mol. Hum. Reprod.*, **8**, 1046-1049.
36. *Danac C., Sternberg D., Van Steirteghem A., Cazeneuve C., Duquesnoy P., Besmond C., Goosens M., Lissens W., Amselem S.* (1999) *Am. J. Hum. Genet.*, **65**, 463-473.
37. *Houshmand M., Holme E., Hanson C., Wennerholm U.B., Hamberger L.* (1997) *J. Assist. Reprod. Genet.*, **14**, 223-227.
38. *Sutovsky P., Moreno R.D., Ramalho-Santos J., Dominko T., Simerly C., Schatten G.* (1999) *Nature*, **402**, 371-372.
39. *Sutovsky P., Van Leyen K., McCauley T., Day B.N., Sutovsky M.* (2004) *Reprod. Biomed. Online*, **8**, 24-33.
40. *Chinnery P.F., Howell N., Lightowlers R.N., Turnbull D.M.* (1998) *Brain*, **121**, 1889-1894.
41. *Beal M.F.* (2005) *Annals of Neurology*, **58**, 495-505.
42. *Petrozzi L., Ricci G., Giglioni N.J., Sicillano G., Mancuso M.* (2007) *Biosci. Rep.*, **27**, 87-104.
43. *Nunomura A., Honda K., Takeda A., Hirai K., Zhu X., Smith M.A., Perry G.* (2006) *J. Biomed. Biotechnol.*, **3**, 82323.
44. *Lin M.T., Beal M.F.* (2006) *Nature*, **443**, 787-795.
45. *Tanaka M., Gong J.S., Zhang J., Yoneda M., Yagi K.* (1998) *Lancet*, **351**, 185-186.
46. *De Benedictis G., Rose G., Carrieri G., De Luca M., Falcone E., Passarino G., Bonafe M., Monti D., Baggio G., Bertolini S., Mari D., Mattace R., Franceschi C.* (1999) *FASEB J.*, **13**, 1532-1536.
47. *Ross O.A., McCormac R., Curran M.D., Duguid R.A., Barnett Y.A., Rea I.M., Middleton D.* (2001) *Exp. Gerontol.*, **36**, 1161-1178.
48. *Niemi A.K., Hervonen A., Hurme M., Karhunen P.J., Jylha M., Majamaa K.* (2003) *Hum. Genet.*, **112**, 29-33.
49. *Santoro A., Salvioli S., Raule N., Capri M., Sevini F., Valensin S., Monti D., Bellizzi D., Passarino G., Rose G., De Benedictis G., Franceschi C.* (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1757**, 1388-1399.
50. *Van der Walt J.M., Nicodemus K.K., Martin E.R., Scott W.K., Nance M.A., Watts R.L., Hubble J.P., Haines J.L., Koller W.C., Lyons K., Pahwa R., Stern M.B., Colcher A., Hiner B.C., Jankovic J., Ondo W.G., Allen F.H. Jr, Goetz C.G., Small G.W., Mastaglia F., Stajich J.M., McLaurin A.C., Middleton L.T., Scott B.L., Schmechel D.E., Pericak-Vance M.A., Vance J.M.* (2003) *Am. J. Hum. Genet.*, **72**, 804-811.
51. *Van der Walt J.M., Dementieva Y.A., Martin E.R., Scott W.K., Nicodemus K.K., Kroner C.C., Welsh-Bohmer K.A., Saunders A.M., Roses A.D., Small G.W., Schmechel D.E., Murali D.P., Gilbert J.R., Haines J.M., Vance J.M., Pericak-Vance M.A.* (2004) *Neurosci. Lett.*, **365**, 28-32.
52. *Mancuso M., Conforti F.L., Rocchi A., Tessitore A., Muglia M., Tedeschi G., Panza D., Monsurro M.R., Sola P., Mandrioli J., Choub A., DelCorona A., Manca M.L., Mazzei R., Sprovieri T., Filosto M., Salviati A., Valentino P., Bono F., Caracciolo M., Simone I.L., La Bella V., Majorana G., Siciliano G., Murri L., Quattrone A.* (2004) *Neurosci. Lett.*, **371**, 158-162.
53. *Giacchetti M., Monticelli A., De Biase I., Pianese L., Turano M., Filla A., De Michele G., Coccozza S.* (2004) *J. Med. Genet.*, **41**, 293-295.
54. *Shoffner J.M., Brown M.D., Torroni A., Lott M.T., Cabell M.F., Mirra S.S., Beal M.F., Yang C.C., Gearing M., Salvo R., Watts R.L., Juncos J.L., Hansen L.A., Crain B.J., Fayad M., Reckord C. L., Wallace D.C.* (1993) *Genomics*, **17**(1), 171-184.
55. *Howell N., Elson J.L., Chinnery P.F., Turnbull D.M.* (2005) *Trends Genet.*, **21**(11), 583-586.

56. Tan E.K., Khajavi M., Thornby J.I., Nagamitsu S., Jankovic J., Ashizawa T. (2000) *Neurology*, **55**(4), 533-538.
57. Shapira A.H.V., Cooper J.M., Dekter D., Jenner P., Clark J.B. (1989) *Lancet*, **1**(8649), 1269.
58. Parker W.D. Jr., Boyson S.J., Parks J.K. (1989) *Ann. Neurol.*, **26**, 719-723.
59. Wallace D.C., Shoffener J.M., Watts R.L., Juncos J.L., Torroni A. (1992) *Ann. Neurol.*, **32**, 113-114.
60. Krige D., Carroll M.T., Cooper J.M., Marsden C.D., Shapira A.H. (1992) *Ann. Neurol.*, **32**, 782-788.
61. Langston J.W., Ballard P., Tetrud J.W., Irwin I. (1983) *Science*, **219**, 979-980.
62. Nicklas W.J., Vyas I., Heikkiila R.E. (1985) *Life Sci.*, **36**, 2503-2508.
63. Langston J.W., Forno L. S., Tetrud J.W., Reeves A.G., Kaplan J.A., Karluk D. (1999) *Ann. Neurol.*, **46**, 598-605.
64. Greenamyre J.T., Betarbet R., Sherer T.B. (2003) *Parkinsonism and Related Disorders*, **9**, S59-S64.
65. Testa C.M., Sherer T.B., Greenamyre J.T. (2005) *Mol. Brain Res.*, **134**, 109-118.
66. Pienaar I.S., Dexter D.T., Burkhard P.R. (2010) *Expert Rev. Proteomics.*, **7**(2), 205-226.
67. Glinka Y.Y., Youdim M.B.H. (1995) *Eur. J. Pharmacol.: Envir. Toxicol. Pharmacol.*, **292**(3-4), 329-332.
68. Youdim M.B.H. (1975) *Br. J. Pharmac.*, **54**, 403-405.
69. Costello S., Cockburn M., Bronstein J., Zhang X., Ritz B. (2009) *Am. J. Epidemiol.*, **169**(8), 919-926.
70. Cooper J.M., Daniel S.E., Marsden C.D., Schapira A. H.V. (1995) *Mov. Disord.*, **10**, 295-297.
71. Gu M., Gash M.T., Cooper J.M., Wenning G.K., Daniel S.E., Quinn N.P. (1997) *Mov. Disord.*, **12**, 418-422.
72. Shapira A.H. (1994) *Mov. Disord.*, **9**, 125-138.
73. Taylor D.J., Krige D., Barnes P.R.J., Kemp G.J., Carroll M. (1994) *J. Neural. Sci.*, **125**, 77-81.
74. Penn A.M., Roberts T., Hodder J., Allen P.S., Zhu G., Martin W.R.W. (1995) *Neurology*, **45**, 2097-2099.
75. Parker Jr. W.D., Boyson S.J., Parks J.K. (1989) *Ann. Neurol.*, **26**, 719-723.
76. Krige D., Carroll M.T., Cooper J.M., Marsden C.D., Schapira A.H.V. (1992) *Ann. Neurol.*, **32**, 782-788.
77. Haas R.H., Nasirian F., Nakano K., Ward D., Pay M., Hill R. (1995) *Ann. Neurol.*, **37**, 714-722.
78. Mizuno Y., Suzuki K., Ohta S.J. (1990) *Neurol Sci.*, **96**(1), 49-57.
79. Mizuno Y., Matuda S., Yoshino H., Mori H., Hattori N., Ikebe S. (1994) *Ann Neurol.*, **35**, 204-210.
80. Mizuno Y., Ikebe S., Hattori N., Nakagawa-Hattori Y., Mochizuki H., Tanaka M., Ozawa T. (1995) *Biochim Biophys Acta.*, **1271**(1), 265-274.
81. Kobayashi T., Matsumine H., Matuda S., Mizuno Y. (1998) *Ann. Neurol.*, **43**(1), 120-123.
82. Gibson G.E., Park L.C.H., Rex Sheu K.-F., Blass J.P., Calingasan N.Y. (2000) *Neurochem. Internat.*, **36**, 97-112.
83. Dhanasekaran M., Albano C.B., Pellet L., Karuppagounder S.S., Uthayathas S., Suppiramaniam V., Brown-Borg H., Ebadi M. (2008) *Neurochem Res.*, **33**(6), 980-984.
84. Olsson J.M., Xia L., Eriksson L.C., Björnstedt M. (1999) *FEBS Lett.*, **448**(1), 190-192.
85. Kraytsberg Y., Kudryavtseva E., McKee A.C., Geula C., Kowall N.W., Khrapko K. (2006) *Nat. Genet.*, **38**, 518-520.
86. Bender A., Krishnan K.J., Morris C.M., Taylor G.A., Reeve A.K., Perry R.H., Jaros E., Hersheson J.S., Betts J., Klopstock T., Taylor R.W., Turnbull D.M. (2006) *Nat. Genet.*, **38**, 515-517.



# ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

87. Ozawa T., Tanaka M., Ino H., Ohno K., Sano T., Wada Y., Yoneda M., Tanno Y., Miyatake T., Tanaka T. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **176**, 938-946.
88. Ikebe S., Tanaka M., Ozawa T. (1995) *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **28**, 281-295.
89. Pyle A., Foltynie T., Tiangyou W., Lambert C., Keers S.M., Allcock L.M., Davison J. (2005) *Ann. Neurol.*, **57**, 564-567.
90. Ross O.A., McCormack R., Maxwell L.D., Duguid R.A., Quinn D.J., Barnett Y.A., Rea I.M., El-Agnaf O.M., Gibson J.M., Wallace A., Middleton D., Curran M.D. (2003) *Exp. Gerontol.*, **38**, 397-405.
91. Swerdlow R.H., Parks J.K., Miller S.W., Tuttle J.B., Trimmer P.A., Sheehan J.P., Bennett J.P. Jr., Davis R.E., Parker W.D. Jr. (1996) *Ann. Neurol.*, **40**, 663-671.
92. Gu M., Cooper J.M., Taanman J.W., Schapira A.H. (1998) *Ann. Neurol.*, **44**, 187-186.
93. Thyagarajan D., Bressman S., Bruno C., Przedborski S., Shanske S., Lynch T., Fahn S., DiMauro S. (2000) *Ann. Neurol.*, **48**, 730-736.
94. Parker Jr. W.D., Parks J.K. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **326**, 667-669.
95. Shapira A.H.V. (2005) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **76**, 1472-1478.
96. Polymeropoulos M.H., Goelbe L.I., Johnson W.G., Ide S.E., Di Iorio G., Sanges G., Stenroos E.S., Pho L.T., Schaffer A.A., Lazzarini A.M., Nussbaum R.L., Duvoisin R.C. (1996) *Science*, **274**, 1197-1199.
97. Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E., Ide S.E., Dehejia A., Dutra A., Pike B., Root H., Rubenstein J., Boyer R., Stenroos E.S., Chandrasekharappa S., Athanassiadou A., Papapetropoulos T., Johnson A.M., Lazzarini A.M., Duvoisin R.S., Di Iorio G., Golbe L.I., Nussbaum R.L. (1997) *Science*, **276**, 2045-2047.
98. Rossi L., Lombardo M.F., Ciriolo H.R., Rotilio G. (2004) *Neurochem. Res.*, **29**, 493-504.
99. Moore D.J., West A.B., Dawson V.L., Dawson T.M. (2005) *Annu. Rev. Neurosci.*, **28**, 57-87.
100. Kahle P.J., Neumann M., Ozmen L., Muller V., Jacobsen H., Schindzielorz A., Okochi M., Leimer U., van Der Putten H., Probst A., Kremmer E., Kretschmar H.A., Haass C. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, 6365-6373.
101. Martinez J., Moeller I., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Lauring B. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 17379-17387.
102. Abeliovich A., Schmitz Y., Farinas I., Choi-Lundberg D., Ho W.H., Castillo P.E., Shinsky N., Verdugo J.M., Armanini M., Ryan A., Hynes M., Phillips H., Sulzer D., Rosenthal A. (2000) *Neuron*, **25**, 239-252.
103. Davidson W.S., Jonas A., Clayton D.F., George G.M. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 9443-9449.
104. Jenco J.M., Rawlingson A., Daniels B., Morris A.J. (1998) *Biochemistry*, **37**, 4901-4909.
105. Cole N.B., Murphy D.D., Grider T., Rueter S., Brasaemle D., Nussbaum R.L. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 6344-6352.
106. Murphy D.D., Rueter S., Trojanowski J.Q., Lee V.M. (2000) *J. Neurosci.*, **20**, 3214-3220.
107. Outeiro T.F., Lindquist S. (2003) *Science*, **302**, 1772-1775.
108. Spillantini M.G., Crowther R.A., Jakes R., Hasegawa M., Goedert M. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6469-6473.
109. Conway K.A., Lee S.J., Rochet J.C., Ding T.T., Harper J.D., Williamson R.E., Lansbury P.T. Jr. (2000) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **920**, 42-45.
110. Lashuel H.A., Hartley D., Petre B.M., Walz T., Lansbury P.T. Jr. (2002) *Nature*, **418**(6895), 291.
111. Conway K.A., Rochet J.C., Bieganski R.M., Lansbury P.T. Jr. (2001) *Science*, **294**(5545), 1346-1349.
112. Masliah E., Rockenstein E., Veinbergs I., Mallory M., Hashimoto M., Takeda A., Sagara Y., Sisk A., Mucke L. (2000) *Science*, **287**(5456), 1265-1269.



113. Feany M.B., Bender W.W. (2000) *Nature*, **404**(6776), 394-398.
114. Kahle P.J., Neumann M., Ozmen L., Müller V., Odoy S., Okamoto N., Jacobsen H., Iwatsubo T., Trojanowski J.Q., Takahashi H., Wakabayashi K., Bogdanovic N., Riederer P., Kretschmar H.A., Haass C. (2001) *Am. J. Pathol.*, **159**(6), 2215-2225.
115. Giasson B.I., Duda J.E., Murray I.V., Chen Q., Souza J.M., Hurtig H.I., Ischiropoulos H., Trojanowski J.Q., Lee V.M. (2000) *Science*, **290**(5493), 985-989.
116. Hodara R., Norris E.H., Giasson B.I., Mishizen-Eberz A.J., Lynch D.R., Lee V.M., Ischiropoulos H. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 47746-47753.
117. Giasson B.I., Lee V.M., Trojanowski J.Q. (2003) *Neuromolecular Med.*, **4**(1-2), 49-58.
118. Masliah E., Rockenstein E., Veinbergs I., Sagara Y., Mallory M., Hashimoto M., Mucke L. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**(21), 12245-12250.
119. Tsika E., Moysidou M., Guo J., Cushman M., Gannon P., Sandaltzopoulos R., Giasson B.I., Krainc D., Ischiropoulos H., Mazzulli J.R.J. (2010) *Neurosci.*, **30**(9), 3409-3418.
120. Hasegawa M., Fujiwara H., Nonaka T., Wakabayashi K., Takahashi H., Lee V.M., Trojanowski J.Q., Mann D., Iwatsubo T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 49071-49076.
121. Takahashi M., Kanuka H., Fujiwara H., Koyama A., Hasegawa M., Miura M., Iwatsubo T. (2003) *Neurosci. Lett.*, **336**(3), 155-158.
122. Nonaka T., Iwatsubo T., Hasegawa M. (2005) *Biochemistry*, **44**(1), 361-368.
123. Bennett M.C., Bishop J.F., Leng Y., Chock P.B., Chase T.N., Mouradian M.M. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 33855-33858.
124. Lindersson E., Beedholm R., Højrup P., Moos T., Gai W., Hendil K.B., Jensen P.H. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 12924-12934.
125. Snyder H., Mensah K., Theisler C., Lee J., Matouschek A., Wolozin B. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 11753-11759.
126. McNaught K.S., Perl D.P., Brownell A.L., Olanow C.W. (2004) *Ann. Neurol.*, **56**(1), 149-162.
127. Rideout H.J., Dietrich P., Wang Q., Dauer W.T., Stefanis L. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 46915-46920.
128. Hsu L.J., Sagara Y., Arroyo A., Rockenstein E., Sisk A., Mallory M., Wong J., Takenouchi T., Hashimoto M., Masliah E. (2000) *Am. J. Pathol.*, **157**(2), 401-410.
129. Song D.D., Shults C.W., Sisk A., Rockenstein E., Masliah E. (2004) *Exp. Neurol.*, **186**(2), 158-172.
130. Betarbet R., Sherer T.B., MacKenzie G., Garcia-Osuna M., Panov A.V., Greenamyre J.T. (2000) *Nat. Neurosci.*, **3**(12), 1301-1306.
131. Sherer T.B., Betarbet R., Stout A.K., Lund S., Baptista M., Panov A.V., Cookson M.R., Greenamyre J.T. (2002) *J. Neurosci.*, **22**(16), 7006-7015.
132. Sherer T.B., Kim J.H., Betarbet R., Greenamyre J.T. (2003) *Exp. Neurol.*, **179**(1), 9-16.
133. Manning-Bog A.B., McCormack A.L., Li J., Uversky V.N., Fink A.L., Di Monte D.A. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 1641-1644.
134. Dauer W., Kholodilov N., Vila M., Trillat A.C., Goodchild R., Larsen K.E., Staal R., Tieu K., Schmitz Y., Yuan C.A., Rocha M., Jackson-Lewis V., Hersch S., Sulzer D., Przedborski S., Burke R., Hen R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99**(22), 14524-14529.
135. Klivenyi P., Siwek D., Gardian G., Yang L., Starkov A., Cleren C., Ferrante R.J., Kowall N.W., Abeliovich A., Beal M.F. (2006) *Neurobiol. Dis.*, **21**(3), 541-548.
136. Martin L.J., Pan Y., Price A.C., Sterling W., Copeland N.G., Jenkins N.A., Price D.L., Lee M.K. (2006) *J. Neurosci.*, **26**(1), 41-50.
137. Lashuel H.A., Petre B.M., Wall J., Simon M., Nowak R.J., Walz T., Lansbury P.T. Jr. (2002) *J. Mol. Biol.*, **322**(5), 1089-1102.
138. Shimura H., Hattori N., Kubo S., Mizuno Y., Asakawa S., Minoshima S., Shimizu N., Iwai K., Chiba T., Tanaka K., Suzuki T. (2000) *Nat. Genet.*, **25**, 302-305.
139. Kitada T., Asakawa S., Hattori N., Matsumine H., Yamamura Y., Minoshima S., Yokochi M., Mizuno Y., Shimizu N. (1998) *Nature*, **392**, 605-608.

140. *Betarbet R., Sherer T.B., Greenamyre J.T.* (2005) *Exper. Neurol.*, **191** (1), S17-S27.
141. *Goldberg M.S., Fleming S.M., Palacino J.J., Cepeda C., Lam H.A., Bhatnagar A., Meloni E.G., Wu N., Ackerson L.C., Klapstein G.P., Galjendiran M., Roth B.L., Chesselet M.F., Maidment N.T., Levine M.S., Shen J.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 43628-43635.
142. *Mouatt-Prigent A., Muriel M.P., Gu W.J., El Hachimi K.H., Lucking C.B., Brice A., Hirsch E.C.* (2004) *J. Neural Transm.*, **111**, 1209-1218.
143. *Shen J., Cookson M.R.* (2004) *Neuron*, **43**, 301-304.
144. *Murata S., Minami Y., Minami M., Chiba T., Tanaka K.* (2001) *EMBO Rep.*, **2**, 1133-1138.
145. *Greene J.C., Whitworth A.J., Kuo I., Andrews L.A., Feany M.B., Pallanck L.J.* (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100**, 4078-4083.
146. *Pesah Y., Pham T., Burgess H., Middlebrooks B., Verstreken P., Zhou Y., Harding M., Bellen H., Mardon G.* (2004) *Development*, **131**, 2183-2194.
147. *Palacino J.J., Sagi D., Goldberg M.S., Krauss S., Motz C., Wacker M., Klose J., Shen J.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 18614-18622.
148. *Itier J.M., Ibanes P., Mena M.A., Abbas N., Cohen-Salmon C., Bohme G.A., Laville M., Pratt J., Corti O., Pradier L., Ret G., Joubert C., Periquet M., Araujo F., Negroni J., Casarejos M.J., Canals S., Solano R., Serrano A., Gallego E., Sanchez M., Deneffe P., Benavides J., Tremp G., Rooney T.A., Brice, A., Garcia de Yébenes J.* (2003) *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 2277-2291.
149. *Von Coelln R., Thomas B., Savitt J.M., Lim K.L., Sasaki M., Hess E.J., Dawson V.L., Dawson T.M.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10744-10749.
150. *Periquet M., Corti O., Jacquier S., Brice A.* (2005) *J. Neurochem.*, **95**(5), 1259-1276.
151. *Kuroda Y., Mitsui T., Kunishige M., Shono M., Akaike M., Azuma H., Matsumoto T.* (2006) *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 883-895.
152. *Valente E.M., Bentivoglio A.R., Cassetta E., Dixon P.H., Davis M.B., Ferraris A., Ialongo T., Frontali M., Wood N.W., Albanese A.* (2001) *Neurol. Sci.*, **22**(1), 95-96.
153. *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) *Science*, **304**(5674), 1158-1160.
154. *Hatano Y., Li Y., Sato K., Asakawa S., Yamamura Y., Tomiyama H., Yoshino H., Asahina M., Kobayashi S., Hassin-Baer S., Lu C.S., Ng A.R., Rosales R.L., Shimizu N., Toda T., Mizuno Y., Hattori N.* (2004) *Ann. Neurol.*, **56**(3), 424-427.
155. *Valente E.M., Salvi S., Ialongo T., Marongiu R., Elia A.E., Caputo V., Romito L., Albanese A., Dallapiccola B., Bentivoglio A.R.* (2004) *Ann. Neurol.*, **56**(3), 336-341.
156. *Bonifati V., Rohé C.F., Breedveld G.J., Fabrizio E., De Mari M., Tassorelli C., Tavella A., Marconi R., Nicholl D.J., Chien H.F., Fincati E., Abbruzzese G., Marini P., De Gaetano A., Horstink M.W., Maat-Kievit J.A., Sampaio C., Antonini A., Stocchi F., Montagna P., Toni V., Guidi M., Dalla Libera A., Tinazzi M., De Pandis F., Fabbrini G., Goldwurm S., de Klein A., Barbosa E., Lopiano L., Martignoni E., Lamberti P., Vanacore N., Meco G., Oostra B.A.* (2005) *Neurology*, **65**(1), 87-95.
157. *Samaranch L., Lorenzo-Betancor O., Arbelo J. M., Ferrer I., Lorenzo E., Irigoyen J., Pastor M. A., Marrero C., Isla C., Herrera-Henriquez J., Pastor P.* (2010) *Brain*, **133**(4), 1128-1142.
158. *Park J., Lee S.B., Lee S., Kim Y., Song S., Kim S., Bae E., Kim J., Shong M., Kim J.M., Chung J.* (2006) *Nature*, **441**, 1157-1161.
159. *Clark I.E., Dodson M.W., Jiang C., Cao J.H., Huh J.R., Seol J.H., Yoo S.J., Hay B.A., Guo M.* (2006) *Nature*, **441**, 1162-1166.
160. *Deng H., Jankovic J., Guo Y., Xie W., Le W.* (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **337**(4), 1133-1138.

161. Petit A., Kawarai T., Paitel E., Sanjo N., Maj M., Scheid M., Chen F., Gu Y., Hasegawa H., Salehi-Rad S., Wang L., Rogaeva E., Fraser P., Robinson B., St George-Hyslop P., Tandon A. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 34025-34032.
162. Gegg M.E., Cooper J.M., Schapira A.H., Taanman J.W. (2009) *PLoS One.*, **4**(3), e4756.
163. Pridgeon J.W., Olzmann J.A., Chin L.S., Li L. (2007) *PLoS Biol.*, **5**(7), e172.
164. Lockhart P.J., Lincoln S., Hulihan M., Kachergus J., Wilkes K., Bisceglia G., Mash D.C., Farrer M.J. (2004) *J. Med. Genet.*, **41**(3), e22.
165. Bandopadhyay R., Kingsbury A.E., Cookson M.R., Reid A.R., Evans I.M., Hope A.D., Pittman A.M., Lashley T., Canet-Aviles R., Miller D.W., McLendon C., Strand C., Leonard A.J., Abou-Sleiman P.M., Healy D.G., Ariga H., Wood N.W., de Silva R., Revesz T., Hardy J.A., Lees A.J. (2004) *Brain*, **127**(Pt 2), 420-430.
166. Tao X., Tong L. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 31372-31379.
167. Martinat C., Shendelman S.B., Jonason A., Leete T., Beal M.F., Yang L., Floss T., Abeliovich A. (2004) *PLoS Biol.*, **2**(11), e327.
168. Shendelman S., Jonason A., Martinat C., Leete T., Abeliovich A. (2004) *PLoS Biol.*, **2**, e362.
169. Park J., Kim S.Y., Cha G.H., Lee S.B., Kim S., Chung J. (2005) *Gene*, **361**, 133-139.
170. Meulener M., Whitworth A.J., Armstrong-Gold C.E., Rizzu P., Heutink P., Wes P.D., Pallanck L.J., Bonini N.M. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 1572-1577.
171. Hao L.Y., Giasson B.I., Bonini N.M. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**(21), 9747-9752.
172. Meulener M.C., Xu K., Thomson L., Ischiropoulos H., Bonini N.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12517-12522.
173. Goldberg M.S., Pisani A., Haburcak M., Vortherms T.A., Kitada T., Costa C., Tong Y., Martella G., Tschertter A., Martins A., Bernardi G., Roth B.L., Pothos E.N., Calabresi P., Shen J. (2005) *Neuron*, **45**, 489-496.
174. Kim R.H., Smith P.D., Aleyasin H., Hayley S., Mount M.P., Pownall S., Wakeham A., You-Ten A.J., Kalia S.K., Horne P., Westaway D., Lozano A.M., Anisman H., Park D.S., Mak T.W. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 5215-5220.
175. Mandemakers W., Morais V.A., De Strooper B. (2007) *J. Cell Science*, **120**, 1707-1716.
176. Xiong H., Wang D., Chen L., Choo Y.S., Ma H., Tang C., Xia K., Jiang W., Ronai Z., Zhuang X., Zhang Z. (2009) *J. Clin. Invest.*, **119**(3), 650-660.
177. Li H., Guo M. (2009) *J. Clin. Invest.*, **119**(3), 442-445.
178. Funayama M., Hasegawa K., Kowa H., Saito M., Tsuji S., Obata F. (2002) *Ann. Neurol.*, **51**(3), 296-301.
179. Zimprich A., Biskup S., Leitner P., Lichtner P., Farrer M., Lincoln S., Kachergus J., Hulihan M., Utti R.J., Calne D.B., Stoessl A.J., Pfeiffer R.F., Patenge N., Carbajal I.C., Vieregge P., Asmus F., Müller-Myhsok B., Dickson D.W., Meitinger T., Strom T.M., Wszolek Z.K., Gasser T. (2004) *Neuron*, **44**(4), 601-607.
180. Paisán-Ruiz C., Jain S., Evans E.W., Gilks W.P., Simón J., van der Brug M., López de Munain A., Aparicio S., Gil A.M., Khan N., Johnson J., Martinez J.R., Nicholl D., Carrera I.M., Pena A.S., de Silva R., Lees A., Martí-Massó J.F., Pérez-Tur J., Wood N.W., Singleton A.B. (2004) *Neuron*, **44**(4), 595-600.
181. Di Fonzo A., Rohe C.F., Ferreira J., Chien H.F., Vacca L., Stocchi F., Guedes L., Fabrizio E., Manfredi M., Vanacore N., Goldwurm S., Breedveld G., Sampaio C., Meco G., Barbosa E., Oostra B.A., Bonifati V. (2005) *Lancet*, **365**(9457), 412-415.
182. Nichols W.C., Pankratz N., Hernandez D., Paisan-Ruiz C., Jain S., Halter C.A., Michaels V.E., Reed T., Rudolph A., Shults C.W., Singleton A., Foroud T. (2005) *Lancet*, **365**(9457), 410-412.
183. Seol W. (2010) *BMB Rep.*, **43**(4), 233-244.
184. Gloeckner C.J., Kinkl N., Schumacher A., Braun R.J., O'Neill E., Meitinger T., Kolch W., Prokisch H., Ueffing M. (2006) *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 223-232.



# ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

185. West A.B., Moore D.J., Choi C., Andrabi S.A., Li X., Dikeman D., Biskup S., Zhang Z., Lim K.L., Dawson V. L. et al. (2007) *Hum. Mol. Genet.*, **16**, 223-232.
186. Korr D., Toschi L., Donner P., Pohlenz H.D., Kreft B., Weiss B. (2006) *Cell Signal*, **18**(6), 910-920.
187. Biskup S., Moore D.J., Celsi F., Higashi S., West A.B., Andrabi S.A., Kurkinen K., Yu S.W., Savitt J.M., Waldvogel H.J., Faull R.L., Emson P.C., Torp R., Ottersen O.P., Dawson T.M., Dawson V.L. (2006) *Ann. Neurol.*, **60**, 557-569.
188. West A.B., Moore D.J., Biskup S., Bugayenko A., Smith W.W., Ross C.A., Dawson V.L., Dawson T.M. (2005). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 16842-16847.
189. Jain S., Wood N.W., Healy D.G. (2005) *Clin. Sci. (Lond.)*, **109**(4), 355-364.
190. Greggio E., Jain S., Kingsbury A., Bandopadhyay R., Lewis P., Kaganovich A., van der Brug M.P., Beilina A., Blackinton J., Thomas K.J., Ahmad R., Miller D.W., Kesavapany S., Singleton A., Lees A., Harvey R.J., Harvey K., Cookson M.R. (2006) *Neurobiol. Dis.*, **23**, 329-341.
191. Smith W.W., Pei Z., Jiang H., Moore D.J., Liang Y., West A.B., Dawson V.L., Dawson T.M., Ross C.A. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 18676-18681.
192. Smith W.W., Pei Z., Jiang H., Dawson V.L., Dawson T.M., Ross C.A. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 1231-1233.
193. Macleod D., Dowman J., Hammond R., Leete T., Inoue K., Abeliovich A. (2006) *Neuron*, **52**, 587-593.
194. Lee V.M., Goedert M., Trojanowski J.Q. (2001) *Annu. Rev. Neurosci.*, **24**, 1121-1159.
195. Jaleel M., Nichols R.J., Deak M., Campbell D.G., Gillardon F., Knebel A., Alessi D.R. (2007) *Biochem J.*, **405**(2), 307-317.
196. Parisiadou L., Xie C., Cho H.J., Lin X., Gu X.L., Long C.X., Lobbstaal E., Baekelandt V., Taymans J.M., Sun L., Cai H. (2009) *J. Neurosci.*, **29**(44), 13971-13980.
197. Gillardon F. (2009) *J. Neurochem.*, **110**(5), 1514-1522.
198. Gloeckner C.J., Schumacher A., Boldt K., Ueffing M. (2009) *J. Neurochem.*, **109**(4), 959-968.
199. Kumar A., Greggio E., Beilina A., Kaganovich A., Chan D., Taymans J.M., Wolozin B., Cookson M.R. (2010) *PLoS One*, **5**(1), e8730.
200. Guo L., Gandhi P.N., Wang W., Petersen R.B., Wilson-Delfosse A.L., Chen S.G. (2007) *Exp. Cell Res.*, **313**(16), 3658-3670.
201. Lewis P.A., Greggio E., Beilina A., Jain S., Baker A., Cookson M.R. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **357**(3), 668-671.
202. Sämman J., Hegermann J., von Gromoff E., Eimer S., Baumeister R., Schmidt E. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 16482-16491.
203. Venderova K., Kabbach G., Abdel-Messih E., Zhang Y., Parks R.J., Imai Y., Gehrke S., Ngsee J. Lavoie M.J., Slack R.S., Rao Y., Zhang Z., Lu B., Haque M.E., Park D.S. (2009) *Hum. Mol. Genet.*, **18**(22), 4390-4404.
204. Ko H.S., Bailey R., Smith W.W., Liu Z., Shin J.H., Lee Y.I., Zhang Y.J., Jiang H., Ross C.A., Moore D.J., Patterson C., Petrucelli L., Dawson T.M., Dawson V.L. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**(8), 2897-2902.
205. Ding X., Goldberg M.S. (2009) *PLoS One*, **4**(6), e5949.
206. Ho C.C., Rideout H.J., Ribe E., Troy C.M., Dauer W.T. (2009) *J. Neurosci.*, **29**(4), 1011-1016.
207. Sancho R.M., Law B.M., Harvey K. (2009) *Hum. Mol. Genet.*, **18**(20), 3955-3968.
208. Walle Vande L., Lamkanfi M., Vandenabeele P. (2008) *Cell Death Differ.*, **15**(3), 453-460.
209. Li W., Srinivasula S.M., Chai J., Li P., Wu J.W., Zhang Z., Alnemri E.S., Shi Y. (2002) *Nat Struct. Biol.*, **9**(6), 436-441.
210. Hegde R., Srinivasula S.M., Zhang Z., Wassell R., Mukattash R., Cilenti L., DuBois G., Lazebnik Y., Zervos A.S., Fernandes-Alnemri T., Alnemri E.S. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 432-438.



211. Jones J.M., Datta P., Srinivasula S.M., Ji W., Gupta S., Zhang Z., Davies E., Hajnyczky G., Saunders T.L., Van Keuren M.L., Fernandes-Alnemri T., Meisler M.H., Alnemri E.S. (2003) *Nature*, **425**, 721–727.
212. Bogaerts V., Nuytemans K., Reumers J., Pals P., Engelborghs S., Pickut B., Corsmit E., Peeters K., Schymkowitz J., De Deyn P.P., Cras P., Rousseau F., Theuns J., Van Broeckhoven C. (2008) *Hum. Mutat.*, **29**(6), 832–840.
213. 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) *Nat. Cell Biol.*, **9**, 1243–1252.
214. Whitworth A.J., Lee J.R., Ho V.M., Flick R., Chowdhury R., McQuibban G.A. (2008) *Dis. Model. Mech.*, **1**(2-3), 168–174.
215. Leroy E., Boyer R., Auburger G., Leube B., Ulm G., Mezey E., Harta G., Brownstein M.J., Jonnalagada S., Chernova T., Dehejia A., Lavedan C., Gasser T., Steinbach P.J., Wilkinson K.D., Polymeropoulos M.H. (1998) *Nature*, **395**(6701), 451–452.
216. Wilkinson K.D., Lee K.M., Deshpande S., Duerksen-Hughes P., Boss J.M., Pohl J. (1989) *Science*, **246**(4930), 670–673.
217. Larsen C.N., Price J.S., Wilkinson K.D. (1996) *Biochemistry*, **35**(21), 6735–6744.
218. Larsen C.N., Krantz B.A., Wilkinson K.D. (1998) *Biochemistry*, **37**(10), 3358–3368.
219. Mellick G.D., Silburn P.A. (2000) *Neurosci. Lett.*, **293**(2), 127–130.
220. Liu Y., Fallon L., Lashuel H.A., Liu Z., Lansbury P.T. Jr. (2002) *Cell*, **111**(2), 209–218.
221. Zhanga Z.-J., Burgundera J.-M., Ana X.-K., Wua Y., Chena W.-J., Zhanga J.-H., Wangd Y.-C., Xua Y.-M., Goua Y.-R., Yuana G.-G., Maoa X.-Y., Penga R. (2008) *Neurosci. Lett.*, **442**(3), 200–202.
222. Levecque C., Destie A., Mouroux V., Becquet E., Defebvre L., Amouyel P., Chartier-Harlin M.C. (2001) *J. Neural. Transm.*, **108**(8-9), 979–984.
223. Maraganore D.M., Farrer M.J., Hardy J.A., Lincoln S.J., McDonnell S.K., Rocca W.A. (1999) *Neurology*, **53**(8), 1858–1860.
224. Maraganore D.M., Lesnick T.G., Elbaz A., Chartier-Harlin M.C., Gasser T., Krüger R., Hattori N., Mellick G.D., Quattrone A., Satoh J., Toda T., Wang J., Ioannidis J.P., de Andrade M., Rocca W.A. (2004) *Ann Neurol.*, **55**(4), 512–521.
225. McNaught K.St.P., Mytilineou C., JnoBaptiste R., Yabut J., Shashidharan P., Jenner P., Olanow C.W. (2002) *J. Neurochem.*, **81**(2), 301–306.
226. Lowe J., McDermott H., Landon M., Mayer R.J., Wilkinson K.D. (1990) *J. Pathol.*, **161**(2), 153–160.
227. Saigoh K., Wang Y.L., Suh J.G., Yamanishi T., Sakai Y., Kiyosawa H., Harada T., Ichihara N., Wakana S., Kikuchi T., Wada K. (1999) *Nat. Genet.*, **23**(1), 47–51.
228. Gray H., Wong T.W. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**(9), 5835–5841.
229. Mancuso M., Filosto M., Oh S.J., DiMauro S. (2004) *Arch. Neurol.*, **61**(11), 1777–1779.
230. Luoma P., Melberg A., Rinne J.O., Kaukonen J.A., Nupponen N.N., Chalmers R.M., Oldfors A., Rautakorpi I., Peltonen L., Majamaa K., Somer H., Suomalainen A. (2004) *Lancet*, **364**(9437), 875–882.
231. Invernizzi F., Varanese S., Thomas A., Carrara F., Onofrij M., Zeviani M. (2008) *Neuromuscul Disord.*, **18**(6), 460–464.
232. Davidzon G., Greene P., Mancuso M., Klos K.J., Ahlskog J.E., Hirano M., DiMauro S. (2006) *Ann. Neurol.*, **59**(5), 859–862.
233. Bender A., Krishnan K.J., Morris C.M., Taylor G.A., Reeve A.K., Perry R.H., Jaros E., Hersheson J.S., Betts J., Klopstock T., Taylor R.W., Turnbull D.M. (2006) *Nat. Genet.*, **38**(5), 515–517.
234. Kraytsberg Y., Kudryavtseva E., McKee A.C., Geula C., Kowall N.W., Khrapko K. (2006) *Nat. Genet.*, **38**(5), 518–520.
235. De Coe I.F., Renier W.O., Ruitenbeek W., Ter Laak H.J., Bakker M., Schägger H., Van Ann (1999) *Neurol.*, **45**(1), 130–133.

236. *Taanman J.W., Schapira A.H.* (2005) *Neurosci. Lett.*, **376**(1), 56-59.
237. *Filosto M., Mancuso M., Nishigaki Y., Pancrudo J., Harati Y., Gooch C., Mankodi A., Bayne L., Bonilla E., Shanske S., Hirano M., DiMauro S.* (2003) *Arch. Neurol.*, **60**(9), 1279-1284.
238. *Kang S.J., Scott W.K., Li Y.J., Hauser M.A., van der Walt J.M., Fujiwara K., Mayhew G.M., West S.G., Vance J.M., Martin E.R.* (2006) *Mov. Disord.*, **21**(12), 2175-2180.
239. *Hague S., Peuralinna T., Eerola J., Hellström O., Tienari P.J., Singleton A.B.* (2004) *Neurology*, **62**(4), 635-636.
240. *Leveque C., Elbaz A., Clavel J., Richard F., Vidal J.S., Amouyel P., Tzourio C., Alperovitch A., Chartier-Harlin M.C.* (2003) *Hum. Mol. Genet.*, **12**(1), 79-86.
241. *Hancock D.B., Martin E.R., Fujiwara K., Stacy M.A., Scott B.L., Stajich J.M., Jewett R., Li Y.J., Hauser M.A., Vance J.M., Scott W.K.* (2006) *Ann. Neurol.*, **60**(3), 366-373.
242. *Wang L., Xu J., Ji C., Gu S., Lv Y., Li S., Xu Y., Xie Y., Mao Y.* (2005) *Int. J. Mol. Med.*, **16**(1), 19-27.
243. *Wider C., Lincoln S.J., Heckman M.G., Diehl N.N., Stone J.T., Haugarvoll K., Aasly J.O., Gibson J.M., Lynch T., Rajput A., Rajput M.L., Utti R.J., Wszolek Z.K., Farrer M.J., Ross O.A.* (2009) *Neurosci. Lett.*, **453**(1), 9-11.
244. *Li Y.J., Oliveira S.A., Xu P., Martin E.R., Stenger J.E., Scherzer C.R., Hauser M.A., Scott W.K., Small G.W., Nance M.A., Watts R.L., Hubble J.P., Koller W.C., Pahwa R., Stern M.B., Hiner B.C., Jankovic J., Goetz C.G., Mastaglia F., Middleton L.T., Roses A.D., Saunders A.M., Schmechel D.E., Gullans S.R., Haines J.L., Gilbert J.R., Vance J.M., Pericak-Vance M.A., Hulette C., Welsh-Bohmer K.A.* (2003) *Hum. Mol. Genet.*, **12**(24), 3259-3267.
245. *Li Y.J., Scott W.K., Zhang L., Lin P.I., Oliveira S.A., Skelly T., Doraiswamy M.P., Welsh-Bohmer K.A., Martin E.R., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Vance J.M.* (2006) *Neurobiol. Aging*, **27**(8), 1087-1093.
246. *Sidransky E., Nalls M.A., Aasly J.O., Aharon-Peretz J., Annesi G., Barbosa E.R., Bar-Shira A., Berg D., Bras J., Brice A., Chen C.M., Clark L.N., Condroyer C., De Marco E.V., Dürr A., Eblan M.J., Fahn S., Farrer M.J., Fung H.C., Gan-Or Z., Gasser T., Gershoni-Baruch R., Giladi N., Griffith A., Gurevich T., Januario C., Kropp P., Lang A.E., Lee-Chen G.J., Lesage S., Marder K., Mata I.F., Mirelman A., Mitsui J., Mizuta I., Nicoletti G., Oliveira C., Ottman R., Orr-Urtreger A., Pereira L.V., Quattrone A., Rogaeva E., Rolfs A., Rosenbaum H., Rozenberg R., Samii A., Samaddar T., Schulte C., Sharma M., Singleton A., Spitz M., Tan E.K., Tayebi N., Toda T., Troiano A.R., Tsuji S., Wittstock M., Wolfsberg T.G., Wu Y.R., Zabetian C.P., Zhao Y., Ziegler S.G.* (2009) *N. Engl. J. Med.*, **361**(17), 1651-1661.
247. *Feany M.B.* (2004) *N. Engl. J. Med.*, **351**(19), 1937-1940.
248. *Le W.D., Xu P., Jankovic J., Jiang H., Appel S.H., Smith R.G., Vassilatis D.K.* (2003) *Nat Genet.*, **33**(1), 85-89.
249. *Alvarez V., Corao A.I., Sánchez-Ferrero E., De Mena L., Alonso-Montes C., Huerta C., Blázquez M., Ribacoba R., Guisasaola L.M., Salvador C., García-Castro M., Coto E.* (2008) *Neurosci Lett.*, **432**(1), 79-82.
250. *Ekstrand M. I., Terzioglu M., Galter D., Zhu S., Hofstetter C., Lindqvist E., Thams S., Bergstrand A., Hansson F.S., Trifunovic A., Hoffer B., Cullheim S., Mohammed A.H., Olson L., Larsson N.-G.* (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**(4), 1325-1330.
251. *Basso M., Giraudo S., Corpillo D., Bergamasco B., Lopiano L., Fasano M.* (2004) *Proteomics*, **4**(12), 3943-3952.
252. *Basso M., Giraudo S., Lopiano L., Bergamasco B., Bosticco E., Cinquepalmi A., Fasano M.* (2003) *Neurol. Sci.* **24**(3), 155-156.
253. *Diedrich M., Mao L., Bernreuther C., Zabel C., Nebrich G., Kleene R., Klose J.* (2008) *Proteomics*, **8**(6), 1266-1275.
254. *Xun Z., Sowell R.A., Kaufman T.C., Clemmer D.E.* (2007) *J. Proteome Res.*, **6**(1), 348-357.

255. Alberio T., Bossi A.M., Milli A., Parma E., Gariboldi M.B., Tosi G., Lopiano L., Fasano M. (2010) FEBS J., **277**(23), 4909-4919.
256. Palacino J.J., Sagi D., Goldberg M.S., Krauss S., Motz C., Wacker M., Klose J., Shen J. (2004) J. Biol. Chem., **279**, 18614-18622.
257. De Iuliis A., Grigoletto J., Recchia A., Giusti P., Arslan P. (2005) Clin. Chim. Acta, **357**, 202-209.
258. Lin M.T., Beal M.F. (2006) Nature, **443**, 787-795.
259. Keeney P.M., Xie J., Capaldi R.A., Bennett J.P. Jr. (2006) J. Neurosci., **26**(19), 5256-5264.
260. Jin J., Davis J., Zhu D., Kashima D.T., Leroueil M., Pan C., Montine K.S., Zhang J. (2007) BMC Neuroscience, **8**, 67.
261. Xun Z., Sowell R.A., Kaufman T.C., Clemmer D.E. (2007) J. Proteome Research, **6**, 3729-3738.
262. Van Laar V.S., Dukes A.A., Cascio M., Hastings T.G. (2008) Neurobiology Disease, **29**, 477-489.
263. Chin M.H., Qian W.-J., Wang H., Petyuk V.A., Bloom J.S., Sforza D.M., Lac'an G., Liu D., Khan A.H., Cantor R.M., Bigelow D.J., Melega W.P., Camp II D.G., Smith R.D., Smith D.J. (2008) J. Proteome Res., **7**, 666-677.
264. Pennington K., Peng J., Hung C.-C., Banks R.E., Robinson P.A. (2010) J. Proteome Res., **9**, 2390-2401.
265. Zhang X., Zhou J.-Y., Chin M.H., Schepmoes A.A., Petyuk V.A., Weitz K.K., Petritis B.O., Monroe M.E., Camp II D.G., Wood S.A., Melega W.P., Bigelow D.J., Smith D.J., Qian W.-J., Smith R.D. (2010) J. Proteome Res., **9**, 1496-1509.
266. Werner C.J., Heyny-von Haussen R., Mall G., Wolf S. (2008) Proteome Sci., **6**, 8.
267. Medvedev A., Buneeva O., Glover V. (2007) Biologics, **1**(2), 151-162.
268. Zhou Y., Zhao Z.Q., Xie J.X. (2001) Brain Res., **917**(1), 127-132.
269. Crumeyrolle-Arias M., Buneeva O., Zgoda V., Kopylov A., Cardona A., Tournaire M.-C., Pozdnev V., Glover V., Medvedev A. (2009) J. Neurosci. Res., **87**(12), 2763-2772.
270. Buneeva O., Gnedenko O., Zgoda V., Kopylov A., Glover V., Ivanov A., Medvedev A., Archakov A. (2010) Proteomics, **10**(1), 23-37.
271. Копылов А.Т., Згода В.Г. (2007). Биомед. химия, **53**(6), 613-643.
272. Bossers K., Meerhoff G., Balesar R., van Dongen J.W., Kruse C.G., Swaab D.F., Verhaagen J. (2009) Brain Pathol., **19**(1), 91-107.
273. Simunovic F., Yi M., Wang Y., Macey L., Brown L.T., Krichevsky A.M., Andersen S.L., Stephens R.M., Benes F.M., Sonntag K.C. (2009) Brain., **132**(Pt 7), 1795-1809.
274. Mandel S., Grunblatt E., Riederer P., Amariglio N., Jacob-Hirsch J., Rechavi G., Youdim M.B. (2005) Ann. N.Y. Acad. Sci., **1053**, 356-375.
275. Mandel S.A., Fishman T., Youdim M.B. (2007) Parkinsonism Relat. Disord., **13**, Suppl 3, S242-S247.
276. Yang J.O., Kim W.Y., Jeong S.Y., Oh J.H., Jho S., Bhak J., Kim N.S. (2009) BMC Genomics, **10**, Suppl 3, S32.
277. Lin T.K., Liou C.W., Chen S.D., Chuang Y.C., Tiao M.M., Wang P.W., Chen J.B., Chuang J.H. (2009) Chang Gung Med. J., **32**(6), 589-599.
278. Psarra A.M., Sekeris C.E. (2008) Biochim. Biophys Acta, **1783**(1), 1-11.
279. Virbasius C.A., Virbasius J.V., Scarpulla R.C. (1993) Genes Dev., **7**(12A), 2431-2445.
280. Virbasius J.V., Scarpulla R.C. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**(4), 1309-1313.

Поступила: 17. 06. 2010.

MITOCHONDRIAL DISFUNCTION IN PARKINSON'S DISEASE

*O.A. Buneeva, A.E. Medvedev*

Institute of Biomedical Chemistry, Pogodinskaya str.10, Moscow, Russia 119121;  
e-mail: olga.buneeva@ibmc.msk.ru

Mitochondrial structural and functional abnormalities in Parkinson's disease and experimental animal models of this pathology are described. Special attention is paid to the inactivation of mitochondrial enzymes, mutations in mitochondrial and nuclear DNA, and genomic and proteomic research of mitochondrial proteins in Parkinson's disease and experimental parkinsonism of animals.

**Key words:** Parkinson's disease, mitochondria, mitochondrial enzymes, genomics, proteomics.