

УДК 575.2:577.29:616.8

## ПРОТЕИНОПАТИИ – ФОРМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, В ОСНОВЕ КОТОРЫХ ЛЕЖИТ ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ

© 2012 г. Т. А. Шелковникова<sup>1,3\*</sup>, А. А. Куликова<sup>3</sup>, Ф. О. Цветков<sup>3</sup>, О. Peters<sup>2</sup>, С. О. Бачурин<sup>1</sup>, В. Л. Бухман<sup>2</sup>, Н. Н. Нинкина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологически активных веществ Российской академии наук, Черноголовка, Московская обл., 142432 Россия

<sup>2</sup>Cardiff University, Cardiff, UK, CF10 3US

<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991, Россия

Поступила в редакцию 21.08.2011 г.

Принята к печати 14.10.2011 г.

На основе сходства молекулярных механизмов патогенеза ряд нейродегенеративных заболеваний был объединен в группу протеинопатий. Эти заболевания развиваются в результате изменений в структуре белков, склонных к образованию агрегатов. Настоящий обзор посвящен анализу современных данных о молекулярных основах развития протеинопатий. В нем рассмотрены общие свойства склонных к агрегации белков, основные этапы развития протеинопатий, обсуждена роль защитных систем клетки в прогрессии протеинопатий и новые подходы к современной классификации нейродегенеративных расстройств, базирующиеся на данных о молекулярном патогенезе нейродегенерации.

**Ключевые слова:** нейродегенеративные заболевания, протеинопатии, амилоид, синуклеин, прионы.

**PROTEINOPATHIES – FORMS OF NEURODEGENERATIVE DISORDERS WITH PROTEIN AGGREGATION-BASED PATHOLOGY**, by T. A. Shelkovnikova<sup>1,3\*</sup>, A. A. Kulikova<sup>3</sup>, Ph. O. Tsvetkov<sup>3</sup>, O. Peters<sup>2</sup>, S. O. Bachurin<sup>1</sup>, V. L. Buchman<sup>2</sup>, N. N. Ninkina<sup>1,2</sup> (Institute of Physiologically Active Compounds, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region, 142432 Russia; \*e-mail: sta.ipac@gmail.com; <sup>2</sup>Cardiff University, Cardiff, UK, CF10 3US; <sup>3</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia). A number of neurodegenerative disorders have recently been coalesced into a group of proteinopathies because of the similarity of molecular mechanisms underlying their pathogenesis. A key step in the development of proteinopathies is a structural change that triggers aggregation of proteins, which are intrinsically prone to form aggregates due to their physical and chemical properties. Present review is devoted to the recent progress in the field of proteinopathies with specific focus on properties of aggregate-prone proteins, main stages of the development of molecular pathology and the role of cellular clearance systems in progression of neurodegeneration. Recent modifications in the nomenclature of neurodegenerative diseases will also be addressed.

**Keywords:** neurodegenerative disorders, proteinopathies, amyloid, synuclein, prions.

### ВВЕДЕНИЕ

Привлечение новейших клеточных технологий, биоинформатических подходов и методов направленной манипуляции с геномом животных привело за последние два десятилетия к существенному прогрессу в области биомедицины и, в частности, позволило выявить фундаментальные процессы, лежащие в основе целого ряда распространенных нейродегенеративных патологий. В результате был пересмотрен ряд концепций и

внесены изменения в классификацию нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), учитывающие новые данные о молекулярных механизмах развития этой патологии. Установлено, что большая группа различных по клинической картине НДЗ имеет сходный молекулярный механизм патогенеза, включающий процессы патологической агрегации белков, формирования фибриллярных нерастворимых структур и депонирования их в виде гистопатологических включений в тканях нервной системы [1].

Принятые сокращения: НДЗ – нейродегенеративные заболевания; БА – болезнь Альцгеймера; БП – болезнь Паркинсона; УПС – убиквитин-протеасомная система; APP – белок-предшественник β-амилоида.

\* Эл. почта: sta.ipac@gmail.com

Большинство гистопатологических отложений, формируемых склонными к агрегации белками, обладает свойствами амилоида (сенильные бляшки, тельца Леви и т.д.), однако сравнительно недавно обнаружили белки, способные формировать включения неамилоидного типа, поэтому широко используемый термин “амилоидоз нервной системы” не смог включить все заболевания, характеризующиеся нарушением метаболизма, агрегацией и отложением белков в тканях нервной системы. Возникла необходимость введения более общего термина для обозначения данной группы расстройств. Исторически первыми НДЗ, при которых обнаружили патологические белковые включения, стали болезнь Паркинсона (отложения  $\alpha$ -синуклеина – тельца Леви, БП) и различные деменции (отложения тау-белка). Такие формы заболевания получили название синуклеинопатий и таупатий соответственно (белковая патология синуклеина или тау-белка). Однако вскоре исследователи столкнулись с проблемой одновременного присутствия в нервной системе больных нескольких типов патологических белковых включений, образованных разными белками. В связи с этим для обозначения группы расстройств, характеризующихся наличием белковой патологии, все чаще стал употребляться общий термин “протеинопатия” (proteinopathy, или proteopathy). Таким образом, формы НДЗ, в основе патогенеза которых лежат изменения структуры и/или нарушение метаболизма определенных белков, приводящие к их агрегации или формированию агрегатов патогенных пептидов с последующим образованием характерных гистопатологических белковых или пептидных отложений, в настоящее время классифицируют как протеинопатии [2].

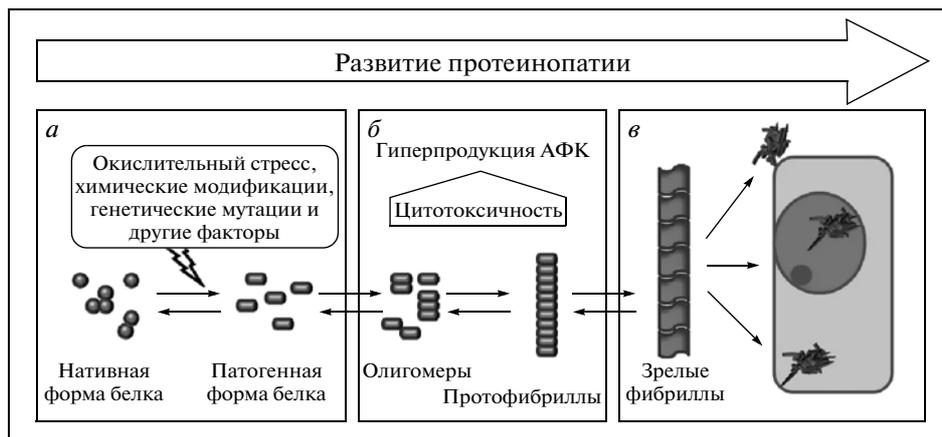
Итак, к протеинопатиям относятся болезнь Альцгеймера (БА), при которой выявляются амилоидные внеклеточные бляшки и внутриклеточные нейрофибриллярные клубки, БП, характеризующаяся присутствием тельца Леви, прионные болезни, тринуклеотидные патологии, к которым, в частности, относится хорея Гентингтона, болезни двигательного нейрона, включая боковой амиотрофический склероз, и ряд более редких НДЗ. Патологические отложения амилоидного типа в тканях различных отделов нервной системы были описаны еще в ставших классическими работах по выделению нозологических форм НДЗ и до сих пор используются при патологоанатомической экспертизе для подтверждения диагноза. Современные работы, в которых изучают молекулярные механизмы формирования патогенных включений, указывают на каскадный характер процесса агрегации белков и сходство принципиальных этапов формирования белковых/пептидных отложений при НДЗ [3].

Ключевая роль в развитии определенного типа патологий отводится склонным к агрегации белкам (aggregate-prone proteins), нарушение структуры и метаболизма которых ведет к их патогенной агрегации и развитию протеинопатии [4]. Мутации в кодирующей части гена, приводящие к изменению первичной структуры этих белков, обычно ассоциированы с наследственными формами соответствующих НДЗ [5–9]. При идиопатических формах, которые составляют абсолютное большинство клинических случаев протеинопатий, эти же белки, изменившие свою вторичную структуру при сохраненной первичной, также часто являются основными компонентами гистопатологических включений. Причины начала патогенной агрегации белков при идиопатических формах протеинопатий окончательно не установлены, но существуют многочисленные гипотезы, отводящие различным факторам роль инициаторов дестабилизации структуры склонных к агрегации белков.

Прогресс в изучении этиологии и патогенеза НДЗ и участия в этих процессах склонных к агрегации белков тесно связан с использованием *in vitro* и *in vivo* моделей [10–17], в которых уже удалось экспериментально воспроизвести основные звенья патогенеза отдельных заболеваний.

## ПРОТЕИНОПАТИИ

Склонные к агрегации белки в норме, как правило, растворимы и не обладают патогенными свойствами. Они могут выполнять в клетке совершенно различные функции, например, участвовать в окислительных реакциях (супероксиддисмутаза, SOD-1), метаболизме РНК (FUS и TDP-43), регуляции архитектоники цитоскелета клетки (тау-белок). Нормальная физиологическая функция многих других белков, потенциально способных вызвать протеинопатию, и интенсивно изучаемых в связи с их патогенными свойствами, до сих пор остается не до конца выясненной (гентингтин,  $\alpha$ -синуклеин, прионовый белок, белок-предшественник  $\beta$ -амилоида). Приобретшие патогенные свойства белки или пептиды образуют нерастворимые отложения в тканях нервной системы по мере прогрессии протеинопатии, причем основные стадии сложного многоэтапного процесса формирования гистопатологических структур общие практически для всех НДЗ [3]. На рис. 1 показаны основные этапы образования белковых агрегатов амилоидного типа при протеинопатиях. Согласно общепринятой гипотезе, необходимое условие запуска патогенной агрегации – изменение конформации ключевого белка и, как следствие, изменение его агрегационных свойств. Следует отметить, что конформационная нестабильность характерна для всех склонных к агрегации белков и пептидов. Патогенная



**Рис. 1.** Модель формирования белковых отложений при протеинопатиях. Под влиянием различных факторов (*a*) происходит переход потенциально амилоидогенного белка из нормальной растворимой формы в патогенную, склонную к агрегации форму. Патогенная форма образует олигомеры и другие промежуточные соединения, из которых впоследствии формируются протофибриллы (*b*). На заключительном этапе агрегации образующиеся из протофибрилл зрелые фибриллы формируют белковые отложения в нервной ткани; отложения могут локализоваться как внутри клеток (внутриядерные, цитоплазматические), так и за их пределами (*в*). АФК – активные формы кислорода.

форма белка может образоваться через переходное состояние, существующее между полностью развернутой и нативной формами полипептидной цепи, поскольку энергия активации, необходимая для перехода из промежуточного состояния в склонную к агрегации форму, не намного превышает энергию, необходимую для перехода в нативную форму [18]. При этом агрегированная форма энергетически более выгодная. Согласно альтернативной модели, развернутая полипептидная цепь может укладываться в две различные промежуточные формы. Из одной формируется нативный белок в нормальной конформации, из второй – склонная к агрегации форма. Таким образом, белки, способные образовывать альтернативные, но обладающие сходными термодинамическими характеристиками структуры, более склонны к агрегации [18, 19].

Многие факторы могут как непосредственно влиять на конформационную стабильность и, соответственно, на агрегационные свойства потенциально амилоидогенных белков, так и инициировать процессы, приводящие к дестабилизации структуры этих белков (рис. 1*a*) [20, 21]. Прежде всего, мутации в структурной части генов, кодирующих такие белки, могут приводить к изменению их физико-химических свойств, существенно повышая риск инициации и развития необратимого процесса патогенной агрегации [22]. Кроме того, мутации в интронных и регуляторных областях соответствующих генов, приводящие к активации транскрипции и, как следствие, к общему повышению концентрации белковых молекул и смещению равновесия реакции в сторону продуктов агрегации, могут стать причиной интенсификации процесса агрегации [23]. Оче-

видно, что и нарушения в системе регуляции метаболизма склонных к агрегации белков, например, в результате мутаций отдельных компонентов, также могут активировать или потенцировать процесс агрегации. Так, при наследственной форме БА выявлены мутации в генах, кодирующих пресенилины 1 и 2, которые входят в состав  $\gamma$ -секретазы, участвующей в протеолизе белка-предшественника  $\beta$ -амилоида (APP). Нарушение протеолиза APP приводит к смещению соотношения между содержанием  $\beta$ -амилоида (1–40) и более склонного к агрегации  $\beta$ -амилоида (1–42) – основного компонента амилоидных бляшек – в сторону увеличения содержания последнего [24].

Еще один известный механизм инициации патогенной агрегации – изменение структуры нативного белка в результате его взаимодействия с молекулой этого же белка, находящейся в аберрантной конформации, что ведет к накоплению патогенных форм с измененной вторичной структурой и повышению вероятности образования патологических агрегатов. Такой тип белковой патологии – “инфекционность” белков – характерен для прионопатий. Между тем, в последнее время появляется все больше свидетельств того, что сходный механизм может принимать участие в патогенезе и других НДЗ. Более того, для обозначения склонных к агрегации белков все чаще используется термин *приногенные белки*, поскольку они обладают рядом структурных характеристик, общих с прионными белками [25, 26].

Среди других факторов, способных влиять на конформационную стабильность склонных к агрегации белков и способствовать инициации процесса патогенной агрегации, следует отметить окислительный стресс, вирусные инфекции, воз-

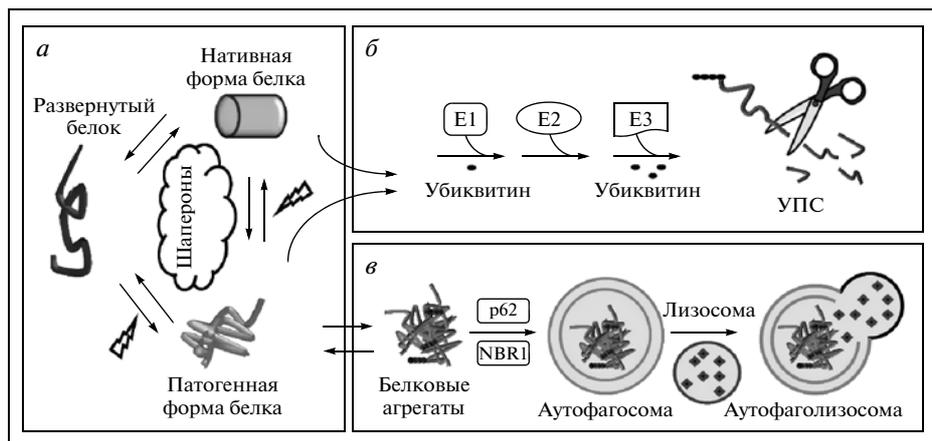
действие нейротоксинов, ионов металлов [27–32]. Так, показана роль ионов различных металлов в процессе патологической агрегации  $\beta$ -амилоида [19, 29, 32, 33]. Кроме того, агрегации могут способствовать различные посттрансляционные модификации. Такие модификации  $\alpha$ -синуклеина играют важную роль в патогенезе БП, модификации  $\beta$ -амилоида и тау-белка – в развитии БА [35–38]. Например, ионы цинка способствуют димеризации и последующей олигомеризации  $\beta$ -амилоида (1–42) при развитии молекулярной патологии, характерной для БА [19, 33, 34]. Показано, что изомеризация остатка аспартата в положении 7  $\beta$ -амилоида (1–42) приводит к его цинк-зависимой олигомеризации и, следовательно, играет важную роль в патогенезе БА [35, 36]. Посттрансляционные модификации  $\alpha$ -синуклеина и тау-белка приводят к их агрегации и патологическим изменениям, ведущим к развитию БП и БА соответственно [37, 38].

Какими бы ни были этиологические факторы, инициировавшие агрегацию потенциально патогенных белков, они запускают необратимый процесс, который далее протекает по удивительно сходному для разных белков механизму и ведет к развитию протеинопатии и нейродегенеративным изменениям. Первый этап патогенной агрегации белков – их олигомеризация (рис. 1б), на следующем этапе из олигомеров формируются протофибриллы. И олигомеры, и протофибриллы растворимы и находятся в функционально активном клеточном пространстве, будучи в большинстве случаев токсичными для клетки [39, 40]. Промежуточные продукты агрегации практически всех амилоидогенных белков оказывают патологическое действие на мембранные структуры, прежде всего, на митохондрии: изменяется проницаемость мембраны, подавляется транспорт электронов, стимулируется гиперпродукция активных форм кислорода [41–43]. В большинстве случаев нейротоксичный эффект растворимых промежуточных форм белковой агрегации вносит существенный вклад в развитие нейродегенеративных процессов, а повышение внутриклеточной концентрации этих токсичных продуктов до критического уровня ведет к гибели нейрона [44]. В связи с этим, дальнейшие этапы процесса агрегации белков многие рассматривают как элементы защитного механизма, способствующего удалению и инактивации цитотоксичных форм патогенных белков. Протофибриллы преобразуются в нерастворимые фибриллы, а далее в более крупные, плотно упакованные фибриллярные структуры (рис. 1в). Такие структуры способны формировать сеть, которая становится своеобразной “ловушкой” для других белков и даже целых клеточных органелл. Конечные продукты агрегации белков при протеинопатиях уже не обладают прямым токсическим эффектом и

могут в таком состоянии депонироваться, если клетке не удалось от них избавиться на предыдущих стадиях процесса агрегации. На заключительном этапе патологического процесса, лежащего в основе протеинопатий, происходит формирование крупных, сложных по составу структур, которые находят при гистологических исследованиях в виде различного рода характерных отложений или включений – бляшек, телец, клубков и т.п. (рис. 1г). В зависимости от типа протеинопатии подобные гистопатологические структуры могут локализоваться в цитоплазме или ядре нейронов, глиальных клеток, в отростках и синаптических окончаниях пораженных нейронов, в межклеточном пространстве (таблица, рис. 2).

Если важность описанных выше событий в развитии нейродегенеративных процессов при протеинопатиях не вызывает сомнений, и все этапы патогенной агрегации белков интенсивно изучались на различных уровнях и различными методами, то вторую сторону протеинопатий – нарушение нормальной функции агрегирующих белков, начали активно изучать лишь в последнее время. Показано, что у больных амиотрофическим боковым склерозом и лобно-височной дегенерацией образуются цитоплазматические отложения, в состав которых входят белки FUS и TDP-43 [45–47], при этом снижается их содержание в ядре. И FUS, и TDP-43 – важные компоненты ряда этапов метаболизма РНК, и дестабилизация ансамбля вовлеченных в этот процесс компонентов в связи с дефицитом FUS или TDP-43 в ядре может способствовать развитию патологии и вносить существенный вклад в прогрессию нейродегенерации [48]. При изучении недостаточности функции белков в качестве важного инструмента используют генетически модифицированных животных с направленной инактивацией генов этих белков. Инактивация генов белков FUS и TDP-43 критична для многих популяций клеток, включая нейроны, и ведет к их гибели [49–51]. Инактивация же других потенциально амилоидогенных белков, например, синуклеина и прионных белков, не вызывает ранней летальности и выраженных фенотипических аномалий [52, 53]. Однако более глубокое изучение эффектов ингибирования нормальной функции этих белков выявило ряд функциональных патологий нейронов nigrostriарной системы [54], их важную роль в работе систем, обеспечивающих процессы обучения, памяти и различных типов поведения [55, 56].

При протеинопатиях компартиментализация агрегирующего белка меняется, поскольку существенная часть новосинтезированного пула быстро вовлекается в процесс формирования фибрилл и депонируется вместо того, чтобы целенаправленно поступать в те отделы клетки, где этот белок должен выполнять свою нормальную функцию. Поскольку правильная компартиментализа-



**Рис. 2.** Схематическое изображение основных защитных систем клетки, активируемых при протеинопатиях. *а* – Шапероны способствуют сворачиванию белков в нативную форму, распознают патогенные формы белков и способствуют их “правильному” сворачиванию, препятствуют агрегации и сопровождают их для деградации в убиквитин-протеасомной системе (УПС). *б* – УПС участвует в деградации патогенных и поврежденных белков и большинства ненужных нативных форм белка в клетке. Этот процесс включает два шага: ковалентное присоединение убиквитина к белку-субстрату с помощью каскада химических реакций, катализируемых убиквитин-активирующим ферментом (E1), убиквитин-конъюгирующим ферментом (E2) и убиквитин-лигазой (E3) и затем расщепление полиубиквитинированного белка-субстрата протеасомой с высвобождением свободного убиквитина. *в* – Аутофагосомный путь помогает утилизировать белковые агрегаты, сформированные патогенными белками. Белковые агрегаты сначала изолируются в двухмембранную аутофагосому, которая затем сливается с лизосомой и образует аутофаголизосому. В аутофаголизосоме белковые агрегаты деградируются лизосомными гидролазами. p62 и NBR1 участвуют в процессе активации аутофагии убиквитинированных белковых агрегатов.

ция белков имеет принципиальное значение для выполнения нейроном его функций [57], локальный дефицит активного белка может приводить к серьезным нарушениям. Например, дефицит синуклеинов, в норме в большом количестве представленных в пресинаптических окончаниях, ведет к прогрессирующей синаптической дисфункции [58]. Критической недостаточностью функции  $\gamma$ -синуклеина, который вовлечен не только в пресинаптическую функцию, но и в стабилизацию структуры цитоскелета аксонов [59], при определенных условиях может вызывать нейродегенеративные изменения в зрительном нерве [60], сходные с наблюдаемыми при глаукомах.

Таким образом, процесс агрегации потенциально патогенных белков при протеинопатиях сопровождается недостаточностью их нормальной функции, а развитие нейродегенерации обусловлено комбинированным эффектом двух составляющих протеинопатии.

### АМИЛОИД – ЛЕЙТМОТИВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Амилоиды – это нерастворимые фибриллярные агрегаты, обладающие определенными структурными характеристиками и формируемые из пептидов и белков с различными аминокислотными последовательностями. Существует классическое гистопатологическое определение амилоида как внеклеточного белкового отложения, имеющего кросс- $\beta$ -струк-

туру, способную связываться со специфическими красителями, такими как конго красный и тиофлавин S. По мере получения новых данных о структуре амилоидных формирований и образующих их белках это определение подвергалось ревизии и модернизации. В нервной системе амилоидные структуры могут обнаруживаться как в межклеточном пространстве, так и внутри нейронов и глиальных клеток. Тот факт, что некоторые типы амилоидных структур, находящихся в определенных отделах внутриклеточного пространства, недоступны для классических красителей, послужило причиной широкого использования более поздней, “биофизической” редакции определения “амилоида”, которым обозначают любые фибриллярные полипептидные агрегаты, формирующие кросс- $\beta$ -структуру *in vivo* или *in vitro* [61]. При этом в клинической диагностической номенклатуре руководствуются рекомендациями Экспертного комитета по амилоидозам, в соответствии с которыми способность отложений окрашиваться конго красным и тиофлавином S, зависящая от свойств гистопатологических структур и при этом не объясняемая затруднением проникновения красителя – необходимое условие классификации белковых формирований как амилоидов [62]. Последняя редакция списка амилоидогенных белков включает 27 в норме растворимых белков человека [62]. При этом отложения, не способные химически связываться с данными красителями, хотя и образованы агрегированными формами белков с

Основные белки – компоненты патологических белковых отложений при нейродегенеративных заболеваниях – протеинопатиях

Белок	Ген	Локализация	Гистопатологическое образование	Заболевание
$\beta$ -амилоид (A $\beta$ )	Ген белка-предшественника $\beta$ -амилоида ( <i>APP</i> ), хромосома 21	Вне клеток	Сенильные бляшки	Болезнь Альцгеймера
Тау-белок	<i>MAPT</i> (microtubule-associated protein tau), хромосома 17	Цитоплазма (нейроны, олигодендроциты или астроциты)	Нейрофибрилярные клубки Тельца Пика Тау-положительные включения	Болезнь Альцгеймера Болезнь Пика Лобно-височная дегенерация Кортикобазальная дегенерация Прогрессирующий надъядерный паралич
$\alpha$ -синуклеин	<i>SNCA (PARK1)</i> , хромосома 4	Цитоплазма (нейроны или олигодендроциты)	Тельца Леви, нейриты Леви	Болезнь Паркинсона Деменция с тельцами Леви Мультисистемная атрофия
Супероксиддисмутаза-1	<i>ALS1 (SOD1)</i> , хромосома 21	Цитоплазма (нейроны)	Отложения в мотонейронах	Амиотрофический боковой склероз
Прионный белок, устойчивый к действию протеаз, PrP <sup>Sc</sup>	Ген прионного белка (Prion protein gene, <i>PRNP</i> ), хромосома 20	Вне клеток	Прионные бляшки	Прионные болезни (болезнь Крейтцфельда-Якоба; фатальная семейная бессонница; синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера)
Гентингин	<i>htt (IT15)</i> , хромосома 4	Внутри ядер	Нейрональные отложения	Хорея Гентингтона
Атаксин	<i>ataxin-1</i> , хромосома 6	Внутри ядер (нейроны)	Нейрональные отложения	Спинально-мозжечковая атаксия типа 1
TDP-43 (transactive response-DNA-binding protein 43)	<i>TARDBP</i> , хромосома 1	Цитоплазма (нейроны, клетки глии)	Убиквитин-положительные тау- и FUS-отрицательные включения	Лобно-височная дегенерация с убиквитин-положительными включениями Амиотрофический боковой склероз
FUS/TLS (fused in sarcoma/translocated in liposarcoma)	<i>FUS/TLS</i> , хромосома 16	Цитоплазма (нейроны, клетки глии)	TDP-43-отрицательные включения	Лобно-височная дегенерация с убиквитин-положительными включениями Амиотрофический боковой склероз

преобладанием  $\beta$ -складчатой структуры, упакованными в виде суперфибрилл, определяются как гистопатологические включения неамилоидного типа.

Изучению молекулярной структуры и свойств амилоидных фибрилл посвящено, особенно в последние годы, большое число экспериментальных работ. Данные классических электронно-микроскопических исследований амилоидных фибрилл были подтверждены и существенно дополнены в результате активного развития метода твердотельной ЯМР-спектроскопии в комбинации с методом трансмиссионной электронной микроскопии высокого разрешения, что позволило детально описать структуры амилоидных фибрилл  $\beta$ -амилоида [63, 64],  $\beta$ -2-микрोगлобулина [65], прионного домена Sup35 [66]. Кроме того, разработан метод выращивания нано- и микрокристаллов амилоидных фибрилл, которые можно изучать с помощью рентгеноструктурного анализа [67]. Физико-химический анализ показал, что белки, составляющие основу высокоорганизованных фибриллярных агрегатов, содержат кросс- $\beta$ -структуру, в которой  $\beta$ -тяжи лежат перпендикулярно оси фибриллы, а водородные связи проходят вдоль этой оси [68]. Стопки  $\beta$ -слоев упакованы в протофиламенты, укладываемые в амилоидные нити. Амилоидные фибриллы преимущественно состоят из параллельных  $\beta$ -структур, хотя описаны варианты включений, в которых также встречаются фибриллы, составленные из антипараллельных  $\beta$ -структур и  $\beta$ -спиралей [69]. Амилоид — энергетически выгодная структура, которую в определенных условиях могут принимать многие полипептиды [70]. Более того, целый ряд белков выполняет свою функцию *in vivo* в амилоидной форме, например белок Pmel17 меланоцитов млекопитающих [71], белок HET-s грибов [72] и белок CsgA бактерий [73]. Следует отметить, что в отношении потенциально амилоидогенных белков человека превалирует мнение, что агрегированные формы ассоциированы с развитием патологических процессов, а нормальную функцию эти белки выполняют в растворимом состоянии, поэтому в абсолютном большинстве работ для изучения нормальной функции априори использованы белки, находящиеся в растворимом, а не в агрегированном состоянии. Способность формировать амилоид во многом зависит от аминокислотного состава полипептида, однако физико-химические свойства структурных детерминант, участвующих в формировании амилоида, по-прежнему недостаточно изучены, несмотря на то что ведется активная работа в данном направлении [21, 68, 74]. Кроме того, амилоидные фибриллы, состоящие из полипептидов с одинаковой аминокислотной последовательностью, часто формируют полиморфные структуры. Так, с помощью ЯМР показан поли-

морфизм фибрилл  $\alpha$ -синуклеина [75], амилина [76, 77],  $\beta$ -амилоида [78] и других полипептидов [79]. Морфология фибрилл  $\beta$ -амилоида может изменяться даже при небольшом изменении условий их роста [80]. Например, фибриллы  $\beta$ -амилоида (1–40) могут формироваться из линейных или из спиралевидных протофиламентов. Различается и организация протофиламентов. Пары  $\beta$ -слоев в протофиламентах могут образовывать гидрофобные контакты, так называемые “стерические молнии”. Выделяют восемь классов “стерических молний”, в основу классификации которых положены ориентация  $\beta$ -слоев (параллельная или антипараллельная) и симметрия между смежными  $\beta$ -слоями [81]. Кроме того,  $\beta$ -слои могут укладываться в  $\beta$ -спирали. Различные по структуре фибриллы могут вызывать различные биологические эффекты [80], поэтому одним из наиболее перспективных направлений становится анализ фибриллярных структур, формирующихся *in vivo*. Как уже отмечено выше, широкое распространение получила гипотеза, подтверждаемая результатами целого ряда исследований, согласно которой первичными цитотоксическими агентами при развитии протеинопатий являются олигомеры склонных к агрегации белков [39, 40, 82–84]. Кроме того, существуют указания на то, что в некоторых случаях и более крупные амилоидные фибриллы могут также оказывать прямое или косвенное нейротоксическое воздействие на клетку, что показано, в частности, в опытах с использованием фибрилл, выращенных *in vitro* из филаментов, выделенных из тканей головного мозга больных протеинопатиями, а ультраструктура фибрилл охарактеризована с помощью ЯМР-анализа [80, 85].

Основная масса работ, в которых изучали физико-химические свойства амилоидных фибрилл, выполнена на “традиционных” амилоидогенных пептидах. Однако в последнее время перечень изучаемых белков, склонных к агрегации, существенно расширился, и здесь особо следует отметить белки, которые образуют структуры неамилоидного типа. Интерес к белкам TDP-43 и FUS заметно возрос после того как установили, что при ряде форм амиотрофического бокового склероза и лобно-височной дегенерации агрегированные формы белков TDP-43 и FUS формируют патологические включения неамилоидного типа, которые не детектируются классическими красителями на амилоид при гистопатологическом анализе, однако фибриллярные структуры, составляющие основу внутриклеточных отложений, соответствуют “биофизическому” определению амилоида по многим физико-химическим параметрам [48, 86]. С другой стороны, повышенный интерес к изучению нового типа потенциально амилоидогенных белков TDP-43 и FUS можно объяснить тем, что их нормальная структура и выполняемые в клетке функции (ДНК/РНК-связываю-

щие белки, регулирующие процессинг, сплайсинг и транспорт РНК) существенно отличаются от всех ранее описанных белков и пептидов, способных к патогенной агрегации в нервной системе. Это дает основание ожидать, что список потенциально амилоидогенных белков, вовлеченных в патогенез НДЗ, будет в ближайшее время пополняться. Выявление всех возможных компонентов патогенной агрегации и изучение их структуры, свойств, а также структуры олигомеров, протофибрилл, их взаимосвязи со зрелыми фибриллами является необходимым звеном в стратегии разработки методов воздействия на процессы формирования и стабильности патогенных белковых агрегатов при протеинопатиях.

### СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ КЛАССИФИКАЦИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В клинической практике диагностики НДЗ до сих пор используется термин “возрастная деменция”, часто без определения конкретных нозологических форм и типа нейродегенеративного процесса, лежащего в основе заболевания. Традиционно при диагностике и характеристике НДЗ учитывали фактор анатомической локализации патологического процесса, поскольку набор клинических симптомов во многом определяется именно тем, какие структуры нервной системы поражаются в первую очередь. Второй важный момент при составлении классификации НДЗ – гистопатологические данные, которые позволяли идентифицировать морфологический тип амилоидных включений, характерных для определенных форм протеинопатий.

Достижения современной молекулярной биологии и биомедицины позволили создать классификацию заболеваний, в основе которой лежат молекулярные механизмы патологии, и выработать принципы их диагностики. Так, все НДЗ, патогенез которых включает агрегацию белков с последующим формированием белковых отложений, принято классифицировать как протеинопатии. Далее протеинопатии подразделяют по типу ключевого белка, вызвавшего заболевание. Принцип выделения нозологических форм НДЗ, где важная роль отводится типу молекулярной патологии, предложен Дж. Трояновским и В. Ли, и уже активно используется в клинической практике западных стран [3, 48]. Основой классификации протеинопатий принято считать склонный к агрегации белок, нарушение метаболизма которого ведет к развитию определенной молекулярной патологии. В таблице приведены примеры протеинопатий и ключевые белки молекулярного патогенеза каждого из этих заболеваний. Таким образом, НДЗ, характеризующиеся формированием внутриклеточных амилоидных включений, например телец Леви, основной белок кото-

рых  $\alpha$ -синуклеин, выделяются в группу  $\alpha$ -синуклеинопатий. В эту группу попадают БП, деменция с тельцами Леви и ряд других НДЗ. БА, для которой характерны не только внеклеточные  $\beta$ -амилоидные сенильные бляшки, но и внутриклеточные фибриллярные клубки, основной патологический компонент которых – гиперфосфорилированный тау-белок, попадает в группу таупатий [87]. В соответствии с предложенной системой классификации в одной группе оказались заболевания с различной клинической картиной: к группе TDP-43/FUS-протеинопатий отнесен амиотрофический боковой склероз, характеризующийся специфическим поражением двигательных нейронов и, как следствие, нейромышечной дисфункцией, а также ряд вариантов лобно-височной дегенерации – заболеваний с когнитивными нарушениями и без локомоторной патологии [4]. И хотя патологоанатомами данная система классификации уже используется, существенной проблемой ее активного применения в клинике НДЗ остается невозможность прижизненного молекулярно-гистологического анализа пораженных тканей нервной системы. Исключение составляют лишь наследственные формы, когда диагноз ставится по результату генетического анализа, в случае выявления известных мутаций. Однако такая ситуация не рассматривается современными неврологами как препятствие к внедрению молекулярно-генетической классификации протеинопатий, а скорее служит убедительным доказательством необходимости скорейшей разработки новых молекулярно-биологических методов диагностики, в первую очередь, ранней диагностики протеинопатий.

Другой плохо проработанный аспект предложенной классификации – затруднения в определении так называемых смешанных форм при протеинопатии двух и более потенциально амилоидогенных белков. Например, при некоторых формах БА (таупатия) наблюдается параллельное образование телец Леви ( $\alpha$ -синуклеинопатия) [87, 88]. В отдельных выборках такие смешанные формы могут составлять более 50%, и их никак нельзя отнести к исключениям [89]. Открытым остается вопрос, всегда ли только один причинный фактор (ключевой белок протеинопатии) или два/несколько таких факторов могут независимо и одновременно запускать развитие заболевания. При этом следует учитывать, что в каждом определенном типе отложений патогенным является только один белковый компонент. Несмотря на то, что в составе амилоидных отложений всегда обнаруживается множество различных белков (иногда до двухсот), способностью инициировать процесс необратимой патогенной агрегации и стимулировать формирование структурированных фибрилл обладает именно ключевой амилоидогенный белок, он вовлекает в построение этих

структур “пассивных участников”, вторичная структура которых чаще всего не изменяется [90].

Очевидно, что совершенствование классификации НДЗ, которое требует объединения усилий молекулярных биологов и клиницистов, — важная задача современной биомедицинской науки, так как без понимания основ молекулярного патогенеза НДЗ невозможны ни выделение нозологически однородных групп больных для проведения клинических испытаний новых препаратов, ни разработка препаратов, модифицирующих заболевание, ни формирование принципов индивидуальной медицины.

### ЗАЩИТНЫЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, АКТИВИРУЕМЫЕ ПРИ ПРОТЕИНОПАТИЯХ

Системы, контролирующие и поддерживающие внутриклеточный гомеостаз, хорошо развиты в нейронах, что связано с их физиологическими особенностями. После завершения эмбрионального и раннего постнатального развития большинство нейронов вовлекается в сложные пространственные сети, многие из которых будут функционировать в течение всей жизни. Обновление нейронных популяций путем апоптотической гибели дефектных клеток и их замены *de novo* дифференцированными нейронами происходит во взрослой нервной системе высших животных гораздо реже, чем в других органах и тканях. Вместо этого в процессе эволюции нейроны приобрели высокоэффективные внутриклеточные защитные механизмы, позволяющие максимально продлить период функциональной активности каждого нейрона, пережившего онтогенетический отбор. К числу таких механизмов относятся в первую очередь системы контролируемой деградации белков и белковых структур. На рис. 2 указаны основные защитные системы, которые осуществляют “контроль качества” внутриклеточных белков. Сюда относятся система шаперонов (рис. 2а), убиквитин-протеасомная (рис. 2б) и аутофагосомно-лизосомная системы (рис. 2в). Нарушение функции компонентов каждой из этих систем в нейронах является второй прямой причиной развития наследственных форм протеинопатий, при этом не затрагивающей первичную структуру ключевого патогенного белка [91].

Так, нарушение работы системы молекулярных шаперонов, которые обеспечивают конформационную стабильность потенциально амилоидогенных белков, может быть непосредственной причиной развития нейродегенерации. Например, мутации в гене *PARK7 (DJ-1)* ассоциированы с быстро текущей наследственной формой БП с относительно ранним началом. Многочисленные свидетельства указывают на то, что именно дисфункция белка DJ-1 приводит к развитию нейро-

дегенерации [19]. По своей структуре DJ-1 сходен с Hsp31, молекулярным шапероном *Escherichia coli*. Это редокс-чувствительный белок, обладающий антиоксидантной, РНК-связывающей, противоапоптотической и шаперонной активностями [92, 93]. Шапероны Hsp70 и Hsp40 выявлены у больных хореей Гентингтона в составе образованных агрегированным гентингином патологических отложений [94], а также в составе телец Леви при некоторых формах БП [95]. У мышей линии R6/1, моделирующих хореею Гентингтона, удаление генов двух шаперонных белков, Hsp70.1 и Hsp70.3, сопровождается ускорением прогрессии нейродегенеративного процесса: раньше развивается неврологическая симптоматика, снижается продолжительность жизни, гентингин-реактивные включения у таких животных значительно крупнее [96].

Убиквитин-протеасомная система (УПС) (рис. 2б) может распознавать и удалять как сами амилоидогенные белки с aberrантной конформацией, так, по-видимому, и промежуточные продукты патогенной белковой агрегации — растворимые олигомеры и протофибриллы [97]. В качестве примера того, что нарушение функции УПС служит непосредственной причиной развития заболевания, можно привести ювенильную наследственную форму БП, при которой обнаруживаются мутации в гене *PARKIN*, кодирующем один из типов убиквитин-лигазы [98]. В результате дефекта УПС в дофаминергических нейронах накапливается большое количество токсичных промежуточных продуктов агрегации белков, что приводит к гибели нейронов. Ряд исследователей считает, что эту форму БП не следует относить к протеинопатиям, поскольку отсутствуют характерные гистопатологические структуры — тельца Леви [99]. Однако при данной форме БП повышено содержание  $\alpha$ -синуклеина и его олигомеров в цитоплазме пораженных нейронов, поэтому можно предположить, что это “стремительно” развивающаяся протеинопатия, при которой нейроны не доживают до поздних стадий агрегации белков с образованием включений, а погибают, поскольку не могут противодействовать накоплению в цитоплазме токсичных растворимых олигомеров патогенных белков [99]. Другой классический пример, когда дисфункция УПС ведет к образованию и накоплению амилоидных структур в нейронах, — модельная протеинопатия, которая развивается при специфической инактивации в дофаминергических нейронах убиквитин-зависимой активности УПС путем делеции гена *Psmc1*, кодирующего компонент 26S протеасомы. В нейронах животных с нокаутом этого гена формируются патологические включения, основной компонент которых, как и при БП, — агрегированный  $\alpha$ -синуклеин [100].

Поскольку система шаперонов и УПС (рис. 2а, б) эффективны только на начальных этапах каскада патологической агрегации, когда контролируемой деградации подвергаются либо сами белки с нарушенной структурой, либо олигомеры и протофибриллы, очевидной становится важность других внутриклеточных механизмов, способных утилизировать более крупные продукты белковой агрегации. Изучение аутофагосомно-лизосомной системы (рис. 2в) в модельных протеинопатиях позволило получить доказательства того, что функциональные нарушения этой системы участвуют в механизме развития протеинопатии. Одним из первых прямых указаний на важную функцию аутофагосомной деградации белков стали результаты исследования, проведенного на мышцах с регулируемым нокаутом гена *Atg7*, непосредственно участвующего в сборке мембраны аутофагосомы и других процессах при аутофагии [101]. При инактивации этого гена в нейронах мышцей обнаруживались многочисленные убиквитинированные включения, причем размер белковых включений с возрастом увеличивался. Сходные результаты получены в другой лаборатории для еще одного гена – *Atg5*, также вовлеченного в образование аутофагосом. Подавление функции *Atg5* приводило к развитию у экспериментальных мышечей протеинопатии и неврологического фенотипа [102]. В клинических исследованиях также удалось проанализировать аутофагосомную систему у больных прогрессирующей протеинопатией. Оказалось, что содержание белка *Beclin 1*, участвующего в инициации аутофагии, снижено в тканях головного мозга при БА [103]. В подтверждение этому показано, что у трансгенных мышечей со сверхэкспрессией гена белка-предшественника  $\beta$ -амилоида делеция одного аллеля гена *Beclin 1* повышает скорость образования амилоидных бляшек и накопления морфологически аномальных лизосом, содержащих недеградированный белковый материал [103]. На одном из этапов работы лизосомной системы формируются мультивезикулярные тельца – эндосомы – процесс, который обеспечивается работой трех комплексов ESCRT [104]. Мутации в гене, кодирующем субъединицу *Vps2B* комплекса ESCRT-III, обнаружены при амиотрофическом боковом склерозе и лобно-височной дегенерации. В дальнейшем показали, что все три комплекса абсолютно необходимы для нормальной работы аутофагосомной системы, нарушения в их функционировании приводят к увеличению числа аутофагосом, что, в свою очередь, сопровождается образованием крупных внутриклеточных агрегатов. В состав этих агрегатов входит белок *p62*, который сам по себе участвует в работе аутофагосомной системы, что усугубляет дисфункцию этой системы и, как результат, образование патологических внутриклеточных отложений [104–

106]. Таким образом, при изучении факторов, приводящих к формированию патогенных образований и прогрессии протеинопатии, следует рассматривать и отдельные компоненты системы шаперонов, УПС и аутофагосомно-лизосомной системы.

По мере прогрессии протеинопатии системы контролируемой деградации промежуточных продуктов белковой агрегации уже не могут обеспечивать эффективную утилизацию агрегатов, а внутриклеточная концентрация фибриллярных структур постепенно увеличивается. Как уже отмечалось выше, зрелые фибриллы, упакованные в специфические структуры (тельца, включения, бляшки и т.п.), по-видимому, не обладают сильным токсическим эффектом, поэтому смещение равновесия реакции в сторону образования зрелых фибрилл и их отложение в форме гистологических структур различного типа является еще одним, и последним, механизмом инактивации наиболее токсичных продуктов агрегации белков. Использование этого защитного механизма позволяет клеткам нервной системы в течение какого-то времени поддерживать свою жизнедеятельность и выполнять необходимые функции. Однако увеличение размеров отложений и их числа в тканях нервной системы на развитых стадиях протеинопатии достигает такого уровня, что становится препятствием для нормального функционирования клеток и приводит к их гибели [107–109].

Подводя итог, необходимо отметить, что системы контролируемой деградации белков, играющие важную роль в развитии и прогрессии протеинопатий, также представляют собой потенциальную мишень для вмешательства в молекулярный патогенез НДЗ и разработки новых препаратов против этих заболеваний.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопление и обобщение большого объема экспериментальных и клинических данных, полученных за последние годы в области изучения механизмов нейродегенерации при ряде заболеваний человека, позволило выделить общее звено патогенеза этой крайне неоднородной группы болезней. Разработка концепции, рассматривающей ряд НДЗ как протеинопатии, внесла неоценимый вклад в понимание механизмов их развития, позволила предложить новую классификацию и начать разработку универсальных терапевтических подходов, основанных на вмешательстве в метаболизм склонных к агрегации белков [110, 111]. Отличительная особенность НДЗ, относящихся к протеинопатиям, – их медленное течение. Долгое время заболевание может протекать в скрытой форме, а клинические признаки нейродегенерации проявляются только на заключительных этапах. Медленное развитие патологического про-

цесса — результат работы целого набора защитных внутриклеточных систем, обеспечивающих длительное функционирование нейронов даже после начала активного процесса патологической агрегации белков. Многие протеинопатии ранее рассматривались как возрастные деменции, болезни “старческого возраста”. Однако патологический процесс часто начинается достаточно рано, а при наследственных формах — уже в перинатальном периоде или сразу после рождения, что свидетельствует о том, что протеинопатии нельзя рассматривать как естественный процесс, сопровождающий старение головного мозга [110, 111]. Протеинопатии — это заболевания, приводящие к развитию дегенеративных процессов в нервной системе, тогда как естественные процессы старения не приводят к развитию таких патологических состояний.

Детальное изучение молекулярно-клеточных процессов, лежащих в основе развития протеинопатий, поиск мишеней для создания лекарственных средств нового типа и использование уже полученных данных для разработки методов ранней диагностики являются важнейшими условиями для успешной профилактики и лечения этих широко распространенных заболеваний. При создании нейропротекторных препаратов нового поколения, действующих непосредственно на патогенез заболевания, все компоненты каскада патологической агрегации ключевых белков протеинопатии можно рассматривать как потенциальные мишени. В настоящее время в стадии разработки находятся препараты, эффективные при протеинопатиях *in vitro* и/или *in vivo*. Здесь, прежде всего, следует отметить отечественный препарат Димебон, способный влиять на формирование и/или стабильность белковых агрегатов [112, 113], а также активатор аутофагии рапамицин [114], ингибитор агрегации APP тамипрозат [115], стабилизатор тау-белка паклитаксел [116] и другие. Очевидно, что прогресс, наметившийся в этом направлении нейрофармакологии, во многом стал возможным благодаря выработке современной концепции патогенеза НДЗ, объединенных общим механизмом, в основе которого лежит патологическая агрегация белков.

Работа поддержана Федеральной целевой программой “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы” (госконтракт №16.11.512.2080), Федеральной целевой программой “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы (госконтракт №02.740.11.0776), ICGEB (грант CRP/RUS08-02), Российским фондом фундаментальных исследований (11-04-12049-ОФИ-М-2011) и программой Президиума Российской академии наук “Молекулярная и клеточная биология”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cummings J.L. 2003. Toward a molecular neuropsychiatry of neurodegenerative diseases. *Ann. Neurol.* **54**, 147–154.
2. Jellinger K.A. 2010. Basic mechanisms of neurodegeneration: a critical update. *J. Cell Mol. Med.* **14**, 57–87.
3. Skovronsky D.M., Lee V.M., Trojanowski J.Q. 2006. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. *Annu. Rev. Pathol.* **1**, 151–170.
4. Kurz A., Perneczky R. 2009. Neurobiology of cognitive disorders. *Curr. Opin. Psychiatry.* **22**, 546–551.
5. Bekris L.M., Mata I.F., Zabetian C.P. 2010. The genetics of Parkinson disease. *J. Geriatr. Psychiatry. Neurol.* **23**, 228–242.
6. Bertram L., Tanzi R.E. 2008. Thirty years of Alzheimer’s disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat. Rev. Neurosci.* **9**, 768–778.
7. See T.M., LaMarre A.K., Lee S.E., Miller B.L. 2010. Genetic causes of frontotemporal degeneration. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* **23**, 260–268.
8. Santpere G., Ferrer I. 2009. LRRK2 and neurodegeneration. *Acta Neuropathol.* **117**, 227–246.
9. Goedert M., Jakes R. 2005. Mutations causing neurodegenerative tauopathies. *Biochim. Biophys. Acta.* **1739**, 240–250.
10. Woodruff-Pak D.S. 2008. Animal models of Alzheimer’s disease: therapeutic implications. *J. Alzheimers Dis.* **15**, 507–521.
11. Bugos O., Bhide M., Zilka N. 2009. Beyond the rat models of human neurodegenerative disorders. *Cell Mol. Neurobiol.* **29**, 859–869.
12. Ferrante R.J. 2009. Mouse models of Huntington’s disease and methodological considerations for therapeutic trials. *Biochim. Biophys. Acta.* **1792**, 506–520.
13. Garringer H.J., Murrell J., D’Adamio L., Ghetti B., Vidal R. 2010. Modeling familial British and Danish dementia. *Brain Struct. Funct.* **214**, 235–244.
14. Klein R.L., Wang D.B., King M.A. 2009. Versatile somatic gene transfer for modeling neurodegenerative diseases. *Neurotox. Res.* **16**, 329–342.
15. Нинкина Н.Н., Устюгов А.А. Бухман В.Л. 2008. Моделирование синуклеинопатий в генетически модифицированных животных — успехи и неудачи. *Молекуляр. биология.* **42**, 840–855.
16. Buchman V.L., Ninkina N. 2008. Modulation of alpha-synuclein expression in transgenic animals for modelling synucleinopathies — is the juice worth the squeeze? *Neurotox. Res.* **14**, 329–341.
17. Telling G.C. 2008. Transgenic mouse models of prion diseases. *Methods Mol. Biol.* **459**, 249–263.
18. Murphy R., Tsai A. 2006. *Misbehaving Proteins*. Protein (Mis)Folding, Aggregation, and Stability. Springer.
19. Tsvetkov P.O., Kulikova A.A., Golovin A.V., et al. 2010. Minimal Zn(2+) binding site of amyloid-β. *Biophys. J.* **99**, L84–86.
20. Ingelsson M., Hyman B.T. 2002. Disordered proteins in dementia. *Ann. Med.* **34**, 259–271.
21. Мальцев А.В., Галзитская О.В. 2010. Образование и участие нано-амилоидов в патогенезе болезни

- Альцгеймера и других амилоидогенных заболеваний. *Биомед. химия*. **56**, 624–638.
22. Singleton A.B., Farrer M., Johnson J., et al. 2003. Alpha-synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*. **302**, 841.
  23. Citron M., Westaway D., Xia W., et al. 1997. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat. Med.* **3**, 67–72.
  24. Cobb N.J., Surewicz W.K. 2009. Prion diseases and their biochemical mechanisms. *Biochemistry*. **48**, 2574–2585.
  25. Angot E., Steiner J.A., Hansen C., et al. 2010. Are synucleinopathies prion-like disorders? *Lancet Neurol*. **9**, 1128–1138.
  26. Cushman M., Johnson B. S., King O.D., et al. 2010. Prion-like disorders: blurring the divide between transmissibility and infectivity. *J. Cell Sci.* **123**, 1191–1201.
  27. Jellinger K.A. 2003. General aspects of neurodegeneration. *J. Neural. Transm. Suppl.* **65**, 101144.
  28. Uversky V.N. 2008. Alpha-synuclein misfolding and neurodegenerative diseases. *Curr. Protein Pept. Sci.* **9**, 507–540.
  29. Adlard P.A., Bush A.I. 2006. Metals and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **10**, 145–163.
  30. Zakharova E.I., Storozheva Z.I., Dudchenko A.M., Kubatiev A.A. 2010. Chronic cerebral ischaemia forms new cholinergic mechanisms of learning and memory. *Int. J. Alzheimers Dis.* 20. doi: 10.4061/2010/954589
  31. Shcherbatykh I., Carpenter D.O. 2007. The role of metals in the etiology of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **11**, 191–205.
  32. Kozin S.A., Zirah S., Rebuffat S., et al. 2001. Zinc binding to Alzheimer's A $\beta$ (1-16) peptide results in stable soluble complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **285**, 959–964.
  33. Kozin S.A., Mezentsev Y.V., Kulikova A.A., et al. 2011. Zinc-induced dimerization of the amyloid- $\beta$  metal-binding domain 1-16 is mediated by residues 11-14. *Mol. Biosyst.* **7**, 1053–1055.
  34. Atwood C.S., Martins R.N., Smith M.A., Perry G. 2002. Senile plaque composition and posttranslational modification of amyloid-beta peptide and associated proteins. *Peptides*. **23**, 1343–1350.
  35. Oueslati A., Fournier M., Lashuel H.A. 2010. Role of post-translational modifications in modulating the structure, function and toxicity of alpha-synuclein: implications for Parkinson's disease pathogenesis and therapies. *Prog. Brain Res.* **183**, 115–145.
  36. Martin L., Latypova X., Terro F. 2011. Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* **58**, 458–471.
  37. Zirah S., Kozin S.A., Mazur A.K., et al. 2006. Structural changes of region 1-16 of the Alzheimer disease amyloid beta-peptide upon zinc binding and *in vitro* aging. *J. Biol. Chem.* **281**, 2151–2161.
  38. Tsvetkov P.O., Popov I.A., Nikolaev E.N., et al. 2008. Isomerization of the Asp7 residue results in zinc-induced oligomerization of Alzheimer's disease amyloid beta(1-16) peptide. *Chembiochem.* **9**, 1564–1567.
  39. Saha A.R., Ninkina N.N., Hanger D.P., et al. 2000. Induction of neuronal death by alpha-synuclein. *Eur. J. Neurosci.* **12**, 3073–3077.
  40. Caughey B., Lansbury P.T. 2003. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu. Rev. Neurosci.* **26**, 267–298.
  41. Stefanova N., Reindl M., Neumann M., et al. 2005. Oxidative stress in transgenic mice with oligodendroglial alpha-synuclein overexpression replicates the characteristic neuropathology of multiple system atrophy. *Am. J. Pathol.* **166**, 869–876.
  42. Behl C., Davis J.B., Lesley R., Schubert D. 1994. Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell*. **77**, 817–827.
  43. Tanaka Y., Engelender S., Igarashi S., et al. 2001. Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. *Hum. Mol. Genet.* **10**, 919–926.
  44. Kaye R., Head E., Thompson J.L., et al. 2003. Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science*. **300**, 486–489.
  45. Kabashi E., Valdmanis P.N., Dion P., et al. 2008. TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Genet.* **40**, 572–574.
  46. Vance C., Rogelj B., Hortobagyi T., et al. 2009. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science*. **323**, 1208–1211.
  47. Kwiatkowski T.J., Bosco D.A., Leclerc A.L., et al. 2009. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. **323**, 1205–1208.
  48. Mackenzie I.R., Neumann M., Bigio E.H., et al. 2009. Nomenclature for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: consensus recommendations. *Acta Neuropathol.* **117**, 15–18.
  49. Hicks G.G., Singh N., Nashabi A., et al. 2000. Fus deficiency in mice results in defective B-lymphocyte development and activation, high levels of chromosomal instability and perinatal death. *Nat. Genet.* **24** (2), 175–179.
  50. Cook C., Zhang Y.J., Xu Y.F., et al. 2008. TDP-43 in neurodegenerative disorders. *Exp. Opin. Biol. Ther.* **8** (7), 969–978.
  51. Iguchi Y., Katsuno M., Niwa J., et al. 2009. TDP-43 depletion induces cell damage through dysregulation of Rho family GTPases. *J. Biol. Chem.* **284** (33), 22059–22066.
  52. Ninkina N., Papachroni K., Robertson D.C., et al. 2003. Neurons expressing the highest levels of gamma-synuclein are unaffected by targeted inactivation of the gene. *Mol. Cell Biol.* **23**, 8233–8245.
  53. Sailer A., Büeler H., Fischer M., et al. 1994. No propagation of prions in mice devoid of PrP. *Cell*. **77** (7), 967–968.
  54. Anwar S., Peters O., Millership S., et al. 2011. Functional alterations to the nigrostriatal system in mice

- lacking all three members of the synuclein family. *J. Neurosci.* **31**, 7264–7274.
55. Weyer S.W., Klevanski M., Delekate A., et al. 2011. APP and APLP2 are essential at PNS and CNS synapses for transmission, spatial learning and LTP. *EMBO J.* **30** (11), 2266–2280.
  56. Senior S.L., Ninkina N., Deacon R., et al. 2008. Increased striatal dopamine release and hyperdopaminergic-like behaviour in mice lacking both alpha-synuclein and gamma-synuclein. *Eur. J. Neurosci.* **27**, 947–957.
  57. Baka I.D., Ninkina N.N., Pinon L.G., et al. 1996. Intracellular compartmentalization of two differentially spliced s-rex/NSP mRNAs in neurons. *Mol. Cell Neurosci.* **7**, 289–303.
  58. Greten-Harrison B., Polydoro M., Tomita M.M., et al. 2010.  $\alpha\beta\gamma$ -Synuclein triple knockout mice reveal age-dependent neuronal dysfunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 19573–19578.
  59. Buchman V.L., Adu J., Pinon L.G.P., et al. 1998. Peryn, a member of the synuclein family, influences neurofilament network integrity. *Nat. Neurosci.* **1**, 101–103.
  60. Nguyen J.V., Soto I., Kim K.Y., et al. 2011. Myelination transition zone astrocytes are constitutively phagocytic and have synuclein dependent reactivity in glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **108**, 1176–1181.
  61. Fändrich M. 2007. On the structural definition of amyloid fibrils and other polypeptide aggregates. *Cell Mol. Life Sci.* **64**, 2066–2078.
  62. Sipe J.D., Benson M.D., Buxbaum J.N., et al. 2010. Amyloid fibril protein nomenclature: 2010 recommendations from the nomenclature committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid.* **17** (3–4), 101–104.
  63. Lührs T., Ritter C., Adrian M., et al. 2005. 3D structure of Alzheimer's amyloid-beta(1-42) fibrils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 17342–17347.
  64. Petkova A.T., Ishii Y., Balbach J.J., et al. 2002. A structural model for Alzheimer's beta -amyloid fibrils based on experimental constraints from solid state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **99**, 16742–16747.
  65. Iwata K., Fujiwara T., Matsuki Y., et al. 2006. 3D structure of amyloid protofilaments of beta2-microglobulin fragment probed by solid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 18119–18124.
  66. Shewmaker F., Wickner R.B., Tycko R. 2006. Amyloid of the prion domain of Sup35p has an in-register parallel beta-sheet structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 19754–19759.
  67. Nelson R., Sawaya M. R., Balbirnie M., et al. 2005. Structure of the cross-beta spine of amyloid-like fibrils. *Nature.* **435**, 773–778.
  68. Chiti F., Dobson C.M. 2006. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annu. Rev. Biochem.* **75**, 333–366.
  69. Tycko R. 2011. Solid-state NMR studies of amyloid fibril structure. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **62**, 279–299.
  70. Guijarro J.I., Sunde M., Jones J.A., et al. 1998. Amyloid fibril formation by an SH3 domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 4224–4228.
  71. Fowler D.M., Koulov A.V., Alory-Jost C., et al. 2006. Functional amyloid formation within mammalian tissue. *PLoS Biol.* **4**, e6.
  72. Saupé S.J. 2007. A short history of small s, a prion of the fungus *Podospora anserina*. *Prion.* **1**, 110–115.
  73. Wang X., Hammer N.D., Chapman M.R. 2008. The molecular basis of functional bacterial amyloid polymerization and nucleation. *J. Biol. Chem.* **283**, 21530–21539.
  74. Bemporad F., Calloni G., Campioni S., et al. 2006. Sequence and structural determinants of amyloid fibril formation. *Acc. Chem. Res.* **39**, 620–627.
  75. Heise H., Hoyer W., Becker S., et al. 2005. Molecular-level secondary structure, polymorphism, and dynamics of full-length  $\alpha$ -synuclein fibrils studied by solid state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 15871–15876.
  76. Madine J., Copland A., Serpell L. C., Middleton D. A. 2009. Cross-beta spine architecture of fibrils formed by the amyloidogenic segment NFGSVQFV of medin from solid-state NMR and X-ray fiber diffraction measurements. *Biochemistry.* **48**, 3089–3099.
  77. Luca S., Yau W. M., Leapman R., Tycko R. 2007. Peptide conformation and supramolecular organization in amylin fibrils: constraints from solid state NMR. *Biochemistry.* **46**, 13505–13522.
  78. Paravastu A.K., Petkova A.T., Tycko R. 2006. Polymorphic fibril formation by residues 10–40 of the Alzheimer's  $\beta$ -amyloid peptide. *Biophys. J.* **90**, 4618–4629.
  79. Verel R., Tomka I.T., Bertozzi C., et al. 2008. Polymorphism in an amyloidlike fibril-forming model peptide. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **47**, 5842–5845.
  80. Petkova A.T., Leapman R.D., Guo Z.H., et al. 2005. Self-propagating, molecular-level polymorphism in Alzheimer's  $\beta$ -amyloid fibrils. *Science.* **307**, 262–265.
  81. Sawaya M.R., Sambashivan S., Nelson R., et al. 2007. Atomic structures of amyloid cross- $\beta$  spines reveal varied steric zippers. *Nature.* **447**, 453–457.
  82. Lesné S., Koh M.T., Kotilinek L., et al. 2006. A specific amyloid- $\beta$  protein assembly in the brain impairs memory. *Nature.* **440**, 352–357.
  83. Shankar G.M., Li S., Mehta T.H., et al. 2008. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat. Med.* **14**, 837–842.
  84. Hardy J., Selkoe D.J. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science.* **297**, 353–356.
  85. Paravastu A.K., Qahwash I., Leapman R.D., et al. 2009. Seeded growth of  $\beta$ -amyloid fibrils from Alzheimer's brain-derived fibrils produces a distinct fibril structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 7443–7448.
  86. Geser F., Martinez-Lage M., Kwong L.K., et al. 2009. Amyotrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia and beyond: the TDP-43 diseases. *J. Neurol.* **256**, 1205–1214.
  87. Galpern W.R., Lang A.E. 2006. Interface between tauopathies and synucleinopathies: a tale of two proteins. *Ann. Neurol.* **59**, 449–458.
  88. Alafuzoff I., Parkkinen L., Al-Sarraj S., et al. 2008. Assessment of alpha-synuclein pathology: a study of the

- BrainNet Europe Consortium. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **67**, 125–143.
89. Kovacs G.G., Alafuzoff I., Al-Sarraj S., et al. 2008. Mixed brain pathologies in dementia: the BrainNet Europe consortium experience. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **26**, 343–350.
90. Dohm C.P., Kermer P., Bähr M. 2008. Aggregopathy in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic implication. *Neurodegener. Dis.* **5**, 321–338.
91. Bossy-Wetzell E., Schwarzenbacher R., Lipton S.A. 2004. Molecular pathways to neurodegeneration. *Nat. Med.* **10 Suppl**, S2–9.
92. Su H., Wang X. 2010. The ubiquitin-proteasome system in cardiac proteinopathy: a quality control perspective. *Cardiovasc. Res.* **85**, 253–262.
93. Guo P.C., Zhou Y.Y., Ma X.X., Li W.F. 2010. Structure of Hsp33/YOR391Cp from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.* **66**, 1557–1561.
94. Chai Y., Koppenhafer S.L., Bonini N.M., Paulson H.L. 1999. Analysis of the role of heat shock protein (Hsp) molecular chaperones in polyglutamine disease. *J. Neurosci.* **19**, 10338–10347.
95. McNaught K.S., Shashidharan P., Perl D.P., et al. 2002. Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. *Eur. J. Neurosci.* **16**, 2136–2148.
96. Wacker J.L., Huang S.Y., Steele A.D., et al. 2009. Loss of Hsp70 exacerbates pathogenesis but not levels of fibrillar aggregates in a mouse model of Huntington's disease. *J. Neurosci.* **29**, 9104–9114.
97. Lehman N.L. 2009. The ubiquitin proteasome system in neuropathology. *Acta Neuropathol.* **118**, 329–347.
98. Shadrina M.I., Semenova E.V., Slominsky P.A., et al. 2007. Effective quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of the parkin gene (PARK2) exon 1-12 dosage. *BMC Med. Genet.* **8**, 6.
99. Hardy J., Lewis P., Revesz T., et al. 2009. The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **19**, 254–265.
100. Bedford L., Hay D., Devoy A., et al. 2008. Depletion of 26S proteasomes in mouse brain neurons causes neurodegeneration and Lewy-like inclusions resembling human pale bodies. *J. Neurosci.* **28**, 8189–8198.
101. Komatsu M., Waguri S., Chiba T., et al. 2006. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature.* **441**, 880–884.
102. Pickford F., Masliah E., Britschgi M., et al. 2008. The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. *J. Clin. Invest.* **118**, 2190–2199.
103. Hara T., Nakamura K., Matsui M., et al. 2006. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature.* **441**, 885–889.
104. Mijaljica D., Prescott M., Devenish R.J. 2007. Different fates of mitochondria: alternative ways for degradation? *Autophagy.* **3**, 4–9.
105. Rusten T.E., Filimonenko M., Rodahl L.M., et al. 2008. ESCRTing autophagic clearance of aggregating proteins. *Autophagy.* **4** (2), 233–236.
106. Lee S.J., Kim S.J., Kim I.K., et al. 2003. Crystal structures of human DJ-1 and *Escherichia coli* Hsp31, which share an evolutionarily conserved domain. *J. Biol. Chem.* **278**, 44552–44559.
107. Braak H., Alafuzoff I., Arzberger T., et al. 2006. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol.* **112**, 389–404.
108. Ninkina N., Peters O., Millership S., et al. 2009. Gamma-synucleinopathy: neurodegeneration associated with overexpression of the mouse protein. *Hum. Mol. Genet.* **18**, 1779–1794.
109. Goedert M., Clavaguera F., Tolnay M. 2010. The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci.* **33**, 317–325.
110. Khachaturian Z.S., Snyder P.J., Doody R. 2009. A roadmap for the prevention of dementia II: Leon Thal Symposium 2008. *Alzheimers Dement.* **5**, 85–92.
111. Smith C.U. 2009. Chapter 24. The coming of molecular biology and its impact on clinical neurology. *Handb. Clin. Neurol.* **95**, 361–372.
112. Бачурин С.О., Устюгов А.А., Петерс О., и др. 2009. Блокада нейродегенеративных процессов, вызванных протеинопатией, как новый механизм действия нейропротекторных и когнитивно-стимулирующих препаратов. *ДАН.* **428**, 262–265.
113. Yamashita M., Nonaka T., Arai T., et al. 2009. Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Lett.* **583**, 2419–2424.
114. Menzies F.M., Rubinsztein D.C. 2010. Broadening the therapeutic scope for rapamycin treatment. *Autophagy.* **6**, 286–287.
115. Gervais F., Paquette J., Morissette C., et al. 2007. Targeting soluble A $\beta$  peptide with Tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. *Neurobiol. Aging.* **28**, 537–547.
116. Shemesh O.A., Spira M.E. 2011. Rescue of neurons from undergoing hallmark tau-induced Alzheimer's disease cell pathologies by the antimetabolic drug paclitaxel. *Neurobiol. Dis.* **43**, 163–175.