На правах рукописи



СУХАНОВА ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА

РОЛЬ НЕДОСТАТОЧНОСТИ БЕЛКА ГАММА-СИНУКЛЕИНА В НАРУШЕНИИ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, СВЯЗАННЫХ С НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Специальность 1.5.4. – Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Черноголовка – 2026

Работа выполнена в лаборатории молекулярно-генетических механизмов нейродегенерации Института физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН)

Научный руководитель: **Кухарский Михаил Сергеевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических механизмов нейродегенерации Института физиологически активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН

Официальные оппоненты: **Латанов Александр Васильевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой высшей нервной деятельности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва

Помыткин Игорь Анатольевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 22 декабря 2026 г. в 15 час. 00 мин. на заседании Диссертационного совета 24.1.108.03 на базе ФГБУН Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук по адресу 142432, Черноголовка, Московская область, Северный проезд, 1, зал Ученого совета.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФИЦ ПХФ и МХ РАН https://icp-ras.ru. Текст автореферата размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу https://vak.gisnauka.ru/.

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета
24.1.108.03 при ФИЦ ПХФ и МХ РАН,
кандидат биологических наук Аникина Л.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Синуклеины – высококонсервативные цитозольные белки, участвующие в регуляции синаптической передачи в нервной системе. Семейство состоит из трёх гомологичных белков α-, β- и γ-синуклеина. Все три члена семейства обнаруживаются в нервной системе и имеют перекрывающиеся паттерны экспрессии. Несмотря на сходство в строении трёх белков, между ними существуют функциональные различия, которые остаются не до конца понятными. Белок α-синуклеин активно изучается в связи с его вовлеченностью в патогенез нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), в частности, он является основным компонентом патологических белковых отложений – телец Леви при болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, а также обнаруживается в сенильных бляшках при болезни Альцгеймера (БА). Отложения γ-синуклеина в нервной системе выявляются при боковом амиотрофическом склерозе и деменции с тельцами Леви. Помимо этого, γ-синуклеин связан с опухолевой трансформацией клеток. Для β-синуклеина принято считать, что он не склонен к патогенной агрегации с образованием отложений по причине отсутствия в его структуре NAC-домена. Однако имеющиеся данные указывают на то, что он может влиять на агрегацию α-синуклеина, подавляя ее, а также, наряду с другими синуклеинами, участвует в регуляции обмена дофамина в синапсах.

Большое значение при изучении функций синуклеинов имеют линии мышей с инактивированными (нокаутными) генами, кодирующими данные белки. Первые проведенные исследования показали, что отсутствие синуклеинов не является фатальным для общей жизнедеятельности организма. Однако у нокаутных животных обнаруживались отклонения в функционировании нервной системы, в частности, в регуляции дофаминергической нейротрансмиссии. Постепенное накопление, на первый взгляд, неявных функциональных дефектов нервной системы является характерным процессом при старении, поэтому незначительные для нервной системы взрослых мышей пагубные последствия потери функций одного или нескольких синуклеинов могут становиться значимыми для стареющих животных. Такой механизм может реализовываться при нейродегенеративных состояниях, характеризующихся истощением функционального пула синуклеинов из-за их интенсивной агрегации и «запирания» в составе патологических включений.

Несмотря на то, что о способности γ-синуклеина агрегировать и участвовать в развитии нейродегенеративных патологий известно уже довольно давно, его функциональное значение для нервной системы в норме остаётся мало изученным. Помимо участия в регуляции передачи

сигналов в синапсах, γ-синуклеин также привлекает внимание как потенциальный биомаркер НДЗ. Повышенное содержание γ-синуклеина в спинномозговой жидкости отмечено у пациентов с БА и Крейтцфельдта-Якоба. Однако остаётся неясным, как нарушение функций самого γ-синуклеина в центральной нервной системе может влиять на периферические показатели организма и можно ли определить наличие таких нарушений неинвазивными методами.

Цель и задачи исследования:

Цель исследования: установление специфической роли γ-синуклеина в функционировании нервной системы и развитии нейродегенеративных процессов на основании экспериментального моделирования нарушения его функций у лабораторных животных и анализа биологических жидкостей пациентов.

Задачи:

1. Оценить влияние потери функции (генетического нокаута) γ-синуклеина в сравнении с другими членами семейства синуклеинов на продолжительность жизни мышей;
2. Охарактеризовать изменения моторных функций и поведенческих реакций у мышей с инактивацией одного, двух и трёх генов синуклеинов;
3. Оценить влияние дефицита γ-синуклеина на содержание синаптических белков в коре и стриатуме, а также на количество дофаминергических нейронов в чёрной субстанции и вентральной области покрышки;
4. Проанализировать влияние нокаута γ-синуклеина на регуляцию внутриглазного давления и активность α2-макроглобулина в слёзной жидкости у мышей;
5. Определить наличие аутоантител к γ-синуклеину в крови пациентов с глаукомой;
6. Измерить содержание γ-синуклеина в слёзной жидкости и плазме крови пациентов с болезнью Альцгеймера.

Научная новизна работы

В рамках данной научной работы впервые был подробно описан поведенческий фенотип мышей с нокаутом γ-синуклеина и проведено сравнение с животными, нокаутными по двум другим или всем трём членам семейства, а также с животными дикого типа линии C57BL/6J. Также впервые было обнаружено, что отсутствие γ-синуклеина ассоциировано с меньшей продолжительностью жизни у мышей. Примечательно, что у нокаутных животных не наблюдалось изменений в уровне синаптических и везикулярных маркеров, а также в количестве дофаминергических нейронов среднего мозга. Это указывает на то, что γ-синуклеин участвует в

тонкой регуляции и оптимизации работы нервной системы. Была доказана возможность регистрации нарушения функций γ-синуклеина с использованием периферических биомаркеров, источником которых может выступать слеза или физиологические показатели, связанные с регуляцией внутриглазного давления. Полученные данные вносят вклад в формирование фундаментальных знаний о роли синуклеинов, и в частности γ-синуклеина, в функционировании нервной системы и их значении в развитии патологических состояний.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Отсутствие белка γ-синуклеина приводит к специфическим нарушениям моторных функций и поведенческих реакций у мышей, нокаутных по гену *Sncg*, а также снижает их продолжительность жизни;
2. Изменений в дофаминергических структурах среднего мозга, а также в распределении синаптических маркеров у нокаутных по γ-синуклеину мышей не обнаруживается, что указывает на функциональный характер выявленных нарушений;
3. В качестве признаков, связанных с потерей функции γ-синуклеина у мышей, определяются нарушение регуляции внутриглазного давления и снижение активности α2-макроглобулина в слёзной жидкости;
4. Снижение уровня γ-синуклеина и связанные с этим нарушения могут являться признаками наличия нейродегенеративного процесса у человека. Так, у части пациентов с глаукомой в крови выявляются аутоантитела к γ-синуклеину, а у пациентов с болезнью Альцгеймера наблюдается снижение концентрации γ-синуклеина в слёзной жидкости и снижение активности α2-макроглобулина в крови.

Практическая и теоретическая значимость работы

Основное значение полученных результатов заключается в установлении специфической функциональной роли γ-синуклеина в регуляции моторных функций и тревожноподобного поведения, что имеет значение для понимания механизмов развития различных патологий нервной системы. Отдельное значение имеет выявленное впервые влияние потери функции γ-синуклеина на продолжительность жизни мышей, что говорит о значимости наблюдаемых нарушений для жизнедеятельности всего организма. Обнаружение аутоантител к γ-синуклеину у части пациентов с глаукомой, снижение уровня γ-синуклеина в слёзной жидкости пациентов с БА, а также влияние потери его функции на регуляцию внутриглазного давления и уровень α2-макроглобулина в слёзной жидкости у мышей свидетельствует о перспективности использования данных показателей в качестве потенциальных биомаркеров для НДЗ, в развитии которых

участвует γ-синуклеин. Полученные результаты могут послужить основой для разработки диагностических тест-систем. Подробное описание поведенческих, биохимических и гистологических параметров у мышей разного возраста с одиночным, двойным и тройным нокаутом генов синуклеинов может быть использовано в качестве экспериментальной платформы для доклинического тестирования новых нейропротекторных препаратов.

Апробация работы

Результаты работы представлены на российских и международных конференциях в виде устных и стендовых докладов на ежегодных конференциях молодых ученых ИФАВ РАН (Черноголовка, 2020–2024 гг), «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям» (онлайн-конференция, 2021 г), 28-я Международная мультидисциплинарная конференция по нейронаукам и биологической психиатрии «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, 2021 г), European Congress of Neuropsychopharmacology (Lisbon, 2021; Vienna, 2022), «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2022 г), Актуальные проблемы биомедицины (Санкт-Петербург, 2022-2023 гг), «Synuclein meeting» (Leuven, 2022), XIX Международный междисциплинарный конгресс Нейронаука для медицины и психологии (Судак, 2023 г), ХимБиоSeasons (Калининград, 2025 г).

Публикации

Результаты работы опубликованы в 19 печатных работах, в том числе в 4 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК, а также в 15 тезисах докладов научных конференций.

Личный вклад автора

Автором лично были проведены все поведенческие тесты, биохимический и иммуногистохимический анализ, а также описание и оформление всех полученных результатов. Анализ образцов слёзной жидкости и сыворотки крови от пациентов с глаукомой и болезнью Альцгеймера, а также от здоровых людей проводился совместно с сотрудниками НМИЦ ГБ им. Гельмгольца.

Структура и объём работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 146 страницах, иллюстрирована 24 рисунками и 2 таблицами. Список цитируемой литературы включает 290 наименований.

Работа выполнялась в соответствии с планами исследовательских работ лаборатории Молекулярно-генетических механизмов нейродегенерации ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН (рук. д-р. биол. наук Кухарский М.С.) в рамках государственного задания № FFSG-2024-0023.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования

Исходные линии мышей, нокаутных по генам синуклеинов, были любезно предоставлены профессором В. Л. Бухманом: линия JAXMice 028559 B6(Cg)-Snca$^{tm1.2Vlb/J}$ (SncaΔflox, Snca Δflox KO) с конститутивным нокаутом гена *Snca*, линия JAXMice 006390 B6.129-Sncb$^{tm1.1Sud/J}$ с конститутивным нокаутом *Sncb*, линия JAXMice 008843 B6.129P2-Sncg$^{tm1Vlb/J}$ с конститутивным нокаутом *Sncg*. Все нокаутные линии были переведены на генетический фон линии C57BL/6J. Двойной нокаут по α- и β-синуклеину (группа αβ-KO) и тройной нокаут по α-, β- и γ-синуклеину (группа αβγ-KO) были получены в результате скрещивания исходных линий с одиночными нокаутами. Мыши линии C57BL/6J использовались в качестве контрольной группы (WT). Колонии содержались в условиях конвенционального вивария при температуре 22 °C и световом режиме 12/12 день/ночь со свободным доступом к еде и воде.

В работе был использован биоматериал (слёзная жидкость и сыворотка крови) от пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) и условно здоровых добровольцев без глаукомы, наблюдавшихся в НМИЦ ГБ им. Гельмгольца, а также биоматериал (слёзная жидкость и плазма крови) от пациентов с БА и условно здоровых добровольцев без нейродегенеративных заболеваний, наблюдавшихся в ФЦМН ФМБА России.

Методы исследования

Животные всех четырёх экспериментальных групп (γ-KO, αβ-KO, αβγ-KO и WT) в возрасте 6, 13 и 24 месяцев проходили набор стандартных моторных тестов (тест «Сила хватки», «Перевёрнутая сетка», «Ускоряющийся ротарод»), а в 13 месяцев дополнительно оценивали ориентировочно-исследовательскую активность и когнитивные функции в тестах «Открытое поле», «Y-образный лабиринт», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Водный лабиринт Морриса». После завершения поведенческих экспериментов животных содержали в стандартных условиях до естественной смерти для анализа выживаемости.

Для оценки уровней синаптических маркеров (синаптофизин, синапсин IIa, амфифизин) гомогенаты дорсального стриатума и коры исследовали методом вестерн-блоттинга с использованием специфических антител.

Морфогистологический анализ чёрной субстанции (ЧС) и вентральной области покрышки (ВОП) среднего мозга мышей проводился методом иммуногистохимического окрашивания с использованием первичных антител к тирозингидроксилазе (ТГ), вторичных биотинилированных антител и диаминобензидина (ДАБ) в качестве хромогена. Подсчет общего количества ТГ-позитивных нейронов осуществляли вручную с использованием световой микроскопии.

Наличие аутоантител к γ-синуклеину в сыворотке крови пациентов определяли методом иммуноблоттинга: очищенный рекомбинантный человеческий γ-синуклеин разделяли в 14% SDS-ПААГ, переносили на PVDF-мембрану, блокировали, инкубировали с сывороткой (разведение 1:200), а затем с конъюгированными с пероксидазой хрена антителами к человеческому IgG и детектировали с помощью хемилюминесцентного набора. При наличии аутоантител на рентгеновской плёнке регистрировали полосу с молекулярной массой около 17 кДа, соответствующую γ-синуклеину.

Активность α2-макроглобулина определяли в слёзной жидкости мышей ферментативным методом с использованием субстрата Н-бензоил-DL-Аргинин п-нитроанилид гидрохлорида (BAPN). Оптическую плотность измеряли на микропланшетном фотометре Cytation 3 (BioTek, США). Нормализация проводилась на общую концентрацию белка, измеренную по методу Лоури. Активность выражали в нмоль/мин×мл слёзной жидкости и нмоль/мин×мг белка.

Для оценки изменения внутриглазного давления (ВГД) мышам проводили однократную инстилляцию одного из препаратов: 1% Фенилэфрина, 0,5% Тимолола малеат, 1% Пилокарпина, 0,1% Атропина сульфат, 10% дофамина и 0,25% Галоперидола в оба глаза. Внутриглазное давление измеряли автоматическим тонометром Tonovet (Icare Finland Oy, Финляндия) под общей анестезией авертином (200 мг/кг, внутрибрюшинно) до инстилляции, а также через 1 и 2 часа после неё.

Содержание γ-синуклеина в слёзной жидкости и плазме крови определяли с использованием ИФА-набора (CloudClone, Китай) согласно инструкции производителя. Оптическую плотность регистрировали на микропланшетном ридере Cytation 3 (BioTek, США), а концентрацию γ-синуклеина в образцах рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам.

Статистический анализ полученных данных выполняли с помощью программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc, США). Результаты представлены в виде среднего арифметического ± стандартной ошибки среднего. Критический уровень статистической значимости был принят за $p<0.05$. Детали статистического анализа для каждого эксперимента приведены в описании к рисункам.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Фенотипические проявления нарушения функций γ-синуклеина у нокаутных мышей

1.1 Мыши, нокаутные по гену γ-синуклеина, имеют сокращенную продолжительность жизни

Анализ кривых выживаемости (Рис. 1) показал статистически значимое снижение продолжительности жизни у γ-KO мышей и у бессинуклеиновых мышей (αβγ-KO), в то время как у животных с двойным нокаутом αβ-KO продолжительность жизни не отличалась от контрольной группы. Медиана выживаемости, отражающая время, на момент которого 50% животных были живы, для группы γ-KO составила 763 дня, для животных αβγ-KO – 859 дней, для животных αβ-KO – 910 дней, тогда как для группы WT она составила 913 дней. Влияние потери функции синуклеинов, в частности, γ-синуклеина, на такой интегральный показатель, как продолжительность жизни указывает на их важную роль в жизнедеятельности организма.

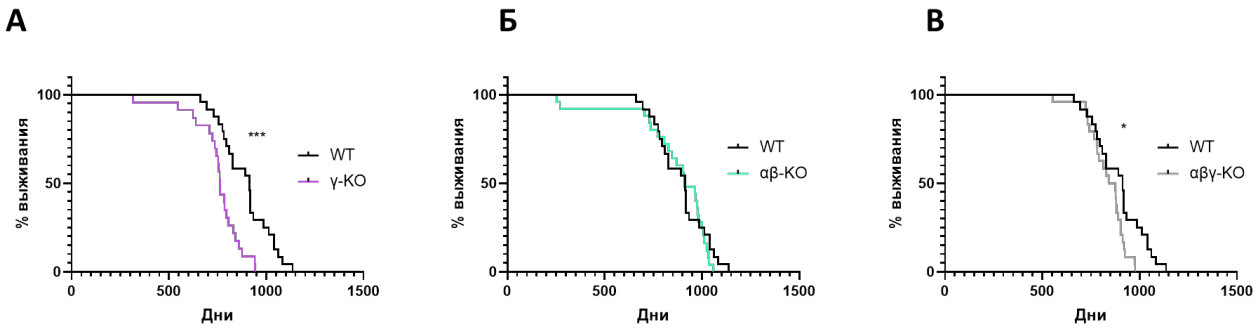


Рис. 1. Кривые выживаемости животных нокаутных по γ-синуклеину (γ-KO) (А), двойных нокаутов по α- и β-синуклеину (αβ-KO) (Б) и бессинуклеиновых животных с тройным нокаутом синуклеинов (αβγ-KO) (В). Статистический анализ производился при помощи теста Мантела-Кокса. * – $p<0.05$; *** – $p<0.001$.

1.2 Мыши, нокаутные по гену γ-синуклеина, демонстрируют снижение мышечной силы

Был проведен сравнительный анализ моторных функций и некоторых поведенческих реакций у экспериментальных групп мышей в сравнении с WT животными. Для этого использовали следующий набор тестов: «Сила хватки», «Перевернутая сетка» и «Ускоряющийся ротарод».

На первом этапе исследования животные были протестированы в возрасте 6 месяцев, что соответствует взрослому половозрелому состоянию у мышей. По результатам теста «Сила хватки» было выявлено снижение силы передних конечностей в группах γ-KO и αβγ-KO мышей по сравнению с WT животными (Рис. 2А). Мыши αβ-KO, экспрессирующие только γ-синуклеин, не отличались от контроля. В целом, снижение силы хватки для животных, лишённых γ-синуклеина (γ-KO и αβγ-KO мыши), составило около 30% относительно значений контрольной группы. Таким образом, потеря функции только одного γ-синуклеина влияет на мышечную силу, которую способны развивать животные, тогда как другие синуклеины, по-видимому, не играют значимой роли для регуляции этих функций.

По результатам теста «Перевернутая сетка» не было выявлено статистически значимых различий между экспериментальными группами, хотя и наблюдалась некоторая тенденция к уменьшению времени удержания на сетке у γ-KO мышей (Рис. 2Б). Можно заключить, что нарушений в кратковременной мышечной выносливости в условиях возможности переноса усилия с одной конечности на другую и их координации у нокаутных по синуклеинам животных данного возраста не выявляется.

При проведении теста «Ускоряющийся ротарод» было выявлено снижение времени падения со стержня у αβ-KO мышей по сравнению с животными дикого типа (время до падения снижено на 28%), что может свидетельствовать о нарушении координации или снижении выносливости у этих животных (Рис. 2В). Вместе с этим γ-KO мыши продемонстрировали такие же результаты, как и животные дикого типа. Таким образом, координация движений и выносливость больше зависят от присутствия в нервной системе α- и β-синуклеинов, чем γ-синуклеина. Мыши αβγ-KO, напротив, продемонстрировали большее время удержания, что может быть связано с компенсацией утраты всех трёх белков семейства либо с общей гиперактивностью этих мышей (см. далее).

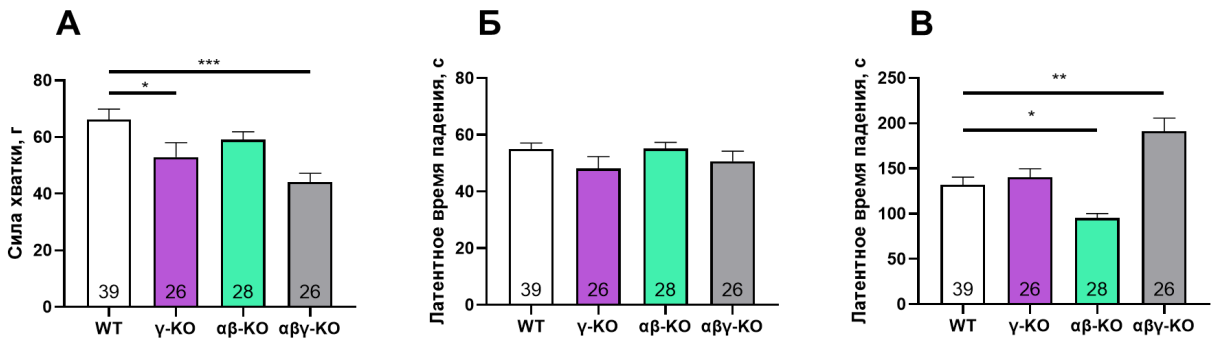


Рис. 2. Моторные функции 6-месячных мышей, нокаутных по генам синуклеинов, в сравнении с животными дикого типа. Тест «Сила хватки» (А), тест «Перевернутая сетка» (Б), тест «Ускоряющийся ротарод» (В). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения. Обозначения: * – $p<0.05$; ** – $p<0.01$; *** – $p<0.001$. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

На следующем этапе экспериментальные животные были протестированы в 13 месяцев, что соответствует среднему возрасту для мышей. В тесте «Сила хватки» у 13-месячных животных так же, как и у 6-месячных было выявлено снижение силы хватки в группах мышей γ-KO и αβγ-KO (Рис. 3А). Мыши αβ-KO не отличались от группы контроля. В тесте «Перевернутая сетка», в отличие от более молодых животных, наблюдалось уже статистически достоверное уменьшение времени до падения у мышей γ-KO, тогда как группы αβ-KO и αβγ-KO не отличались от WT (Рис. 3Б). Это указывает на постепенную прогрессию ухудшения моторных функций у γ-KO мышей. В тесте «Ускоряющийся ротарод» отмечалась тенденция к снижению времени удержания на стержне только для группы αβ-KO, тогда как для αβγ-KO мышей, в отличие от 6-месячных животных, не было зафиксировано достоверного повышения этого показателя (Рис. 3В).

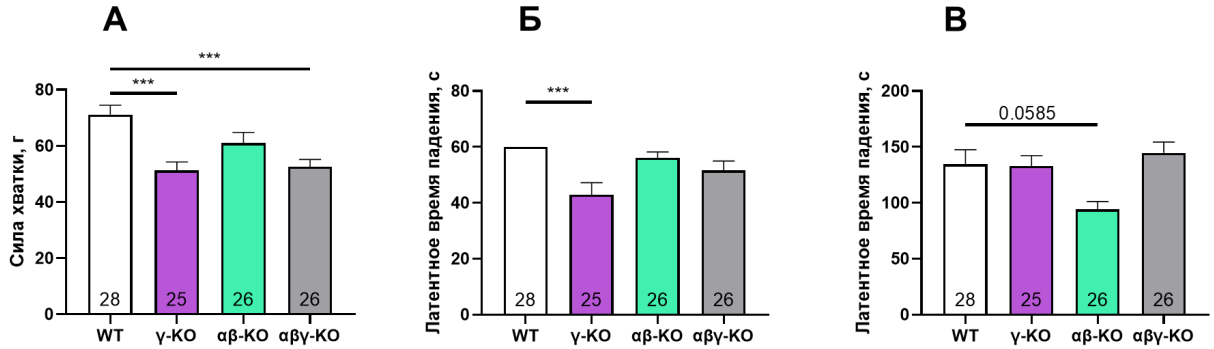


Рис. 3. Моторные функции 13-месячных мышей, нокаутных по генам синуклеинов, в сравнении с животными дикого типа. Тест «Сила хватки» (А), тест «Перевернутая сетка» (Б), тест

«Ускоряющийся ротарод» (В). Данные представлены в виде среднего арефметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения. Обозначения: *** – $p<0.001$; в отдельных случаях точное значение p указано на графике. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

Следующая временная точка тестирования составила 24 месяца, что соответствует периоду старения у мышей. В данном возрасте уже не регистрировалось снижение мышечной силы у γ-KO мышей в сравнении с контрольными животными в тесте «Сила хватки», тогда как у тройных нокаутов различия сохранялись (Рис. 4А). Стоит отметить, что у стареющих WT мышей (24 месяца) мышечная сила была снижена в сравнении с протестированными ранее возрастными группами ($p=0.0040$, анализ смешанных эффектов с поправкой Тьюки на множественное сравнение, для 13 и 24 месяцев), что, по-видимому, связано с естественным процессом старения этих животных. Очевидно, что отсутствие γ-синуклеина снизило мышечную силу в молодом возрасте, но не способствовало дальнейшему ухудшению этих показателей по мере старения, тогда как нокаут всех трёх синуклеинов оказал более выраженный негативный эффект. В то же время наблюдалась прогрессия в ухудшении показателей при выполнении теста «Перевернутая сетка» у всех нокаутных групп мышей по сравнению с контрольными животными (Рис. 4Б). В тесте «Ускоряющийся ротарод», как и у 6-месячных животных, наблюдалось увеличение времени удержания у αβγ-KO мышей. Мыши с одиночным и двойным нокаутом синуклеинов в данном тесте не отличались от контрольных животных (Рис. 4В). Так же, как и в случае с силой хватки, для контрольных животных в данном тесте наблюдалось снижение абсолютных значений регистрируемого параметра по мере старения ($p=0.0044$, анализ смешанных эффектов с поправкой Тьюки на множественное сравнение, для 13 и 24 месяцев).

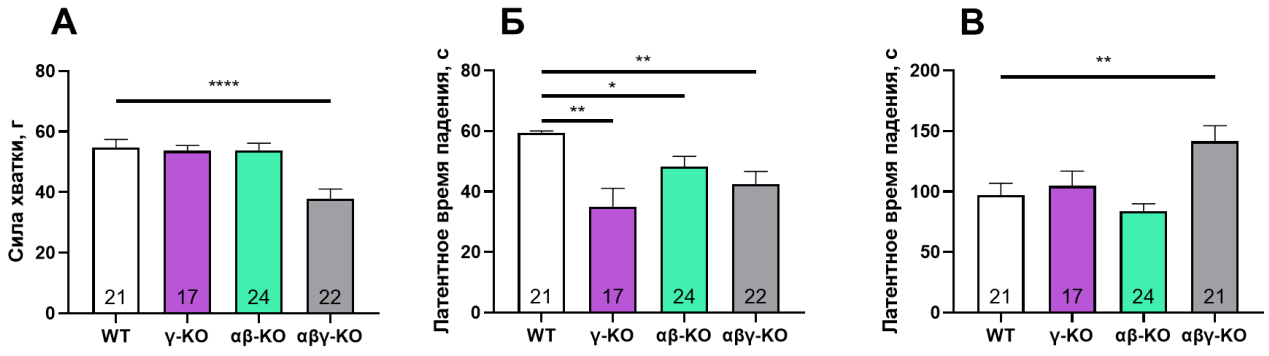


Рис. 4. Моторные функции 24-месячных мышей, нокаутных по генам синуклеинов, в сравнении с животными дикого типа. Тест «Сила хватки» (А), тест «Перевернутая сетка» (Б), тест

«Ускоряющийся ротарод» (В). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения (Б) и однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Даннетта на множественное сравнение (А, В). Обозначения: * – $p<0.05$; ** – $p<0.01$; **** – $p<0.0001$. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

1.3 Мыши, нокаутные по гену γ-синуклеина, демонстрируют снижение тревожноподобного поведения и не имеют нарушений памяти

Для того чтобы выявить, на какие еще поведенческие реакции, кроме двигательной активности, может влиять потеря функции γ-синуклеина была проведена серия поведенческих тестов для характеристики общего состояния нервной системы и некоторых функций высшей нервной деятельности в среднем возрасте (13 месяцев).

Первым в этой серии был проведен тест «Открытое поле». Анализ поведения животных в «Открытом поле» показал, что общая двигательная и исследовательская активность не изменена у γ-KO мышей. На это указывают такие параметры, как «общая пройденная дистанция» и «количество входов в центр арены», которые не отличались от аналогичных показателей контрольной группы (Рис. 5А, В). В то же время у двойных нокаутов αβ-KO, а также у тройных нокаутов αβγ-KO оба этих показателя были значимо выше в сравнении с группой WT. Интересно, что такая гиперактивность подтверждает результаты моторных тестов для тройных нокаутов, в то время как у двойных нокаутов она проявилась только в «Открытом поле». Возможно, что для αβ-KO в данном случае более выражен компонент исследовательской активности, чем только двигательной. На это косвенно указывает тенденция к увеличению времени, проведённого в центре арены, именно у двойных нокаутов в сравнении с другими группами (Рис. 5Б).

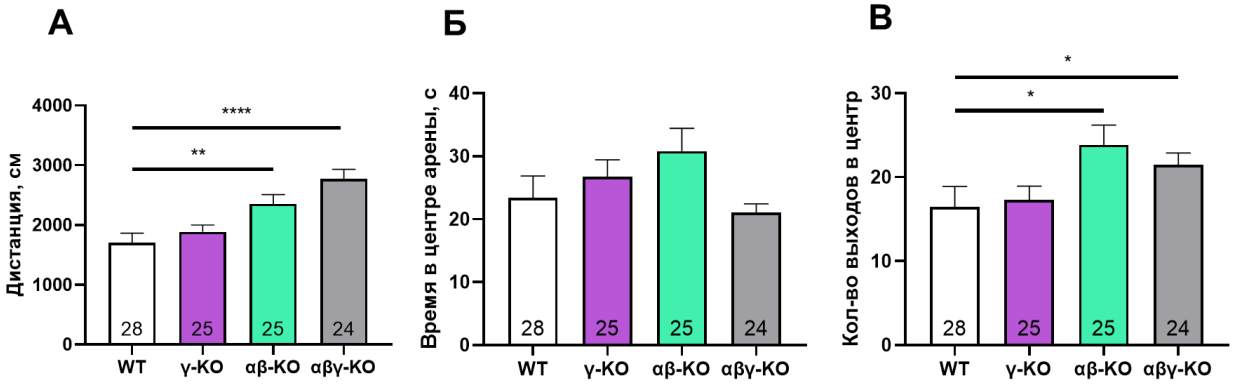


Рис. 5. Тест «Открытое поле» 13-месячных мышей, нокаутных по генам синуклеинов, в сравнении с животными дикого типа: средняя дистанция (А), количество времени, проведённого в центре

арены (Б), количество выходов в центр арены (В). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения (Б, В) и однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Даннетта на множественное сравнение (А). Обозначения: * – $p<0.05$; ** – $p<0.01$; **** – $p<0.0001$. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

Для анализа кратковременной памяти использовали тест «Y-образный лабиринт». Различий между группами по параметру «посещение нового рукава лабиринта» выявлено не было, и все животные продемонстрировали повышенный интерес (более 40%) к неисследованному ранее рукаву (Рис. 6Б). Это свидетельствует об отсутствии нарушений кратковременной памяти у всех протестированных животных. В данном тесте также отмечался гиперактивный фенотип у животных с тройным и двойным нокаутом синуклеинов, о чём свидетельствует увеличение общей пройденной дистанции за время теста (Рис. 6А), что согласуется с результатами, полученными в тесте «Открытое поле».

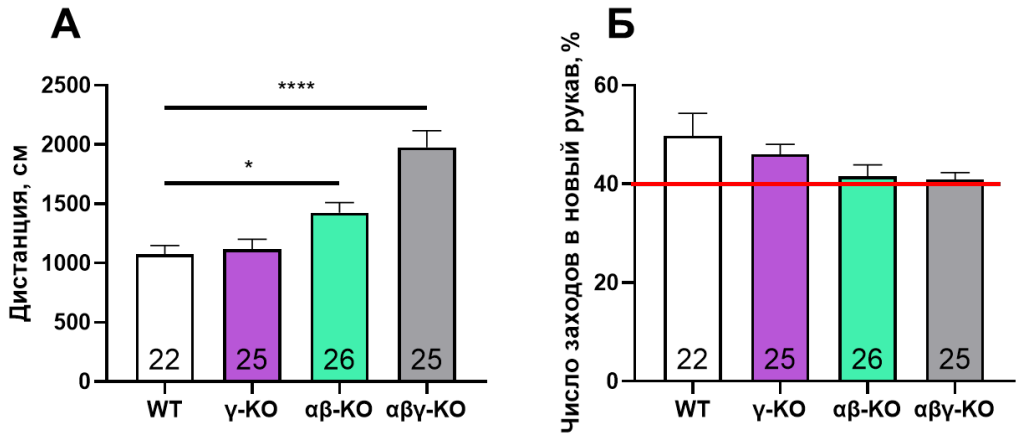


Рис. 6. Тест «Y-образный лабиринт» 13-месячных мышей с нокаутом генов синуклеинов и животных дикого типа: средняя пройденная дистанция (А), доля заходов в «новый» рукав от общего числа посещений рукавов лабиринта (Б). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения (Б) и однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Даннетта на множественное сравнение (А). Обозначения: * – $p<0.05$; **** – $p<0.0001$. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

Для специфической оценки тревожноподобного поведения был проведен тест «Приподнятый крестообразный лабиринт». В результате было показано, что γ-KO, а также αβγ-KO мыши продемонстрировали большее число выходов в открытый, более стрессогенный, рукав установки, что говорит о сниженном уровне тревожности (Рис. 7А). Общее время, проведенное ими в открытом рукаве установки, также было значительно выше, чем у WT мышей (Рис. 7Б). Интересно, что тройные нокауты в данном тесте так же, как и в «Открытом поле», продемонстрировали гиперактивный фенотип, общая пройденная дистанция была значительно выше в данной группе мышей (Рис. 7В).

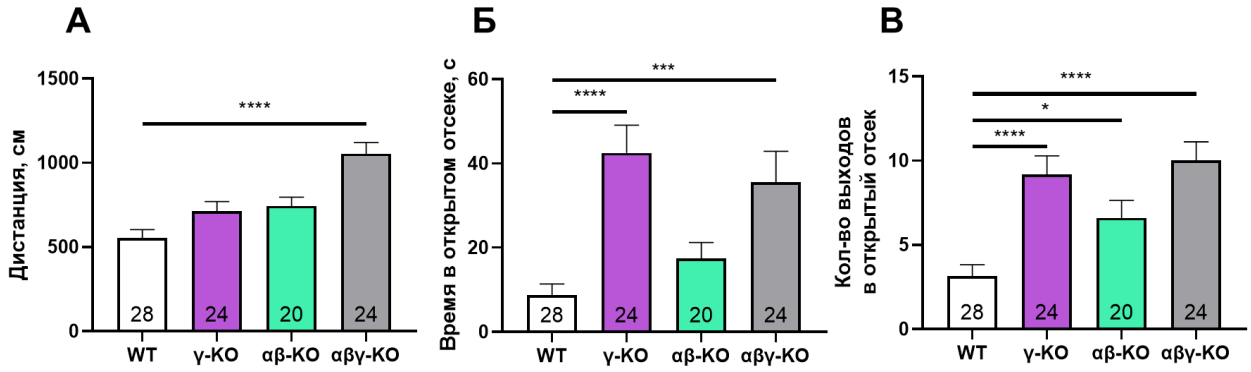


Рис. 7. Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» 13-месячных мышей с нокаутом генов синуклеинов и животных дикого типа: количество выходов в открытые рукава лабиринта (А), время в открытых рукавах лабиринта (Б), средняя пройденная дистанция (В). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественные сравнения (А, Б) и однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Даннетта на множественное сравнение (В). Обозначения: * – $p<0.05$; *** – $p<0.001$; **** – $p<0.0001$. Размер выборки представлен в виде обозначений внутри столбцов.

Это свидетельствует в пользу того, что нарушение функции синуклеинов не имеет прямого накопительного характера, а скорее отражает сложные и разнонаправленные процессы компенсации нервной системой недостатка этих белков. При полном отсутствии синуклеинов, хотя и не наступают фатальные последствия для общей физиологии животного, наблюдаются отклонения в регуляции нервной системой некоторых аспектов поведения, причём не связанных между собой, таких, как моторные функции и психические реакции. Это может говорить о неперекрываемости функций разных синуклеинов и их влиянии на работу разных медиаторных систем в мозге.

1.4 Конститутивное отсутствие синуклеинов в нервной системе не нарушает структуру синапсов и морфологию дофаминергической системы головного мозга

Учитывая роль синуклеинов в регуляции дофаминергической нейротрансмиссии, а также выявленные изменения моторного поведения, следующим этапом исследования стала оценка состояния дофаминергических структур среднего мозга. С этой целью был проведён иммуногистохимический анализ срезов головного мозга 13-месячных мышей с использованием антител к тирозингидроксилазе (ТГ) – ферменту, лимитирующему скорость синтеза катехоламинов и широко используемому в качестве маркера дофаминергических нейронов.

Для оценки возможных морфологических изменений определяли количество ТГ-позитивных нейронов в компактной части ЧС и ВОП. Морфометрический анализ не выявил статистически значимых различий между контрольной и нокаутными группами (Рис. 8), что свидетельствует об отсутствии выраженного снижения количества дофаминергических нейронов в исследованных структурах среднего мозга. Репрезентативные микрофотографии исследованных областей представлены на рис. 9.

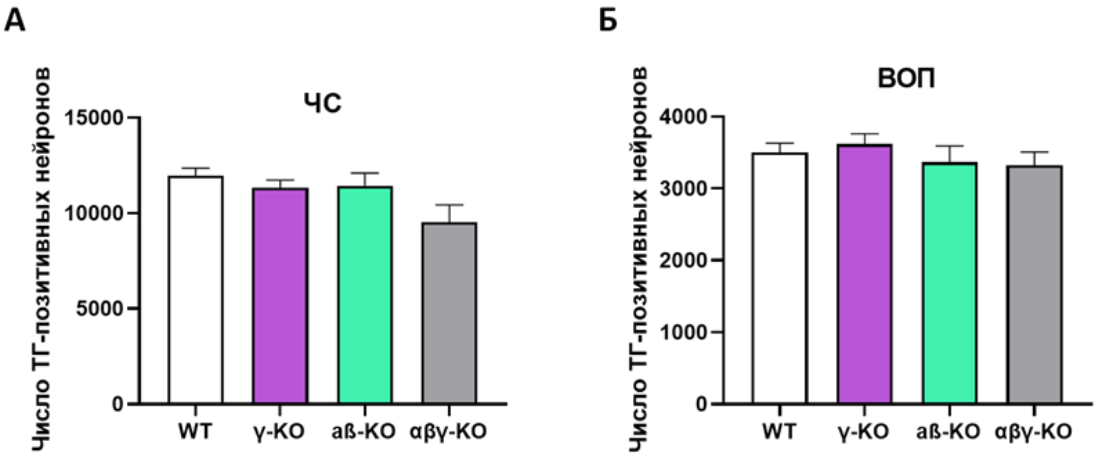


Рис. 8. Количество ТГ-позитивных нейронов в компактной части ЧС (А) и ВОП (Б). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Даннетта на множественное сравнение.

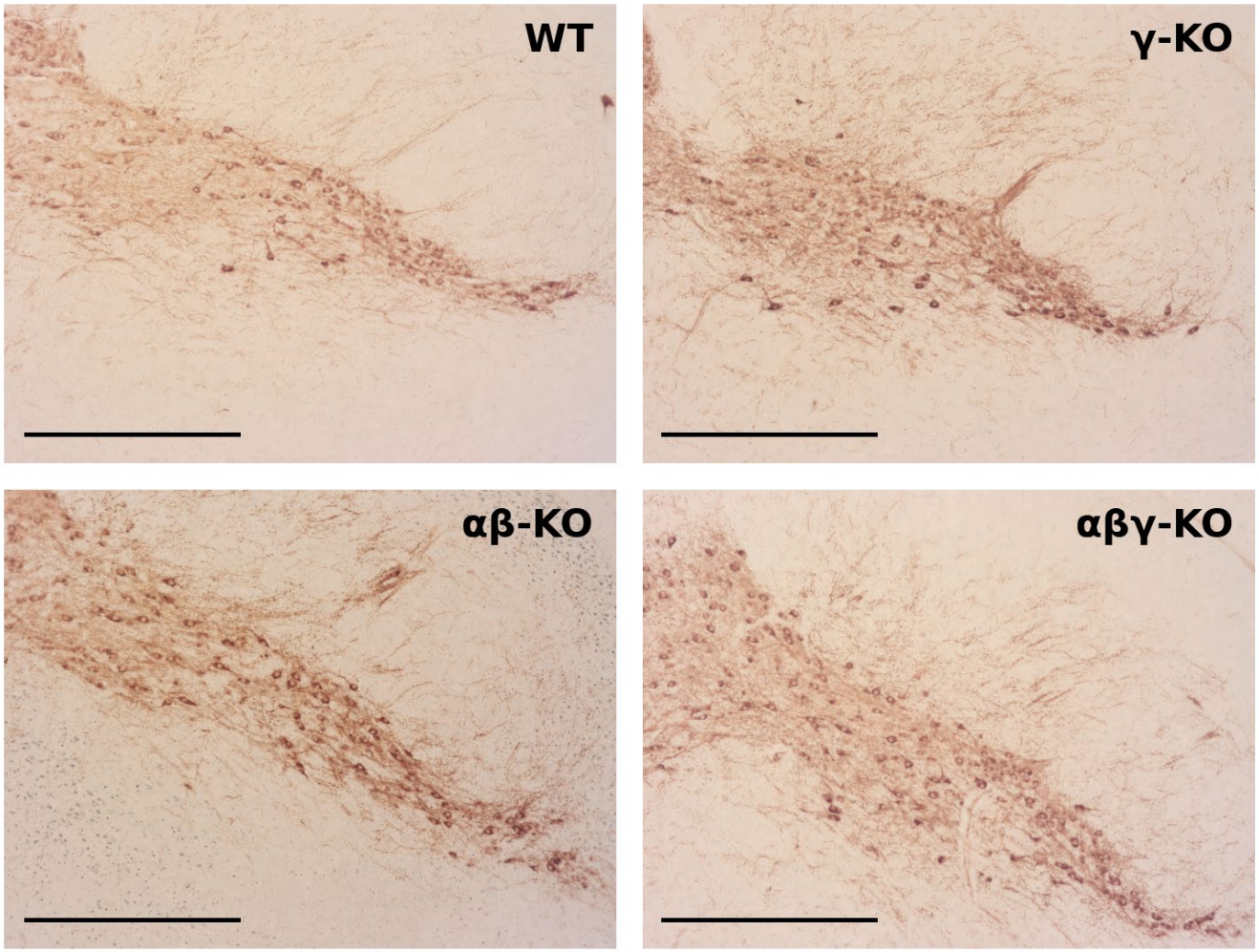


Рис. 9. Репрезентативные микрофотографии поперечных срезов головного мозга в области ЧС и ВОП мышей разных генотипов. Препараты окрашены при помощи первичных антител к тирозингидроксилазе с последующей детекцией с помощью вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена и ДАБ в качестве субстрата. Увеличение 200х, линия соответствует 500 мкм.

Поскольку выраженных изменений количества дофаминергических нейронов выявлено не было, для поиска возможных функциональных нарушений был проведён анализ ряда синаптических белков, участвующих в передаче сигнала в синапсе. Для анализа использовали ткани дорсального стриатума и коры головного мозга 13-месячных животных, поскольку эти структуры являются ключевыми для контроля моторных и когнитивных функций. Методом вестерн-блоттинга было показано, что уровни синаптофизина, синапсина IIa и амфифизина в стриатуме нокаутных по синуклеинам мышей не отличаются от таковых у животных дикого типа,

что свидетельствует о сохранении общей плотности синаптических контактов и резервного пула везикул (Рис. 10).

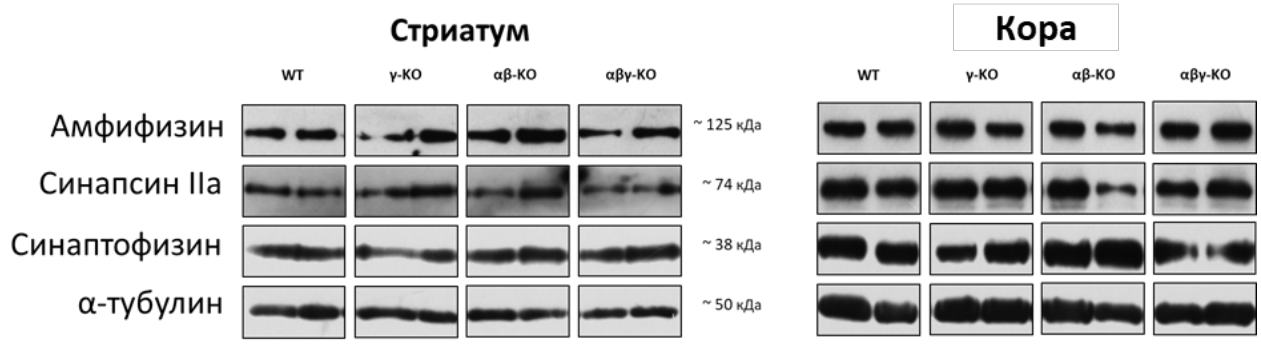


Рис. 10. Синаптические белки в мозге 13-месячных нокаутных мышей (γ-KO, αβ-KO и αβγ-KO) и мышей дикого типа (WT), репрезентативные изображения вестерн-блоттинга.

Полученные данные свидетельствуют о том, что системное отсутствие синуклеинов не приводит к морфологическим изменениям дофаминергических ядер среднего мозга, а наблюдаемые поведенческие нарушения, вероятно, обусловлены функциональными сдвигами в работе нервной системы.

Отсутствие синуклеинов может влиять преимущественно на процессы экзоцитоза и метаболизм дофамина: для ряда линий синуклеин-дефицитных мышей описано снижение содержания дофамина в мозге при отсутствии морфологических изменений в ЧС и ВОП. При длительной дисфункции белков семейства синуклеинов, вероятно, активируются компенсаторные механизмы, при которых сохранные члены семейства частично берут на себя функции нокаутированного гена, что, учитывая высокую гомологию внутри семейства, позволяет поддерживать морфологическую целостность структур при наличии функциональных нарушений.

2. Выявление признаков нарушения функции белка γ-синуклеина при нейродегенеративных заболеваниях

2.1 У нокаутных по γ-синуклеину мышей наблюдаются нарушения в регуляции внутриглазного давления, изменения в содержании общего белка и активности провоспалительного маркера α2-макроглобулина в слезе

Для некоторых белков, в том числе синуклеинов, показано изменение локализации, а также накопление в определенных слоях и/или типах клеток сетчатки при НДЗ. Более того, в сетчатке так же, как и в клетках мозга при нейродегенерации наблюдается агрегация белков. Одним из наиболее распространённых дегенеративных заболеваний сетчатки является глаукома.

Нейродегенеративные процессы при глаукоме имеют общие черты с системными НДЗ, в частности, наблюдается специфическая гибель определенного типа клеток, в данном случае ганглионарных клеток сетчатки. В качестве наиболее частой причины развития патологии выделяют повышение внутриглазного давления (ВГД), и в настоящее время медикаментозная терапия глаукомы в основном направлена на снижение ВГД. При глаукоме в зрительном нерве отмечены значительные изменения в характере экспрессии и локализации γ-синуклеина. Волокна зрительного нерва в норме иммунопозитивны к γ-синуклеину, однако выраженное иммунопозитивное окрашивание γ-синуклеина в зрительном нерве наблюдается в области решётчатой пластинки и в постламинарной зоне только в глазах у пациентов с глаукомой. В то время как в слое ганглионарных клеток сетчатки экспрессия γ-синуклеина наоборот снижается.

Для того чтобы определить, какой эффект нехватка γ-синуклеина может оказывать на гидродинамику глаза, было исследовано изменение ВГД у γ-KO мышей при инстилляции препаратов, влияющих на его регуляцию. В исследовании были использованы агонисты и антагонисты для трёх основных медиаторных систем, контролирующих ВГД: адреномиметик Мезатон, адреноблокатор Тимолол, холиномиметик Пилокарпин, холиноблокатор Атропин, дофаминомиметик дофамин, дофаминоблокатор Галоперидол. При измерении ВГД после инстилляции в глаз мышей препаратов, воздействующих на адренергическую, дофаминергическую и холинергическую систему, обнаружено различие в динамике изменения ВГД между группой γ-KO мышей и контрольной группой.

При инстилляции адреномиметика 1% Мезатона у γ-KO мышей уровень ВГД был ниже в сравнении с контрольной группой в среднем на 4 мм рт.ст. через 1 час ($p=0.0017$) и на 3 мм рт.ст. через 2 часа ($p=0.0222$). Динамика изменения ВГД в группах имела противоположный характер: в контрольной группе наблюдается тенденция к повышению ВГД, тогда как у γ-KO наоборот, к его снижению. Однако достоверных различий между первым (0 ч) и последующими (1 ч и 2 ч) измерениями не наблюдалось (Рис. 11А). После инстилляции адреноблокатора 0,5% Тимолола наблюдался тренд к снижению ВГД в обеих группах, однако достоверность различий между временными точками была достигнута только для группы WT. Различий между группами обнаружено не было (Рис. 11Б). При инстилляции холиномиметика 1% Пилокарпина различий в изменении динамики ВГД относительно исходных значений и между группами не обнаружено (Рис. 11В). Инстилляция холиноблокатора 0,1% Атропина вызывала достоверное снижение ВГД у γ-KO мышей через 2 часа в среднем на 2 мм рт.ст. ($p=0,0271$) относительно контроля, а также в

сравнении с исходным значением на 3 мм рт.ст. (0,0018). У WT мышей Атропин не влиял на уровень ВГД (Рис. 11Г).

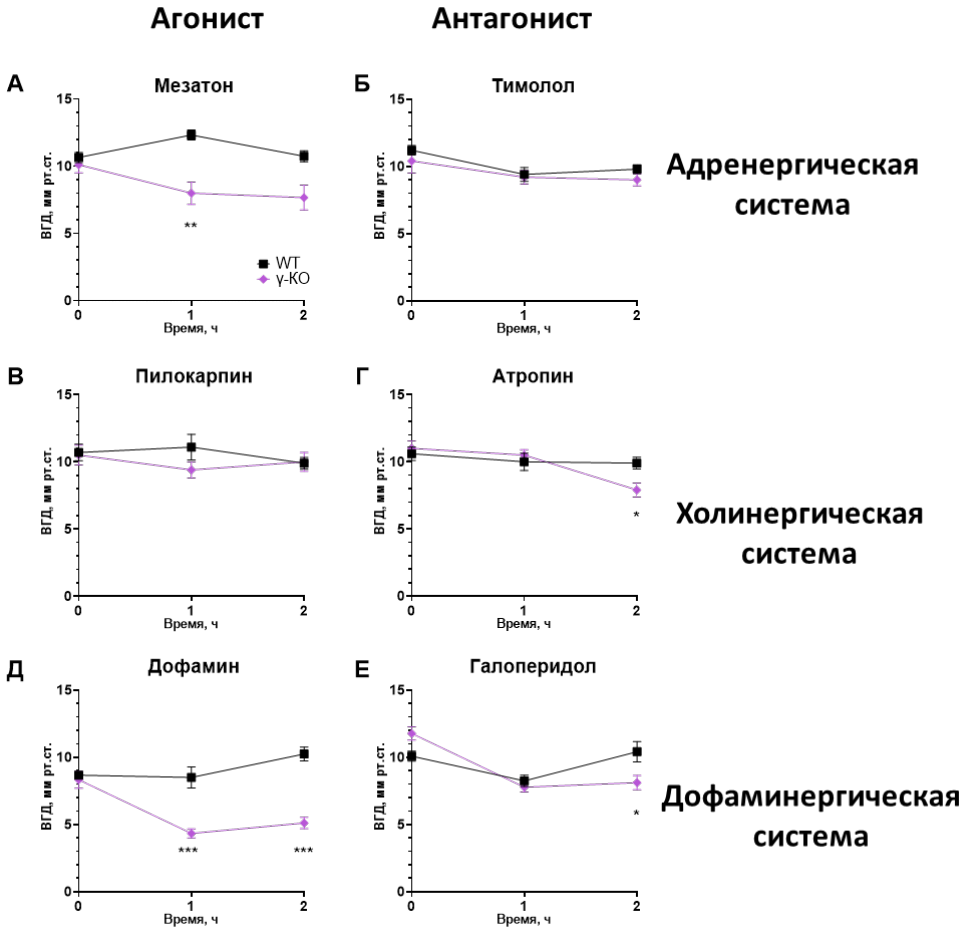


Рис. 11. Изменение ВГД у нокаутных γ-KO мышей в сравнении с животными дикого типа (WT) после инстилляции 1% Мезатона (А), 0,5% Тимолола (Б), 1% Пилокарпина (В), 0,1% Атропина (Г), 10% дофамина (Д) и 0,25% Галоперидола (Е). Статистический анализ проводился с использованием дисперсионного анализа с поправкой Холма-Шидака на множественное сравнение. Обозначения: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$. Для каждой группы n=5 (10 глаз).

После инстилляции агониста дофаминергических рецепторов 10% дофамина у γ-KO мышей ВГД снижалось с 8 до 4 мм рт.ст. ($p=0,0011$) через 1 час и с 8 до 5 мм рт.ст. ($p=0,0011$) через 2 часа от исходных значений. ВГД у γ-KO было вдвое меньше по сравнению с WT мышами на всем протяжении эксперимента ($p=0.0004$ и $p<0.0001$ для 1 ч и 2 ч соответственно). Уровень ВГД в контрольной группе животных значимо не менялся (Рис. 11Д). При инстилляции дофаминергического блокатора 0,25% Галоперидола ВГД через 1 ч снижалось в обеих группах

относительно исходных значений, через 2 ч уровень ВГД у WT мышей вернулся к исходным значениям, тогда как у γ-КО мышей оставался ниже на 2 мм рт.ст. в сравнении с контролем (p=0.0063, Рис. 11Е).

Одним из механизмов участия γ-синуклеина в патогенезе глаукомы может быть его вовлеченность в нейромедиаторную передачу моноаминов, что может влиять на ВГД. Уровень ВГД зависит от скорости оттока и образования внутриглазной жидкости, на что влияют адренергическая, дофаминергическая и холинергическая системы. В настоящем исследовании показано, что динамический ответ ВГД у γ-КО мышей отличается от такового у мышей дикого типа (WT) при инстилляции регуляторов медиаторных систем. Примечательно, что наибольший эффект проявлялся при стимуляции дофаминовой рецепции. У γ-КО мышей наблюдается снижение ВГД после введения дофаминергических агонистов и антагонистов, адренергических агонистов, а также антагонистов холинергических рецепторов. В то же время у WT мышей ВГД не изменяется или имеет тенденцию к увеличению, как, например, в случае Мезатона. Это может быть связано с нарушением нейронального контроля ВГД у γ-КО мышей и дискоординацией взаимодействия между медиаторами адренергической, дофаминергической и холинергической систем.

Биохимический анализ слезы от γ-КО мышей показал, что в ней повышено содержание общего белка в сравнении с контрольной группой (Рис. 12А). Измерение активности α2-макроглобулина (α2-МГ) в слезе γ-КО мышей показало, что в расчёте на объём слезы наблюдается тенденция к ее снижению (Рис. 12Б), а в расчёте на количество белка (мг) достоверное снижение активности α2-МГ на 70% (Рис. 12В).

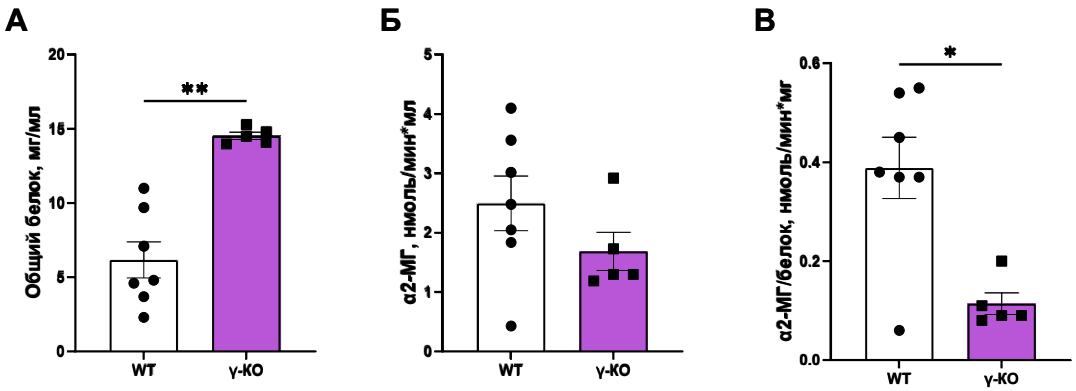


Рис. 12. Содержание белка (мг/мл) (А), общая (нмоль/мин*мл) (Б) и удельная (нмоль/мин*мг) (В) активность α2-МГ в слезе γ-КО и контрольных мышей. Статистический анализ производился при помощи критерия Манна-Уитни. Обозначения: * – p<0.05; ** – p<0.01.

Наблюдаемое нами повышение концентрации общего белка в слёзной жидкости γ-КО мышей, вероятно, связано со снижением поступления воды в слёзную жидкость из слёзных желёз и формированием более концентрированной слёзной жидкости. Существенное снижение активности α2-МГ в слёзной жидкости γ-КО мышей свидетельствует о нарушении его защитной функции. α2-МГ представляет собой белок острой фазы воспаления, ингибитор широкого спектра протеолитических ферментов и регулятор функций многих цитокинов и факторов роста. В качестве внеклеточного шаперона α2-МГ предотвращает образование неправильно свёрнутых белков и их агрегатов, включая амилоид-β, который также накапливается в сетчатке при глаукоме.

2.2 У части пациентов с глаукомой в сыворотке крови обнаруживаются аутоантитела к белку γ-синуклеину

При нейродегенеративных заболеваниях в крови обнаруживаются аутоантитела против склонных к агрегации белков. Так, было показано, что аутоантитела против α-синуклеина обнаруживаются у пациентов с болезнью Паркинсона. Точная роль аутоантител в патогенезе глазных заболеваний остаётся невыясненной. Они могут вызывать как аутоиммунную гибель клеток сетчатки, так и оказывать протекторное действие. Мы обнаружили, что, по крайней мере, у части пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) в крови обнаруживаются аутоантитела к γ-синуклеину. Так, в сыворотке крови 5 из 25 пациентов с ПОУГ выявлена положительная реакция на наличие аутоантител к γ-синуклеину (Рис. 13А, Б), что составляет 20% от общего числа пациентов. При этом в контрольной группе условно здоровых лиц без диагностированной глаукомы аутоантитела к γ-синуклеину в сыворотке крови не обнаруживались.

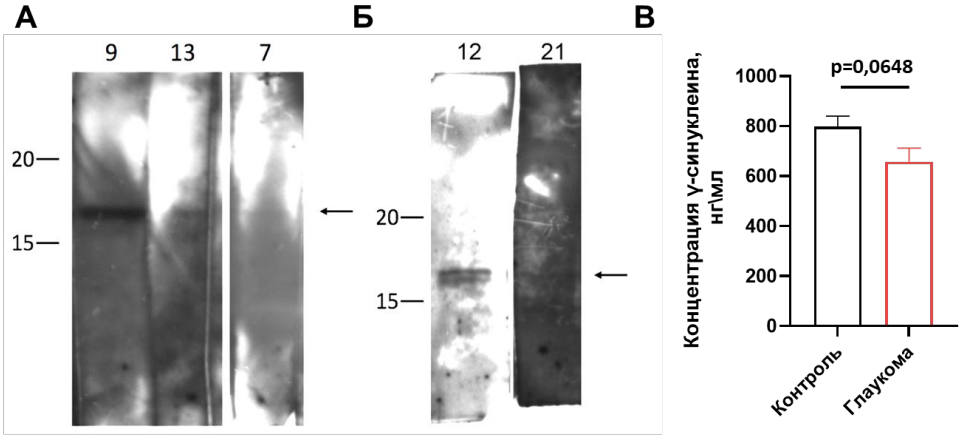


Рис. 13. Выявление аутоантител к γ-синуклеину в сыворотке пациентов с глаукомой методом иммуноблоттинга. А и Б соответствуют двум независимым мембранам, разделённым на полоски.

Каждая полоска мембраны инкубировалась с образцом сыворотки от одного пациента. Слева отмечена молекулярная масса (кДа) согласно линейке. 9, 13, 7, 12 и 21 – номера образцов сыворотки от пациентов с глаукомой, в которых были обнаружены аутоантитела к γ-синуклеину (17 кДа). Стрелкой справа отмечена полоска, соответствующая γ-синуклеину. Измерение концентрации γ-синуклеина в сыворотке крови у пациентов с глаукомой (n=24) и контрольной группы (n=16) (В). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи t-теста Стьюдента для несвязных выборок.

Для всех образцов, показавших положительную реакцию, был выполнен повторный анализ для подтверждения результатов. На полосках мембраны, которые инкубировались с положительной сывороткой, выявлялась, как правило, одна полоса, соответствующая молекулярной массе γ-синуклеина (17 кДа). Интенсивность окрашивания варьировала у разных пациентов. Большая интенсивность окрашивания полосы у некоторых пациентов (образец № 9 на рис. 13А) может говорить о достаточно высоком титре аутоантител против γ-синуклеина у этого больного.

В группе пациентов с глаукомой также отмечалась тенденция к снижению концентрации γ-синуклеина в сыворотке крови по сравнению с контролем (Рис. 13В). Одной из возможных причин такого эффекта может быть активация иммунного ответа и образование аутоантител, что приводит к связыванию γ-синуклеина в крови, делая его недоступным для обнаружения.

Таким образом, мы показали, что присутствие аутоантител к γ-синуклеину в сыворотке крови может быть характерно для определенной группы больных глаукомой. У пациентов с выявленными антителами к γ-синуклеину были диагностированы разные стадии развития глаукомы от 1а до 4а. Корреляции между степенью развития патологического процесса и уровнем ВГД и появлением данных аутоантител не выявлено, возможно, для этого требуется анализ большей выборки пациентов. Учитывая многофакторность механизмов развития глаукомы, можно предположить, что γ-синуклеин в разной степени задействован в развитии глаукоматозного процесса у разных больных. Ранее было показано, что аутоантитела против γ-синуклеина выявляются также у больных с хронической ишемией мозга, где частота их выявления составляла 1 на 7,6 человек, а также у пациентов с БАС с частотой 1 на 20,5 человек. Результаты данного исследования указывают на то, что у пациентов с глаукомой этот показатель выше (1 на 5 человек). В качестве единого механизма, объясняющего образование аутоантител к γ-синуклеину при всех указанных заболеваниях, можно предположить попадание белка либо его

олигомерных агрегированных форм в кровоток при нарушении гистогематических барьеров. Образование аутоантител может быть побочным процессом, не вносящим вклад в патогенез глаукомы, тогда как основную роль может играть недостаток функции белка.

2.3 У пациентов с болезнью Альцгеймера наблюдается снижение количества γ-синуклеина в слёзной жидкости

Для оценки возможности использования уровня белка γ-синуклеина в слезе в качестве периферического маркера более общих нейродегенеративных изменений в мозге мы измерили его количество в слёзной жидкости и плазме крови пациентов с БА и сравнили с условно здоровыми добровольцами, не имеющими неврологических заболеваний. Анализ результатов показал статистически значимое снижение концентрации γ-синуклеина в слёзной жидкости пациентов с БА в сравнении с контрольной группой, в то время как в плазме количество γ-синуклеина не отличалось между группой БА и контрольной группой (Рис. 14).

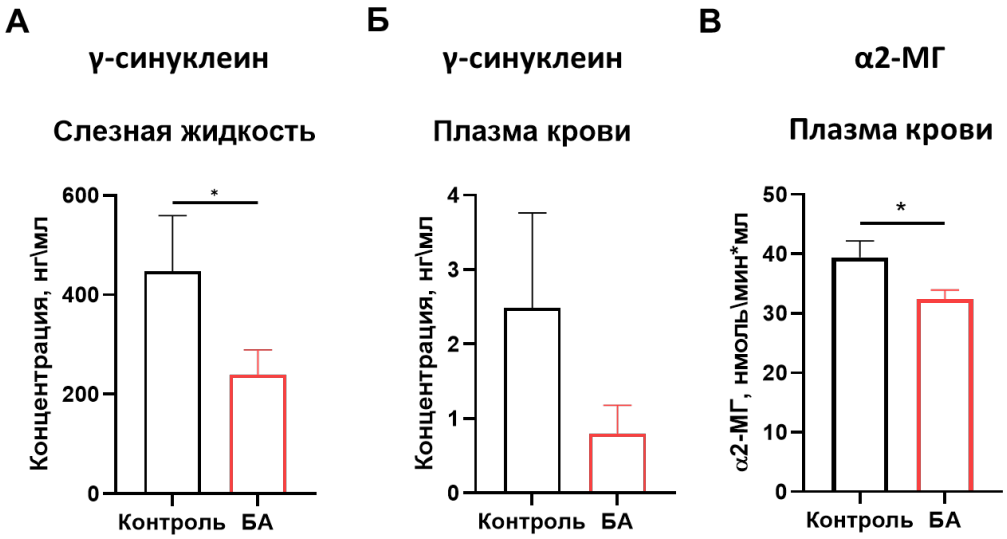


Рис. 14. Концентрация γ-синуклеина в слёзной жидкости (А) и плазме крови (Б) и активность α2-макроглобулина в плазме крови (В) у пациентов с БА и условно здоровых добровольцев без НДЗ. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистический анализ производился при помощи теста Манна-Уитни. Обозначения: * – $p<0.05$.

Белок γ-синуклеин рассматривается преимущественно как компонент амилоидных отложений и биомаркер, который выявляется в спинномозговой жидкости или в плазме крови при НДЗ. Полученные нами данные указывают на то, что γ-синуклеин можно также использовать в качестве периферического биомаркера, выявляемого в слёзной жидкости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование позволило установить функциональную значимость γ-синуклеина в регуляции поведения, нейромышечной активности и вегетативных параметров у животных, а также продемонстрировать его возможное участие в патогенезе НДЗ у человека. Показано, что отсутствие γ-синуклеина сопровождается сокращением продолжительности жизни, снижением физических параметров активности, изменением уровня тревожности у экспериментальных животных при отсутствии грубых морфологических изменений в организации структур мозга с высоким уровнем экспрессии синуклеинов. У пациентов с глаукомой выявлены аутоантитела к γ-синуклеину, а у пациентов с БА – снижение его концентрации в слёзной жидкости. Установленные изменения в регуляции ВГД и активности α2-макроглобулина у γ-KO мышей дополнительно подтверждают участие γ-синуклеина в нейровегетативных механизмах и поддержании гомеостаза. Полученные данные свидетельствуют о потенциальной диагностической ценности γ-синуклеина и других связанных с ним биомаркеров в слёзной жидкости.

ВЫВОДЫ

1. У мышей, нокаутных по γ-синуклеину и по всем трём генам синуклеинов отмечается снижение продолжительности жизни по сравнению с контрольной группой;
2. При отсутствии γ-синуклеина у мышей наблюдается снижение мышечной силы, что указывает на специфическое его участие в регуляции моторных функций;
3. У γ-KO мышей выявляется снижение тревожноподобного поведения при отсутствии нарушений памяти, тогда как у животных с тройным нокаутом формируется гиперактивный поведенческий фенотип;
4. Морфологическая структура дофаминергических ядер среднего мозга и уровень основных синаптических белков не изменены у нокаутных по синуклеинам животных;
5. У мышей с дефицитом γ-синуклеина нарушается регуляция внутриглазного давления и снижается активность α2-макроглобулина в слёзной жидкости, что может свидетельствовать о нарушении регуляторных и защитных механизмов в зрительном анализаторе;
6. У 20% пациентов с глаукомой в сыворотке крови выявлены аутоантитела к γ-синуклеину, отсутствующие у здоровых лиц;
7. У пациентов с болезнью Альцгеймера выявляется снижение концентрации γ-синуклеина в слёзной жидкости, а также снижение активности α2-макроглобулина в крови.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. Pavlenko T.A., Roman A.Y., Lytkina O.A., Pukaeva N.E., Everett M.W., **Sukhanova I.S.**, Soldatov V.O., Davidova N.G., Chesnokova N.B., Ovchinnikov R.K., Kukharsky M.S. Gamma-Synuclein Dysfunction Causes Autoantibody Formation in Glaucoma Patients and Dysregulation of Intraocular Pressure in Mice // Biomedicines. – 2023. – Т. 11, № 1. – Ст. 60. – DOI: 10.3390/biomedicines11010060.
2. Морозова О.А., Краюшкина А.М., **Суханова Ю.С.**, Иванова Т.А., Чапров К.Д. Комплексная оценка влияния белков-синуклеинов на ухудшение моторной функции при возрастных изменениях // Патогенез. – 2024. – Т. 22, № 2. – С. 67–71. – DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.67-71.
3. **Sukhanova I.S.**, Chaprov K.D., Morozova O.A., Ovchinnikov R.K., Kukharskaya O.A., Zalevskaya V.N., Yusupova N.M., Lugovskaya A.A., Ninkina N.N., Kukharsky M.S. Distinct Role of γ-Synuclein in the Regulation of Motor Performance and Behavioral Responses in Mice // Biomedicines. – 2026. – Т. 14, № 1. – С. 92. – DOI: 10.3390/biomedicines14010092.
4. Lysikova E.A., **Sukhanova I.S.**, Ekimova N.V., Korokin M.V., Kukharsky M.S., Buchman V.L., Ninkina N.N. Presynaptic Functions of α-Synuclein: Regulating Synaptic Vesicle Dynamics and Neurotransmission with Insights into β- and γ-Synucleins (A Narrative Review) // Applied Sciences. – 2026. – Т. 16, № 14. – С. 7222. – DOI: 10.3390/app16147222.

Тезисы докладов:

1. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д., Кухарский М.С. Изменение моторных функций у мышей при отсутствии белка гамма-синуклеина // Сборник тезисов докладов конференции «ХимБиоSeasons 2025». – Калининград, 2025.
2. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Влияние синуклеинов на параметры походки мышей // Сборник тезисов докладов Тринадцатой конференции молодых учёных ИФАВ РАН. — Черноголовка: ФИЦ ПХФ и МХ РАН, 2023. – С. 15.
3. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Особенности поведения нокаутных по гену гамма-синуклеина мышей // XIX Международный междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии». – Судак, 4–10 июня 2023 г. – С. 273.
4. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Метаболизм глюкозы в тканях мышей, нокаутных по генам семейства синуклеинов // Актуальные проблемы биомедицины – 2023: материалы XXIX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. – Санкт-Петербург, 30–31 марта 2023 г. – С. 129–130. – Устный доклад.
5. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Влияние синуклеинов на метаболизм глюкозы в тканях мышей // Сборник тезисов докладов Двенадцатой конференции молодых учёных ИФАВ РАН. — Черноголовка: ФИЦ ПХФ и МХ РАН, 16 декабря 2022 г. – С. 17. – ISBN 978-5-91845-101-4.
6. Chaprov K.D., **Sukhanova Iu.S.**, Grineva A., Buchman V.L. Beta-Synuclein Protein Function in Behavioural Impairment of Triple Knockout Mouse Model // Neuroscience Applied. – 2022. – Vol. 1. – P. 100353.
7. **Суханова Ю.С.**, Гринева А.С., Лысикова Е.А., Чапров К.Д. Влияние альфа-синуклеина на поведенческий фенотип мышей // Сборник тезисов 25-й Пущинской школы-конференции молодых учёных с международным участием «Биология – наука XXI века». – Пущино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2022. – С. 323–324. – ISBN 978-5-91874-907-4. – Пущино, 18–22 апреля 2022 г.

8. Chaprov K.D., **Sukhanova I.S.**, Grineva A. Members of the Synuclein Family Differently Affect Mouse Behaviour // Synuclein Meeting. – Leuven, Belgium, 12–15 April 2022. – P. 90.
9. **Суханова Ю.С.**, Лысикова Е.А., Чапров К.Д. (Научный руководитель – к.б.н. Бухман В.Л.) Роль белка бета-синуклеина в реализации поведенческих программ в мышиной модели // Актуальные проблемы биомедицины – 2022: материалы XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. – Санкт-Петербург, 24–26 марта 2022 г. – С. 138. – ISBN 978-5-88999-775-7.
10. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Влияние инактивации белков семейства синуклеинов на поведение мышей // Сборник тезисов докладов Одиннадцатой конференции молодых учёных ИФАВ РАН. – Черноголовка, 10 декабря 2021 г. – 13 с. – ISBN 978-5-91845-094-9.
11. **Sukhanova I.**, Grineva A., Chaprov K. The Absence of Synuclein Proteins Causes Behavioural Impairment in a Novel Triple Knockout Mouse Model // European Neuropsychopharmacology. – 2021. – Vol. 53. – P. S628–S629.
12. Chaprov K.D., **Sukhanova Iu.S.** The Role of Synucleins in Behavioral Impairment Mediated by Compromised Dopamine Transmission // 28th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”. – The International Stress and Behavior Society (ISBS), St. Petersburg, Russia, 16–18 May 2021.
13. Чапров К.Д., **Суханова Ю.С.** Влияние белков семейства синуклеинов на дофаминовую трансмиссию // IX Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям». – Онлайн-конференция, 15–19 марта 2021 г.
14. Чапров К.Д., **Суханова Ю.С.** Влияние белков семейства синуклеинов на дофаминовую трансмиссию // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т. 39, № S1-2. – С. 55.
15. **Суханова Ю.С.**, Чапров К.Д. Роль синуклеинов в нарушении поведения, опосредованного изменением дофаминовой трансмиссии // Юбилейная X конференция молодых учёных ИФАВ РАН. – Черноголовка, 14 декабря 2020 г.