

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616-092

Белозор О.С.¹, Шуваев А.Н.², Фрицлер Я.В.², Шуваев А.Н.¹

Мутантный Атаксин-1 с патологически удлинённой полиглутаминовой цепочкой нарушает морфологию и эндоканнабиноид-опосредованную синаптическую пластичность в клетках Пуркинье СЦА1 модельных мышей

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, НИИ Молекулярной медицины и патобиохимии,

660022, Красноярск, Россия, ул. Партизана Железняка, д. 1;

²ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,

660041, Красноярск, Россия, пр. Свободный, д. 79

Введение. Спиноцеребеллярная атаксия первого типа (СЦА1) представляет собой нейродегенеративное заболевание, которое обычно поражает мозжечок. В Российской Федерации СЦА1 является наиболее часто наблюдаемым заболеванием среди аутосомно-доминантно наследуемых атаксий. Причиной заболевания является экспансия CAG-повторов в кодирующей области гена белка атаксина-1. Ранее на модели СЦА3 было показано, что CRAG является фактором, ограничивающим скорость деградации патологических форм полиглутаминовых белков, а направленная экспрессия CRAG является потенциальной генной терапией полиглутаминовых болезней. В этой работе для выявления патологии мутантного атаксина-1 и установления влияния экспрессии CRAG на этот процесс охарактеризованы электрофизиологические аномалии зрелых мышей СЦА1.

Цель работы – изучение влияния молекулы CRAG на морфологию клеток Пуркинье (КП) и эндоканнабиноид-опосредованную синаптическую пластичность в мозжечке СЦА1 модельных животных.

Методика. В исследованиях была использована трансгенная модель СЦА1 с экспрессией гена белка атаксина-1 с 82 повторами CAG. Для исследования влияния CRAG, мышам на 1-2-й постнатальный день внутривенно вводили векторную конструкцию pAAV/MSCV-GFP-P2A-CRAG. Исследование выполнено на 4-месячных мышах линии CD1, которые были разделены на 3 группы: 1-я группа (контрольная) – дикий тип (ДТ), 2-я и 3-я группы – СЦА1 модельные мыши: 2-я группа без экспрессии молекулы CRAG, 3-я – экспрессирующая молекулу CRAG: СЦА1 CRAG (–) и СЦА1 CRAG (+) соответственно. Влияние CRAG оценивали с помощью методов электрофизиологии: оценивали пассивные и активные свойства мембраны, эндоканнабиноид-опосредованную кратковременную пластичность (SSE).

Результаты. Установлено, что экспрессия мутантного атаксина-1 способствует уменьшению ёмкости мембраны КП мозжечка, вследствие чего уменьшаются время нарастания и время спада возбуждающих постсинаптических токов в синапсах КП с параллельными волокнами. Также в этих синапсах наблюдалось нарушение SSE. Было выявлено, что экспрессия CRAG в модельных мышах СЦА1 способствует восстановлению морфологии КП и нормализации кратковременной пластичности SSE.

Заключение. СЦА1 модельные мыши демонстрируют выраженное нарушение морфологии КП и SSE в мозжечке. Экспрессия CRAG вызывает нейропротекторное действие в виде восстановления морфологии и синаптической пластичности КП.

Ключевые слова: спиноцеребеллярная атаксия 1-го типа; клетки Пуркинье; электрофизиология; кратковременная синаптическая пластичность

Для цитирования: Белозор О.С., Шуваев А.Н., Фрицлер Я.В., Шуваев А.Н. Мутантный Атаксин-1 с патологически удлинённой полиглутаминовой цепочкой нарушает морфологию и эндоканнабиноид-опосредованную синаптическую пластичность в клетках Пуркинье СЦА1 модельных мышей. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(4): 13-19. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.13-19

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Шуваев А.Н.; сбор и обработка материала – Белозор О.С., Шуваев А.Н., Шуваев А.Н.; подготовка иллюстративного материала – Шуваев А.Н., Фрицлер Я.В.; написание текста – Белозор О.С.;

редактирование – Белозор О.С., Шуваев А.Н. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

Для корреспонденции: Белозор Ольга Сергеевна, e-mail: olsbelor@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-25-00047.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.06.2022

Принята к печати 27.10.2022

Опубликована 15.12.2022

Belozor O.S.¹, Shuvaev A.N.², Fritsler Ya.V.², Shuvaev A.N.¹**Mutant Ataxin-1 with an abnormally expanded polyglutamine chain disrupts morphology and endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in Purkinje cells of SCA1 model mice**¹Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Partizana Zheleznyaka St. Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation;²Siberian Federal University, Svobodny Prospekt 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation

Background. Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is a neurodegenerative disease that affects the cerebellum and brainstem. It is the most common disease among autosomal dominant inherited ataxias in the Russian Federation. The disease is caused by expansion of CAG repeats in the coding region of the ataxin-1 protein gene. Previously, it was shown on a SCA3 model that CRAG is a molecule that limits the degradation rate of pathological forms of polyglutamine proteins. For this reason, the directed expression of CRAG may be a potential gene therapy for polyglutamine diseases. In this study, we characterized the electrophysiological abnormalities of mature SCA1 mice to elucidate the effect of pathological mutant ataxin-1 and the impact of CRAG expression on this process.

Aim. To study the effect of the CRAG molecule on Purkinje cell (PC) morphology and endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the cerebellum of SCA1 model mice.

Methods. In this study, we used a transgenic SCA1 murine model with the expression of the ataxin-1 protein gene with 82 CAG repeats. For the CRAG expression, mice were intravenously injected with the pAAV/MSCV-GFP-P2A-CRAG vector at the first or second postnatal day. The study was performed on 4-month-old CD1 mice, which were divided into three groups: control, wild type (WT); SCA1 model mice without the CRAG molecule expression (SCA1 CRAG (-)); and SCA1 model mice expressing the CRAG molecule (SCA1 CRAG (+)). We examined the effect of CRAG using electrophysiological studies: determination of passive and active properties of membranes and endocannabinoid-mediated environmental plasticity (SSE).

Results. The mutant ataxin-1 expression decreased the cerebellar PC membrane capacitance, which led to decreases in the rise and decay times of the excitatory postsynaptic currents in PC synapses to parallel fibers. Also, SSE was altered in these synapses. It was found that the CRAG expression in SCA1 model mice partly restored the PC morphology and normalized SSE.

Conclusions. SCA1 model mice show a pronounced impairment of PC morphology in the cerebellum. The CRAG expression provides restoration of PC morphology and synaptic plasticity.

Keywords. Spinocerebellar ataxia type 1; Purkinje cell; electrophysiology; short-term synaptic plasticity

For citation: Belozor O.S., Shuvaev A.N., Fritsler Ya.V., Shuvaev A.N. Mutant Ataxin-1 with an abnormally expanded polyglutamine chain disrupts morphology and endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in Purkinje cells of SCA1 model mice. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(4): 13-19. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.13-19

Author' contribution: The concept and design of the study – Shuvaev A.N.; collection and material processing – Belozor O.S., Shuvaev A.N., Shuvaev A.N.; preparation of illustrative material – Shuvaev A.N., Fritsler Ya.V.; writing the text – Belozor O.S.; editing – Belozor O.S., Shuvaev A.N. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence. **Belozor O.S.**, e-mail: olsbelor@gmail.com

Financing. This work was supported by grant No. 20-415-242905 r_mk_Krasnoyarsk of the Russian Foundation for Basic Research and the Government of the Krasnoyarsk Krai.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors:Belozor O.S., <https://orcid.org/0000-0001-8384-5962>Fritsler Ya.V., <https://orcid.org/0000-0003-3299-1200>Shuvaev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-3887-1413>Shuvaev A.N., <https://orcid.org/0000-0003-0078-4733>

Received 09.06.2022

Accepted 27.10.2022

Published 15.12.2022

Введение

Спиноцереbellарная атаксия (СЦА) представляет собой нейродегенеративное заболевание, обычно поражающее мозжечок. При прогрессировании заболевания страдают и другие области ЦНС, например, ствол головного мозга и спинной мозг. Около трети случа-

ев СЦА носят наследственный характер, при котором наиболее часто наблюдаются полиглутаминовые заболевания. Причиной полиглутаминовых заболеваний является аномальная экспансия тринуклеотидных CAG-повторов в кодирующей области гена [1, 2]. СЦА 1 типа (СЦА1) – наиболее часто наблюдаемое заболевание среди аутосомно-доминантно наследуемых

атаксий и вызывается экспансией CAG-повторов в кодирующей области гена белка атаксина-1 [3].

Ранее на созданных модельных мышах СЦА3, которые экспрессируют укороченный на N-конце атаксин-3 с аномально удлиненной полиглутаминовой последовательностью, специфически в клетках Пуркиньи (КП) мозжечка, было выявлено, что постнатальное накопление мутантного атаксина-3 в ядре нарушает дифференцировку дендритов и передачу сигналов mGluR в КП мышей СЦА3, и это нарушение может быть вызвано дефектом пути транскрипции, управляемого ROR α [4]. Нам удалось удалить отложения мутантных полиглутаминовых белков из пораженных КП и значительно уменьшить развитие атаксии у СЦА3 мышей посредством мозжечковой инъекции аденоассоциированных вирусных векторов, экспрессирующих CRAG. CRAG – молекула медиатора ответа коллапсина, ассоциированная с гуанозинтрифосфатазой и содержит последовательность сигнала ядерной локализации. CRAG участвует в механизмах, лежащих в основе ядерной транслокации, деградации белков через убиквитин-протеасомный путь и образования агрегатов полиглутаминовых белков [5]. Однако то, как мутантный атаксин-1 с аномально удлиненной полиглутаминовой последовательностью влияет на функцию КП, еще не полностью изучено. В этом исследовании мы охарактеризовали электрофизиологические аномалии зрелых мышей СЦА1, чтобы прояснить патологию мутантного атаксина-1 и влияние экспрессии CRAG на этот процесс.

Методика

Экспериментальные животные. В исследовании использованы мыши линии CD1 B05, экспрессирующие ген белка атаксина-1, с 82 повторами CAG и их однопородных дикого типа [6]. Животных содержали на 12-часовом цикле свет/темнота при свободном доступе к пище и воде. Исследования выполняли после утверждения заявки и протокола на использование лабораторных животных на заседании биоэтической комиссии по работе с животными при локальном этическом комитете ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Было сформировано 3 группы животных: группа «ДТ» – контрольная группа, мыши дикого типа; группа «СЦА1 CRAG (–)» – мыши СЦА1, которым не вводили генетические конструкции; группа «СЦА1 CRAG(+))» – мыши СЦА1, которым вводили rAAV/MSCV-GFP-P2A-CRAG.

Производство векторов AAV. Вирусные конструкции предоставлены лабораторией проф. Х. Хири (Gunma University, Dep. of Neurophysiology and Neural

repair, Japan). Для экспрессии терапевтического гена в КП с помощью аденоассоциированного вирусного вектора серотипа-9 (AAV9) нами использован промотор вируса стволовых клеток мышей (MSCV), который обладает сильной транскрипционной активностью в КП [7]. Плазмида для экспрессии rAAV/MSCV-GFP-P2A-CRAG была получена ферментативными реакциями с использованием pNAV [8] и pCL20c/MSCV-GFP-P2A-CRAG [9]. Первоначально rAAV/MSCV получали путем вставки фрагмента промотора MSCV с тупыми концами MluI и BamHI в сайты с тупыми концами XhoI и BamHI pNAV. Затем кассету GFP-P2A-CRAG с тупыми концами NotI и BamHI субклонировали в rAAV/MSCV с тупыми концами EcoRI и BamHI. Рекомбинантные одноцепочечные векторы AAV9 были получены путем котрансфекции клеток HEK293 тремя плазмидами: rAAV/MSCV-GFP-P2A-CRAG, pHelper и rAAV2/9 (Stratagene, Ла-Хойя, Калифорния, США). Вирусные частицы очищали, используя осаждение сульфатом аммония и центрифугирование в непрерывном градиенте йодиксанола, как описано ранее [10]. Геномный титр очищенного вектора AAV9, определенный с помощью ПЦР в реальном времени, составил $9,9 \times 10^{14}$ векторных геномов/мл.

Введение векторов. Детенышей мышей, получавших вирусные инъекции, выводили скрещиванием гетерозиготных мышей B05 с мышами дикого типа. Мышам P1-2 вводили очищенный раствор AAV9 через наружную яремную вену с помощью шприца Hamilton объемом 0,1 мл (Hamilton Company, Рино, Невада, США) с иглой 30 калибра (Vecton Dickinson & Co, Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США). Через 3 нед после инъекции генотипы мышей (гетерозиготные или дикого типа) определяли с помощью ПЦР с использованием специфических праймеров 5'-GTGAGTTTGGGTCTGGCATC-3' (смысловой) и 5'-CCAAAAGTTAGGATCACAGCCC-3' (антисмысловой). В качестве контроля использовали неинъекцированных гетерозиготных мышей и мышей дикого типа.

Электрофизиологические эксперименты. Для электрофизиологических исследований подготавливали парасагитальные срезы мозжечка (толщиной 250 μ m), как детально описано ранее [11, 12]. Вкратце, 4-месячных мышей глубоко анестезировали изофлураном (3%). Вскрывали черепную коробку, извлекали мозг и погружали его на минуту в ледяной раствор, состав раствора в мМ: 234 сахарозы; 26 NaHCO₃; 2,5 KCl; 1,25 NaH₂PO₄; 11 D-глюкозы; 10 MgSO₄ и 0,5 CaCl₂ (pH 7,4), с аэрацией смесью газов 95% O₂ и 5% CO₂. Парасагитальные срезы червя мозжечка получали с помощью

вибротомы (Thermo Scientific; Microtom CU65, США). Срезы при комнатной температуре в течение не менее 45 мин до начала записи выдерживали во внеклеточном растворе, содержащем (в мМ) 125 NaCl; 2,5 KCl; 2 CaCl₂; 1 MgCl₂; 1,25 NaH₂PO₄; 26 NaHCO₃; 10 D-глюкозы и 0,1 пикротоксина, который непрерывно перфузировали смесью 95% O₂ и 5% CO₂. Для записи использовались стеклянные электроды, заполненные внутриклеточным раствором ((в мМ) 65 К-глюконата; 65 Cs-метансульфоната; 10 KCl; 1 MgCl₂; 4 Na₂ATP; 1 NaGTP; 20 HEPES; 0,4 EGTA и 5 сахарозы (pH 7,3)). Электроды имели сопротивление от 2 до 4 МΩ.

Потенциал КП фиксировался на 70 мВ для записи возбуждающих постсинаптических токов в синапсах КП с параллельными волокнами (ПВ ВПСТ). Парное усиление амплитуд ВПСТ (PPF) проводилось с межстимуляционным интервалом в 50 мс. Пассивные свойства мембраны, такие как емкость мембраны (Cm) и сопротивление мембраны (Rm), были получены путем изменения гиперполяризующего напряжения от 70 до 80 мВ в течение 500 мс.

Для синаптически вызванного подавления возбуждения (SSE) регистрировали стабильный базовый ответ ВПСТ в течение 1 мин, а затем применяли высокочастотную стимуляцию ПВ (50 импульсов с частотой 100 Гц). ПВ ВПСТ регистрировали в течение 100 с после стимуляции.

Статистический анализ. Результаты выражены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (m±SEM), n указывает количество исследованных КП. Статистический анализ различий между группами проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Тьюки. Во всех случаях различия принимали значимыми при p<0,05.

Результаты

Изменение пассивных и активных свойств мембраны КП мозжечка мышей СЦА1. При проведении элект-

трофизиологических экспериментов было выявлено (табл. 1) уменьшение ёмкости мембраны (Cm) в КП мышей СЦА1 CRAG (-) по сравнению с мышами дикого типа (p=0,00002), что свидетельствует, в первую очередь, о серьезном нарушении роста дендритов. AAV9-опосредованная экспрессия CRAG в КП трансгенных мышей значительно увеличила мембранную ёмкость КП. Были выявлены статистически значимые различия в ёмкости мембран между КП, экспрессирующими CRAG, и КП неинъецированных мышей СЦА1 (p=0,03). Другие свойства пассивной мембраны, такие как сопротивление мембраны (Rm) и сопротивление доступа (Ra), существенно не различались между генотипами, и экспрессия CRAG на них не влияла (табл. 1).

Анализ кинетики ПВ ВПСТ показал значительно более быстрое время нарастания и спада у мышей СЦА1, чем у однопомётных животных дикого типа (p=0,036 и p=0,0035, соответственно) (табл. 2), что можно объяснить заметно нарушенным развитием дендритов и, следовательно, более маленькой ёмкостью мембран КП мышей СЦА1. У мышей СЦА1, экспрессирующих CRAG, также отличались от контрольной группы время нарастания (p=0,037) и время спада (p=0,009).

Нарушение эндоканнабиноид-опосредованного пресинаптического ингибирования у мышей СЦА1. Кратковременная стимуляция ПВ вызывает в КП активацию mGluR1 пути передачи сигналов и локальное повышение Ca²⁺. Эти эффекты активируют продукцию и секрецию эндоканнабиноидов постсинаптической мембраной и приводят к ретроградному подавлению высвобождения глутамата из пресинаптических окончаний ПВ (синаптически вызванное подавление возбуждения, SSE) [13–16]. В ответ на тетаническую стимуляцию амплитуды ПВ ВПСТ в группе «ДТ» снижались до 49±3,7 % от контрольной амплитуды, и возвращались к контрольным достимуляционным значениям через 80 с (рисунок). В модельных мышах СЦА1

Таблица 1/Table 1

Сравнение пассивных свойств мембраны клеток Пуркинью
Comparison of passive properties of Purkinje cell membrane

Группы / показатели Groups / indicators	Ёмкость Cm(pF)	Ra (mΩ)	Rm (mΩ)
ДТ – контроль (control) (n = 10/3)	683,8±57,8***	10,9±0,6	207,5±15,4
СЦА1 CRAG (-) (n = 8/3)	296,6±29,0	10,3±1,4	210,8±34,3
СЦА1 CRAG(+) (n = 9/3)	422,0±44,0†	9,6±0,9	212,5±27,7

Примечание/Note. *** – p<0,001; † – p<0,05; membrane capacitance (Cm) and resistance; ДТ (wild-type mice).

Обсуждение

деполяризация вызывала снижение амплитуды значительно меньше – только до $77 \pm 11,2\%$ ($p=0,039$), и через 20 с значения возвращались к достимуляционным.

Также мы оценили влияние экспрессии CRAG в КП мышей СЦА1 на SSE (рисунки). Экспрессия CRAG у мышей СЦА1 приводила к восстановлению SSE – амплитуда снижалась до $49,2 \pm 11,4\%$, что статистически не различалось с контрольной группой ($p=0,984$). Время восстановления амплитуд также изменилось у мышей СЦА1, экспрессирующих CRAG, – через 20 с амплитуда восстановилась до $71,9 \pm 7,7\%$, тогда как у мышей СЦА без экспрессии CRAG амплитуда в этот временной промежуток восстановилась до базальных значений ($98,8 \pm 9,3\%$, $p=0,046$).

Трансгенные мыши B05 сверхэкспрессируют человеческий атаксин 1 с 82 повторами глутамина только в КП благодаря специфичному промотору [6]. У этих мышей развивается неврологический дефицит начиная с 6-й недели, наблюдается прогрессирующая потеря КП и нарушение функции мозжечка. Удлиненная полиглутаминовая последовательность в атаксине-1 приводит к неправильной структуре мутантного белка, вследствие чего образуются растворимые и нерастворимые агрегаты в клетках. Нарушение функции белка, накопление агрегатов, нарушение деградации мутантных белков вносит вклад в патогенез СЦА1 [6, 17, 18].

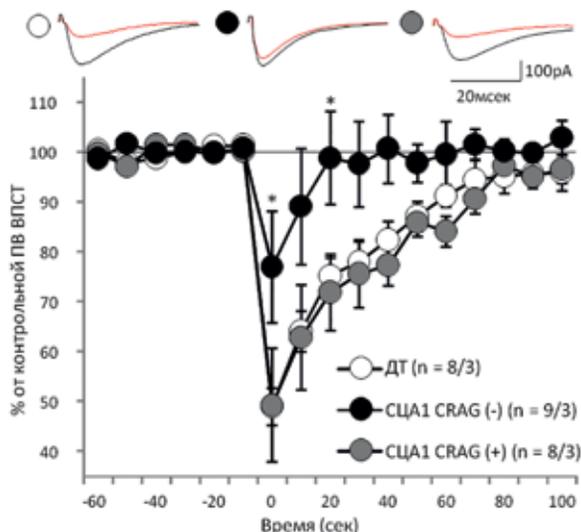


График динамики нормированных амплитуд ПВ ВПСТ у мышей дикого типа, модельных мышей СЦА1 без введения AAV(CRAG (-)) и экспрессирующих CRAG (CRAG (+)). Количество исследованных КП (n) и животных показано в скобках. Сверху представлены репрезентативные кривые до (черный цвет) и после (красный цвет) стимуляции; * – $p<0,05$.

Graph of the dynamics of the normalized SP amplitudes PF EPSC of in wild-type, model CCA1 mice without AAV(CRAG (-)) and expressing CRAG (CRAG (+)). The number of Purkinje cells (n) and animals studied are shown in parentheses. Above are representative traces before (black) and after (red) stimulation. * – $p<0.05$.

Таблица 2/ Table 2

Сравнение характеристик возбуждающих постсинаптических токов в синапсах КП с параллельными волокнами (ПВ ВПСТ)
Comparison of the characteristics of the excitatory postsynaptic currents parallel fibers-PC synapse (PF EPSC)

Группы Groups	Амплитуда Amplitude (pA)	Коэф. коэффициент PPF	Время подъёма/ Rise time (ms)	Время спада Decay time (ms)
ДТ – контроль (control) (n = 10/3)	666,8±78,9	1,6±0,1	2,0±0,2*	10,5±0,8**
СЦА1 CRAG (-) (n = 8/3)	707,3±191,5	1,6±0,1	1,7±0,1	6,3±0,9
СЦА1 CRAG(+)(n = 9/3)	846,2±144,4	1,6±0,1	1,6±0,1	7,1±0,9**

Примечание/Note. * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$, ** – $p<0,01$.

Наш анализ срезов мозжечка с помощью метода локальной фиксации потенциала показал значительно меньшую ёмкость мембраны КП у мышей СЦА1, по сравнению с мышами дикого типа, что свидетельствует о уменьшении размера дендритов в КП мышей СЦА1. Наше исследование четко показало функциональное нарушение эндоканнабиноид-опосредованного пресинаптического ингибирования (SSE) у мышей СЦА1. Так как эндоканнабиноиды модулируют синаптическую передачу и опосредуют множественные формы синаптической пластичности [19–22], то такое нарушение может способствовать развитию атаксии, наблюдаемой у пациентов с СЦА1.

Для уменьшения количества мутантного атаксина-1 в КП мышей СЦА1 мы использовали AAV9, поскольку его внутривенное введение позволяет доставлять трансген в ЦНС на ранних этапах развития до формирования гематоэнцефалического барьера [23–25]. AAV9-опосредованная экспрессия CRAG в КП СЦА1-мышей восстанавливала размеры КП и значительно улучшала экспрессию SSE. Эти результаты подтверждают, что постнатальное отложение мутантного атаксина-1 с аномально удлинённой полиглутаминовой последовательностью в КП *in vivo* нарушает развитие дендритов и кратковременную синаптическую пластичность в синапсах ПВ-КП.

Заключение

Охарактеризованы электрофизиологические нарушения у СЦА1 зрелых мышей, которые экспрессируют в КП мутантный ген атаксина-1 с 82 повторами CAG, что и обуславливает тяжелую атаксию. Электрофизиологическое исследование КП мышей СЦА1 выявило значительное снижение ёмкости мембраны КП и нарушение эндоканнабиноид-опосредованного пресинаптического ингибирования возбуждения в синапсах ПВ-КП. Постнатальное снижение количества мутантного атаксина-1 за счет AAV9-опосредованной экспрессии CRAG способствовало частичному восстановлению размеров КП и полному восстановлению эндоканнабиноид-опосредованной кратковременной синаптической пластичности.

Литература/References

- Zoghbi H.Y., Orr H.T. Glutamine repeats and neurodegeneration. *Annual Review of Neuroscience*. 2000; 23: 217–47.
- Buijssen R.A.M., Toonen L.J.A., Gardiner S.L., van Roon-Mom W.M.C. Genetics, mechanisms, and therapeutic progress in polyglutamine spinocerebellar ataxias. *Neurotherapeutics*. 2019; 16(2): 263–86.
- Kawaguchi Y., Okamoto T., Taniwaki M., Aizawa M., Inoue M., Katayama S., et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nature Genetics*. 1994; 8: 221–8.
- Konno A., Shuvaev A.N., Miyake N., Miyake K., Iizuka A., Matsuura S., et al. Mutant Ataxin-3 with an Abnormally Expanded Polyglutamine Chain Disrupts Dendritic Development and Metabotropic Glutamate Receptor Signaling in Mouse Cerebellar Purkinje Cells. *Cerebellum*. 2014; 13(1): 29–41.
- Qin Q., Inatome R., Hotta A., Kojima M., Yamamura H., Hirai H., et al. A novel GTPase, CRAG, mediates promyelocytic leukemia protein-associated nuclear body formation and degradation of expanded polyglutamine protein. *Journal of Cell Biology*. 2006; 172: 497–504.
- Burridge E.N., Clark H.B., Servadio A., Matilla T., Feddersen R.M., Yunis W.S., et al. SCA1 transgenic mice: a model for neurodegeneration caused by an expanded CAG trinucleotide repeat. *Cell*. 1995; 82(6): 937–48.
- Takayama K., Torashima T., Horiuchi H., Hirai H. Purkinje-cell-preferential transduction by lentiviral vectors with the murine stem cell virus promoter. *Neuroscience Letter*. 2008; 443: 7–11.
- Tamayose K., Hirai Y., Shimada T. A new strategy for large-scale preparation of high-titer recombinant adeno-associated virus vectors by using packaging cell lines and sulfonated cellulose column chromatography. *Human Gene Therapy*. 1996; 7: 507–13.
- Torashima T., Koyama C., Iizuka A., Mitsumura K., Takayama K., Yanagi S., et al. Lentivector-mediated rescue from cerebellar ataxia in a mouse model of spinocerebellar ataxia. *EMBO Reports*. 2008; 9: 393–9.
- Miyake K., Miyake N., Yamazaki Y., Shimada T., Hirai Y. Serotype-independent method of recombinant adeno-associated virus (AAV) vector production and purification. *Journal of Nippon Medical School*. 2012; 79: 394–402.
- Iizuka A., Takayama K., Torashima T., Yamasaki M., Koyama C., Mitsumura K., et al. Lentiviral vector-mediated rescue of motor behavior in spontaneously occurring hereditary ataxic mice. *Neurobiology of Disease*. 2009; 35: 457–65.
- Torashima T., Iizuka A., Horiuchi H., Mitsumura K., Yamasaki M., Koyama C., et al. Rescue of abnormal phenotypes in $\delta 2$ glutamate receptor-deficient mice by the extracellular N-terminal and intracellular C-terminal domains of the $\delta 2$ glutamate receptor. *Eur J Neurosci*. 2009; 30: 355–65.
- Maejima T., Hashimoto K., Yoshida T., Aiba A., Kano M. Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron*. 2001; 31: 463–75.
- Brown S.P., Brenowitz S.D., Regehr W.G. Brief presynaptic bursts evoke synapse-specific retrograde inhibition mediated by endogenous cannabinoids. *Nature Neuroscience*. 2003; 6: 1048–57.
- Marcaggi P., Attwell D. Endocannabinoid signaling depends on the spatial pattern of synapse activation. *Nature Neuroscience*. 2005; 8: 776–81.
- Marcaggi P., Attwell D. Short- and long-term depression of rat cerebellar parallel fibre synaptic transmission mediated by synaptic cross-talk. *The Journal of Physiology*. 2007; 578: 545–50.
- Lim J., Crespo-Barreto J., Jafar-Nejad P., Bowman A.B., Richman R., Hill D.E., et al. Opposing effects of polyglutamine expansion on native protein complexes contribute to SCA1. *Nature*. 2008; 452(7188): 713–8.
- Cummings C.J., Reinstein E., Sun Y., Antalffy B., Jiang Y., Ciechanover A., et al. Mutation of the E6-AP ubiquitin ligase reduces nuclear inclusion frequency while accelerating polyglutamine-induced pathology in SCA1 mice. *Neuron*. 1999; 24: 879–92.
- Albergaria C., Silva N.T., Darmohray D.M., Carey M.R. Cannabinoids modulate associative cerebellar learning via alterations in behavioral state. *eLife*. 2020; 9: e61821.

20. Steinmetz A.B., Freeman J.H. Cannabinoid agonist administration within the cerebellar cortex impairs motor learning. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2020; 170: 106896.
21. Rodríguez-Cueto C., Hernández-Gálvez M., Hillard C.J., Maciel P., Valdeolivas S., Ramos J.A., et al. Altered striatal endocannabinoid signaling in a transgenic mouse model of spinocerebellar ataxia type-3. *PLoS One*. 2017; 12: e0176521.
22. Gómez-Ruiz M., Rodríguez-Cueto C., Luna-Piñel E., Hernández-Gálvez M., Fernández-Ruiz J. Endocannabinoid System in Spinocerebellar Ataxia Type-3 and Other Autosomal-Dominant Cerebellar Ataxias: Potential Role in Pathogenesis and Expected Relevance as Neuroprotective Targets. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019; 12: 94.
23. Foust K.D., Nurre E., Montgomery C.L., Hernandez A., Chan C.M., Kaspar B.K. Intravascular AAV9 preferentially targets neonatal neurons and adult astrocytes. *Nature Biotechnology*. 2009; 27: 59–65.
24. Gray S.J., Matagne V., Bachaboina L., Yadav S., Ojeda S.R., Samulski R.J. Preclinical differences of intravascular AAV9 delivery to neurons and glia: a comparative study of adult mice and nonhuman primates. *Molecular Therapy*. 2011; 19: 1058–69.
25. Miyake N., Miyake K., Yamamoto M., Hirai Y., Shimada T. Global gene transfer into the CNS across the BBB after neonatal systemic delivery of single-stranded AAV vectors. *Brain Research*. 2011; 1389: 19–26.

Сведения об авторах:

Белозор Ольга Сергеевна, науч. сотр. НИИ Молекулярной медицины и патобиохимии, e-mail: olsbelor@gmail.com;

Шуваев Андрей Николаевич, канд. физ.-мат. наук, доцент каф. медико-биологических систем и комплексов Института фундаментальной биологии и биотехнологии;

Фрицлер Яна Викторовна, аспирант каф. биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии;

Шуваев Антон Николаевич, канд. мед. наук, руководитель НИИ Молекулярной медицины и патобиохимии.