

# УНИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА СИНАПТОСОМ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

## Обзор

© 2024 А.С. Дашкова\*, В.И. Ковалев\*\*, А.В. Чаплыгина,  
Д.Ю. Жданова, Н.В. Бобкова

ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,  
Институт биофизики клетки РАН, 142290 Пушкино, Московская обл., Россия;  
электронная почта: kovalev@chemist.com

Поступила в редакцию 25.10.2023

После доработки 21.03.2024

Принята к публикации 23.03.2024

Болезнь Альцгеймера (БА) – тяжелое нейродегенеративное заболевание, от которого страдают миллионы людей во всем мире. Рост распространенности БА коррелирует с увеличением продолжительности жизни и старением населения в развитых странах. Поскольку БА является многофакторным заболеванием и включает в себя различные патологические процессы, такие как: синаптическая дисфункция, нейровоспаление, окислительный стресс, неправильное сворачивание белков и т.д., комплексный подход, направленный одновременно на несколько мишеней, может оказаться эффективным и замедлить прогрессирование заболевания. Клеточная терапия и дальнейшее ее развитие в виде трансплантации клеточных везикул и особенно митохондрий являются весьма перспективным подходом для лечения нейродегенерации. Использование синаптосом, благодаря уникальности их содержания, может стать новым этапом на пути разработки комплексной терапии нейродегенеративных заболеваний и БА, в частности. Синаптосомы содержат уникальные митохондрии памяти, отличающиеся не только по размеру, но и по функциональности в сравнении с митохондриями в нейрональной соме. Эти синаптосомальные митохондрии активно участвуют в клеточной коммуникации и передаче сигналов внутри синапсов. Синаптосомы содержат и другие элементы, такие как: собственный аппарат для синтеза белка, синаптические везикулы с нейромедиаторами, молекулы синаптической адгезии, микроРНК – все они чрезвычайно необходимы для синаптической передачи и, как следствие, когнитивных процессов. Сложный молекулярный ансамбль обеспечивает сохранение синаптической автономии митохондрий. Также синаптосомы, обладая тропностью к нейронам, могут служить оптимальной платформой для адресной доставки лекарств к нервным клеткам. В данном обзоре обсуждаются особенности состава синаптосом, их возможности и преимущества, а также ограничения их использования в качестве терапевтического средства для лечения нейродегенеративных патологий, в частности БА.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** болезнь Альцгеймера, митохондрии, нейродегенеративные заболевания, память, синаптосомы.

DOI: 10.31857/S0320972524060058 EDN: XMEWUC

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) – тяжелое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся прогрессирующим ухудшением когнитивных

функций, важнейшими из которых являются память и речь, а также нарушениями поведения и мышления у людей пожилого возраста [1]. Ожидается, что с увеличением продолжительности жизни и старением населения в развитых

Принятые сокращения: БА – болезнь Альцгеймера; А $\beta$  –  $\beta$ -амилоид; МДМ – метаболическая ДНК мозга; ИВ – интраназальное введение; ЭВ – экстраклеточные везикулы; APP – белок-предшественник амилоида; circRNAs – кольцевые РНК; RRP – немедленно готовый к высвобождению пул.

\* Адресат для корреспонденции.

# Авторы внесли равный вклад в работу.

странах заболеваемость будет увеличиваться [2]. К сожалению, на сегодняшний день не существует препаратов, способных остановить прогрессирование БА и восстановить структуры мозга, пораженные заболеванием [3]. Однако новые исследования расширяют границы наших знаний о патологических механизмах, лежащих в основе БА, и предлагают перспективные терапевтические решения. В настоящее время существует два основных подхода к лечению нейродегенеративных заболеваний: монотерапия, использующая молекулы органических и неорганических соединений, а также антитела, направленные на определенные патологические мишени в организме больного, и комплексная терапия, постепенно привлекающая все большее внимание, направленная на модификацию заболевания путем удаления токсичных агрегатов, стимуляции нейрогенеза и усиления нейропротекции [4, 5]. В связи с многофакторной природой БА, включающей синаптическую и митохондриальную дисфункции, нейровоспаление, окислительный стресс, неправильный белковый фолдинг и нейротоксичность, мы считаем, что комплексный подход к терапии БА более оправдан, поскольку нацеливание на несколько мишеней позволяет достичь синергический эффект и замедлить прогрессирование заболевания.

### КОМПЛЕКСНАЯ ТЕРАПИЯ БА

Примером комплексного подхода является клеточная терапия с использованием стволовых клеток, важнейшими из которых являются мезенхимные стромальные клетки (МСК) и нейральные клетки-предшественники (НКП) [6]. Терапевтические эффекты этих клеток обусловлены их способностью секретировать факторы роста, противовоспалительные белки, мембранные рецепторы и микроРНК, которые оказывают нейропротективное действие за счет блокирования апоптоза и усиления нейрогенеза, синаптогенеза и ангиогенеза [7]. Положительное действие трансплантированных клеток обусловлено, прежде всего, паракринным эффектом ряда факторов роста и противовоспалительных медиаторов, содержащихся в том числе и в экстраклеточных везикулах (ЭВ), а не способностью НКП дифференцироваться в нейроны и заменять погибшие [8]. При этом статистически значимые терапевтические эффекты стволовых клеток были в основном продемонстрированы в доклинических исследованиях на клеточных культурах и моделях БА на животных [4]. ЭВ обладают рядом преимуществ по сравнению со стволовыми клетками, а именно: проявляют низкую иммуногенность и токсичность, высокую стабильность, способность проникать через ГЭБ,

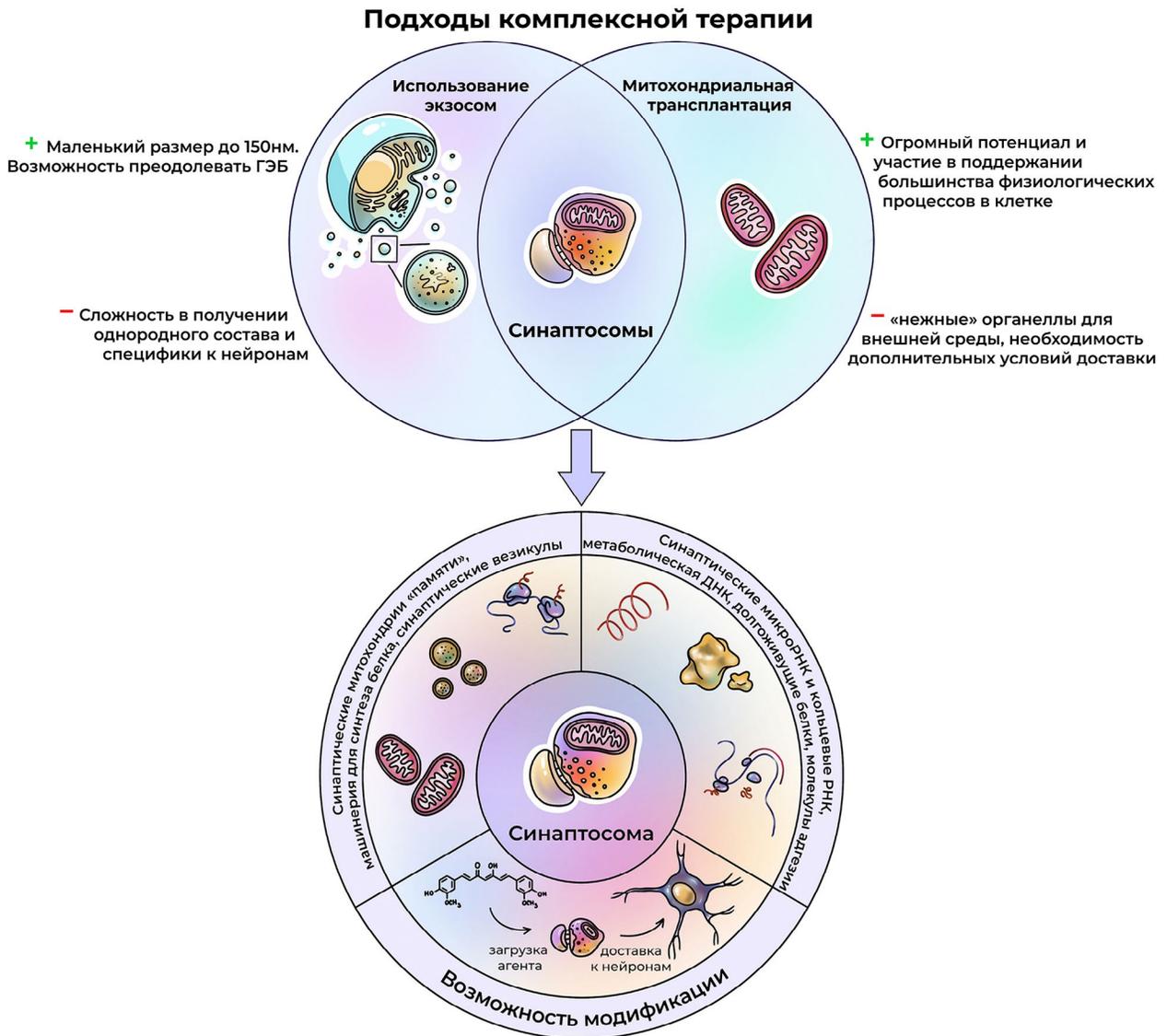
имеют более высокий профиль безопасности, а также могут использоваться не только в качестве самостоятельного терапевтического агента, но и как модифицируемый носитель для различных лекарственных препаратов [9]. Несмотря на то что существует много экспериментальных работ, посвященных оценке эффективности использования ЭВ, к настоящему времени есть лишь одно зарегистрированное клиническое исследование об эффективности и безопасности экзосом из стволовых клеток жировой ткани при лечении деменции, вызванной БА. Сообщается, что участники получают экзосомальный препарат интраназально в виде капель в нос. Результаты данного исследования еще не опубликованы [10].

Еще одним инновационным подходом к лечению нейродегенеративных заболеваний стала трансплантация здоровых, интактных митохондрий в мозг, пораженный БА, для уменьшения митохондриальной дисфункции, которая лежит в основе развития нейродегенеративного процесса [11]. Трансплантация митохондрий позволяет преодолеть ряд ограничений, свойственных для фармакологической коррекции митохондриальной дисфункции, так как сложность и неоднозначность вовлечения митохондрий в патологические процессы, наряду с их многофакторной регуляцией, делает задачу подбора лекарственных средств крайне тяжелой [12].

Трансплантированные митохондрии, являясь целостными органеллами, способны проникнуть в клетку и заменить дисфункциональные митохондрии [13]. Огромный потенциал митохондриальной трансплантации стал основой для поиска способов их эффективной доставки в мозг [14]. Одной из новых и до сих пор недостаточно изученных стратегий является предложенное Picone et al. [15] использование синаптосом в качестве мембранных структур для доставки функциональных митохондрий в клетки.

Синаптосомы – это субклеточная фракция, представляющая собой искусственно замкнутые в результате выделения синаптические окончания нейронов. В сравнении с другими мембранными структурами, использованными для защиты митохондрий во внеклеточной среде и их эффективной доставки [14, 16], синаптосомы являются естественными системами, содержащими митохондрии. Они обладают хорошей стабильностью, не склонны к флокуляции или агрегации, демонстрируют специфическое взаимодействие с нейрональными клетками и выдерживают криоконсервацию с сохранением функциональной целостности митохондрий в них [15].

Потенциал синаптосом не ограничивается только возможностью доставки содержащихся в них митохондрий. Уникальный состав синаптосом,



**Рис. 1.** Синапсомы как «золотая середина» между терапией экзосомами и митохондриальной трансплантацией. Синапсомы содержат основные необходимые для поддержания синаптической функции элементы (синаптические митохондрии, аппарат для синтеза белка, набор микровезикул с нейромедиаторами); также синапсомы содержат дополнительные элементы, имеющие потенциал для терапевтических приложений (микроРНК, кольцевые РНК, мозговая метаболитическая ДНК, долгоживущие белки и молекулы синаптической адгезии). Также синапсомы можно дополнительно модифицировать и нагружать различными терапевтическими агентами

их структурные и функциональные особенности позволяют им оказывать влияние на когнитивные процессы и дают возможность рассматривать их в качестве перспективного комплексного средства терапии БА и других нейродегенеративных заболеваний. Мы считаем, что функциональные синапсомы являются многообещающим агентом для комплексной терапии: они сочетают в себе уникальные свойства и способности митохондрий, обладают стабильным и безопасным составом и имеют мембранную защиту как у ЭВ, позволяющую использовать их как в свободном виде, так и модифицировать их поверхность и нагружать дополнительными веществами (рис. 1).

Изучение синапсов в настоящее время имеет решающее значение для всей нейробиологии. Развитие представлений о биогенезе и организации синаптических окончаний, их кальциевом и энергетическом метаболизме, а также об изменениях, происходящих в синапсах в ходе нормального и патологического развития нервной ткани, углубляет знания о ЦНС и приближает нас к пониманию таких глобальных тем, как формирование памяти, старение и нейродегенеративные процессы. Интересно, что, несмотря на многолетнюю историю исследования синапсов и их ключевую роль в осуществлении синаптических функций, идея использования синапсом в качестве

терапевтических агентов не была предложена даже в классических работах [17, 18]. Стоит отметить, что изучения синаптических окончаний активно проводятся с 1950-х гг., когда благодаря появлению электронной микроскопии стало возможным исследовать их ультраструктуру [19]. В 1960-е гг. Whittaker et al. [20, 21] получили препарат изолированных нервных окончаний, который под названием «синаптосома» стал основой для огромного количества последующих исследований синаптических связей в мозге. Интерес к синаптосомам достиг пика в 1980-е гг. и сопровождался волной научных публикаций, посвященных синтезу, высвобождению и деградации нейромедиаторов [22–24]. В настоящее время синаптосомы продолжают активно изучаться. Так, за последние 10 лет было проведено большое количество протеомных и транскриптомных исследований синаптосом [25, 26], а также работ, изучающих синаптосомы в контексте нейродегенеративных заболеваний [27], или для разработки нейрофармакологических препаратов [28]. Синаптосомы являются особенно полезным инструментом для моделирования синаптической дисфункции и изучения способов ее устранения [27]. Сегодня не возникает сомнений, что синаптическая дисфункция является одним из ранних проявлений БА [29]: нарушения структуры и функций синапсов наблюдаются задолго до появления амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков [30]. Более того, для дисфункции и потери синаптических окончаний была продемонстрирована наиболее сильная корреляция с деградацией когнитивных функций, нарушением поведения и памяти [31]. По этой причине многие современные стратегии терапии БА направлены на сохранение синапсов и их правильное функционирование [29]. В связи с растущим интересом к использованию наночастиц естественного происхождения для лечения различных заболеваний синаптосомы также были предложены в качестве препарата комплексной терапии БА [32, 33]. В частности, была высказана идея о применении синаптосом в качестве биологических систем доставки митохондрий в нервные клетки [15] с целью восстановления митохондриальной дисфункции как одной из главных причин патологических процессов в синапсах [34, 35].

#### **СИНАПТИЧЕСКИЕ МИТОХОНДРИИ. МИТОХОНДРИАЛЬНО-НЕЙРОННЫЙ БАЛАНС**

Из-за высокой энергетической потребности синаптических процессов наличие митохондрий в синапсах, по-видимому, имеет решающее значение для их правильного функционирования [36, 37]. Неудивительно, что в сравнении с другими участ-

ками клетки, синаптические окончания нейронов характеризуются наибольшим количеством митохондрий [38]. В частности, в пресинаптических окончаниях митохондрии необходимы для интенсивной генерации аденозинтрифосфата (АТФ), который расходуется на высвобождение синаптических пузырьков, обратный захват нейротрансмиттеров [39], генерацию и поддержание потенциала действия, а также для регуляции уровней  $Ca^{2+}$  и участия в различных сигнальных путях [36, 40].

В связи с особой ролью, которую выполняют митохондрии в синапсах, в последние годы стало появляться все больше данных, свидетельствующих о структурном и функциональном различии митохондрий, расположенных в соме нейронов (несинаптические митохондрии) и локализованных в пресинаптических окончаниях (синаптические митохондрии) [41]. Показано, что, в сравнении с несинаптическими митохондриями, для синаптических характерны меньшие размеры [42], разные протеомные [43] и липидомные [44] профили, различная активность ферментов цикла трикарбоновых кислот [45] и процессов окислительного фосфорилирования [46], а также большая восприимчивость к  $Ca^{2+}$  [47] и к ингибированию электрон-транспортной цепи [48]. Синаптические митохондрии отличаются более высоким отношением площади поверхности крист к площади наружной митохондриальной мембраны [49], а также повышенным уровнем цитохрома с и плотностью крист [50]. Все эти отличия позволяют говорить о синаптических митохондриях как об особенном пуле нейрональных митохондрий, специализированном на поддержании функциональности синапса, в том числе буферизации  $Ca^{2+}$  и генерации АТФ для обеспечения энергией синаптических окончаний [36, 41].

На фоне интереса к синаптическим митохондриям вопрос, посвященный их биогенезу, также не мог остаться без внимания. Так, в настоящее время рассматриваются две гипотезы функционирования синаптических митохондрий. Согласно первой, пул митохондрий в синапсе пополняется за счет антероградного транспорта органелл из сомы, а в соответствии со второй, существует локальный биогенез митохондрий в пресинаптических окончаниях. На данный момент обе теории находят подтверждение, что позволяет предположить гармоничное сосуществование обоих механизмов [50–53]. Вторая гипотеза представляет особый интерес в контексте диагностики и терапии нейродегенеративных заболеваний. Так, можно предположить, что в связи с отдельным биогенезом нарушения в процессах деления несинаптических митохондрий будут, скорее всего, приводить к серьезным патологиям во всей клетке,

вплоть до ее гибели, в то время как сбои в биогенезе синаптических митохондрий с большей вероятностью будут наблюдаться на более ранних стадиях заболевания и будут связаны с дисфункцией единичных синапсов [51].

Было показано, что патологические изменения в синаптических митохондриях возникают раньше, чем в митохондриях сомы. Сравнение двух субпопуляций митохондрий, выделенных из мозга мышей с наследственной формой БА, показало накопление  $\beta$ -амилоидов ( $A\beta$ ) в синаптических митохондриях в возрасте 4 месяца – задолго до его появления в несинаптических органеллах и накопления вне клеток [54]. Синаптические митохондрии с  $A\beta$  продемонстрировали раннее проявление митохондриальной дисфункции, выражавшееся в повышенной проницаемости митохондриальной мембраны, ухудшении дыхания и активности цитохрома *c*. Похожие результаты были получены Olesen et al. [55], которые изучали митохондриальное старение на здоровых мышцах и наблюдали дисфункцию синаптических митохондрий уже в возрасте 12 месяцев – за 6 месяцев до появления сходных патологий у несинаптических митохондрий [55]. Кроме того, показано увеличение чувствительности синаптических митохондрий к токсическому действию  $A\beta$ -пептида на моделях нарушения синаптического гомеостаза [56, 57].

В последние годы на моделях различных нейродегенеративных заболеваний была продемонстрирована тесная взаимосвязь между дисфункцией синаптических митохондрий и нарушениями в работе синапсов [34, 35]. В частности, было показано регион-специфичное уменьшение количества митохондрий в пресинаптических окончаниях аутопсийного мозга больных БА [58], а также уменьшение общего количества синапсов, меньшая представленность пресинапсов с множественными митохондриями и увеличение синапсов с поврежденными митохондриями в биоптатах мозга пациентов с БА [59]. Это положительно коррелирует с результатами, демонстрирующими необходимость присутствия митохондрий в синаптических окончаниях и основаниях аксональных ветвей для поддержания их жизнеспособности [60, 61].

Таким образом, синаптическим митохондриям отводится важная роль в обеспечении правильной работы синапсов. В связи с повышенной чувствительностью этих органелл для них были показаны более ранние функциональные и структурные патологии, в том числе накопление  $A\beta$ , чем для пула несинаптических митохондрий. Все это говорит о необходимости более пристального внимания к синаптическим митохондриям, особенно на ранних стадиях БА, и о рассмотрении

варианта трансплантации специфических синаптических митохондрий в качестве альтернативы трансплантации с использованием неспециализированных органелл.

Помимо работ, посвященных дисфункции синаптических митохондрий, были также проведены исследования, посвященные изучению патологических изменений в структуре и количестве синаптических везикул – пузырьков, осуществляющих хранение и квантовое высвобождение нейромедиаторов в синаптическую щель [62]. В частности, в исследовании Wang et al. [59] было показано, что, по сравнению с синаптическими окончаниями из мозга здоровых людей, в которых наблюдались симметричные синаптические везикулы, заполняющие собой весь пресинапс, для пациентов с БА было характерно обилие синаптических окончаний с пустыми участками, а также синапсов с очень крупными везикулами и везикулами с характерным плотным центром. Так, для пациентов с БА количество пресинапсов с прозрачными круглыми синаптическими пузырьками составило 56%, что значительно меньше, чем для здоровых людей (83%;  $p < 0,0001$ ). В синапсах принято классифицировать синаптические везикулы по трем пулам: немедленно готовый к высвобождению (ready releasable pool, RRP), рециклирующий и резервный. Wang et al. [59] также оценили изменения в количестве везикул каждого из пулов при БА и выявили, что, несмотря на отсутствие изменений в количестве везикул RRP и рециклирующего пула, в резервном пуле было выявлено значительно меньшее число синаптических пузырьков. Анализируя связь между митохондриальной дисфункцией и нарушениями синаптических везикул, авторы обнаружили положительную корреляцию плотности синаптических везикул с общим количеством митохондрий в пресинаптических окончаниях, но отрицательную корреляцию – с процентом поврежденных митохондрий. В частности, была также продемонстрирована положительная связь между количеством поврежденных митохондрий и дефектными везикулами (увеличенными везикулами и везикулами с плотным центром) [59].

Не менее интересными оказались выводы Chakroborty et al. [63], которые наблюдали повышенное спонтанное высвобождение нейротрансмиттеров в синапсах модельных мышей 3xTg с наследственной формой БА, а также меньшую плотность синаптических везикул RRP и резервного пула. Исследователи связывают данные дефекты пресинапсов с нарушением обмена  $Ca^{2+}$ , что также может быть следствием аномальной работы синаптических митохондрий при БА [63].

Формирование синаптических связей и хранение информации требуют от нейронов постоянной

реконструкции и модификации синаптического протеома. Однако в связи со значительной длиной дендритов и аксонов быстрая настройка и поддержание определенного набора синаптических белков путем их антероградного транспорта из сомы были бы проблематичны. Нервные клетки решили данную проблему, расположив машинерию синтеза белков непосредственно в синаптических окончаниях. К настоящему времени было выполнено большое количество работ, подтверждающих существование локального синтеза вблизи синапсов [64–68]. В частности, были получены множественные данные об мРНК, с которых транслируется белок в пресинапсах. Так, в результате сравнения транскриптомов и транслатомов нейрональной сомы (сомата), дендритов и аксонов (нейропил) Glock et al. [67] обнаружили различия в интенсивности трансляции для тысяч транскриптов соматических и синаптических областей. Исследователи также отметили, что многие каркасные и сигнальные белки демонстрировали повышенные уровни трансляции именно в нейропиле, и для более чем 800 мРНК основным местом трансляции были синаптические окончания аксонов.

На волне работ, уточняющих механизмы и пути регуляции локального пресинаптического синтеза белка [69, 70], были также проведены исследования, посвященные нарушениям белкового синтеза при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе БА. Например, исследование Cefaliello et al. [71], сравнивших белковый синтез в синаптосомах из мозга здоровых мышей и мышей, сверхэкспрессирующих мутантную форму белка-предшественника амилоида (APP), показало различие в результатах электрофореза между двумя группами. В частности, в синаптосомах больных мышей был обнаружен локальный синтез APP, а также, в отличие от здоровых животных, для них не было показано смещения интенсивности синтеза в сторону определенных белков после контекстуального кондиционирования страха. В исследовании Valeriola et al. [72], показавших влияние Аβ на пресинаптический синтез белка, была высказана идея, что белковый синтез в синаптических окончаниях может быть вовлечен в этиопатологию БА.

Похожая идея была также высказана в работе, посвященной изучению белка Shank3 [73]. В данном исследовании на синаптосомах полсатого тела мозга мышей были выявлены повышенные уровни рибосомальных белков, а также более интенсивный синтез белка в синапсе, что, как предполагают авторы, связано с ремоделированием постсинаптического протеома на фоне сверхэкспрессии Shank3. Среди возможных механизмов, приводящих к изменению белкового син-

теза при БА, были также отмечены те, которые запускаются на ранних стадиях заболевания и проходят бессимптомно, как, например, потеря активности Akt1 в результате окислительной модификации АФК [74] или изменения в транскриптомных профилях, приводящие к изменению плотности и морфологии дендритных шипиков на более поздних стадиях БА [75]. Таким образом, биосинтез белка в синаптических окончаниях выступает ключевым механизмом в реализации синаптической пластичности нейронов. Нарушения в синаптическом аппарате синтеза белков могут приводить к дисфункции синапсов, а также опосредовать этиопатогенез БА в целом.

На сегодняшний день появляется все больше данных, демонстрирующих участие микроРНК в функционировании синаптических окончаний, в том числе в синаптической пластичности, синаптогенезе, морфологии [76]. Особо следует отметить способность микроРНК регулировать синаптический синтез белка [77], что в данный момент является объектом внимания в исследованиях развития нейродегенеративных заболеваний [78–80].

Несмотря на то что роль синаптических микроРНК в патогенезе БА еще предстоит изучить, сделаны попытки оценить их функциональную активность в норме и при патологии. Так, Kumar et al. [78] провели масштабное исследование, в котором сравнивалась представленность цитозольных и синаптических микроРНК в аутопсийном головном мозге больных БА и мышей с наследственной формой заболевания. В результате сравнения синаптических микроРНК в образцах пациентов с БА и здоровых людей было показано, что различные уровни экспрессии характерны для 11 микроРНК, из которых 4 микроРНК сверхэкспрессированы в образцах с БА (miR-502-3p, miR-500a-3p, miR-877-5p, miR-664b-3p), а 7 микроРНК демонстрируют сниженную экспрессию (miR-3196, miR-6511b-5p, miR-4508, miR-1237-5p, miR-5001-5p, miR-4492, miR-4497) в сравнении с контролем. Особый интерес, по мнению исследователей, представляют miR-501-3p и miR-502-3p, которые, как было показано, могут модулировать функции ГАМКергических синапсов – тормозных синапсов, работа которых нарушена при БА [81].

Помимо вышеперечисленного, синаптосомы содержат и другие интересные компоненты, которые могут оказать существенное влияние на проявляемые ими терапевтические свойства.

**Метаболическая ДНК мозга (МДМ)** возникает в результате цитоплазматической обратной транскрипции и приобретает затем двухцепочечную конфигурацию, она не участвует в делении и поэтому была определена как «метаболическая». Свойства МДМ до сих пор до конца не изучены, однако она участвует в активации генов,

способствующих обучению и регуляции организма в ответ на внешние воздействия. Повышенное содержание МДМ в синапсосомах и положительная корреляция МДМ с митохондриями указывает на активное участие данных структур в процессах обучения, памяти и контроля циркадных ритмов [82–85]. Эта ДНК может предоставлять необходимый генетический материал для локализованного в синапсе синтеза белка, позволяющего быстро реагировать на синаптическую активность и облегчающего динамические изменения, связанные с синаптической пластичностью. Более того, МДМ в синапсосомах, нам кажется, может участвовать в поддержании и модуляции синаптических митохондрий, вносящих вклад в модификацию синаптических процессов. Точную роль и значение МДМ внутри синапсосом еще предстоит выяснить. Терапия с применением синапсосом в данном случае может влиять на восстановление общего баланса в синапсах при БА.

**Долгоживущие белки.** Уникальной характеристикой синапсосом является повышенное содержание долгоживущих белков [86]. Эти белки, как следует из названия, обладают увеличенным сроком жизни, сохраняясь внутри клеток в течение длительных периодов времени, у которых превышены типичные темпы оборота в клетках. В контексте синапсосом эти долгоживущие белки потенциально играют важную роль в синаптической функции и пластичности [87, 88]. Учитывая их долговечность, они могли бы стать своего рода молекулярной памятью, сохраняющей синаптические модификации с течением времени, тем самым способствуя сохранению синаптических изменений в долгосрочной перспективе, например, происходящих во время длительной потенциации или депрессии [89]. Эти белки могут также играть защитную роль, способствуя устойчивости синапсосом. Поскольку синапсы являются динамичными структурами, в условиях частого ремоделирования присутствие долгоживущих белков может усиливать синаптическую стабильность, сохраняя синаптическую целостность при постоянных изменениях. Еще один важный аспект, связанный с долгоживущими белками в синапсосомах, относится к их потенциальному влиянию на клеточную аутофагию. Аутофагия, ключевой клеточный процесс, ответственный за деградацию и переработку клеточных компонентов, играет важную роль в поддержании здоровья клеток и синаптических окончаний. В контексте долгоживущих белков присутствует хрупкий баланс. Хотя эти белки оказывают значительное влияние на синаптические функции и устойчивость формирования памяти, их длительное существование потенциально может нарушать процесс аутофагии. Перегрузка данными белками может приводить

к изменению функции белкового обмена и накоплению дисфункциональных белков. Такие нарушения динамического баланса белкового синтеза, функции и деградации могут иметь серьезные последствия, особенно при нейродегенеративных заболеваниях [90, 91].

**Молекулы адгезии.** Неотъемлемой частью состава синапсосом являются молекулы адгезии, которые играют ключевую роль в обеспечении синаптического сигнала и функции [92, 93]. Эти молекулы облегчают взаимодействие и взаимосвязь между клетками, способствуя структурной целостности синапсов и модулируя синаптическую пластичность. Известно, что изменения в молекулах синаптической адгезии вовлечены в патогенез БА. При БА происходит нарушение регуляции и дисфункция этих молекул, что способствует потере синапсов, дисфункции нейронов и когнитивным нарушениям, являющимся признаками заболевания [94, 95].

**Кольцевые РНК (circRNAs)** являются еще одним интригующим компонентом синапсосом. В отличие от линейных аналогов, circRNAs образуют ковалентно замкнутые структуры без терминальных концов, что наделяет их повышенной стабильностью и уникальными регуляторными возможностями. В нейробиологическом контексте circRNAs участвуют в разнообразных функциях нейронов, от синаптической пластичности до когнитивных процессов. Последние данные свидетельствуют о том, что эти молекулы могут играть решающую роль в регуляции экспрессии генов в нейронах, влияя на синаптическую активность и способствуя формированию памяти. При БА наблюдались изменения уровней и функций circRNAs, что указывает на их потенциальное участие в патогенезе заболевания. Нарушение регуляции экспрессии circRNAs может влиять на функциональность синапсов, способствовать дисфункции нейронов и в конечном итоге приводить к когнитивному дефициту, характерному для БА [96, 97]. В свете этих наблюдений наличие circRNAs внутри синапсосом может быть терапевтически выгодным [98, 99]. Введение синапсосом, содержащих здоровые функциональные circRNAs, потенциально могут восстанавливать нормальные уровни и функции circRNAs при БА.

Помимо использования в качестве самостоятельного терапевтического средства, существует возможность использования синапсосом в качестве средства целевой доставки (рис. 2). Учитывая присущее им сродство к нейронам, синапсосомы можно использовать для транспорта и доставки различных агентов, направленных на характерные мишени БА, непосредственно в нейроны весьма специфичным образом. Этого можно достичь путем загрузки синапсосом целым рядом

терапевтических агентов – от низкомолекулярных лекарств [15, 100] до более крупных биомолекул, таких как пептиды и антитела [101], а также даже наночастицы [102]. С помощью различных методов загрузки эти агенты можно инкапсулировать внутрь синапсом или прикрепить к их поверхности, создавая «нагруженную лекарственными соединениями» синапсом. Благодаря присутствию сродству к нейронам, нагруженные синапсом при введении в организм будут доставляться к нейронам и взаимодействовать с ними. Попав в целевой участок, синапсом смогут высвобождать свой терапевтический «груз», воздействуя непосредственно на пораженные нейроны. Такой целенаправленный подход к доставке не только повышает терапевтическую эффективность средств, направленных против БА, но также и сводит к минимуму нецелевые эффекты, улучшая общий профиль безопасности. Поэтому разработка и оптимизация методов модификации и загрузки синапсом различными агентами для лечения БА может стать перспективным способом доставки лекарств в терапии БА.

Уникальный внутренний состав, а также способность накапливать и метаболизировать различные вещества увеличивают потенциал использования синапсом в качестве универсального препарата для доставки веществ к нейронам, в том числе различных антиоксидантов, средств, направленных против БА, и других.

### ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И БУДУЩИЕ НАПРАВЛЕНИЯ СИНАПСОМАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Существует несколько проблем, связанных с использованием синапсом в качестве терапевтических средств при БА. Вопросы выделения, очистки и стандартизации состава являются одними из наиболее важных для проведения доклинических и клинических исследований. Выделение и очистка синапсом может оказаться весьма сложным процессом, для которого необходимы специфические протоколы и условия для поддержания целостности и функций органелл. Существуют десятки протоколов выделения синапсом со своими преимуществами и недостатками, но не существует единого метода, который был бы оптимален для всех целей [18, 34].

Выбор подходящего источника для экстракции синапсом представляет собой серьезную проблему в контексте разработки лечебных стратегий на основе синапсом. Происхождение синапсом может во многом определять состав содержащихся в них нейротрансмиттеров, что, в свою очередь, будет влиять на их терапевти-



**Рис. 2.** Синапсом с ее уникальным составом и естественным сродством к нейронам может работать как «официант», разносящий необходимые нейронам соединения

ческое приложение. Каждая область мозга имеет уникальные синаптические характеристики и профили нейромедиаторов, что потенциально приводит к синапсом с различным составом и функциональными возможностями. Например, синапсом, извлеченные из гиппокампа, могут иметь другой состав нейротрансмиттеров по сравнению с синапсом, выделенными из областей коры. Несомненно, это обстоятельство будет влиять на терапевтические эффекты синапсом, особенно учитывая ключевую роль конкретных нейротрансмиттеров в синаптической пластичности, процессах обучения и памяти.

Таким образом, достижение полного понимания дифференциальных профилей нейромедиаторов в синапсом, полученных из различных областей мозга, имеет решающее значение. Более того, выбор источника синапсом также должен быть адаптирован в зависимости от конкретного нейродегенеративного заболевания. Например, для БА может потребоваться использование синапсом, происходящих из гиппокампа со своим специфическим составом нейромедиаторов. Исторически сложилось так, что отбор специфических субпопуляций синапсом представлял научный интерес. Примечательно, что в конце 1980-х и начале 1990-х гг. для решения этой проблемы были разработаны инновационные на тот момент методы. Одним из таких подходов стало использование иммуномагнитофореза – метода, позволяющего разделить определенные субпопуляции синапсом [103–105]. Данные методы можно усовершенствовать и адаптировать с использованием современных технологий для лучшего разделения субпопуляций синапсом с их последующим применением в терапевтических целях при нейродегенеративных заболеваниях.

Мы предполагаем, что в качестве источника синапсом можно рассматривать индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), которые, благодаря их способности дифференцироваться в любой тип клеток, могут быть преобразованы в специфические нейроны, представляющие интерес. Полученные культуры нейронов далее могут служить источником для извлечения синапсом с определенным профилем нейротрансмиттеров в соответствии с поставленной целью [106].

Определение подходящей (оптимальной) дозы является одним из решающих условий при использовании синапсом. Дозировки, используемые в экспериментальных работах по трансплантации митохондрий, могут служить отправной точкой для определения доз в случае синапсом. Определение диапазона оптимальных доз, при которых достигается максимальный терапевтический эффект с одновременной минимизацией потенциальных побочных эффектов – сложная задача, требующая комплексных доклинических исследований.

Способ введения также является определяющим фактором терапевтического потенциала синапсом. В контексте доставки в головной мозг по-настоящему эффективным и удобным методом является интраназальное введение (ИВ). Так, по сравнению с периферическим и интрацеребровентрикулярным введением, ИВ предоставляет следующие преимущества: отсутствие фармакокинетических препятствий в виде метаболизма в печени, ферментативной деградации в желудочно-кишечном тракте, почечной фильтрации и необходимости преодолевать ГЭБ [107]; обширная адсорбирующая поверхность носовой полости, а также высокая проницаемость носового эпителия в связи с обилием кровеносных сосудов и неплотными межклеточными контактами; возможность прямого проникновения даже относительно крупных частиц (экзосом, митохондрий) из носовой полости в мозг через пути обонятельного и тройничного нервов, обеспечивающая более высокую биодоступность препарата [108]; неинвазивность процедуры, что делает возможным самостоятельное введение. Экспериментальных данных по интраназальному введению синапсом еще нет, однако существует немногочисленная, но интересная и актуальная литература по ИВ митохондрий, которая может служить отправной точкой для подбора подходов к синапсомальной терапии [109–115].

Несмотря на многообещающие перспективы применения синапсом, необходимо признать, что эта область все еще находится на начальной стадии исследования. Мы полагаем, что основной проблемой в настоящее время является отсутствие экспериментальных работ, направленных

на изучение их терапевтического потенциала, разработки методов определения стабильности синапсом, оценки их профиля безопасности, биораспределения и потенциальных побочных эффектов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синапсомы представляют собой искусственно создаваемую мембранную структуру, включающую синаптическое окончание нейрона с элементами постсинапса. Мы считаем, что синапсомы могут проявлять терапевтическое действие в отношении нейродегенеративных заболеваний. Входящие в их состав синапсомальные митохондрии, синаптические пузырьки, содержащие нейротрансмиттеры, и аппарат синтеза белка говорят о заметной роли синаптических окончаний в формировании памяти и синаптической пластичности. Более того, специфические компоненты, входящие в их состав, еще больше усиливают терапевтический потенциал. Наличие метаболической ДНК мозга может обеспечивать самоподдержание синапсомальных митохондрий; долгоживущие белки в синапсомах, как предполагается, участвуют в долговременной памяти и синаптической пластичности; а синаптические молекулы клеточной адгезии необходимы для формирования и поддержания синаптических связей и обуславливают структурное восстановление. Такие отличительные качества синапсом, как присущая им предрасположенность к взаимодействию с нейронами, разнообразие функциональных элементов и возможность к модификациям, позволяют их рассматривать как уникальные, «природные» элементы. Кроме того, возможность изменять и конструировать синапсомы для доставки терапевтических агентов позволяет рассматривать перспективы их использования как многообещающий инновационный подход в лечении нейродегенеративных заболеваний. Несмотря на уникальные свойства синапсом, экспериментальных работ по изучению их терапевтического потенциала очень мало. Поэтому одной из целей авторов данного обзора было привлечь внимание исследователей к этой интересной, перспективной и недостаточно изученной проблеме.

**Ограничения работы.** Исследование синапсом как потенциальных терапевтических средств в лечении нейродегенеративных заболеваний может стать новым и перспективным направлением биомедицинских исследований. В основе этого обзора лежит личная гипотеза авторов о том, что синапсомы можно рассматривать как самостоятельные терапевтические агенты. Эта идея представляет собой развитие концепции

использования синапсом для адресной доставки митохондрий в нервные клетки. Заметным ограничением работы в данном случае является отсутствие достаточного количества экспериментальных исследований: на текущий момент есть только одно экспериментальное подтверждение, полученное на модели *in vitro*. При этом цель данного обзора – пробудить интерес у научного сообщества к изучению и использованию экстраклеточных микро- и нановезикул из клеток мозга и синапсом в качестве терапевтических агентов.

Другим ограничением работы является нетрадиционная структура представленного обзора, так как в нем отсутствуют сведения о применении синапсом в классических исследованиях работы головного мозга. Использование синапсом для изучения различных заболеваний нервной системы известно давно, и в настоящее время существует большое количество обзорных статей по данной тематике. Однако авторы обзора преследовали иную цель и стремились рассмотреть синапсомы под другим углом, в частности, с точки зрения их уникального состава. В связи

с чем центральное место в представленном обзоре занимают последние сведения о важнейших, на наш взгляд, компонентах синапсом, которые могут обладать терапевтическим потенциалом в соответствии с современными представлениями об этиопатогенезе БА и, таким образом, заложить основу для инновационных подходов лечения данного заболевания.

**Вклад авторов.** А.С. Дашкова, В.И. Ковалев – концепция и написание оригинального текста; А.С. Дашкова – подготовка иллюстраций; А.В. Чаплыгина, Д.Ю. Жданова, Н.В. Бобкова – обсуждение и редактирование статьи; Н.В. Бобкова – руководство работой.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00485).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая работа не содержит исследований, выполненных с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abubakar, M. B., Sanusi, K. O., Ugusman, A., Mohamed, W., Kamal, H., Ibrahim, N. H., Khoo, C. S., and Kumar, J. (2022) Alzheimer's disease: an update and insights into pathophysiology, *Front. Aging Neurosci.*, **14**, 1-16, <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2022.742408>.
2. (2023) Alzheimer's disease facts and figures, *Alzheimer's Dement.*, **19**, 1598-1695, <https://doi.org/10.1002/alz.13016>.
3. Ibrahim, N. H., Yahaya, M. F., Mohamed, W., Teoh, S. L., Hui, C. K., and Kumar, J. (2020) Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: seeking clarity in a time of uncertainty, *Front. Pharmacol.*, **11**, 1-16, <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.00261>.
4. Regmi, S., Liu, D. D., Shen, M., Kevadiya, B. D., Ganguly, A., Primavera, R., Chetty, S., Yarani, R., and Thakor, A. S. (2022) Mesenchymal stromal cells for the treatment of Alzheimer's disease: strategies and limitations, *Front. Mol. Neurosci.*, **15**, 1-20, <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2022.1011225>.
5. Cummings, J., Lee, G., Nahed, P., Kamar, M. E. Z. N., Zhong, K., Fonseca, J., and Taghva, K. (2022) Alzheimer's disease drug development pipeline: 2022, *Alzheimer's Dement.*, **8**, 1-24, <https://doi.org/10.1002/TRC2.12295>.
6. Lunn, J. S., Sakowski, S. A., Hur, J., and Feldman, E. L. (2011) Stem cell technology for neurodegenerative diseases, *Ann. Neurol.*, **70**, 353-361, <https://doi.org/10.1002/ana.22487>.
7. Nooshabadi, V. T., Mardpour, S., Yousefi-Ahmadipour, A., Allahverdi, A., Izadpanah, M., Daneshimehr, F., Ai, J., Banafshe, H. R., and Ebrahimi-Barough, S. (2018) The extracellular vesicles-derived from mesenchymal stromal cells: a new therapeutic option in regenerative medicine, *J. Cell. Biochem.*, **119**, 8048-8073, <https://doi.org/10.1002/JCB.26726>.
8. Yari, H., Mikhailova, M. V., Mardasi, M., Jafarzadehgharehziaaddin, M., Shahrokh, S., Thangavelu, L., Ahmadi, H., Shomali, N., Yaghoubi, Y., Zamani, M., Akbari, M., and Alesaeidi, S. (2022) Emerging role of mesenchymal stromal cells (MSCs)-derived exosome in neurodegeneration-associated conditions: a groundbreaking cell-free approach, *Stem Cell Res. Ther.*, **13**, 423, <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03122-5>.
9. Zou, Y., Mu, D., Ma, X., Wang, D., Zhong, J., Gao, J., Yu, S., and Qiu, L. (2022) Review on the roles of specific cell-derived exosomes in Alzheimer's disease, *Front. Neurosci.*, **16**, 936760, <https://doi.org/10.3389/FNINS.2022.936760>.
10. Wang, H., Huber, C.C., and Li, X.-P. (2023) Mesenchymal and neural stem cell-derived exosomes in treating Alzheimer's disease, *Bioengineering*, **10**, 1-14, <https://doi.org/10.3390/bioengineering10020253>.
11. Elfawy, H. A., and Das, B. (2019) Crosstalk between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and age related neurodegenerative disease: etiologies and therapeutic strategies, *Life Sci.*, **218**, 165-184, <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2018.12.029>.

12. Macdonald, R., Barnes, K., Hastings, C., and Mortiboys, H. (2018) Mitochondrial abnormalities in Parkinson's disease and Alzheimer's disease: can mitochondria be targeted therapeutically? *Biochem. Soc. Trans.*, **46**, 891-909, <https://doi.org/10.1042/BST20170501>.
13. Nitzan, K., Benhamron, S., Valitsky, M., Kesner, E. E., Lichtenstein, M., Ben-Zvi, A., Ella, E., Segalstein, Y., Saada, A., Lorberboum-Galski, H., and Rosenmann, H. (2019) Mitochondrial transfer ameliorates cognitive deficits, neuronal loss, and gliosis in Alzheimer's disease mice, *J. Alzheimer's Dis.*, **72**, 587-604, <https://doi.org/10.3233/JAD-190853>.
14. Gollihue, J. L., Patel, S. P., and Rabchevsky, A. G. (2018) Mitochondrial transplantation strategies as potential therapeutics for central nervous system trauma, *Neural Regen. Res.*, **13**, 194-197, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.226382>.
15. Picone, P., Porcelli, G., Bavisotto, C. C., Nuzzo, D., Galizzi, G., Biagio, P. L. S., Bulone, D., and Di Carlo, M. (2021) Synaptosomes: new vesicles for neuronal mitochondrial transplantation, *J. Nanobiotechnol.*, **19**, 1-15, <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00748-6>.
16. Manickam, D. S. (2022) Delivery of mitochondria via extracellular vesicles – a new horizon in drug delivery, *J. Control. Release*, **343**, 400-407, <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2022.01.045>.
17. Whittaker, V. P. (1993) Thirty years of synaptosome research, *J. Neurocytol.*, **22**, 735-742, <https://doi.org/10.1007/BF01181319>.
18. Murphy, K. M. (2018) *Synaptosomes (Neuromethods 141)*, Springer US, New York, <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8739-9>.
19. Estable, C., Reissig, M., and De Robertis, E. (1954) Microscopic and submicroscopic structure of the synapsis in the ventral ganglion of the acoustic nerve, *Exp. Cell Res.*, **6**, 255-262, [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(54\)90172-X](https://doi.org/10.1016/0014-4827(54)90172-X).
20. Gray, E. G., and Whittaker, V. P. (1962) The isolation of nerve endings from brain: an electron microscopic study of cell fragments derived by homogenization and centrifugation, *J. Anat.*, **96**, 79.
21. Whittaker, V. P., Michaelson, I. A., and Kirkland, R. J. (1964) The separation of synaptic vesicles from nerve-ending particles ('synaptosomes'), *Biochem. J.*, **90**, 293-303, <https://doi.org/10.1042/BJ0900293>
22. Hardy, J. A., Dodd, P. R., Oakley, A. E., Kidd, A. M., Perry, R. H., and Edwardson, J. A. (1982) Use of post-mortem human synaptosomes for studies of metabolism and transmitter amino acid release, *Neurosci. Lett.*, **33**, 317-322, [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(82\)90392-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(82)90392-5).
23. Satoh, E., and Nakazato, Y. (1989) [3H]acetylcholine release and the change in cytosolic free calcium level induced by high K<sup>+</sup> and ouabain in rat brain synaptosomes, *Neurosci. Lett.*, **107**, 284-288, [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90832-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90832-X).
24. Tapia, R., Sitges, M., and Morales, E. (1985) Mechanism of the calcium-dependent stimulation of transmitter release by 4-aminopyridine in synaptosomes, *Brain Res.*, **361**, 373-382, [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91307-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91307-1).
25. Gulyássy, P., Puska, G., Györffy, B. A., Todorov-Völgyi, K., Juhász, G., Drahos, L., and Kékesi, K. A. (2020) Proteomic comparison of different synaptosome preparation procedures, *Amino Acids*, **52**, 1529-1543, <https://doi.org/10.1007/S00726-020-02912-6>.
26. Niu, M., Cao, W., Wang, Y., Zhu, Q., Luo, J., Wang, B., Zheng, H., Weitz, D. A., and Zong, C. (2023) Droplet-based transcriptome profiling of individual synapses, *Nat. Biotechnol.*, **41**, 1332-1344, <https://doi.org/10.1038/S41587-022-01635-1>.
27. Ahmad, F., and Liu, P. (2020) Synaptosome as a tool in Alzheimer's disease research, *Brain Res.*, **1746**, 1-20, <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2020.147009>.
28. Chiu, K. M., Lee, M. Y., Lu, C. W., Lin, T. Y., and Wang, S. J. (2023) Plantainoside D reduces depolarization-evoked glutamate release from rat cerebral cortical synaptosomes, *Molecules*, **28**, 1-15, <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28031313>.
29. Meftah, S., and Gan, J. (2023) Alzheimer's disease as a synaptopathy: evidence for dysfunction of synapses during disease progression, *Front. Synaptic Neurosci.*, **15**, 1-19, <https://doi.org/10.3389/FNSYN.2023.1129036>.
30. Hsia, A. Y., Masliah, E., Mcconlogue, L., Yu, G. Q., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Malenka, R. C., Nicoll, R. A., and Mucke, L. (1999) Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 3228-3233, <https://doi.org/10.1073/PNAS.96.6.3228>.
31. Terry, R. D., Masliah, E., Salmon, D. P., Butters, N., DeTeresa, R., Hill, R., Hansen, L. A., and Katzman, R. (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment, *Ann. Neurol.*, **30**, 572-580, <https://doi.org/10.1002/ANA.410300410>.
32. Picone, P. (2022) Nanobiotechnology: a new frontier for brain disorders, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 1-3, <https://doi.org/10.3390/IJMS23179603>.
33. Picone, P., and Nuzzo, D. (2023) Biofabrication of nanovesicles for brain diseases, *Neural Regen. Res.*, **18**, 525, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.346473>.
34. Györffy, B. A., Tóth, V., Török, G., Gulyássy, P., Kovács, R., Vadász, H., Micsonai, A., Tóth, M. E., Sántha, M., Homolya, L., Drahos, L., Juhász, G., Kékesi, K. A., and Kardos, J. (2020) Synaptic mitochondrial dysfunction and

- septin accumulation are linked to complement-mediated synapse loss in an Alzheimer's disease animal model, *Cell Mol. Life Sci.*, **77**, 5243-5258, <https://doi.org/10.1007/S00018-020-03468-0>.
35. Quiroz-Baez, R., Flores-Domínguez, D., and Arias, C. (2013) Synaptic aging is associated with mitochondrial dysfunction, reduced antioxidant contents and increased vulnerability to amyloid- $\beta$  toxicity, *Curr. Alzheimer Res.*, **10**, 324-331, <https://doi.org/10.2174/1567205011310030012>.
  36. Faria-Pereira, A., and Morais, V. A. (2022) Synapses: the brain's energy-demanding sites, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 1-23, <https://doi.org/10.3390/IJMS23073627>.
  37. Thomas, C. L., Keine, C., Okayama, S., Satterfield, R., Musgrove, M., Guerrero-Given, D., Kamasawa, N., and Young, S. M. (2019) Presynaptic mitochondria volume and abundance increase during development of a high-fidelity synapse, *J. Neurosci.*, **39**, 7994-8012, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0363-19.2019>.
  38. Li, Z., Okamoto, K. I., Hayashi, Y., and Sheng, M. (2004) The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses, *Cell*, **119**, 873-887, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.003>.
  39. Sun, T., Qiao, H., Pan, P. Y., Chen, Y., and Sheng, Z. H. (2013) Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength, *Cell Rep.*, **4**, 413-419, <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2013.06.040>.
  40. Justs, K. A., Lu, Z., Chouhan, A. K., Borycz, J. A., Lu, Z., Meinertzhagen, I. A., and Macleod, G. T. (2022) Presynaptic mitochondrial volume and packing density scale with presynaptic power demand, *J. Neurosci.*, **42**, 954-967, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1236-21.2021>.
  41. Petersen, M. H., Willert, C. W., Andersen, J. V., Waagepetersen, H. S., Skotte, N. H., and Nørremølle, A. (2019) Functional differences between synaptic mitochondria from the striatum and the cerebral cortex, *Neuroscience*, **406**, 432-443, <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2019.02.033>.
  42. Wilhelm, B. G., Mandad, S., Truckenbrodt, S., Kröhnert, K., Schäfer, C., Rammner, B., Koo, S. J., Claßen, G. A., Krauss, M., Haucke, V., Urlaub, H., and Rizzoli, S. O. (2014) Composition of isolated synaptic boutons reveals the amounts of vesicle trafficking proteins, *Science*, **344**, 1023-1028, <https://doi.org/10.1126/science.1252884>.
  43. Stauch, K. L., Purnell, P. R., and Fox, H. S. (2014) Quantitative proteomics of synaptic and nonsynaptic mitochondria: insights for synaptic mitochondrial vulnerability, *J. Proteome Res.*, **13**, 2620-2636, <https://doi.org/10.1021/PR500295N>.
  44. Kiebish, M. A., Han, X., Cheng, H., Lunceford, A., Clarke, C. F., Moon, H., Chuang, J. H., and Seyfried, T. N. (2008) Lipidomic analysis and electron transport chain activities in C57BL/6J mouse brain mitochondria, *J. Neurochem.*, **106**, 299-312, <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2008.05383.X>.
  45. Völgyi, K., Gulyássi, P., Háden, K., Kis, V., Badics, K., Kékesi, K. A., Simor, A., Györfy, B., Tóth, E. A., Lubec, G., Juhász, G., and Dobolyi, A. (2015) Synaptic mitochondria: a brain mitochondria cluster with a specific proteome, *J. Proteomics*, **120**, 142-157, <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2015.03.005>.
  46. Villa, R. F., Gorini, A., and Hoyer, S. (2006) Differentiated effect of ageing on the enzymes of Krebs' cycle, electron transfer complexes and glutamate metabolism of non-synaptic and intra-synaptic mitochondria from cerebral cortex, *J. Neural Transm.*, **113**, 1659-1670, <https://doi.org/10.1007/S00702-006-0569-4>.
  47. Brown, M. R., Sullivan, P. G., and Geddes, J. W. (2006) Synaptic mitochondria are more susceptible to Ca<sup>2+</sup> overload than nonsynaptic mitochondria, *J. Biol. Chem.*, **281**, 11658-11668, <https://doi.org/10.1074/JBC.M510303200>.
  48. Davey, G. P., Peuchen, S., and Clark, J. B. (1998) Energy thresholds in brain mitochondria. Potential involvement in neurodegeneration, *J. Biol. Chem.*, **273**, 12753-12757, <https://doi.org/10.1074/JBC.273.21.12753>.
  49. Perkins, G. A., Tjong, J., Brown, J. M., Poquiz, P. H., Scott, R. T., Kolson, D. R., Ellisman, M. H., and Spirou, G. A. (2010) The micro-architecture of mitochondria at active zones: electron tomography reveals novel anchoring scaffolds and cristae structured for high-rate metabolism, *J. Neurosci.*, **30**, 1015-1026, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1517-09.2010>.
  50. Cserép, C., Pósfai, B., Schwarcz, A. D., and Dénes, Á. (2018) Mitochondrial ultrastructure is coupled to synaptic performance at axonal release sites, *ENeuro*, **5**, 1-15, <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0390-17.2018>.
  51. Cardanho-Ramos, C., and Morais, V. A. (2021) Mitochondrial biogenesis in neurons: how and where, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 1-11, <https://doi.org/10.3390/ijms222313059>.
  52. Van Laar, V. S., Arnold, B., Howlett, E. H., Calderon, M. J., St Croix, C. M., Greenamyre, J. T., Sanders, L. H., and Berman, S. B. (2018) Evidence for compartmentalized axonal mitochondrial biogenesis: mitochondrial DNA replication increases in distal axons as an early response to Parkinson's disease-relevant stress, *J. Neurosci.*, **38**, 7505-7515, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0541-18.2018>.
  53. Zaninello, M., and Bean, C. (2023) Highly specialized mechanisms for mitochondrial transport in neurons: from intracellular mobility to intercellular transfer of mitochondria, *Biomolecules*, **13**, 1-19, <https://doi.org/10.3390/biom13060938>.
  54. Du, H., Guo, L., Yan, S., Sosunov, A. A., McKhann, G. M., and Yan, S. S. (2010) Early deficits in synaptic mitochondria in an Alzheimer's disease mouse model, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 18670-18675, <https://doi.org/10.1073/PNAS.1006586107/-/DCSUPPLEMENTAL>.

55. Olesen, M. A., Torres, A. K., Jara, C., Murphy, M. P., and Tapia-Rojas, C. (2020) Premature synaptic mitochondrial dysfunction in the hippocampus during aging contributes to memory loss, *Redox Biol.*, **34**, 1-17, <https://doi.org/10.1016/j.REDOX.2020.101558>.
56. Keller, J. N., Lauderback, C. M., Butterfield, D. A., Kindy, M. S., Yu, J., and Markesbery, W. R. (2000) Amyloid beta-peptide effects on synaptosomes from apolipoprotein E-deficient mice, *J. Neurochem.*, **74**, 1579-1586, <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0741579.x>.
57. Mungarro-Menchaca, X., Morán, P. F. J., and Clorinda, A. (2002) beta-Amyloid peptide induces ultrastructural changes in synaptosomes and potentiates mitochondrial dysfunction in the presence of ryanodine, *J. Neurosci. Res.*, **68**, 89-96, <https://doi.org/10.1002/jnr.10193>.
58. Pickett, E. K., Rose, J., McCrory, C., McKenzie, C.-A., King, D., Smith, C., Gillingwater, T. H., Henstridge, C. M., and Spires-Jones, T. L. (2018) Region-specific depletion of synaptic mitochondria in the brains of patients with Alzheimer's disease, *Acta Neuropathol.*, **136**, 747-757, <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1903-2>.
59. Wang, W., Zhao, F., Lu, Y., Siedlak, S. L., Fujioka, H., Feng, H., Perry, G., and Zhu, X. (2023) Damaged mitochondria coincide with presynaptic vesicle loss and abnormalities in Alzheimer's disease brain, *Acta Neuropathol. Commun.*, **11**, 54, <https://doi.org/10.1186/s40478-023-01552-7>.
60. Lees, R. M., Johnson, J. D., and Ashby, M. C. (2020) Presynaptic boutons that contain mitochondria are more stable, *Front. Synaptic Neurosci.*, **11**, 1-13, <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2019.00037>.
61. Tao, K., Matsuki, N., and Koyama, R. (2014) AMP-activated protein kinase mediates activity-dependent axon branching by recruiting mitochondria to axon, *Dev. Neurobiol.*, **74**, 557-573, <https://doi.org/10.1002/dneu.22149>.
62. Borges, R., Gu, C., Machado, J. D., and Ewing, A. G. (2023) The dynamic nature of exocytosis from large secretory vesicles. A view from electrochemistry and imaging, *Cell Calcium*, **110**, 1-9, <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2023.102699>.
63. Chakroborty, S., Hill, E. S., Christian, D. T., Helfrich, R., Riley, S., Schneider, C., Kapecki, N., Mustaly-Kalimi, S., Seiler, F. A., Peterson, D. A., West, A. R., Vertel, B. M., Frost, W. N., and Stutzmann, G. E. (2019) Reduced presynaptic vesicle stores mediate cellular and network plasticity defects in an early-stage mouse model of Alzheimer's disease, *Mol. Neurodegener.*, **14**, 1-22, <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0307-7>.
64. Slomnicki, L. P., Pietrzak, M., Vashishta, A., Jones, J., Lynch, N., Elliot, S., Poulos, E., Malicote, D., Morris, B. E., Hallgren, J., and Hetman, M. (2016) Requirement of neuronal ribosome synthesis for growth and maintenance of the dendritic tree, *J. Biol. Chem.*, **291**, 5721-5739, <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.682161>.
65. Holt, C. E., Martin, K. C., and Schuman, E. M. (2019) Local translation in neurons: visualization and function, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 557-566, <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0263-5>.
66. Hafner, A. S., Donlin-Asp, P. G., Leitch, B., Herzog, E., and Schuman, E. M. (2019) Local protein synthesis is a ubiquitous feature of neuronal pre- and postsynaptic compartments, *Science*, **364**, 1-12, <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU3644>.
67. Glock, C., Biever, A., Tushev, G., Nassim-Assir, B., Kao, A., Bartnik, I., tom Dieck, S., and Schuman, E. M. (2021) The translome of neuronal cell bodies, dendrites, and axons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118**, 1-11, <https://doi.org/10.1073/pnas.2113929118/-DCSUPPLEMENTAL>.
68. Cohen, L. D., Ziv, T., and Ziv, N. E. (2022) Synapse integrity and function: dependence on protein synthesis and identification of potential failure points, *Front. Mol. Neurosci.*, **15**, 1-30, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1038614>.
69. Biever, A., Glock, C., Tushev, G., Ciirdaeva, E., Dalmay, T., Langer, J. D., and Schuman, E. M. (2020) Monosomes actively translate synaptic mRNAs in neuronal processes, *Science*, **367**, 1-14, <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAY4991>.
70. Fusco, C. M., Desch, K., Dörrbaum, A. R., Wang, M., Staab, A., Chan, I. C. W., Vail, E., Villeri, V., Langer, J. D., and Schuman, E. M. (2021) Neuronal ribosomes exhibit dynamic and context-dependent exchange of ribosomal proteins, *Nat. Commun.*, **12**, 1-14, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26365-x>.
71. Cefaliello, C., Penna, E., Barbato, C., Ruberto, G. Di, Mollica, M. P., Trinchese, G., Cigliano, L., Borsello, T., Chun, J. T., Giuditta, A., Perrone-Capano, C., Miniaci, M. C., and Crispino, M. (2020) Deregulated local protein synthesis in the brain synaptosomes of a mouse model for Alzheimer's disease, *Mol. Neurobiol.*, **57**, 1529-1541, <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01835-y>.
72. Baleriola, J., Walker, C. A., Jean, Y. Y., Crary, J. F., Troy, C. M., Nagy, P. L., and Hengst, U. (2014) Axonally synthesized ATF4 transmits a neurodegenerative signal across brain regions, *Cell*, **158**, 1159-1172, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.001>.
73. Jin, C., Lee, Y., Kang, H., Jeong, K., Park, J., Zhang, Y., Kang, H. R., Ma, R., Seong, H., Kim, Y., Jung, H., Kim, J. Y., Kim, Y. K., and Han, K. (2021) Increased ribosomal protein levels and protein synthesis in the striatal synaptosome of Shank3-overexpressing transgenic mice, *Mol. Brain*, **14**, 1-5, <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00756-z>.
74. Ahmad, F., Singh, K., Das, D., Gowaiakar, R., Shaw, E., Ramachandran, A., Rupanagudi, K. V., Kommaddi, R. P., Bennett, D. A., and Ravindranath, V. (2017) Reactive oxygen species-mediated loss of synaptic Akt1 signaling

- leads to deficient activity-dependent protein translation early in Alzheimer's disease, *Antioxid. Redox Signal.*, **27**, 1269-1280, <https://doi.org/10.1089/ARS.2016.6860>.
75. Qu, X., Lin, L., Yi, W., Sun, C., Chen, Y., and Chen, Y. (2022) Early changes in transcriptomic profiles in synaptodendrosomes reveal aberrant synaptic functions in Alzheimer's disease, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 1-19, <https://doi.org/10.3390/IJMS23168888>.
76. Kumar, S., and Reddy, P. H. (2020) The role of synaptic microRNAs in Alzheimer's disease, *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis.*, **1866**, 1-28, <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2020.165937>.
77. Ye, Y., Xu, H., Su, X., and He, X. (2016) Role of MicroRNA in governing synaptic plasticity, *Neural Plast.*, **2016**, 1-13, <https://doi.org/10.1155/2016/4959523>.
78. Kumar, S., Orlov, E., Gowda, P., Bose, C., Swerdlow, R. H., Lahiri, D. K., and Reddy, P. H. (2022) Synaptosome microRNAs regulate synapse functions in Alzheimer's disease, *NPJ Genomic Med.*, **7**, 1-15, <https://doi.org/10.1038/S41525-022-00319-8>.
79. Kumar, S. (2023) Synaptosome microRNAs: emerging synapse players in aging and Alzheimer's disease, *Neural Regen. Res.*, **18**, 1275-1276, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.360172>.
80. Samadian, M., Gholipour, M., Hajiesmaeili, M., Taheri, M., and Ghafouri-Fard, S. (2021) The eminent role of microRNAs in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Front. Aging Neurosci.*, **13**, 1-17, <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2021.641080>.
81. Jiménez-Balado, J., and Eich, T. S. (2021) GABAergic dysfunction, neural network hyperactivity and memory impairments in human aging and Alzheimer's disease, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **116**, 146-159, <https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2021.01.005>.
82. Giuditta, A., Zucconi, G. G., and Sadile, A. (2023) Brain metabolic DNA: a long story and some conclusions, *Mol. Neurobiol.*, **60**, 228-234, <https://doi.org/10.1007/S12035-022-03030-Y>.
83. Giuditta, A., and Rutigliano, B. (2018) Brain metabolic DNA in rat cytoplasm, *Mol. Neurobiol.*, **55**, 7476-7486, <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0932-0>.
84. Giuditta, A., and Casalino, J. (2020) Sequences of reverse transcribed brain DNA are modified by learning, *Front. Mol. Neurosci.*, **13**, 57, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00057>.
85. Cefaliello, C., Prisco, M., Crispino, M., and Giuditta, A. (2019) DNA in squid synaptosomes, *Mol. Neurobiol.*, **56**, 56-60, <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1071-3>.
86. Heo, S., Diering, G. H., Na, C. H., Nirujogi, R. S., Bachman, J. L., Pandey, A., and Haganir, R. L. (2018) Identification of long-lived synaptic proteins by proteomic analysis of synaptosome protein turnover, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, E3827-E3836, <https://doi.org/10.1073/PNAS.1720956115>.
87. Bulovaite, E., Qiu, Z., Kratschke, M., Zgraj, A., Fricker, D. G., Tuck, E. J., Gokhale, R., Koniaris, B., Jami, S. A., Merino-Serrais, P., Husi, E., Mendive-Tapia, L., Vendrell, M., O'Dell, T. J., DeFelipe, J., Komiyama, N. H., Holtmaat, A., Fransén, E., and Grant, S. G. N. (2022) A brain atlas of synapse protein lifetime across the mouse lifespan, *Neuron*, **110**, 4057-4073.e8, <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.09.009>.
88. Krishna, S., Arrojo e Drigo, R., Capitano, J. S., Ramachandra, R., Ellisman, M., and Hetzer, M. W. (2021) Identification of long-lived proteins in the mitochondria reveals increased stability of the electron transport chain, *Dev. Cell*, **56**, 2952-2965.e9, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.10.008>.
89. Fornasiero, E. F., Mandad, S., Wildhagen, H., Alevra, M., Rammner, B., Keihani, S., Opazo, F., Urban, I., Ischebeck, T., Sakib, M. S., Fard, M. K., Kirli, K., Centeno, T. P., Vidal, R. O., Rahman, R. U., Benito, E., Fischer, A., Dennerlein, S., Rehling, P., Feussner, I., Bonn, S., Simons, M., Urlaub, H., and Rizzoli, S. O. (2018) Precisely measured protein lifetimes in the mouse brain reveal differences across tissues and subcellular fractions, *Nat. Commun.*, **9**, 1-17, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06519-0>.
90. Silzel, J. W., Ben-Nissan, G., Tang, J., Sharon, M., and Julian, R. R. (2022) Influence of Asp isomerization on trypsin and trypsin-like proteolysis, *Anal. Chem.*, **94**, 15288-15296, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c02585>.
91. Gu, Z., Cao, H., Zuo, C., Huang, Y., Miao, J., Song, Y., Yang, Y., Zhu, L., and Wang, F. (2022) TFEB in Alzheimer's disease: from molecular mechanisms to therapeutic implications, *Neurobiol. Dis.*, **173**, 105855, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105855>.
92. Hale, W. D., Südhof, T. C., and Haganir, R. L. (2023) Engineered adhesion molecules drive synapse organization, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2215905120, <https://doi.org/10.1073/pnas.2215905120>.
93. Costain, W. J., Rasquinha, I., Sandhu, J. K., Rippstein, P., Zurakowski, B., Slinn, J., MacManus, J. P., and Stanimirovic, D. B. (2008) Cerebral ischemia causes dysregulation of synaptic adhesion in mouse synaptosomes, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **28**, 99-110, <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600510>.
94. Pfundstein, G., Nikonenko, A. G., and Sytnyk, V. (2022) Amyloid precursor protein (APP) and amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) interact with cell adhesion molecules: implications in Alzheimer's disease and normal physiology, *Front. Cell Dev. Biol.*, **10**, 969547, <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.969547>.

95. Choquet, D., and Opazo, P. (2022) The role of AMPAR lateral diffusion in memory, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **125**, 76-83, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.01.009>.
96. Zajaczkowski, E. L., Zhao, Q., Liau, W.-S., Gong, H., Madugalle, S. U., Periyakaruppiyah, A., Leighton, L. J., Musgrove, M., Ren, H., Davies, J., Marshall, P. R., and Bredy, T. W. (2023) Localised Cdr1as activity is required for fear extinction memory, *Neurobiol. Learn. Mem.*, **203**, 107777, <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2023.107777>.
97. Shen, X., He, Y., and Ge, C. (2022) Role of circRNA in pathogenesis of Alzheimer's disease, *J. Cent. South Univ. Med. Sci.*, **47**, 960-966, <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2022.210729>.
98. Curry-Hyde, A., Ueberham, U., Chen, B. J., Zipfel, I., Mills, J. D., Bochmann, J., Jendrek, R., Takenaka, K., Kirazov, L., Kirazov, E., Jünger, J., Brückner, M. K., Arendt, T., and Janitz, M. (2020) Analysis of the circular transcriptome in the synaptosomes of aged mice, *Neuroscience*, **449**, 202-213, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.009>.
99. Dell'Orco, M., Oliver, R. J., and Perrone-Bizzozero, N. (2020) HuD binds to and regulates circular RNAs derived from neuronal development- and synaptic plasticity-associated genes, *Front. Genet.*, **11**, 790, <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00790>.
100. McMahon, H. T., and Nicholls, D. G. (1990) Glutamine and aspartate loading of synaptosomes: a reevaluation of effects on calcium-dependent excitatory amino acid release, *J. Neurochem.*, **54**, 373-380, <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1990.tb01883.x>.
101. Nath, A. R., Chen, R. H. C., and Stanley, E. F. (2014) Cryoloading: introducing large molecules into live synaptosomes, *Front. Cell. Neurosci.*, **8**, 4, <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00004>.
102. Budzinski, K. L., Sgro, A. E., Fujimoto, B. S., Gadd, J. C., Shuart, N. G., Gonen, T., Bajjaleih, S. M., and Chiu, D. T. (2011) Synaptosomes as a platform for loading nanoparticles into synaptic vesicles, *ACS Chem. Neurosci.*, **2**, 236-241, <https://doi.org/10.1021/cn200009n>.
103. Bradford, H. F., Docherty, M., Wu, J. Y., Cash, C. D., Ehret, M., Maitre, M., and Joh, T. H. (1989) The immunolysis, isolation, and properties of subpopulations of mammalian brain synaptosomes, *Neurochem. Res.*, **14**, 301-310, <https://doi.org/10.1007/BF01000031>.
104. Docherty, M., Bradford, H. F., Cash, C. D., Ehret, M., Maitre, M., and Joh, T. H. (1991) Isolation of monoaminergic synaptosomes from rat brain by immunomagnetophoresis, *J. Neurochem.*, **56**, 1569-1580, <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb02053.x>.
105. Hughes, P. D., Foley, P., Bradford, H. F., Ghatei, M., Khandanian, N., Bloom, S. R., and Wu, J. Y. (1993) The differential release of amino acids and neuropeptides from purified subpopulations of mammalian GABAergic and cholinergic cerebrocortical synaptosomes, *Neurochem. Res.*, **18**, 393-400, <https://doi.org/10.1007/BF00967242>.
106. Rajkumar, S., Böckers, T. M., and Catanese, A. (2023) Fast and efficient synaptosome isolation and post-synaptic density enrichment from hiPSC-motor neurons by biochemical sub-cellular fractionation, *STAR Protoc.*, **4**, 1-10, <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102061>.
107. Benedetti, M. S., Whomsley, R., Poggesi, I., Cawello, W., Mathy, F. X., Delporte, M. L., Papeleu, P., and Watelet, J. B. (2009) Drug metabolism and pharmacokinetics, *Drug Metab. Rev.*, **41**, 344-390, <https://doi.org/10.1080/10837450902891295>.
108. Crowe, T. P., and Hsu, W. H. (2022) Evaluation of recent intranasal drug delivery systems to the central nervous system, *Pharmaceutics*, **14**, 1-26, <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14030629>.
109. Alexander, J. F., Sua, A. V., Arroyo, L. D., Ray, P. R., Wangzhou, A., Heiß-Lückemann, L., Schedlowski, M., Price, T. J., Kavelaars, A., and Heijnen, C. J. (2021) Nasal administration of mitochondria reverses chemotherapy-induced cognitive deficits, *Theranostics*, **11**, 3109-3130, <https://doi.org/10.7150/thno.53474>.
110. Khatri, D. K., Preeti, K., Tonape, S., Bhattacharjee, S., Patel, M., Shah, S., Singh, P. K., Srivastava, S., Gugulothu, D., Vora, L., and Singh, S. B. (2023) Nanotechnological advances for nose to brain delivery of therapeutics to improve the Parkinson therapy, *Curr. Neuropharmacol.*, **21**, 493-516, <https://doi.org/10.2174/1570159X20666220507022701>.
111. Hosseini, L., Karimipour, M., Seyedaghamiri, F., Abolhasanpour, N., Sadigh-Eteghad, S., Mahmoudi, J., and Farhoudi, M. (2022) Intranasal administration of mitochondria alleviated cognitive impairments and mitochondrial dysfunction in the photothrombotic model of mPFC stroke in mice, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **31**, 106801, <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106801>.
112. Alexander, J. F., Mahalingam, R., Sua, A. V., Wu, S., Arroyo, L. D., Hörbelt, T., Schedlowski, M., Blanco, E., Kavelaars, A., and Heijnen, C. J. (2022) Targeting the meningeal compartment to resolve chemobrain and neuropathy via nasal delivery of functionalized mitochondria, *Adv. Healthc. Mater.*, **11**, e2102153, <https://doi.org/10.1002/adhm.202102153>.
113. Kim, K. H. (2023) Intranasal delivery of mitochondrial protein humanin rescues cell death and promotes mitochondrial function in Parkinson's disease, *Theranostics*, **13**, 3330-3345, <https://doi.org/10.7150/thno.84165>.
114. Vasileva, L., Gaynanova, G., Valeeva, F., Belyaev, G., Zueva, I., Bushmeleva, K., Sibgatullina, G., Samigullin, D., Vyshtakalyuk, A., Petrov, K., Zakharova, L., and Sinyashin, O. (2023) Mitochondria-targeted delivery strategy

of dual-loaded liposomes for Alzheimer's disease therapy, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 1-24, <https://doi.org/10.3390/ijms241310494>.

115. Bobkova, N. V., Zhdanova, D. Y., Belosludtseva, N. V., Penkov, N. V., and Mironova, G. D. (2022) Intranasal administration of mitochondria improves spatial memory in olfactory bulbectomized mice, *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **247**, 416-425, <https://doi.org/10.1177/15353702211056866>.

## UNIQUE PROPERTIES OF SYNAPTOSOMES AND PROSPECTS FOR THEIR USE FOR THE TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES

### Review

**A. S. Dashkova<sup>#</sup>, V. I. Kovalev<sup>\*\*</sup>, A. V. Chaplygina, D. Yu. Zhdanova, and N. V. Bobkova**

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Federal Research Center  
"Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences",  
142290 Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: kovalev@chemist.com*

Alzheimer's disease (AD) is a severe neurodegenerative disease that affects millions of people around the world. The increasing prevalence of AD correlates with increasing life expectancy and aging populations in developed countries. Since AD is a multifactorial disease and includes various pathological processes, such as: synaptic dysfunction, neuroinflammation, oxidative stress, protein misfolding, etc., an integrated approach aimed simultaneously at several targets may be effective and slow down the progression of the disease. Cell therapy and its further development in the form of transplantation of cellular vesicles and especially mitochondria are a very promising approach for the treatment of neurodegeneration. The use of synaptosomes, due to the uniqueness of their content, may become a new stage in the development of complex therapy for neurodegenerative diseases and AD in particular. This review discusses the preparation and composition of synaptosomes, as well as the possibilities and advantages of their use as transporters for the delivery of synaptic mitochondria and other biologically active substances to the brain.

**Keywords:** Alzheimer's disease, mitochondria, neurodegenerative diseases, memory, synaptosomes