

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 612.846+616.858+612.833.81

Моделирование предсимптомной стадии паркинсоноподобного состояния на животных (грызуны и обезьяны)

Ю.А. Тимошина^{1, 2} , Л.В. Терещенко¹ , О.И. Куликова² ,
Т.Н. Федорова² , А.В. Латанов^{1, *}

¹Кафедра высшей нервной деятельности, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

²Научный центр неврологии, Россия, 125367, г. Москва, шоссе Волоколамское, д. 80

*e-mail: latanov@neurobiology.ru

Исследованы изменения поведения и состояния грызунов и обезьян, наблюдаемые на ранней (предсимптомной) стадии до видимого проявления характерных симптомов при формировании паркинсоноподобного синдрома. На модели паркинсоноподобного синдрома у грызунов, индуцированного хроническим введением низких доз токсина ротенона, исследованы последовательные стадии развития нейropатологических процессов — когнитивные нарушения, развивающиеся с 1–2-й нед. воздействия ротенона, незначительные двигательные нарушения на 3–4-й нед. до возникновения выраженной двигательной дисфункции, а также некоторые биохимические показатели. На модели паркинсоноподобного синдрома у обезьян (*Macaca mulatta*) при хроническом введении низких доз токсина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетра-гидропиридина (МФТП), исследованы характеристики зрительно вызванных саккад при выполнении инструментальной условнорефлекторной задачи. По мере развития МФТП-синдрома выявлено увеличение латентных периодов зрительно вызванных саккад, а также снижение их точности при сохранении устойчивого инструментального поведения. Негативные поведенческие эффекты у грызунов и обезьян, а также биохимические эффекты у грызунов проявлялись на предсимптомной стадии заболевания, что позволяет рассматривать их как ранние маркеры паркинсоноподобного синдрома.

Ключевые слова: модель паркинсонизма, ротенон, МФТП, крысы, мыши C57BL/6, макака-резус, инструментальный рефлекс, саккады

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2S-8

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, обусловленное избирательным и необратимым поражением дофамин-продуцирующих нейронов компактной части черной субстанции (кЧС) среднего мозга и дегенерацией нигростриатного дофаминергического пути [1, 2]. БП является гетерогенным заболеванием с разным периодом начала в жизни организма, симптомами и динамикой развития. Такая гетерогенность обуславливает использование ряда моделей на животных для изучения различных аспектов заболевания. Нейротоксины 6-гидроксидофамин (6-OHDA, 6-hydroxydopamine), 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) и пестицид ротенон наиболее часто используются в фундаментальных научных исследованиях для моделирования паркинсонизма на грызунах и приматах. Каждая из

моделей имеет свои преимущества и ограничения, определяющие целесообразность проведения таких экспериментов и соответствие требований к ним. Понимание различий при моделировании БП у разных животных способствует разработке определенного дизайна экспериментов, а также содержательной интерпретации поведенческих и патофизиологических признаков заболевания. Интеграция результатов, полученных на таких моделях, способствует наиболее полному раскрытию гетерогенности и механизмов БП.

На молекулярном уровне развитие БП связано с избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК) и протеолитическим стрессом в дегенерирующих нейронах, митохондриальной дисфункцией, нейровоспалением [3–5].

Клинические симптомы БП включают ряд двигательных нарушений, а именно тремор покоя, ригидность, акинезию и постуральную нестабиль-

ность. Немоторные симптомы значительно опережают проявление двигательных расстройств БП у человека. Период, когда возникают эти симптомы, принято называть премоторной или предсимптомной стадией заболевания [6]. Во время этой фазы нейропатологический процесс прогрессирует без сопутствующих двигательных проявлений и затрагивает немоторные области мозга: обонятельные луковицы, желудочно-кишечное сплетение, голубое пятно, крупноклеточные отделы ретикулярной формации, миндалевидное тело [7]. Известно, что гипометрия (выполнение движений с амплитудой меньше требуемой для точного позиционирования взора на целевом стимуле) *зрительно вызванных саккад* (ЗВС) и увеличение их *латентных периодов* (ЛП) являются наиболее выраженными и ранними признаками БП у человека [8], а также при развитии МФТП-индуцированного паркинсоноподобного синдрома у обезьян [9]. В недавнем единственном исследовании приведены результаты о снижении амплитуд ЗВС на предсимптомной стадии МФТП-синдрома у обезьян (макак-резусов) [10], и после такой гипометричной ЗВС животные совершали дополнительную (корректирующую) саккаду, чтобы сфокусировать взор на целевом стимуле. Значительное внимание, связанное с изучением и моделированием предсимптомной стадии БП, обусловлено перспективами применения стратегии ранней нейропротекторной терапии. В данной статье мы проведем сравнение трех перспективных моделей ранней стадии развития паркинсоноподобного состояния, вызванного введением токсинов.

1. ИССЛЕДОВАНИЕ НА ГРЫЗУНАХ

Методика

Для моделирования премоторной и моторной стадии паркинсоноподобного состояния на грызунах (крысах и мышах) использовали методику хронического подкожного введения токсина ротенона. Ротенон растворяли в 2%-ном диметилсульфоксиде (ДМСО) и суспендировали в стерильном подсолнечном масле для инъекций. Введение токсина осуществляли по следующей схеме: крысы ($n = 35$) получали ежедневно 2 мг/кг (объем раствора в среднем 0,3 мл) в течение 18 сут, мыши ($n = 36$) получали ежедневно 4 мг/кг (объем раствора в среднем 0,1 мл) в течение 35 сут. Контрольным животным (по 9 в каждой группе) по этой же временной схеме подкожно вводили стерильное растительное масло с 2% ДМСО в соответствующем объеме.

В разные временные точки часть животных выводилась из эксперимента для оценки ряда биохимических изменений в мозге, а именно синтеза (по количеству положительных по тирозингидроксилазе клеток, ТГ-положительные клетки) и содержания дофамина и его метаболита диоксифенилук-

сусной кислоты (ДОФУК), общей активности антиоксидантной системы мозга (по динамике железоиндуцированной хемилюминесценции) и содержания клеток в кЧЧС. Для исследования динамики развития поведенческих нарушений на протяжении всего эксперимента оценивали показатели пищедобывательного поведения в тесте «челночная камера», количество потребляемой пищи и коэффициент предпочтения сахарозы, тяжесть неврологической симптоматики по модифицированной шкале неврологической симптоматики (modified neurological severity scores, mNSS), скорость подъема по наклонной решетке, силу передних конечностей, двигательную активность в тесте «открытое поле», наличие каталепсии.

В тесте «челночная камера» животных обучали оперантной пищедобывательной задаче совершать переход из одного отсека камеры в другой, а затем подойти к кормушке для получения подкрепления. Переходы в отсеки без подхода к кормушкам не подкрепляли. Тестирование в челночной камере проводили один раз в день в течение 5 мин, по истечении которых отмечали число успешных проб (с подкреплением).

Для оценки статистических различий между показателями использовали метод однофакторного дисперсионного анализа. Результаты отражены средними значениями и стандартной ошибкой.

Результаты

У животных контрольных групп (крысы и мыши) по мере обучения оперантной пищедобывательной задаче в челночной камере отмечали увеличение успешных проб (с подкреплением) начиная с 3-х сут у крыс и 8-х сут у мышей. Так, крысы, которым вводили ротенон, на 3-и сут выполняли меньшее число успешных проб по сравнению с контролем ($0,88 \pm 0,23$ против $6,86 \pm 1,71$, $F(5,39) = 4,98$, $p < 0,01$) и демонстрировали больший ЛП первого подхода к кормушке по сравнению с контролем (98 ± 11 против 9 ± 2 с, $F(5,39) = 3,75$, $p < 0,01$). Мыши на 8-е сут введения ротенона выполняли меньшее число успешных проб по сравнению с контролем ($1,12 \pm 0,45$ против $3,81 \pm 0,23$, $F(1, 144) = 23,05$, $p < 0,05$) без отличий ЛП первого подхода к кормушке. Моторных нарушений в эти же сроки выявлено не было.

Значительное снижение коэффициента предпочтения сахарозы у крыс от $0,92 \pm 0,05$ в контроле до $0,57 \pm 0,12$ при введении ротенона отмечалось на 3-и сут ($F(7,75) = 3,52$, $p < 0,05$). У мышей снижение от $0,80 \pm 0,11$ в контроле до $0,64 \pm 0,10$ при введении ротенона отмечалось только на 17-е сут ($F(1, 142) = 38,12$, $p < 0,05$).

Локомоторная активность животных, оцениваемая в тесте «открытое поле», оказалась значительно ниже у крыс, получавших ротенон, по сравнению с контролем с 4-х сут эксперимента (91 ± 14 против 365 ± 63 см, $F(7,72) = 9,23$, $p < 0,0001$)

и у мышей с 19-х сут (1120 ± 20 против 2985 ± 32 см, $F(1, 204) = 13,14$, $p < 0,001$).

Длительное введение ротенона крысам в дозе 2 мг/кг приводило к появлению первых признаков двигательных нарушений уже на 4-е сут, которые проявлялись в нарушении походки у 27% крыс ($4,13 \pm 0,62$ балла по шкале неврологической симптоматики против $1,43 \pm 0,30$ балла в контроле из 16 возможных), уменьшении количества шагов, выполняемых в степпинг-тесте, у 30% крыс ($12,2 \pm 1,98$ против $16,7 \pm 5,32$ в контроле) и увеличении количества ошибок в тесте «планка» у 47% крыс ($2,53 \pm 0,99$ против $1,43 \pm 0,65$ в контроле). На 6-е сут у всех животных, получавших ротенон, наблюдали значительный неврологический дефицит ($10,4 \pm 1,6$ против $0,8 \pm 0,3$ балла в контроле из 16 возможных, $F(7,82) = 21,38$, $p < 0,0001$).

У мышей ротенон также оказал значительное влияние на моторные функции. Животные начинали проявлять изменения в соответствии с оценкой неврологической симптоматики с 20-х сут, однако в целом не демонстрировали серьезных двигательных изменений вплоть до конца эксперимента – средний балл в конечном тестировании составлял $5,44 \pm 0,38$ против 0 (полное отсутствие нарушений) в контроле ($F(1, 23) = 77,24$, $p < 0,001$) из максимально возможных 16. У животных, получавших ротенон, с 14-х сут увеличивалось время подъема по «наклонной решетке» (52 ± 7 против 19 ± 1 с в контроле, $F(1, 205) = 101,0$, $p < 0,001$).

Введение ротенона оказало значительное влияние на содержание дофамина и его метаболита (на грамм ткани) в мозге крыс, но не мышей. У крыс с 7-х сут отмечалось значительное снижение уровня дофамина по сравнению с контролем ($20,54 \pm 1,94$ против $41,56 \pm 3,84$ нмоль/г соответственно, $F(5,42) = 13,28$, $p < 0,01$), которое продолжалось до конца эксперимента ($11,24 \pm 1,83$ против $41,56 \pm 3,84$ нмоль/г соответственно, $F(5,42) = 13,28$, $p < 0,001$). Также отмечалось значительное повышение уровня метаболита дофамина ДОФУК на 5-е сут ($17,97 \pm 3,65$ против $10,49 \pm 0,62$ нмоль/г в контроле, $F(5,42) = 13,28$, $p < 0,01$). В свою очередь концентрация моноами-

на у мышей, получавших ротенон, не изменилась относительно контрольной группы.

Значительное снижение количества клеток в кЧС у крыс наблюдалось с 3-х сут введения ротенона (120 ± 6 против 170 ± 6 в контроле, $F(4,29) = 24,88$, $p < 0,0001$) и к концу эксперимента составляло 96 ± 6 против 159 ± 12 в контроле ($F(4,29) = 24,88$, $p < 0,0001$). Снижение ТГ-позитивных клеток в кЧС у мышей, получавших ротенон, прогрессировало медленно, и к 5-й нед. их среднее количество составляло $72 \pm 7\%$ от значений контрольной группы ($F(1, 21) = 8,90$, $p < 0,05$).

Регулярное введение ротенона крысам достоверно приводило к снижению ЛП железоиндуцированной хемилюминесценции на 7-е сут (75 ± 7 против 109 ± 11 с в контроле, $F(2,17) = 6,82$, $p < 0,05$) и увеличению максимальной интенсивности хемилюминесценции на 18-е сут (1627 ± 26 против 1541 ± 17 мВ в контроле, $F(2,17) = 8,503$, $p < 0,01$). У мышей данные параметры не изменялись.

Обсуждение

На основе известной модели хронического подкожного введения оптимальной концентрации ротенона – 2 мг/кг [11] Д. Трошевым с соавт. были описаны модели ротенон-индуцированного паркинсоноподобного состояния у крыс [12] и мышей [13], дополненные спектром физиологических и нейрохимических исследований. По результатам исследований показано, что крысы обладают большей чувствительностью к токсину и для формирования паркинсоноподобного состояния им достаточно 18 ежедневных инъекций ротенона в дозе 2 мг/кг, в то время как для мышей необходимо увеличение дозы и сроков введения в два раза – 4 мг/кг в течение 35 сут.

У животных выделены три стадии патологического процесса (таблица). В первую очередь у грызунов происходит нарушение мотивационно детерминированной двигательной активности, оцениваемой в тесте «челночная камера» и развитие ангедонии, проявляющейся в снижении потребления сахарозы. Наблюдаемые нарушения

Таблица

Динамика развития паркинсоноподобной симптоматики у крыс и мышей при введении ротенона

Симптомы	Крысы	Мыши
Нарушение способности к научению: снижение количества успешных проб в оперантной пищедобывательной задаче	3 сут	8–11 сут
Нарушение мелкой моторики: увеличение количества ошибок при ходьбе по планке или по наклонной решетке	4 сут	14 сут
Ангедония: снижение потребления сахарозы	3 сут	17 сут
Гиполокомотия: снижение двигательной активности в открытом поле	4 сут	10 сут
Неврологический дефицит	6 сут	20 сут

когнитивной и мотивационной компонент поведения у грызунов обычно связывают с нарушением функционирования дофаминергических нейронов вентральной области покрышки, однако в настоящих исследованиях не было выявлено снижения числа нейронов в данной области.

Вторая ранняя двигательная стадия начинается с 4-х сут введения ротенона у крыс (кумулятивная доза > 8 мг/кг) и с 14-х сут введения у мышей (кумулятивная доза > 56 мг/кг) и характеризуется нарушениями в тестах «наклонная решетка», «сужающаяся дорожка» и степпинг-тесте, что может отражать повышенную ригидность мышц у животных или снижение координации движений. Однако изменений по шкале неврологической симптоматики и в содержании дофамина в головном мозге на этом этапе не наблюдалось.

Видимое снижение двигательной активности животных, отражающее 3-ю стадию патологии, у крыс возникало уже на 6-е сут введения ротенона (кумулятивная доза > 12 мг/кг), в то время как у мышей — только с 4-й нед. (кумулятивная доза > 76 мг/кг), что выражалось в увеличении баллов по шкале mNSS и значительном нарушении организации движений.

Динамика развития поведенческих нарушений была сопоставлена с гистологическими и нейрохимическими изменениями. У крыс с 3-х сут хронического введения ротенона происходило уменьшение количества окрашенных по методу Ниссля клеток в кЧЧС на 42%, а количество клеток в кЧЧС через 18 сут введения токсина уменьшалось на 44% со снижением содержания дофамина в стриатуме более чем на 70% в конце эксперимента по сравнению с контролем. Однако у мышей снижение количества ТГ-позитивных клеток в кЧЧС в среднем на 28% по сравнению с контрольными животными отмечалось только через 35 сут хронического воздействия ротенона без изменения в содержании моноаминов в стриатуме и префронтальной коре на протяжении всего периода исследования.

2. ИССЛЕДОВАНИЕ НА ОБЕЗЬЯНАХ

Методика

При формировании МФТП-синдрома у двух самцов макак-резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте 8 и 10 лет исследованы амплитудно-временные параметры зрительно вызванных саккад ЗВС [14, 15]. МФТП вводили в дозе 0,2 мг/кг внутримышечно через день (всего 10 инъекций, суммарная кумулятивная доза 2,0 мг/кг). По мере введения токсина общее состояние и поведение обезьян в домашней клетке, а также в приматологическом кресле в экспериментах ежедневно оценивали по специальной балльной шкале, разработанной К. Кларке с соавт. [16]. Шкала основана на совокупной оценке компонентов поведения, раз-

вивающихся при МФТП-синдроме у обезьян, — двигательной активности, брадикинезии, частоте эпизодов застывания, нарушения равновесия, изменения позы, тремора, ухудшении приема пищи, вокализации, дискинезии и стереотипии движений в диапазоне оценок от 0 (отсутствие симптомов) до 20-ти баллов (максимальная суммарная выраженность симптомов) (далее — «шкала», «шкала поведения») [15].

У обезьян предварительно вырабатывали инструментальный условный рефлекс, включающий установку взора на фиксационном стимуле (ФС), предъявляемого в центре поля зрения животных, выполнение ЗВС в направлении целевого стимула (ЦС) и мануальное движение рычагом в ответ на незначительное потемнение ЦС, которое подкрепляли фруктовым соком в объеме 0,2 мл. ЦС предъявляли в одном из 34-х положений в прямоугольной области зрительного поля в пределах $\pm 19,5$ град. по горизонтали и $\pm 13,0$ град. по вертикали относительно ФС. Эксцентриситеты ЦС относительно ФС по разным направлениям составляли 6,5; 9,2; 13,0; 14,4; 18,1; 19,5; 20,4 и 22,9 град. Экспериментальные сессии проводили до начала введения токсина и на следующие сутки после очередной инъекции МФТП. Животные успешно выполняли инструментальную задачу примерно в 1000 и более проб в течение одной сессии как до начала, так и в начальный период введения токсина. Движения одного глаза регистрировали с частотой 500 Гц с пространственным разрешением 0,1 град. с использованием электромагнитного метода (англ., *search-coil*) [17], адаптированного к условиям текущего эксперимента [18]. По мере развития МФТП-синдрома оценивали долю корректных проб при выполнении инструментальной задачи, ЛП ЗВС, их амплитуду, а также амплитуду корректирующих саккад (при наличии). Для оценки влияния различных факторов «кумулятивная доза МФТП» и «эксцентриситет ЦС» на ЛП и амплитуды саккад использовали метод двухфакторного дисперсионного анализа. Результаты отражены средними значениями и стандартной ошибкой.

Результаты

Состояние и поведение обезьян при развитии МФТП-синдрома. По мере введения токсина и развития МФТП-синдрома по общему состоянию и работоспособности обезьян при выполнении инструментальной задачи выделены *предсимптомная* стадия (отсутствие видимых нарушений поведения, оценка по шкале 0 баллов) и *легкая* стадия с незначительным ухудшением состояния обезьян, при котором работоспособность в эксперименте еще не нарушена (оценка состояния 2,5–4,5 балла). Дальнейшие стадии (*средняя* и *тяжелая*) с оценкой выше 4,5 баллов характеризовались существенным ухудшением состояния обезьян и снижением их работоспособности

в эксперименте с отчетливыми симптомами МФТП-синдрома [14].

По мере введения токсина исследована динамика амплитудно-временных параметров ЗВС при развитии МФТП-синдрома. Животные демонстрировали устойчивый инструментальный рефлекс при умеренном уровне мотивации несмотря на инъекции токсина, выполняя в одной экспериментальной сессии до 90% корректных проб в предсимптомной (кумулятивная доза МФТП 0,2–0,8 мг/кг) и легкой (кумулятивная доза до 1,0–1,4 мг/кг) стадиях при развитии МФТП-синдрома.

Латентные периоды ЗВС. При развитии МФТП-синдрома ЛП ЗВС существенно зависели как от тяжести заболевания (по мере возрастания кумулятивной дозы токсина), так и от эксцентриситета ЦС (рис. 1). Методом двухфакторного дисперсионного анализа выявлено высоко достоверное влияние на ЛП ЗВС факторов «кумулятивная доза МФТП» и «эксцентриситет ЦС» ($F(1,49) = 10,1$, $p < 0,0001$ и $F(7,49) = 9,01$, $p < 0,0001$ соответственно). ЛП ЗВС группировали по эксцентриситетам ЦС, в направлениях которых они выполнялись, – ближние (6,5 и 9,2 град., ЗВСб), средние (13,0 и 14,4 град., ЗВСс) и дальние (18,1, 19,5, 20,4 и 22,9 град., ЗВСд). ЛП ЗВСб увеличивались при кумулятивной дозе 0,2–0,6 мг/кг на предсимптомной стадии, когда видимые поведенческие признаки МФТП-синдрома еще не проявлялись, и продолжали увеличиваться при кумулятивной дозе 0,8–1,0 мг/кг на легкой стадии (рис. 1). ЛП ЗВСс и ЗВСд при кумулятивной дозе 0,2–0,6 мг/кг не изменялись, и необратимое увеличение их ЛП происходило только при дозе 0,8 мг/кг и более.

Увеличение ЛП ЗВС в направлении ЦС всех эксцентриситетов сопровождалось увеличением их стандартных отклонений при кумулятивной дозе токсина 0,8 мг/кг и выше, что подтверждается достоверным влиянием на этот параметр факторов «кумулятивная доза МФТП» и «эксцентриситет ЦС» ($F(1,49) = 7,32$, $p \leq 0,0001$ и $F(7,49) = 2,42$, $p = 0,033$ соответственно). При этом стандартные отклонения ЛП ЗВСб увеличивались примерно в 3 раза, а для ЛП ЗВСс и ЗВСд – только в 1,5 раза.

Точность выполнения ЗВС. При развитии МФТП-синдрома у обезьян [10], как и при болезни Паркинсона у человека [8, 20], отмечается гипометричность ЗВС. В случае неточного позиционирования взора на ЦС животные часто совершали корректирующую саккаду (КС) на ЦС, чтобы заметить его потемнение и выполнить мануальное движение для получения подкрепления. В нормальном состоянии (до введения токсина), а также по достижении легкой стадии МФТП-синдрома частота КС ко всем ЦС составляла немногим более 50% и не зависела от состояния животных. С увеличением эксцентриситета ЦС точность ЗВС снижалась (взор не достигал ЦС), и, соответственно, амплитуды КС увеличивались (рис. 2). Чтобы нивелировать зависимость амплитуд КС от эксцентриситета ЦС, усредненные амплитуды КС были нормированы на соответствующие эксцентриситеты ЦС. По результатам двухфакторного дисперсионного анализа выявлено высоко достоверное влияние на нормированные амплитуды КС факторов «кумулятивная доза МФТП» и «эксцентриситет ЦС» ($F(1,42) = 11,72$, $p < 0,0001$ и $F(6,42) = 19,19$, $p < 0,0001$ соответственно).

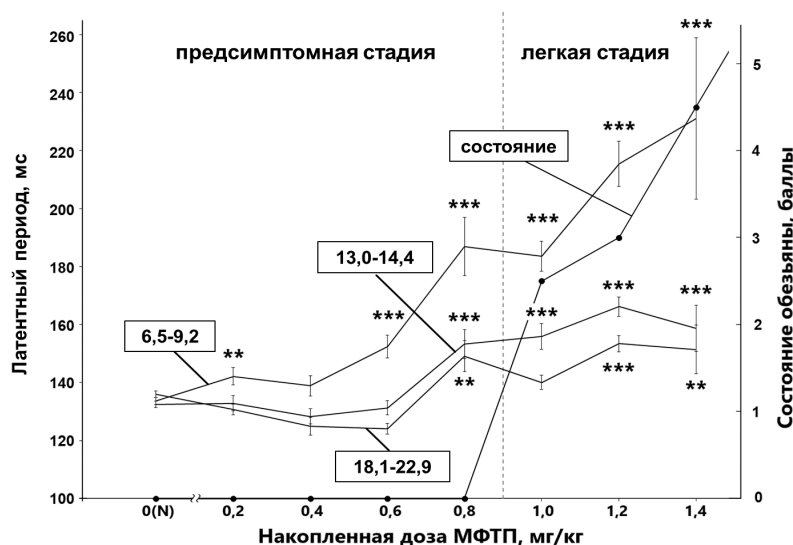


Рис. 1. Зависимость средних значений латентных периодов зрительно вызванных саккад (ось ординат слева) обезьяны от накопленной дозы МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетра-гидропиридина). Данные усреднены по всем саккадам, совершаемым к целевому стимулу трех диапазонов эксцентриситетов – 6,5–9,5; 13,0–14,4 и 18,1–22,9 град. (диапазоны эксцентриситетов обозначены числами). Линия с маркерами отражает оценку состояния обезьяны по шкале поведения (ось ординат справа). Значение «0» на оси абсцисс соответствует нормальному состоянию обезьяны (до начала инъекций МФТП). Разброс данных представлен стандартной ошибкой. Уровни значимости статистических различий при сравнении со значениями в нормальном состоянии: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Так же как для усредненных амплитуд КС была проведена аналогичная нормировка их стандартных отклонений. Увеличение относительных амплитуд КС из-за неточности ЗВС в направлении ЦС всех эксцентриситетов сопровождалось увеличением их нормированных стандартных отклонений при кумулятивной дозе токсина 0,8 мг/кг и выше, что подтверждается достоверным влиянием на этот параметр фактора «кумулятивная доза МФТП» ($F(1(6,42) = 5,40, p \leq 0,0001$). Однако влияние фактора «эксцентриситет ЦС» на нормированные стандартные отклонения оказалось недостоверным $F(2(6,42) = 1,39, p = 0,235$).

В предсимптомной стадии МФТП-синдрома точность ЗВС в направлении ЦС разного эксцентриситета, оцениваемой по амплитудам КС, практически не изменялась по сравнению с нормативными показателями (рис. 2). Но по достижении легкой стадии (при кумулятивной дозе МФТП 1,0–1,4 мг/кг) точность ЗВС достоверно снижалась, что отражалось в увеличении амплитуд КС и их дисперсии после гипометричных ЗВС в направлении ЦС. Следует отметить, что относительные амплитуды КС после неточных ЗВСб оказались больше по сравнению с таковыми для ЗВСс и ЗВСд, а для нормированных стандартных отклонений таких различий не обнаружено. Гипометричность ЗВС, оцениваемая по увеличению относительных амплитуд КС, является характерным предиктором легкой стадии МФТП-синдрома.

Обсуждение

Высокий уровень выполнения инструментального условного рефлекса при развитии МФТП-синдрома у обезьян сохранялся на высоком уровне вплоть до средней стадии заболевания. Ухудшение состояния животных при развитии МФТП-синдрома сопровождалось дефицитом

зрительно-моторной деятельности, состоящем в увеличении ЛП ЗВС и снижении их точности. В начале предсимптомной стадии ЛП увеличивались только у ЗВСб, совершаемых к ЦС, проецирующимся на околоцентральную (парафовеальную) область сетчатки. Предположительно, такие эффекты отражают замедление процессов восприятия, обеспечиваемых парвоцеллюлярной подсистемой зрения [19]. Подобный сенсорный дефицит описан также у пациентов с болезнью Паркинсона [20]. Нам не известны иные работы, демонстрирующие такой эффект МФТП на ЛП ЗВСб у обезьян. При этом ЛП ЗВСс и ЗВСд увеличивались только в начале легкой стадии МФТП-синдрома. Это свидетельствует о различных эффектах функционального дефицита базальных ганглиев, управляющих моторным обеспечением подсистем зрения (дорзальный и вентральный пути) [19]. На основании результатов наших исследований на обезьянах и сведений литературы [10] можно заключить, что по мере развития МФТП-синдрома происходят разные функциональные нарушения глазодвигательного поведения. На предсимптомной стадии замедляются процессы интеграции зрительной информации с подготовкой и инициацией ЗВСб, оцениваемые по их временным характеристикам.

В дальнейшем на легкой стадии МФТП-синдрома нарушаются также исполнительные механизмы, оцениваемые по снижению точности всех ЗВС. Амплитудно-временные характеристики ЗВСб отражают негативную динамику при развитии МФТП-синдрома у обезьян уже на предсимптомной стадии, предвещая дебют видимых поведенческих нарушений, характерных для паркинсоноподобного синдрома. Поэтому увеличение ЛП ЗВСб и снижение их точности являются ранними маркерами заболевания.

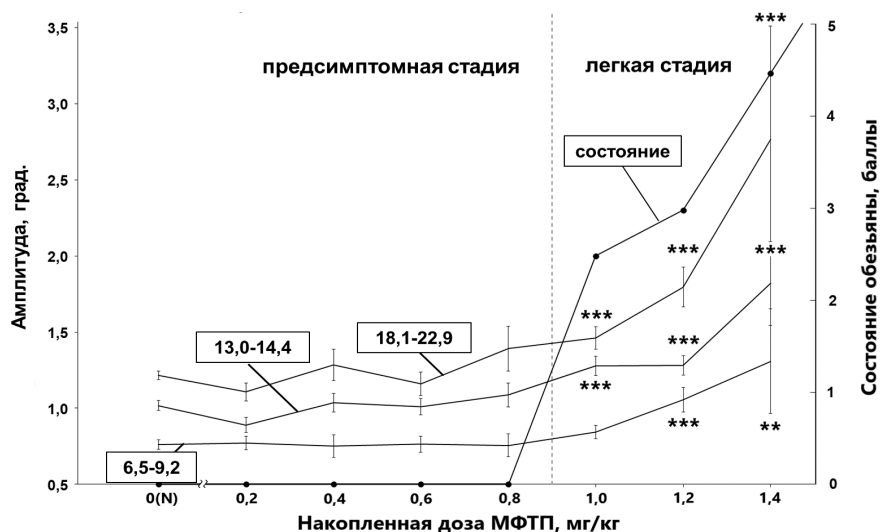


Рис. 2. Зависимость усредненных амплитуд корректирующих саккад (ось ординат слева) обезьяны от накопленной дозы МФТП. Данные усреднены по всем корректирующим саккадам, выполняемым после зрительно вызванных саккад к целевому стимулу трех диапазонов эксцентриситетов. Остальные обозначения см. рис. 1.

Заключение

Ни одна из моделей на животных не имитирует в полной мере нейропатологию БП, и такие модели не могут воспроизвести полный клинический синдром БП у человека. Однако широкое разнообразие моделей на грызунах и приматах (главным образом на макаках) позволяет целенаправленно изучать различные патологические механизмы БП. Отличительные особенности таких моделей могут иметь и практическую значимость в клинике, поскольку клинический диагноз БП отражает гетерогенную группу пациентов с различиями в начале, прогрессировании, симптомах и нейропатологии.

В нейротоксических моделях на грызунах отсутствуют сопоставимые фенотипы БП у человека, что подчеркивают сложность репликации заболевания на животных. Также такие модели не включают немоторные симптомы, существенно влияющие на качество жизни пациентов с БП. Это ставит под сомнение актуальность моделей БП на животных для имитации патологии человека. Однако разработка моделей БП на приматах, которые имеют большее анатомическое, физиоло-

гическое и генетическое сходство с человеком, открывают новые возможности для создания моделей, которые отражают сложную патологию, сходную с таковой у пациентов с БП. Кроме того, модели на грызунах и приматах дают возможность выборочно изучать конкретные аспекты сложной патологии БП. Таким образом, описанные в наших исследованиях модели могут способствовать пониманию механизмов БП и трансляции результатов в диагностику и лечение.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8. Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, одобрены комиссией по биоэтике Московского государственного университета (работа с мышами, протокол №82 от 8 июня 2017 года; работа с обезьянами, протокол №43 от 26 октября 2012 года) и комиссией по биоэтике Научного центра неврологии (работа с крысами, протокол №14-7/21 от 10 июля 2021 года). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Xia R., Mao Z.H. Progression of motor symptoms in Parkinson's disease. *Neurosci. Bull.* 2012;28(1):39–48.
2. Schiesling C., Kieper N., Seidel K., Krüger R. Familial Parkinson's disease-genetics, clinical phenotype and neuropathology in relation to the common sporadic form of the disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2008;34(3):255–271.
3. Sian J., Dexter D.T., Lees A.J., Daniel S., Agid Y., Javoy-Agid F., Jenner P., Marsden C.D. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann. Neurol.* 1994;36:348–355.
4. Rodriguez M., Morales I., Rodriguez-Sabate C., Sanchez A., Castro R., Brito J.M., Sabate M. The degeneration and replacement of dopamine cells in Parkinson's disease: the role of aging. *Front. Neuroanat.* 2014;8:80.
5. Segura-Aguilar J., Paris I., Muñoz P., Ferrari E., Zecca L., and Zucca F.A. Protective and toxic roles of dopamine in Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 2014;129(6):898–915.
6. Tolosa E., Compta Y., Gaig C. The premotor phase of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2007;310(1–2):S2–S7.
7. Braak H., Del Tredici K., Rüb U., de Vos R.A., Jansen Steur E.N., Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging.* 2003;24(2):197–211.
8. Pretegeani E., Optican L.M. Eye movements in Parkinson's Disease and inherited parkinsonian syndromes. *Front. Neurol.* 2017;8:592.
9. Schneider J.S., Kovelowski C.J. Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Res.* 1990;519(1):122–128.
10. Ma W., Li M., Wu J., Zhang Z., Jia F., Zhang M., Bergman H., Li X., Ling Z., Xu X. Multiple step saccades in simply reactive saccades could serve as a complementary biomarker for the early diagnosis of Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* 2022;14:912967.
11. Zhang ZN, Zhang JS, Xiang J, Yu ZH, Zhang W, Cai M, Li XT, Wu T, Li WW, Cai DF. Subcutaneous rotenone rat model of Parkinson's disease: Dose exploration study. *Brain Res.* 2017;1655:104–113.
12. Troshev D., Berezhnoy D., Kulikova O., Abaimov D., Muzychuk O., Nalobin D., Stvolinsky S., Fedorova T. The dynamics of nigrostriatal system damage and neurobehavioral changes in the rotenone rat model of Parkinson's disease. *Brain Res Bull.* 2021;73:1–13.
13. Troshev D., Voronkov D., Pavlova A., Abaimov D., Latanov A., Fedorova T., Berezhnoy D. Time course of neurobehavioral disruptions and regional brain metabolism changes in the rotenone mice model of Parkinson's disease. *Biomedicines.* 2022;10(2):466.
14. Терещенко Л.В., Латанов А.В. Нарушения зрительно-моторных функций при развитии МФТП-индуцированного паркинсоноподобного синдрома у обезьян. *Журн. высш. нервн. деят.* 2018;68(4):496–513.
15. Tereshchenko L.V., Anisimov V.T., Shul'govsky V.V., Latanov A.V. Early changes of saccade parameters in monkeys at the developments of MPTP-induced hemiparkinsonism. *Perception.* 2015;44(8–9):1054–1063.
16. Clarke C.E., Sambrook M.A., Mitchell I.J., Crossman A.R. Levodopa induced dyskinesia and response fluctuations in primates rendered Parkinsonian with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *J. Neurol. Sci.* 1987;78(3):273–280.
17. Robinson D.A. A method of measuring eye movement using a scleral search coil in a magnetic field. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1963;10(4):137–145.
18. Терещенко Л.В., Кузнецов Ю.Б., Латанов А.В., Шульговский В.В. Методика хронической электромаг-

нитной регистрации движений глаз и головы у обезьян. *Журн. высш. нерв. деят.* 2000;50(5):889–894.

19. Mishkin M., Ungerleider L.G., Macko K.A. Object vision and spatial vision: two cortical pathways. *Trends Neurosci.* 1983;6(10):414–417.

20. Ратманова П.О., Напалков Д.А., Богданов Р.Р., Латанов А.В., Турбина Л.Г., Шульговский В.В. Влияние

дефицита дофамина на процесс подготовки зрительно-вызванных саккадических движений глаз. *Журн. высш. нерв. деят.* 2006;56(5):590–596.

Поступила в редакцию 26.04.2024

После доработки 24.06.2024

Принята в печать 04.07.2024

RESEARCH ARTICLE

Modeling the pre-symptomatic stage of hemi-parkinsonian state in animals (rodents and monkeys)

Yu.A. Timoshina^{1, 2} , L.V. Tereshchenko¹ , O.I. Kulikova² ,
T.N. Fedorova² , A.V. Latanov^{1, *} 

¹Department of Neurobiology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

²Research Center of Neurology, Volokolamskoye sh. 80, Moscow, 125367, Russia

*e-mail: latanov@neurobiology.ru

The behavioral and functional states preceding the onset specific parkinsonian symptoms were studied at an early (*pre-symptomatic*) stage of hemi-parkinsonian syndrome development in rodents and monkeys. The *pre-symptomatic stage* of the hemi-parkinsonian syndrome was determined in rodents (mice and rats) treated by chronic administration of low doses of rotenone toxin. The consecutive steps of neuropathological traits development in rodents included the cognitive impairment at the 1st-2nd week of exposure to rotenone, minor movement disorders at the 3st-4nd week before the onset of severe motor dysfunction as well as some biochemical indicators. The latencies and amplitudes of visually guided saccades (VGS) while conditioned instrumental task performing were studied in nonhuman primates (*Macaca mulatta*) chronically treated with low doses of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). The elongation of VGS latencies and the decline of their accuracy were revealed with development of MPTP-induced syndrome but conditioned instrumental performance was not affected. The negative behavioral effects manifested in animals at the *pre-symptomatic* stage of toxins induced disease both in the rotenone model in rodents and in MPTP model in monkeys suggesting them as early markers of a hemi-parkinsonian syndrome.

Keywords: Parkinsonism modelling, rotenone, rat, mice C57Bl/6, neurotoxin MPTP, *Macaca mulatta*, instrumental conditioning, saccade

Funding: The research was supported by the Scientific Project of the State Order of the Government of Russian Federation to Lomonosov Moscow State University №121032500080-8

Сведения об авторах

Тимошина Юлия Анатольевна — аспирант кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ, мл. науч. сотр. лаб. экспериментальной и трансляционной нейробиологии Института мозга Научного центра неврологии. Тел.: 8-495-939-37-38; e-mail: timoshina.yu.a@neurology.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0546-8767>

Терещенко Леонид Викторович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-37-38; e-mail: lter@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9110-8946>

Куликова Ольга Игоревна — канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. экспериментальной и трансляционной нейробиологии Института мозга Научного центра неврологии. Тел.: 8-495- 374-77-76; email: kulikova@neurology.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1129-6033>

Федорова Татьяна Николаевна — докт. биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. экспериментальной и трансляционной нейробиологии Института мозга Научного центра неврологии. Тел.: 8-495-374-77-76; email: fedorova@neurology.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0483-1640>

Латанов Александр Васильевич — докт. биол. наук, проф., зав. кафедрой высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-28-37; e-mail: latanov@neurobiology.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7388-3914>