

Сафандеев В.В., Сеницкая Т.А.

Использование нейротоксинов в фундаментальных, медицинских и биологических науках на примере 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП)

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 140014, г. Мытищи Московской области, Российская Федерация

Введение. Нейротоксины представляют собой класс химических веществ, повреждающих нейроны. Схожим действием обладают некоторые пестициды. Увеличение районов с развитой тяжелой промышленностью и сельским хозяйством, бесконтрольное использование пестицидов способствуют возникновению и прогрессированию болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона (БП). Коварство БП состоит в том, что болезнь до сих пор является неизлечимой, поскольку отсутствует её ранняя диагностика: десятилетия она протекает бессимптомно, а к моменту манифестации уже отсутствуют нейроны-мишени для терапии. Учитывая, что диагноз ставится на поздних этапах развития БП, лечение заболевания неэффективно. Отсюда следует, что для повышения эффективности лечения его надо начинать как можно раньше – до появления моторных симптомов, на доклинической стадии. Для этого сначала надо разработать раннюю (доклиническую) диагностику БП на основе углубленного изучения клеточно-молекулярных механизмов патогенеза.

С целью разработки ранней диагностики и превентивной терапии БП в данном исследовании был использован пронеуротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП).

Материал и методы. Для моделирования доклинической и клинической стадий БП инбредным линиям животных вводили МФТП по определенным схемам. Оценивали поведение подопытных животных, а после их декапитации определяли содержание моноаминов в структурах головного мозга и периферических органах методом ВЭЖХ, проводили морфофункциональный анализ исследуемых тканей и органов.

Результаты. На животных смоделирована клиническая стадия БП, отвечающая ключевым характеристикам БП у человека и гипотетическая доклиническая стадия БП на животных, на которой был успешно апробирован метод ранней диагностики. На этой модели показан ряд важнейших биохимических изменений в периферических органах, свидетельствующий о системном характере заболевания и предшествующий возникновению клинической стадии БП.

Ограничения исследования. Результаты настоящего исследования могут транслироваться на людей только после получения аналогичных результатов на обезьянах.

Заключение. Расширяются знания о механизмах действия некоторых нейротоксинов, которые с успехом используются для нужд фундаментальных, медицинских и биологических наук.

Ключевые слова: нейротоксины, пестициды; 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин; болезнь Паркинсона; болезнь Альцгеймера

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Сафандеев В.В., Сеницкая Т.А. Использование нейротоксинов в фундаментальных, медицинских и биологических науках на примере 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). *Токсикологический вестник*. 2022; 30(5): 307-314. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-5-307-314>

Для корреспонденции: Сафандеев Виталий Васильевич, зав. отд. ингаляционной токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 140014, г. Мытищи Московской области, Российская Федерация. E-mail: visa.doc@mail.ru

Участие авторов. Все соавторы внесли равнозначный вклад в исследование и подготовку статьи к публикации.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 08 сентября 2022 / Принята в печать: 22 сентября 2022 / Опубликовано: 30 октября 2022

Safandeev V.V., Sinitskaya T.A.

The use of neurotoxins in fundamental, medical and biological sciences on the example of the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine

Federal Budgetary Establishment of Science «F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 140014, Mytishchi, Moscow region Russian Federation

Introduction. Neurotoxins are a class of chemicals that damage neurons. Some pesticides have a similar effect. The increase in areas with developed heavy industry and agriculture, uncontrolled use of pesticides contribute to the emergence and progression of Alzheimer's and Parkinson's disease (PD). The insidiousness of PD is that it is still incurable, since there is no early diagnosis: for decades it has been asymptomatic, and by the time of manifestation there are no target neurons for therapy. Considering that the diagnosis is made at the late stages of PD development, the treatment of the disease is ineffective. It follows that in order to increase the effectiveness of treatment, it should be started as early as possible – before the appearance of motor symptoms, at the preclinical stage. To do this, it is first necessary to develop an early (preclinical) diagnosis of PD based on an in-depth study of the cellular and molecular mechanisms of pathogenesis.

In order to develop early diagnosis and preventive therapy of PD, proneurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) was used in this study.

Material and methods. To simulate the preclinical and clinical stages of PD, inbred lines of animals were injected with MPTP according to certain schemes. The behavior of experimental animals was assessed, and after their decapitation, the content of monoamines in the structures of the brain, peripheral organs, and blood plasma was determined by HPLC, and a morphofunctional analysis of the studied tissues and organs was performed.

Results. The clinical stage of PD was modeled in animals, which corresponds to the key characteristics of PD in humans. A hypothetical preclinical stage of PD was modeled in animals, on which the method of early diagnosis was successfully tested. This model shows a number of important biochemical changes in peripheral organs, indicating the systemic nature of the disease and preceding the onset of the clinical stage of PD.

Research limitations. The results of this study can only be applied to humans only after similar results have been obtained in monkeys.

Limitations. Only after obtaining similar results in monkeys the results of this study can be translated to humans.

Conclusion. Knowledge about the mechanisms of action of some neurotoxins is expanding, which are successfully used for the needs of fundamental, medical and biological sciences.

Keywords: neurotoxins; pesticides; 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; Parkinson's disease; Alzheimer's disease

Compliance with ethical standards. This study does not require the conclusion of a biomedical ethics committee or other documents.

For citation: Safandeev V.V., Sinitskaya T.A. The use of neurotoxins in fundamental, medical and biological sciences on the example of the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Toksikologicheskiy vestnik (Toxicological Review)*. 2022; 30(5): 307-314. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-5-307-314> (in Russian)

For correspondence: Vitaly V. Safandeev, Head of Department. Inhalation toxicology of the FSUE FNTSG named after F.F. Erisman Rospotrebnadzor, 140014, Mytishchi, Moscow region, Russian Federation. E-mail: visa.doc@mail.ru

Information about authors:

Safandeev V.V., <https://orcid.org/0000-0002-0073-1677>

Sinitskaya T.A., <https://orcid.org/0000-0003-1344-3866>

Author contribution. All co-authors made an equal contribution to the research and preparation of the article for publication.

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

Funding. The study was not sponsored.

Received: September 08, 2022 / Accepted: September 22, 2022 / Published: October 30, 2022

Введение

Нейротоксины представляют собой обширный класс химических соединений, повреждающих нейроны. Схожим действием обладают некоторые пестициды (ротенон, паракват). Экологическая нагрузка, увеличение районов с развитой тяжёлой промышленностью и сельским хозяйством, бесконтрольное использование некоторых пестицидов способствуют возникновению и прогрессированию болезни Альцгеймера и Паркинсона (БП), что является тяжёлой финансовой нагрузкой на общество в развитых странах [1].

Важной особенностью патогенеза БП является её системный характер – нейродегенеративный процесс затрагивает и нигростриатную систему, и экстранигростриатные отделы головного мозга, а также периферическую нервную систему (ПНС). Это приводит к нарушению функций иннервируемых ими органов. Дегградация экстранигростриатных отделов головного мозга и ПНС при БП сопровождается нарушением метаболизма важнейших моноаминов (МА): дофамина (ДА), норадреналина (НА) и серотонина (5-гидрокситриптамина, 5-ГТ). При этом нарушение ряда центральных и периферических функций (обоняния, работы сердца, желудочно-кишечного тракта и пр.) происходит гораздо раньше (за 20–30 лет), чем погибают ДА-ергические нейроны нигростриатной системы мозга и появляются моторные симптомы [2, 3]. Коварство этого заболевания состоит в том, что оно до сих пор является неизлечимым, поскольку отсутствует его ранняя диагностика: десятилетиями оно протекает бессимптомно, а к моменту манифестации отсутствуют нейроны-мишени для терапии. Длительное отсутствие моторных симптомов при прогрессирующей гибели ДА-ергических нейронов объясняется развитием компенсаторных механизмов. Первые моторные симптомы (тремор покоя, гипокинезия, ригидность и постуральная неустойчивость), по которым диагностируют БП, появляются через много лет после начала заболевания при достижении порога дегградации ДА-ергической нигростриатной системы – гибели 50–60% тел ДА-ергических нейронов в компактной части чёрной субстанции [4] и снижении уровня ДА в области проекции их аксонов в стриатуме на 70–80% [5]. Учитывая, что диагноз ставится на поздних этапах развития заболевания, лечение БП неэффективно. Отсюда следует, что для повышения эффективности лечения его надо начинать как можно раньше – до появления моторных симптомов, на доклинической стадии. Для этого сначала надо разработать раннюю (доклиниче-

скую) диагностику БП на основе углублённого изучения клеточно-молекулярных механизмов патогенеза. Ввиду отсутствия ранней диагностики и изучения патогенеза БП возможно только при моделировании ранней (доклинической) стадии заболевания на животных [6]. Добиться моделирования доклинической стадии возможно только при адекватном моделировании клинической стадии БП на животных, поскольку существуют ключевые критерии БП у больного: системность патологического процесса, хронический и прогрессирующий характер нейродегенерации, отсутствие моторных симптомов до достижения пороговой дегградации нигростриатной ДА-ергической системы [7]. В наибольшей степени этим требованиям отвечают нейротоксические модели на животных, полученные с помощью МФТП [8].

МФТП при поступлении в организм превращается в МФТП+ токсин катехоламинергических (КА)-ергических нейронов [9, 10].

С целью разработки ранней диагностики и превентивной терапии БП в данном исследовании был использован пронеуротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП).

Задачи: 1) подобрать необходимые концентрации и способы введения МФТП для моделирования доклинической и клинической стадий БП; 2) охарактеризовать поведенческие, биохимические и морфофункциональные изменения смоделированных стадий; 3) разработать на модели доклинической стадии БП раннюю диагностику и подходы к превентивной терапии.

Материал и методы

Тест-система, условия содержания и моделирование заболевания. В качестве тест-системы для моделирования БП использовали инбредные линии животных (более 400 самцов мышей линии C57Bl/6) в возрасте 2–2,5 мес на начало исследования. Животных после прибытия из питомника содержали в соответствии с ГОСТ 33216-2014 [11]. Акклиматизация животных проходила в стандартных условиях вивария (температура воздуха 20–22 °С, влажность воздуха 36–40%) с 12-часовым искусственным циклом «день/ночь» (6⁰⁰/18⁰⁰) при неограниченном доступе к воде и пище [12]. Животным субкутанно, интраперитонеально или интраназально вводили МФТП (Sigma Aldrich, США), по следующим схемам: однократно еженедельно в течение 5 нед в дозе 10 мг/кг для моделирования доклинической стадии (обозначали как «5×10»); однократно еженедельно в течение 10 нед в дозе 12 мг/кг для моделирования ранней

клинической стадии (обозначали как «10×12»). Животным контрольных групп вводили 0,9% NaCl по аналогичным схемам.

Оценка поведения и когнитивных функций. Через 1 нед после последней инъекции МФТП или 0,9% NaCl оценивали поведение в открытом поле, тесте с вертикальным шестом и длину шага, когнитивные функции в тесте ротарод («обучение» выносливости при повторном применении теста) и лабиринте Морриса (данные не представлены), а затем собирали патологический материал.

Разработка ранней диагностики. Модель доклинической стадии БП была использована для разработки ранней диагностики БП. Для этого через 1 нед после последней инъекции 0,9% NaCl или МФТП животным однократно вводили альфа-метил-пара-тирозин (α МПТ) – обратимый ингибитор тирозингидроксилазы, а следовательно, и синтеза ДА, в ранее подобранной дозе 50 мг/кг [13]. Далее, после введения α МПТ, животных наркотизировали изофлураном, декапитировали и выделяли мозг.

Биохимические исследования структур мозга и внутренних органов. Животных через 1 нед после последнего введения МФТП и последующего введения α МПТ или 0,9% NaCl декапитировали. Мозг разрезали по средне-сагиттальной линии на правое и левое полушария. Правую половину использовали для определения моноаминов (МА), левую – для проведения морфофункциональных исследований. Из правой половины мозга выделяли обонятельные луковицы, стриатум, ЧС, моторную кору и ствол мозга в соответствии с атласом [14]. Периферические органы выделяли у животных под наркозом в соответствии с руководством [15]. Содержание МА и их основных метаболитов определяли в структурах мозга и периферических органах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (Shimadzu, Япония).

Морфофункциональные исследования. Для выявления тиразингидроксилазо-иммунопозитивных (далее – ТГ-иммунопозитивных) нейронов методом иммуногистохимии pripravивали криостатные (Leica, США) фронтальные серийные срезы. Нейроны, в которых была обнаружена ТГ, считали ДА-ергическими. ТГ выявляли по стандартному авидин-биотин-иммунопероксидазному методу (ABC, Vector Laboratories, США). Полученные препараты после выявления ТГ изучали с помощью светового микроскопа (Olympus BX 51, Япония; Carl Zeiss, Германия). Срезы фотографировали с помощью цифровой камеры Olympus DP70 (Olympus, Япония), при увеличе-

ниях объектива $\times 10$, $\times 20$ и $\times 100$. Затем полученные изображения анализировали с помощью программы AnalySIS 5.0 (Olympus, Япония).

Статистика. Полученные количественные данные обрабатывали статистически с помощью *F*-теста для оценки однородности выборки. При оценке различий между группами использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента с учетом поправки Бонферрони или непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни. Для анализа статистики использовали ПО GraphPad Prism (Version 5.0, GraphPad Software, США) и Excel (Microsoft Corporation, США).

Количественные параметры в работе представлены в виде среднего значения (*M*) и статистической ошибки среднего арифметического (*m*). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$ [16, 17].

Результаты и обсуждение

Соответствие модели клинической стадии БП критериям БП человека. Оценка поведения и когнитивных функций. Нужно было понять, соответствует ли разработанная нами модель клинической стадии симптомам БП у человека. Учитывая, что БП диагностируют по наличию гипокинезии и еще одному из симптомов – ригидности, тремора покоя, постуральных нарушений (нарушению ходьбы и равновесия) [18], в данной работе при моделировании БП особое внимание уделяли оценке моторного поведения и когнитивных функций.

По нашим данным, показатели моторного поведения (пройденный путь, время спуска с шеста) и исследовательского поведения (количество стоек) в открытом поле на модели доклинической стадии БП не изменились по сравнению с животными контрольной группы (таблица). На модели клинической стадии БП также не было обнаружено изменений в пройденном пути и скорости, однако было снижено количество вертикальных стоек и время спуска с шеста, что свидетельствовало о появлении гипокинезии.

Использование «Вертикального шеста» с видеофиксацией позволило оценить, помимо гипокинезии, моторную координацию у контрольных и подопытных животных. Небольшое изменение скорости спуска с вертикального шеста нами было впервые зафиксировано через 1 нед после десятидневного введения МФТП, что свидетельствует о нарушении координации на модели клинической стадии БП.

У человека при БП кроме гипокинезии отмечают ригидность. У животных её мы оценивали

Показатели моторного поведения (пройденный путь, время спуска с шеста) и исследовательского поведения (количество стоек) через 1 нед после последнего введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) или 0,9% NaCl по аналогичной схеме в контроле в тестах «Открытое поле», «Вертикальный шест» и «Длина шага»

Indicators of motor behavior (distance traveled, time of descent from the pole) and research behavior (number of racks) 1 week after the last administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) or 0.9% NaCl according to a similar scheme in the control in the test "Open field", "Vertical pole" and "Step length"

Показатель	Пройденный путь, см		Время спуска, с		Количество стоек		Длина шага, см	
	Контроль (0,9% NaCl)	МФТП	Контроль (0,9% NaCl)	МФТП	Контроль (0,9% NaCl)	МФТП	Контроль (0,9% NaCl)	МФТП
5×10	1954±182	1959±187	12,5±0,3	12,0±0,2	48±5	43±7	4,9±0,2	4,7±0,1
10×12	1849±148	2189±129	14,5±0,3	13,2±0,2*	42±4	37±5*	5,5±0,1	5,1±0,1*

Примечание. 5×10 – еженедельное введение 10 мг/кг МФТП в течение 5 нед; 10×12 – еженедельное введение 12 мг/кг МФТП в течение 10 недель. * $p \leq 0,05$ – значимые различия по сравнению с контролем.

по длине шага. На модели клинической стадии БП нами было отмечено небольшое изменение длины шага (см. таблицу).

Оценка когнитивных функций с помощью лабиринта Морриса и ротарода показала снижение способности к обучению на модели клинической стадии БП (рис. 1), что часто наблюдается и у больных при БП [19]. Ротарод также был использован для оценки постуральной неустойчивости. Нами были получены данные о незначительной степени снижения постуральной неустойчивости по цепкости лап у мышей на модели доклинической стадии БП и о более значительной – на модели клинической стадии БП.

Биохимические исследования структур мозга и внутренних органов. Нарушение поведения у животных при моделировании клинической стадии БП можно в определенной степени рассматривать как проявление изменения метаболизма МА, в первую очередь ДА. Поэтому на следующем этапе исследований было важно провести соответствие между появлением нарушения моторного поведения и изменением уровня ДА в нигростриатной системе на модели клинической стадии БП по сравнению с моделью доклинической стадии БП. Мы обнаружили, что при моделировании доклинической стадии БП уровень ДА в стриатуме снизился на 59%, что было выше

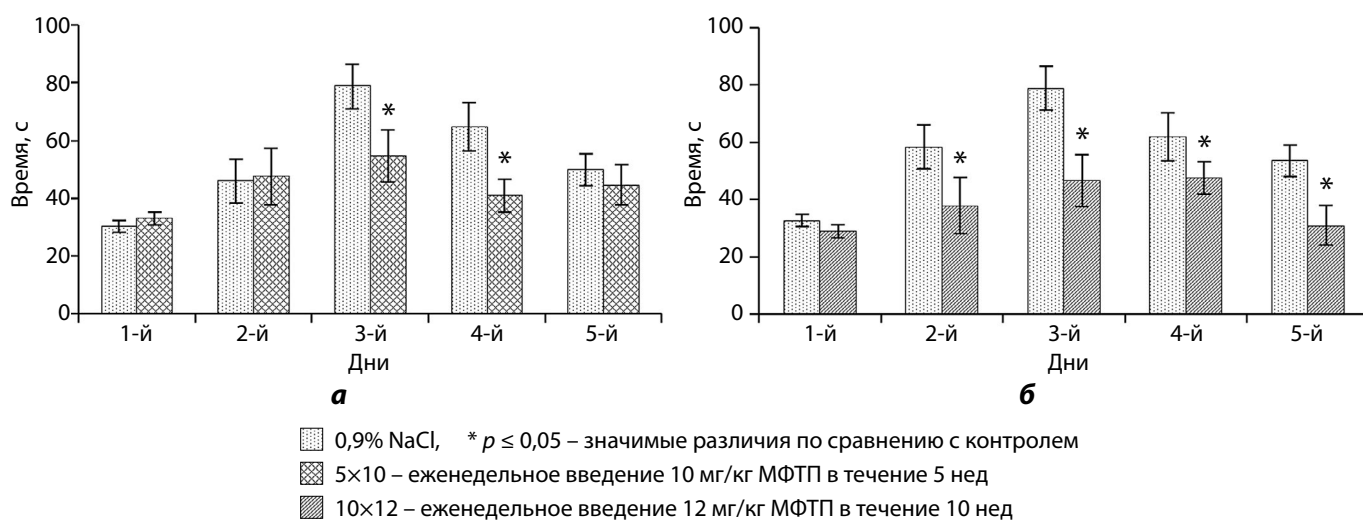


Рис. 1. Время, проведённое на вращающемся валу ротарода как показатель выносливости мышей через 3 дня после пятинедельного (а) или десятинедельного (б) введения МФТП по сравнению с контролем.

Fig. 1. The time spent on the rotating shaft of the rotarode as an indicator of the endurance of mice 3 days after a five-week (a) or ten-week (b) administration of MPTP compared with the control.

уровня порога деградации. При моделировании клинической стадии БП уровень ДА в стриатуме опустился ниже порога – на 78%. Следовательно, разработанная нами модель клинической стадии коррелировала с БП человека.

В данной работе также оценивали деградацию нигростриатной системы у животных путем анализа метаболизма НА и 5-ГТ в стриатуме и ЧС, которые, по данным литературы, получают НА-ергические афференты [20] и 5-ГТ-ергические афференты [21]. При этом было показано, что модель клинической стадии БП воспроизводит снижение метаболизма НА и 5-ГТ в стриатуме. Эти изменения метаболизма МА, по всей вероятности, отражают деградацию НА-ергических и 5-ГТ-ергических афферентов, которая была продемонстрирована у больных [22, 23].

Патогенез БП не ограничивается мозгом: он охватывает ПНС, что приводит к нарушению функционирования внутренних органов. Нарушения работы внутренних органов у больных при БП, обусловленные их денервацией [24], изучены недостаточно полно. При моделировании БП мы фактически проводим сравнительный анализ изменения регуляции работы внутренних органов различными МА. С одной стороны, эта регуляция обеспечивается в основном НА через симпатическую иннервацию, с другой – 5-ГТ, который оказывает паракринную регуляцию и вырабатывается преимущественно энтерохромафинными клетками. Работы, посвященные изучению метаболизма МА во внутренних органах, проводятся в основном на клинической стадии заболевания и только в редких случаях на доклинической стадии БП с помощью дорогостоящих нейровизуализационных методов исследования. Однако у нейровизуализационных методов есть определенные ограничения: они не позволяют оценить содержание МА.

У больных при БП одним из наиболее часто встречающихся периферических проявлений является нарушение работы сердца в результате его десимпатизации, что приводит к ортостатической гипотензии и снижению качества жизни больных. Однако снижение количества аксонов НА-ергических нейронов симпатической системы при десимпатизации не позволяет судить о метаболизме НА в сердце. Поэтому при моделировании БП мы проанализировали, как введение МФТП, приводящее к гипотетическому снижению количества аксонов НА-ергических нейронов, могло отразиться на метаболизме НА. Данные по изменению метаболизма НА важны для развития патогенетической терапии.

Результаты, полученные нами при оценке метаболических изменений НА в предсердиях сердца на модели клинической стадии БП впервые показали, что происходит снижение уровня НА, вероятно отражающее их десимпатизацию.

Для коррекции нарушений работы сердца необходимо выявить маркеры десимпатизации при БП. Поэтому мы проанализировали, какие изменения метаболизма МА, происходящие на моделях доклинической стадии БП, можно рассматривать в качестве таких маркеров. При моделировании доклинической стадии БП нами впервые было показано снижение содержания НА в желудочках сердца при отсутствии изменений метаболизма НА в предсердиях сердца [25]. Эти данные позволяют предполагать, что симпатическая нервная система желудочков более чувствительна к МФТП, чем предсердия сердца [25]. Следовательно, действие МФТП приводит к большему нарушению функций желудочков, чем предсердий. Полученные результаты представляют особый интерес, поскольку в последнее время при БП все больше внимания уделяется корректировке работы внутренних органов, нарушение функций которых приводит к существенному ухудшению качества жизни больных.

Оценка морфологических изменений нигростриатной системы. Изменение поведения у животных через 1 нед после десятидневного введения МФТП, описанное выше, можно рассматривать как проявление изменения метаболизма ДА в нигростриатной системе. При этом снижение уровня ДА в стриатуме должно, как у больных, сопровождаться пороговой деградацией ДА-ергических нейронов в ЧС. Поэтому следующим важным этапом исследований был морфофункциональный анализ ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС.

Нами было показано, что дегенерация ДА-ергических нейронов в ЧС через 1 нед после пятидневного введения МФТП отсутствует. Также мы показали, что через 1 нед после модифицированного десятидневного введения МФТП количество тел ДА-ергических нейронов в ЧС снижается на 50% (рис. 2), что соответствует пороговому уровню дегенерации ДА-ергических нейронов у больных при появлении симптомов и диагностировании заболевания.

Разработка ранней диагностики. Для разработки ранней диагностики БП нами был разработан провокационный тест (рис. 3, а). Для доказательства безопасности провокационного теста был проведен иммуногистохимический анализ количества тел ДА-ергических нейронов

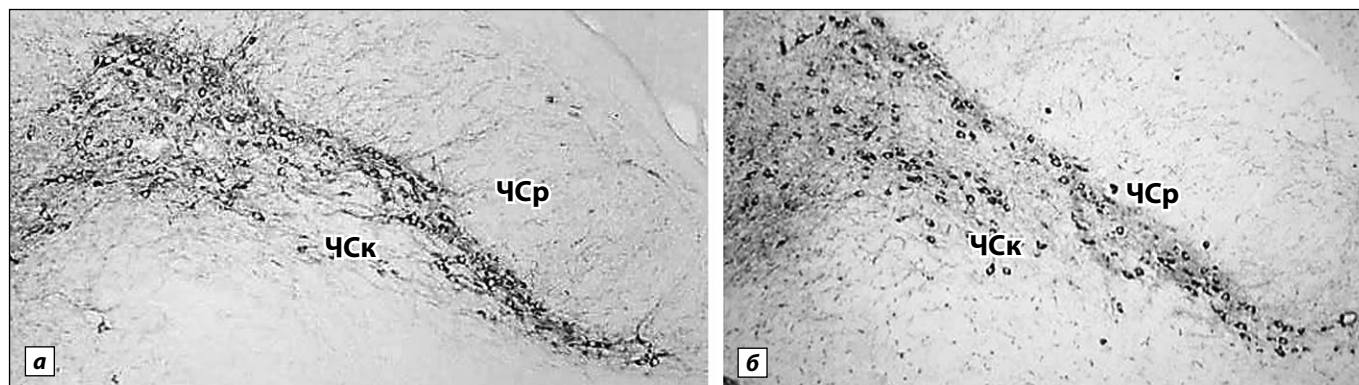


Рис. 2. Световая микроскопия. Тирозингидроксилазо-иммунопозитивные нейроны в компактной части чёрной субстанции в контроле (а) и через 1 неделю после введения МФТП в течение 10 нед (б).
Объектив $\times 20$. ЧСк – компактная часть черной субстанции, ЧСр – ретикулярная часть черной субстанции.

Fig. 2. Light microscopy. Tyrosine hydroxylase-immunopositive neurons in the compact part of the substantia nigra in the control (a) and a week after the introduction of MFTP for ten weeks (b).
Objective $\times 20$. ЧСк – compact part of the substantia nigra; ЧСр – reticular part of the substantia nigra.

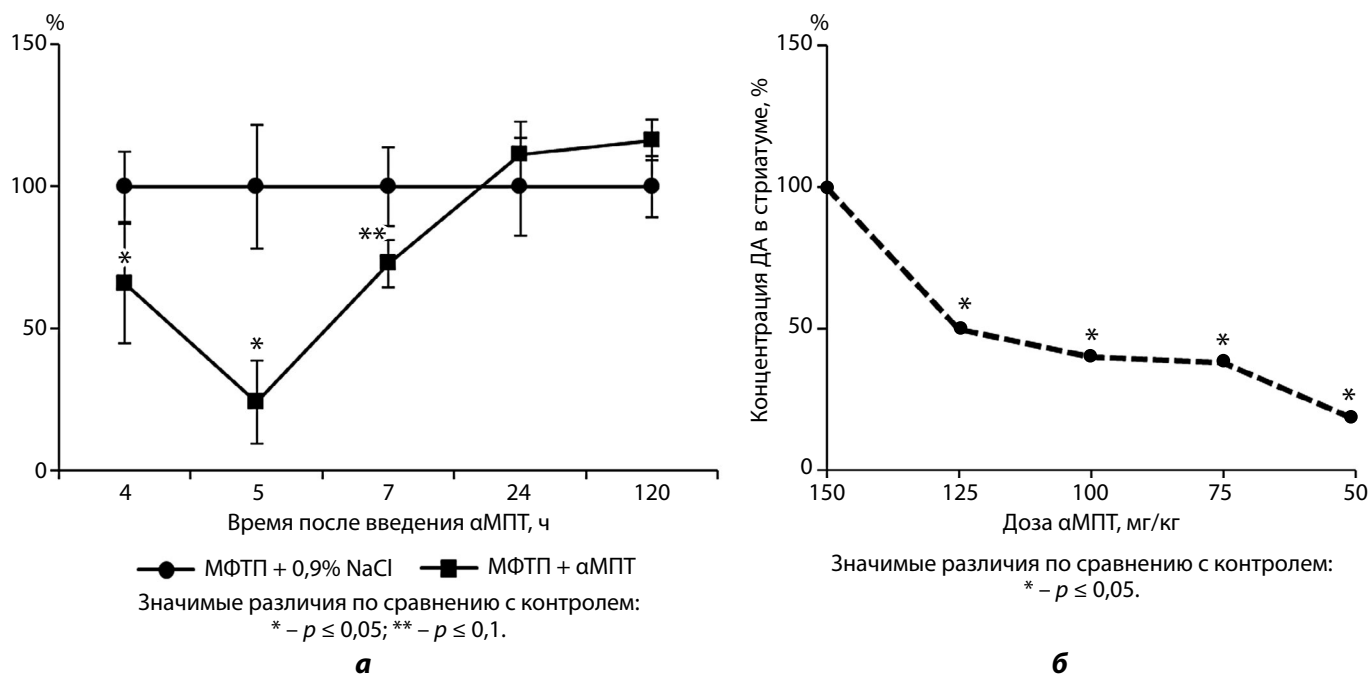


Рис. 3. Провокационный тест. а – время после введения α МПТ, ч (доказательство обратимости действия α МПТ); б – концентрация ДА (%) в стриатуме в зависимости от дозы α МПТ, мг/кг (подбор минимальных доз α МПТ, мг/кг).

Fig. 3. Provocative test. а – time after administration of α MPT, h (proof of reversibility of α MPT action); б – the concentration of DA (%) in the striatum depending on the dose of α MPT, mg/kg (selection of minimum doses of α MPT, mg/kg).

и их аксонов по ТГ. Этот анализ показал, что через 4 ч и через 1 нед после введения α МПТ в дозе 50 мг/кг не происходит изменения ни количества тел ДА-ергических нейронов в чёрной субстанции (ЧС), ни количества терминалей их аксонов в стриатуме данные не представлены. Мы показали, что снижение уровня ДА в стриатуме при введении α МПТ в изученном диапазоне доз носит дозозависимый характер (рис. 3, б). Через 4 ч после последнего введения

МФТП введение α МПТ в дозе 125 мг/кг приводило к дополнительному снижению ДА в стриатуме на 50%, в дозе 100 мг/кг — на 40%, в дозе 75 мг/кг — на 38%, в дозе 50 мг/кг — на 18% [26]. В перспективе этот подход позволит не только диагностировать заболевание на доклинической стадии, но и определить, в какой степени деградирует ДА-ергическая нигростриатная система, что является альтернативным подходом по отношению к ПЭТ-скан.

Заключение

Учитывая то, что при БП помимо ДА-ергических нейронов дегенерируют НА-ергические и 5-ГТ-ергические нейроны, эффективность заместительной терапии можно повысить путём использования агонистов НА и 5-ГТ [27, 28]. Это позволит купировать немоторные проявления БП: нарушения обоняния, сна, запоры, ортостатическую гипотензию. Наиболее важной является разработка доклинической диагностики, что позволит использовать превентивную нейропротекторную терапию. Такая терапия

позволит замедлить дегенерацию нейронов, предотвратить инвалидизацию и максимально продлить период физической и социальной активности больного [29], что в настоящее время является важнейшим приоритетом в нейронауках.

Фундаментальные знания о клеточно-молекулярных механизмах патогенеза БП на ранней стадии позволяют на основе принципов трансляционной медицины разрабатывать доклиническую диагностику и превентивное лечение. Аналогичные разработки могут использоваться применительно к болезни Альцгеймера.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 1–3, 5–10, 14, 15, 18–24, 27–29 см. в References)

- Угрюмов М.В. Разработка доклинической диагностики и превентивного лечения нейродегенеративных заболеваний. *Журнал неврологии и психиатрии*. 2015; 115: 4–14.
- 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.
- Сафандеев В.В., Лопатина М.В. Влияние ограниченного и неограниченного употребления корма на массу линейных и нелнейных животных. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2019; 7: 71–5. <https://doi.org/10.26155/vet.zoo.bio.201907011>
- Сафандеев В.В., Угрюмов М.В. Выявление латентной функциональной недостаточности дофаминергических нейронов nigrostriatalной системы на хронической модели болезни Паркинсона. *Нейрохимия*. 2017; 34(4): 290–95.
- Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. *Психофармакология и биологическая наркологию*. 2007; 7(3–4): 2090–2120.
- Ноткин Е.Л. *Статистика в гигиенических исследованиях*. М.: 1965.
- Сафандеев В.В., Колачева А.А., Угрюмов М.В. Оценка метаболизма катехоламинов в периферических органах как показатель их десимпатизации под влиянием нейротоксинов. *Докл. Акад. Наук*. 2019; 486(1): 116–20.
- Сафандеев В.В., Угрюмов М.В. Новый подход к оценке степени дегенерации nigrostriatalной дофаминергической системы на экспериментальной модели болезни Паркинсона. *Журн. Высш. нервн. деят.* 2019; 69(3): 382–92.
- Liu Ch. A. Liu Z., Zhang Zh. et al. A Scientometric Analysis and Visualization of Research on Parkinson's Disease Associated With Pesticide Exposure. *Frontiers in Public Health*. 2020; 8. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00091>
- Braak H., Tredici K. Del , Rüb U. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*. 2003; 24: 197–211.
- Sawada M., Wada-Isoe K., Hanajima R. et al. Clinical features of freezing of gait in Parkinson's disease patients. M. Sawada. *Brain Behav*. 2019; 9(1.4): e01244.
- Ugryumov, M.V. Development of preclinical diagnostics and preventive treatment of neurodegenerative diseases. *Zhurnal nevrologii i psixiatrii*. 2015; 115: 4–14. (in Russian)
- Agid, Y. Parkinson's disease: pathophysiology. *The Lancet*. 1991; 337(8753): 1321–4.
- Chansel-Debordeaux, L. Bezaud E. Local transgene expression and whole-body transgenesis to model brain diseases in nonhuman primate. *Animal Model Exp. Med*. 2019; 29(1.2): 9–17.
- Antony P.M.A., Diederich N.J., Antony P.M., Balling R. Parkinson's disease mouse models in translational research. *Mamm. Genome*. 2011; 7–8: 401–19.
- Zeng X.-S., Geng W.-Sh., Jia J.-J. Neurotoxin-Induced Animal Models of Parkinson Disease: Pathogenic Mechanism and Assessment. *ASN Neuro*. 2018; 10: 1–15.
- Kopin I.J., Markey S.P. MPTP toxicity: Implications for research in Parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci*. 1988; 11: 81–96.
- Forno L.S., DeLanney L.E., Irwin I. et al. Similarities and differences between MPTP-induced parkinsonism and Parkinson's disease. *Neuropathologic considerations*. *Advances in neurology*. 1993; 60: 600–8.
- GOST 33216-2014. Interstate standard. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. – Access from the legal system Guarantor. Text: electronic. (in Russian)
- Safandeev V.V., Lopatina M.V. Influence of limited and unlimited use of feed on the mass of linear and nonlinear animals. *Veterinariya, zootexniya i biotekhnologiya*. 2019; 7: 1–75. <https://doi.org/10.26155/vet.zoo.bio.201907011> (in Russian)
- Safandeev V.V., Kolacheva A.A., Ivanov D.E. et al. Detection of the latent functional insufficiency of dopaminergic neurons in the nigrostriatal system in a chronic model of Parkinson's disease. *Nejrohimiya. J.* 2017; 11: 290–5. <https://doi.org/10.1134/S1819712417040079> (in Russian)
- Paxinos G., Franklin K.B.J. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, San Diego; 2001: 350.
- Morawietz G., Ruehl-Fehlert C., Kittel B. et al. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 3. A joint publication of the RITA and NACAD groups. *Exp. Toxicol. Pathol*. 2004; 6: 433–49.
- Prozorovsky V.B. Statistical processing of pharmacological research results. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. 2007; 7(3–4): 2090–120. (in Russian)
- Notkin E.L. *Statistics in hygienic research [Statistika v higienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow: 1965. (in Russian)
- Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2008; 4: 368–76.
- Dauer W. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Przedborski S. Neuron*. 2003; 39(1.6): 889–909.
- Fallon J.H., Moore R.Y. Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *J. Comp. Neurol*. 1978; 180: 545–80.
- Whitaker-Azmitia P.M., Quartermain D., Shemer A.V. Prenatal treatment with a selective D1 receptor agonist (SKF 38393) alters adult [3H]paroxetine binding and dopamine and serotonin behavioral sensitivity. *Developmental Brain Research*. 57: 181–5. PMID 2150012. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(90\)90044-Y](https://doi.org/10.1016/0165-3806(90)90044-Y)
- Halliday G.M., Blumberg P.C., Cotton R.G. et al. Loss of brainstem serotonin- and substance P-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain Res*. 1990; 510: 104–7.
- McMillan P.J., White S.S., Franklin A. et al. Differential response of the central noradrenergic nervous system to the loss of locus coeruleus neurons in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Brain Res*. 2011; 1373: 240–52.
- Phillips O.T. Management of the aging risk factor for Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*. 2014; 35: 847–57.
- Safandeev V.V., Kolacheva A.A., Ugrumov M.V. Estimation of metabolism of catecholamines in peripheral organs as an indicator of their desympathization under the influence of neurotoxins. *Doklady Akademii Nauk*. 2019; 486(1): 116–20. <https://doi.org/10.1134/S1607672919030037> (in Russian)
- Safandeev V.V. Ugrumov M.V. A New Approach to Assessing the Extent of Degradation of the Nigrostriatal Dopaminergic System in an Experimental Model of Parkinson's Disease. *Zhurnal vy'sshej nervnoj deyatel'nosti*. 2020; 50: 451–8. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00920-3> (in Russian)
- Delaville C. Deurwaerdere Ph.De, Benazzouz A. Noradrenaline and Parkinson's Disease. *Front. Syst. Neurosci*. 2011; 5: 31.
- Sellnow R.C., Newman J.H., Chambers N., et al. Regulation of dopamine neurotransmission from serotonergic neurons by ectopic expression of the dopamine D2 autoreceptor blocks levodopa-induced dyskinesia. *Acta Neuropathol. Commun*. 2019; 7(1.1): 8.
- Xie F., Gao X., Yang W. et al. Advances in the Research of Risk Factors and Prodromal Biomarkers of Parkinson's Disease. *ACS Chem. Neurosci*. 2019; 10(1.2): 973–90.

ОБ АВТОРАХ:

Сафандеев Виталий Васильевич (Safandeev Vitalij Vasilevich), кандидат биологических наук, врач-ординатор, заведующий отделом, ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Российская Федерация. E-mail: visa.doc@mail.ru

Синицкая Татьяна Алексеевна (Sinitskaya Tat'yana Alekseevna), член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора Института гигиены, токсикологии пестицидов и химической безопасности пестицидов ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Российская Федерация. E-mail: sinitskaiata@fferisman.ru