



ЭЭГ-корреляты ранней стадии болезни Паркинсона в эксперименте на мышах линии C57BL/6

И.Г. Капица, Л.Н. Неробкова, Т.А. Воронина

ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАМН, Москва

Контактная информация: Капица Инга Геннадиевна, ingakar73@mail.ru

Проведен электроэнцефалографический анализ биоэлектрической активности мозга мышей линии C57BL/6, получавших однократно подкожно 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) в малой дозе (12,5 мг/кг), приводящей к развитию ранней стадии болезни Паркинсона. Показано, что введение МФТП в дозе 12,5 мг/кг не вызывало экстрапирамидных нарушений, но приводило к изменениям в спектре мощности биоэлектрической активности черной субстанции, хвостатого ядра и сенсомоторной коры. Выявлен наиболее устойчивый признак изменений биоэлектрической активности мозга мышей на ранней стадии болезни Паркинсона – усиление спектра мощности в диапазоне бета-частот: в первые сутки наблюдения изменения были более выражены в диапазоне бета₂-частот, а в дальнейшем – охватывали диапазон бета₁-частот, и были особенно характерны для областей черной субстанции и хвостатого ядра. Наблюдаемые изменения ЭЭГ могут служить важным прогностическим признаком для ранней диагностики болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин, электроэнцефалография, бета-частоты.

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – это одно из самых распространенных хронических, прогрессирующих и инкурабельных нейродегенеративных заболеваний людей старшей возрастной группы [19, 21]. Развитие БП – медленный процесс, протекающий бессимптомно на протяжении 4-6 и более лет, до тех пор, пока потеря дофаминергических клеток в черной субстанции не достигнет 50-70% [10, 12]. Согласно современным представлениям, ключевое значение в стратегии борьбы с нейродегенеративными

заболеваниями придается диагностике болезни в ее латентной стадии, еще до появления клинических симптомов [4].

Экспериментальный паркинсонический синдром (ПС), вызванный введением 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) мышам линии C57BL/6, является наиболее часто используемой и адекватной моделью БП [2, 8, 16, 18], т.к. помимо поведенческих расстройств (олигокинезия, ригидность, тремор, а также ряд вегетативных нарушений) нейротоксин вызывает биохимические изменения, характеризую-

ющиеся селективным и необратимым снижением содержания дофамина и его метаболитов, а также истощением запасов дофамина и снижением активности тирозингидроксилазы в стриатуме, прилежащем ядре и черной субстанции [14, 20]. Применение малых доз МФТП, ещё не вызывающих экстрапирамидных нарушений [11], но приводящих к нейродегенерации дофаминергических нейронов, а также к уменьшению уровня тирозингидроксилазы в стриатуме, без существенного влияния на дофаминергические нейроны черной субстанции [7, 22], используется для моделирования ранней стадии заболевания.

В качестве метода оценки патологических нарушений при ПС предложен электроэнцефалографический анализ (ЭЭГ), как один из методов для диагностики БП и оценки эффективности антипаркинсонической терапии [1, 6]. Целесообразность применения методов ЭЭГ в диагностике БП долгое время дискутировалась из-за отсутствия отчетливых признаков, позволяющих дифференцировать БП и различные паркинсонические синдромы. Однако на сегодняшний день существует все больше доказательств, что БП связана с патологическими синхронными колебаниями в базальных ганглиях, и, в основном, в диапазоне 11-30 Гц. [17, 23].

Целью настоящей работы было выявление прогностически значимых ЭЭГ показателей для ранней диагностики проявлений экспериментального ПС.

Материалы и методы

Исследования проводили на самцах мышей линии C57BL/6 массой 28-32 г в возрасте 4-5 мес. полученных из питомника НЦБМТ ФМБА России «Стол-

бовая» (Московская область). Конвенциональные животные содержались при постоянном доступе к корму и воде – использовался полный рацион экструдированного брикетированного корма (ГОСТ на корм Р 50258-92) и питьевая вода. Животные содержались в виварии при температурном режиме 20-22°C, при световом режиме – 12/12 ч, в полипропиленовых клетках с решеткой из цинкохромовой стали, с подстилкой обеспыленной из деревянной стружки, по 10 мышей в каждой клетке (Т/3С). Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP) и Приказом Минздравоохранения РФ №708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Наркотизированным животным, согласно координатам стереотаксического атласа [9], вживляли электроды в сенсорную кору, хвостатое ядро, черную субстанцию и гиппокамп, и индифферентный электрод – в носовую кость черепа. Регистрацию биоэлектрической активности мозга проводили в условиях свободного поведения мышей в экранированной камере с использованием 21-канального аппаратно-компьютерного комплекса «Нейро-КМ» (НМФ «Статокин», Москва). Через 5-6 дней после операции проводили запись фоновой биоэлектрической активности мозга мышей, затем вводили МФТП (однократно, подкожно, в дозе 12,5 мг/кг) и записывали ЭЭГ через 10, 20, 60 и 90 мин, 24 ч, 7 и 12 дней после введения нейротоксина. Длительность каждого отрезка записи ЭЭГ составляла не менее 60 с. Компьютерный анализ электрограмм мозга животных проводили с помощью программы «Brainsys»

[5], включавший визуальный и спектральный анализ ЭЭГ и статистическую обработку полученных результатов с использованием нормализованного t-критерия Стьюдента. Оценку двигательных нарушений проводили по стандартной методике [2].

Результаты и их обсуждение

Визуальный анализ электрограмм интактных мышей (до введения МФТП) выявил дизритмичный характер фоновой биоэлектрической активности мозга с наличием быстрых и медленных волн в широком диапазоне частот (от 1,5 до 32 Гц), с амплитудой от 10 до 100 мкВ. В электрограммах дорзального гиппокампа отмечалась более регулярная активность в тета1-

диапазоне (4-7 Гц). В электрограммах сенсомоторной области коры отмечалась более низкая амплитуда биоэлектрической активности, чем в электрограммах других структур. Отмеченный характер фоновой биоэлектрической активности отражает работу мозга животных в спокойном состоянии, в норме, и соответствует общепринятым стандартам [13].

При однократном подкожном введении МФТП мышам в дозе 12,5 мг/кг развития экстрапирамидных нарушений на протяжении всего эксперимента не наблюдалось, что согласуется с данными, полученными ранее, об отсутствии моторных и вегетативных нарушений при применении малых доз нейротоксина [11].

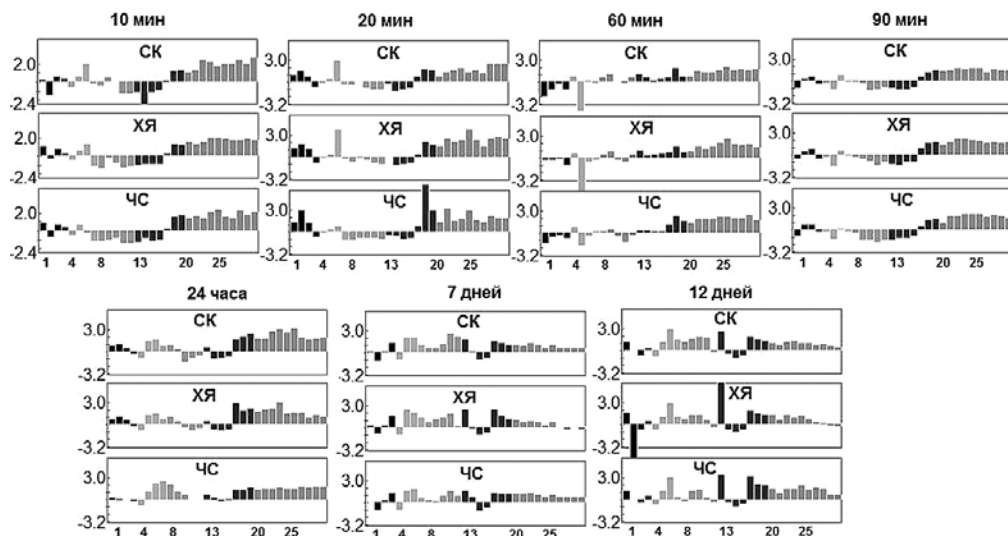


Рис. 1. Автоспектры процентной мощности одного диапазона частоты в % от всего диапазона (сравнение по критерию Стьюдента двух связанных групп ЭЭГ файлов (N1-N2). Достоверность различий при $p < 0,05$ при $t > 2,4$. По оси ординат – величина t Стьюдента со знаком (N1-N2), где N1 – запись ЭЭГ в различные промежутки после введения МФТП (10, 20, 60, 90 мин, 24 часа, 7 и 12 дней), а N2 – фоновая запись до введения МФТП.

По оси абсцисс: диапазоны частот, где области от 1-4 Гц – дельта-, 5-8 Гц – тета 1-, 9-13 Гц – тета 2-, 14-20 – бета1-, 21-30 Гц – бета2 - диапазоны.

ХЯ – хвостатое ядро, СК – сенсомоторная кора, ЧС – черная субстанция.

Однако при отсутствии моторных и вегетативных нарушений у животных выявлялись характерные динамические изменения биоэлектрической активности во всех исследуемых структурах мозга, начиная с первых минут после введения МФТП и на протяжении всего 12-дневного исследования. Наиболее значимые изменения наблюдались в тета1- и бета-диапазонах. Так, уже в первые часы после введения нейротоксина в электрограммах всех изучаемых структур отмечалось снижение тета-активности (за исключением отдельных всплесков в диапазоне 5-6 Гц). В дальнейшем (запись через 24 ч, 7 и 12 дней) наблюдалось восстановление тета-активности, и даже некоторое её превышение в диапазоне 5,5-8 Гц по сравнению с фоном (рис. 1).

Наиболее яркие и выраженные изменения частотного спектра мощности были получены при анализе бета-диапазона. Детальный анализ динамики изменения биоэлектрической активности мозга мышей C57BL/6 после однократного введения МФТП показал, что уже через 10 мин отмечалось увеличение мощности спектра в диапазоне бета1- и бета2-частот в хвостом ядре, черной субстанции и сенсомоторной коре (рис. 2). Через 60 и 90 мин увеличение мощности спектра в диапазоне бета1- и бета2-частот достигает достоверных изменений во всех исследуемых структурах. Через 24 ч после введения МФТП достоверные изменения ($t > 2,1$) в диапазоне бета1- отмечались во всех структурах и бета2-частот – в отведениях черной субстанции (рис. 2).

Изменения спектра мощности в структурах мозга мышей были отчет-

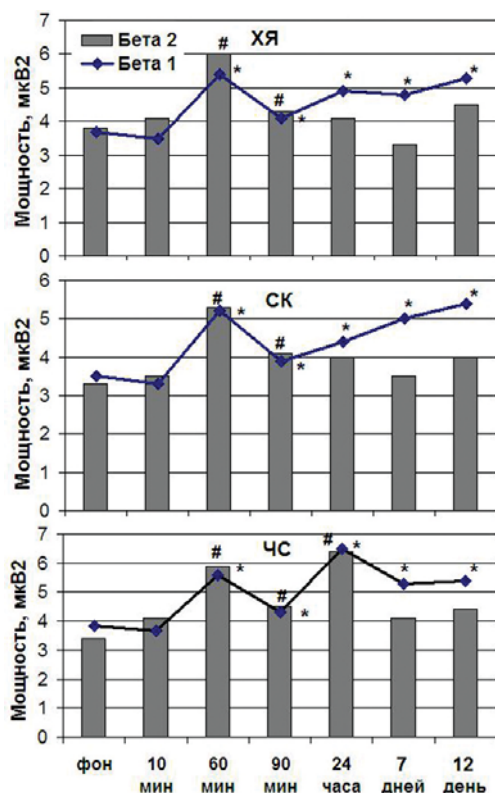


Рис. 2. Динамика изменения частотного спектра ЭЭГ мышей C57BL/6 после введения МФТП (12,5 мг/кг, п/к, однократно).

*, # – $p < 0,05$ по сравнению с фоновыми значениями для бета1 и бета2, соответственно (критерий Манна-Уитни).

ливо выражены и на 12-й день после введения МФТП (рис. 2), когда во всех структурах – хвостом ядре, черной субстанции и сенсомоторной коре отмечалось усиление спектра мощности в бета1- диапазоне ($p < 0,05$). Мощность спектра в диапазоне бета2- частот увеличивалась недостоверно.

Таким образом, через 10, 60 и 90 мин после введения нейротоксина в хвостатых ядрах и черной субстанции отмечается превалирование бета2-частот над бета1-частотами, а через 7 и 12 дней регистрируется большая мощность спек-

ра в диапазоне бета₁-частот в сравнении с бета₂-частотами во всех исследованных структурах.

Ряд патологических форм биоэлектрической активности при болезни Паркинсона был описан достаточно давно и касался, в основном, нарушения альфаритма, усиления бета-ритма, появления быстрой активности – до 100 колебаний в 1 с и выше [3]. В исследованиях на животных показано, что повреждение дофаминергических нейронов среднего мозга 6-гидроксидофамина ассоциируется со значительным увеличением мощности спектра и когерентности в бета-диапазоне биоэлектрической активности фронтальных отделов коры и субталамических ядер мозга крыс по сравнению с контрольными животными [15, 17]. Характер синхронизации между активностью в коре и субталамических ядрах на модели ПС, вызванного введением 6-гидроксидофамина, близок с тем, что наблюдается у больных БП. Частота пика когерентной активности в бета-диапазоне увеличивалась во время спонтанных и навязанных движений [17].

Исследование функциональной активности головного мозга больных БП на основе спектрально-когерентного анализа ЭЭГ показало, что на начальных стадиях заболевания биоэлектрическая активность мозга сохраняется в пределах возрастной нормы, однако появляется характерная пачкообразная бета-активность, с источником её генерации в срединных структурах головного мозга [1, 6]. Исследования, проведенные на обезьянах, получавших 1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), и на пациентах с БП, предполагают, что одним из последствий потери дофаминергических нейронов в базальных ганглиях являет-

ся возрастание синхронизации осцилляторной активности в субталамических ядрах и бледном шаре, и запись локальных потенциалов субталамических ядер у пациентов с БП продемонстрировала выраженную активность в бета-диапазоне 15-30 Гц [23].

Таким образом, раннее, до появления моторной и вегетативной симптоматики, выявление изменений биоэлектрической активности мозга в бета-диапазоне позволяет предполагать возможность использования ЭЭГ в качестве адекватного прогностического метода на самых ранних стадиях развития болезни Паркинсона.

Выводы

Нейротоксин МФТП в дозе 12,5 мг/кг (подкожно, однократно) не вызывает экстрапирамидных нарушений у мышей C57BL/6 в течение 12 дней наблюдения, но вызывает изменения в спектре мощности биоэлектрической активности черной субстанции, хвостатого ядра и сенсомоторной коры.

Усиление спектра мощности биоэлектрической активности в диапазоне бета-частот является наиболее устойчивым признаком изменений в черной субстанции, хвостатом ядре и сенсомоторной коре после введения МФТП.

Непосредственно после введения МФТП (в течение часа) наиболее значительно увеличивается мощность спектра в диапазоне бета₂-частот, а на 7-й и особенно 12-й дни значительно увеличивается мощность спектра в диапазоне бета₁-частот в черной субстанции и хвостатом ядре.

Характер изменений биоэлектрической активности мозга отражает его функциональную перестройку при фор-

мировании экстрапирамидных нарушений, а выявленные изменения ЭЭГ в диапазоне быстрых бета-частот являются одним из прогностических признаков для ранней диагностики ПС в эксперименте.

Список литературы

1. **Аракелян Р.К., Неробкова Л.Н., Катунина Е.А., Вальдман Е.А., Капица И.Г., Воронина Т.А., Авакян Г.Н.** Особенности функциональной активности головного мозга у больных болезнью Паркинсона на фоне лечения амантадин-сульфатом // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2005. № 4. С. 17-21.
2. **Воронина Т.А., Неробкова Л.Н.** Методические указания по изучению антипаркинсонической активности фармакологических веществ // В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Ремедиум. 2005. С. 295-307.
3. **Жирмунская Е.А., Попелянский Я.Ю.** Электрическая активность мозга при различных формах паркинсонизма // Журнал неврологии и психиатрии. 1954. т. 54. № 3. С. 254-259.
4. **Иллариошкин С.Н.** Ранняя диагностика нейродегенеративных заболеваний // Нервы. 2008. №1. С. 11-13.
5. **Митрофанов А.А.** Компьютерная система анализа и топографического картирования электрической активности мозга с нейрометрическим банком ЭЭГ данных «BrainSys». М.: СТТК 0.020.001.ПС. 2007. 72 с.
6. **Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Катунина Е.А., Аракелян Р.К., Вальдман Е.А., Авакян Г.Н.** Особенности эффектов амантадина на пространственную организацию биопотенциалов мозга больных паркинсонизмом // Психофармакология и биологическая наркология. 2002. Т. 2. № 3-4. 429 с.
7. **Calabresi P., Centonze D., Bernardi G.** Electrophysiology of dopamine in normal and denervated striatal neurons // Trends Neurosci. 2000. v. 10. P. 57-63.
8. **Dauer W. Przedborski S.** Parkinson's disease: mechanisms and models // Neuron. 2003. № 39. P. 889-909.
9. **Franklin K.B.J., Paxinos G.** The mouse brain in stereotaxic coordinates. - 2nd edition. New York: Elsevier Science & Technology Books. 1997. 120 p.
10. **Galvan A., Wichmann T.** Pathophysiology of Parkinsonism // Clin. Neurophysiol. 2008. v. 119. № 7. P. 1459-1474.
11. **Georgiev V., Kambourova T.** Behavioural effects of angiotensin II in the mouse following MPTP administration // Gen. Pharmacol. 1991. v. 22. № 4. P. 625-630.
12. **Hornykiewicz O.** Chemical neuroanatomy of the basal ganglia-normal and in Parkinson's disease // Journal of Chemical Neuroanatomy. 2001. v. 22. № 1-2. P. 3-12.
13. **Jurkowlanec E., Trojnar W., Tokarski J.** Daily pattern of EEG activity in rats with lateral hypothalamic lesions // Journal of physiology and pharmacology. 1994. v. 45. № 3. P. 399-411.
14. **Langston J.W., Forno L.S., Tetrud J., Reeves A.G., Kaplan J.A., Karluk D.** Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure. Ann. Neurol. 1999. v. 46. № 4. P. 598-605.
15. **Lehmkuhle M.J., Bhangoo S.S., Kipke D.R.** The electrocorticogram signal can

- be modulated with deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in the hemiparkinsonian rat // *J. Neurophysiol.* 2009. v. 102. № 3. P. 1811-1820.
16. **Luchtman D.W., Shao Di., Song Cai.** Behavior, neurotransmitters and inflammation in three regimens of the MPTP mouse model of Parkinson's disease // *Physiology & Behavior.* 2009. № 98. P. 130-138.
17. **McCarthy M.M., Moore-Kochlacs Gu.X., Boyden E.S., Han X., Kopell N.** Striatal origin of the pathologic beta oscillations in Parkinson's disease // *PNAS.* 2011. v. 108. № 28. P. 11620-11625.
18. **Meredith G.E., Rademacher D.J.** MPTP mouse models of Parkinson's Disease: an update // *Journal of Parkinson's Disease.* 2011. № 1. P. 19-33.
19. **Pahwa R., Lyons K.E.** Handbook of Parkinson's disease. - New York: Informa Healthcare USA. Inc. 2007. 501 p.
20. **Perez V., Unzeta M.** PF 9601N [N-(2-propynyl)-2-(5-benzyloxy-indolyl) methylamine], a new MAO-B inhibitor, attenuates MPTP-induced depletion of striatal dopamine levels in C57/BL6 mice // *Neurochem. Int.*, 2003. v. 42. № 3. P. 221-229.
21. **Plowman E.K., Tomas N.J., Kleim J.A.** Striatal dopamine depletion induces forelimb motor impairments and disrupts forelimb movements representations within the motor cortex // *Journal of Parkinson's Disease.* 2011. № 1. P. 93-100.
22. **Sriram K., Matheson J.M., Benkovic S.A., Miller D.B., Luster M.I., O'Callaghan J.P.** Deficiency of TNF receptors suppresses microglial activation and alters the susceptibility of brain regions to MPTP-induced neurotoxicity: role of TNF // *The FASEB Journal.* 2006. v. 20. P. 670-682.
23. **Weinberger M., Mahant N., Hutchison W.D., Lozano A.M., Moro E., Hodaie M., Lang A.E., Dostrovsky J.O.** Beta oscillatory activity in the subthalamic nucleus and its relation to dopaminergic response in Parkinson's disease // *J. Neurophysiol.* 2006. v. 96. № 6. P. 3248-3256.

EEG correlates of an early stage of a Parkinson illness in experiment on mice of the strain C57BL/6

I.G. Kapitsa, L.N. Nerobkova, T.A. Voronina

We tested electroencephalographic characteristics of cerebral electrobiological activity in C57BL/6 mice, which received a small dose (12,5 mg/kg) of subcutaneous 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; this induced early Parkinson illness. We showed that MPTP injection at the dose of 12,5 mg/kg did not cause extrapyramidal impairments but led to changes in the power spectrum of electrobiological activity in substantia nigra, caudate nucleus and sensorimotor cortex. We demonstrated that the most consistent feature of changes in cerebral electrobiological activity in mice with early Parkinson illness is power spectrum amplification in the range of beta frequencies. In the first twenty-four hours changes were the greatest in beta 2 band; subsequently beta 1 band became involved, the changes being particularly typical of substantia nigra and caudate nucleus. Observable EEG changes can serve as an important prognostic indicator for early diagnosis of Parkinson illness.

Key words: Parkinson's disease, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, encephalography, beta frequency.