

ОБЗОРЫ,
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 616.858:616.8-009.836+539.2

ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК ПАРАДОКСАЛЬНОГО СНА – РАННИЙ ПРИЗНАК БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

© 2013 г. Ю. Ф. Пастухов

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург,
e-mail: pastukh36@mail.ru*

Поступила в редакцию 23.04.2012 г.

Принята в печать 19.10.2012 г.

Приведены данные о нарушениях сна у пациентов с болезнью Паркинсона. Основное внимание уделено анализу синдрома парадоксального сна без мышечной атонии. Сообщается о создании моделей доклинической и клинической стадий болезни Паркинсона у крыс Вистар на основе умеренного и глубокого ослабления активности убиквитин-протеасомной системы – ключевого механизма старения и развития конформационных болезней. Обосновывается гипотеза об изменениях характеристик парадоксального сна как маркере стадий паркинсонизма, отражающем состояние компенсаторных и нейропротективных резервов нигростриатной системы.

Ключевые слова: парадоксальный сон, доклиническая стадия болезни Паркинсона, убиквитин-протеасомная система, белок теплового шока 70 кДа.

Changes in the Characteristics of Paradoxical Sleep are an Early Feature of Parkinson's Disease

Yuri F. Pastukhov

*Institute of Evolutional Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg,
e-mail: pastukh36@mail.ru*

Data on the sleep disorders in patients with Parkinson's disease are given. The basic point focuses on analysis of paradoxical sleep without muscle atonia. The author reports developed models of preclinical and clinical stages of Parkinson's disease in Wistar rats on the basis of a moderate and deep attenuation in activity of ubiquitin-proteasome system, a key mechanism of aging and development of conformation disease. The hypothesis about changes in the characteristics of paradoxical sleep as a marker of parkinsonism stages is validated. It reflects the state of compensator and neuroprotective reserves of nigrostriatal dopaminergic system.

Keywords: paradoxical sleep, preclinical stage of Parkinson's disease, ubiquitin-proteasome system, Heat Shock Protein 70 kDa.

DOI: 10.7868/S0044467713010103

Болезнь Паркинсона (БП) — социально значимое конформационное, или нейродегенеративное заболевание, им страдают, по данным ООН, около 6 млн. человек. Считается, что основная причина “неизлечимости” БП — поздняя постановка диагноза — через 10–20 лет от начала болезни, когда погибают более половины дофаминергических (ДАергических) нейронов черной субстанции и их

аксонов в стриатуме и проявляются моторные симптомы. Важнейшей задачей является определение надежного комплекса ранних немоторных маркеров, достаточных для выделения группы “риска” и разработки превентивного лечения [4, 16, 17, 60 и др.]. В последние 15–20 лет все больше внимания уделяется нарушениям сна у пациентов с БП, особенно таким, которые предшествуют раз-

витию паркинсонизма [1, 3, 23, 38, 51, 53]. Чаще других в качестве раннего маркера рассматривается парасомния “rapid eye movement (REM) sleep behavior disorder” (RBD), или парадоксальный сон (ПС) без мышечной атонии; однако постепенно накапливаются данные, ограничивающие действие гипотезы.

Сложность обоснования адекватной стратегии превентивного лечения обусловлена также тем, что этиология БП остается неизвестной. Преобладающей формой БП является вторичный паркинсонизм, возникающий в результате воздействия самых различных факторов окружающей среды и, возможно, более часто — под влиянием нейротоксинов (например, при работе с пестицидами). В последние годы ведущее значение в патогенезе БП придается снижению активности шаперонной и убиквитин-протеасомной систем, которое приводит к накоплению в клетках токсичных агрегатов везикулярного белка альфа-синуклеина и дегенерации клеток, в том числе DAергических нейронов черной субстанции [14, 28, 34, 44, 61]. Накопление в клетках аномальных белков рассматривается как ключевой механизм старения и развития нейродегенеративных заболеваний (Альцгеймера, БП, Гентингтона и др.). Для ускорения поиска ранних маркеров впервые созданы модели паркинсонизма у крыс Вистар на основе умеренного и глубокого снижения функции протеасом черной субстанции. Полученные данные позволяют высказать гипотезу об изменении характеристик ПС как маркере разных стадий паркинсонизма, отражающем состояние компенсаторных и нейропротективных резервов nigростриатной системы [10, 15].

1. НАРУШЕНИЯ СНА В КЛИНИЧЕСКИХ СТАДИЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

В клинических стадиях наиболее разрушительными следствиями БП для пациентов являются депрессии, тревожные состояния, деменция и психозы. Полноценный ночной сон мог бы служить “наградой” за мучения и уменьшать нарушения, связанные с “качеством жизни”. К сожалению, до 80–90% пациентов с БП имеют самые различные расстройства сна: более частые пробуждения, приводящие к фрагментации сна и изменениям его структуры, синдром беспокойных ног, синдромы инсомнии и гиперсомнии, или повышенной дневной сонливости, синдром RBD (ПС без мышечной атонии) [1, 2,

7, 27, 41, 51 и др.]. Классические моторные симптомы (тремор покоя, дискинезии, напряженность и скованность мышц, повышение мышечного тонуса или интенсивной фазической активности в эпизодах ПС без атонии) являются факторами инсомнии, фрагментации сна и, видимо, синдрома повышенной дневной сонливости. Синдром инсомнии и другие ночные нарушения сна характерны для 60–98% пациентов с БП. Синдром беспокойных ног встречается у 20–25% пациентов с БП, что чаще, чем у здоровых людей.

Частота синдрома повышенной дневной сонливости у пациентов с БП колеблется от 15.5% [56] до 50% [49, 54] и до 84.5% [7]. В последней работе отмечено, что этот синдром может сопровождаться когнитивными нарушениями, галлюцинациями, увеличением времени пробуждений и фрагментацией сна, снижением его эффективности, а также парасомнией RBD (у 80% пациентов). Противоречия в полученных данных касаются не только распространенности повышенной дневной сонливости, но и его обусловленности различными факторами. Ряд авторов полагают, что синдром зависит от возраста, стадии болезни, скорости ее развития, наличия когнитивных отклонений [49, 56 и др.], в других работах влияние этих факторов отрицается [54 и др.].

Повышенная дневная сонливость — сложный феномен, который может проявляться или в виде длительного и непрерывного состояния дремоты, или в виде внезапных “сонных атак”, напоминающих нарколепсию. Эти атаки особенно опасны и могут привести к травматизму, когда человек управляет транспортным средством или работает оператором. Кроме того, повышенная дневная сонливость может сочетаться с синдромом обструктивного сонного апноэ, нарколепсией и нейродегенеративными заболеваниями, включая БП [38]. Пока не ясно, может ли синдром быть предвестником развития БП. В одной из работ с этой целью в течение 7 лет проведена трехразовая неврологическая оценка большого коллектива (3078 человек). Повышенная дневная сонливость была выявлена у 244 человек, а развитие БП отмечено у 34 субъектов из них. Высказано предположение, что при развитии повышенной дневной сонливости риск появления БП возрастает в 2–3 раза [20]. К сожалению, в эту группу были включены только пожилые мужчины (старше 70 лет). Необходимы дальнейшие наблюдения.

В настоящее время сложилось представление, что только парасомния RBD у части пациентов может рассматриваться в качестве возможного раннего признака паркинсонизма.

2. ГИПОТЕЗА ОБ RBD КАК РАННЕМ МАРКЕРЕ ПАРКИНСОНИЗМА, АРГУМЕНТЫ “ЗА”

Общепринятый теперь термин RBD (ПС без мышечной атонии) впервые был предложен в 1986 г. [52]. Клиническая картина RBD — это демонстрация двигательного и эмоционального компонентов сновидений. Драматическое, часто буйное и искаженное поведение, ассоциированное с кошмарными сновидениями и включающее сноговорение, смех, крики, резкие удары руками и ногами, падение с кровати обычно приводится в жалобах-отчетах пациентов с заболеванием RBD. В течение ряда лет сновидения становятся более яркими, более насыщенными интенсивными движениями. Поведение пациентов во время сна напоминает езду в машине по ухабистой дороге, а их агрессия при сновидениях, размахивания руками, удары ногами, драки с преследователями часто приводят к синякам и повреждениям у партнеров по постели [48]. Картина нарушений поведения в эпизодах ПС очень яркая, но более надежно RBD определяется при полисомнографическом обследовании.

Выделяют “идиопатический” RBD (iRBD), являющийся самостоятельным заболеванием и составляющий около 60% всех случаев парасомнии RBD, и “вторичный”, или “симптоматический”, сочетающийся с другим неврологическим заболеванием, например с нарколепсией или БП [24, 42]. У пациентов с iRBD отсутствуют жалобы на моторные и когнитивные симптомы, они имеют нормальную неврологическую оценку и нормальные показатели при использовании методов нейровизуализации. Однако у части пациентов обнаруживаются ухудшение обоняния и цветного зрения, когнитивный дефицит, нарушение функции сердца, пониженный уровень моноаминового транспортера в стриатуме и другие симптомы, которые рассматриваются как субклинические отклонения [39, 51, 55]. Замечено, что с течением времени у части пациентов с iRBD могут развиваться БП или деменция с тельцами Леви [33, 38]. Накопление числа субклинических отклонений и случаев, когда симп-

томы RBD предшествовали симптомам БП и других болезней, привели к гипотезе об RBD как раннем маркере паркинсонизма.

Первые данные о том, что RBD может претендовать на роль раннего маркера БП, были получены в 1996 г. В группе из 29 мужчин в возрасте от 50 лет и старше с синдромом iRBD в среднем через 3.7 лет после первого наблюдения почти у 40% пациентов обнаружено развитие паркинсонизма [53]. При дальнейшем обследовании (через 7 лет) число пациентов, у которых возникли симптомы паркинсонизма, возросло до 65% от исходного состава той же группы. В группе из 23 человек с iRBD у 57% через 11 лет было подтверждено развитие признаков БП [23]. В другом коллективе симптомы iRBD предшествовали развитию паркинсонизма или деменции у 67% членов группы [24]. У 44 пациентов с парасомнией iRBD, среди которых преобладали пожилые мужчины (89%, средний возраст составлял 74 года), у 20 из них (у 45%) через 11.5 лет после появления первых признаков iRBD определены симптомы БП или других неврологических расстройств [39]. Проведенные в Канаде тщательные наблюдения больших коллективов пациентов с iRBD, дополненные компьютерным моделированием, показали, что риск развития БП с течением времени после диагностирования iRBD возрастает, составляя около 18% через 5 лет, 40–41% через 10 лет и 52–53% через 12 лет [51]. Приведенные данные поддерживают гипотезу об RBD как раннем маркере БП у части пациентов: от 15–20 до 50% пациентов с iRBD, особенно мужчины более пожилого возраста, подвержены риску развития паркинсонизма [3, 24, 38, 51].

Вместе с тем было замечено, что поведение, близкое по клинической картине к iRBD, может наблюдаться при обструктивном апноэ во время сна, при снохождении и кошмарах у взрослых, при посттравматических заболеваниях, у пациентов с нарколепсией, при отмене алкоголя и синдроме наркотической абстиненции, при использовании различных антидепрессантов [39, 58]. Вопрос о специфичности RBD как раннего маркера БП требует отдельного рассмотрения.

3. О СПЕЦИФИЧНОСТИ iRBD КАК РАННЕГО МАРКЕРА ПАРКИНСОНИЗМА

Сообщения последних 10–15 лет привели к пониманию того, что iRBD является компа-

ньоном не только БП, но и всех синуклеопатий: БП, болезни с тельцами Леви, БП с деменцией, деменции с тельцами Леви, мульти-системной атрофии и других [55, 58]. Частота проявления RBD у пациентов с БП колеблется от 15 до 59% в зависимости от использованных методов диагностики. Пациенты с БП и RBD, как правило, пожилые люди, в основном мужчины, страдают повышенной дневной сонливостью, обычно имеют диагноз ортостатической гипотензии; ригидно-дрожательная форма БП у таких пациентов наблюдается реже, чем у пациентов без RBD; когнитивные нарушения встречаются в 6.5 раз чаще у пациентов с БП и RBD, чем при БП без RBD [51]. Сочетание деменции с тельцами Леви с предшествующим диагнозом iRBD является наиболее частой формой деменции: клинические симптомы при такой форме обнаруживаются у 60–90% больных [23]. Мульти-системная атрофия – нейродегенеративное заболевание, видимо, наиболее тесно связанное с синдромом iRBD, но в отличие от всех форм RBD и сочетаний RBD с БП или с деменцией с тельцами Леви преобладание мужчин среди пациентов для этой двойной патологии не характерно [48]. Клинические симптомы iRBD при этом заболевании идентифицируются у 70–100% пациентов, а полисомнографические признаки – у 90–100% пациентов [23, 62]. Парасомния iRBD может на несколько лет или более предшествовать появлению моторных и когнитивных признаков при этих синуклеопатиях. Клинические наблюдения, начатые в январе 1990 г. и закончившиеся в декабре 2006 г., показали, что БП и другие синуклеопатии развиваются в среднем у 97% пациентов с предварительным диагнозом iRBD [24]. В обзоре [39] сопоставлены суммарные данные о частоте развития трех синуклеопатий, ассоциированных с iRBD: БП (46–58%), деменции с тельцами Леви (50–80%) и мульти-системной атрофии (90–100%). RBD редко наблюдается при тау-патиях и других нейродегенеративных заболеваниях [24, 55]. Предполагается, что RBD сочетается с прогрессирующим супрануклеарным параличом, при котором симптомы паркинсонизма связаны скорее с тау-патологией, а не синуклеином. У пожилых людей при очаговых поражениях в результате ишемического инсульта, которые распространяются на структуры в стволе мозга, участвующие в контроле ПС, также могут наблюдаться RBD [39].

Таким образом, iRBD сочетается с широким спектром нейродегенеративных заболеваний, но наиболее часто с тремя синуклеопатиями – мульти-системной атрофией, деменцией с тельцами Леви и БП. Они имеют общую природу, связанную с альфа-синуклеиновыми отложениями, которые обнаруживаются и при аутопсии у пациентов с iRBD. Продолжительность периода от появления синдрома iRBD до развития признаков паркинсонизма или деменции в большинстве работ составляет от 4 до 12 лет, что предоставляет возможность терапевтического вмешательства для приостановки или предотвращения развития моторных и когнитивных симптомов [24]. Однако следует учитывать относительную специфичность iRBD как раннего маркера БП в сравнении с деменцией с тельцами Леви и мульти-системной атрофией.

В литературе имеются другие сведения, ограничивающие действие гипотезы об iRBD как раннем маркере БП: 1) наличие RBD у пациентов с БП не связано с тяжестью заболевания, использованием ДАергических лекарств или наступлением деменции [29, 63]; 2) симптомы iRBD могут не только предшествовать клиническим стадиям БП, но и возникать одновременно или позднее [48]; 3) iRBD ассоциировано с повышенным риском возникновения галлюцинаций и встречается в 3 раза чаще у пациентов с БП, у которых возникают галлюцинации [50].

4. ДИСФУНКЦИЯ НЕРВНЫХ СЕТЕЙ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА iRBD

Выраженная ассоциация клинических симптомов паркинсонизма и iRBD позволяет предположить, что существует нейро-анатомическая взаимосвязь между этими заболеваниями. Наиболее частая встречаемость RBD при синуклеопатиях указывает на избирательную уязвимость нейронных структур ствола мозга.

Классические представления о вовлечении структур ствола мозга в патофизиологию iRBD у человека базируются преимущественно на изучении их у кошек и крыс [23, 42]. Предполагается, что структуры и нервные сети у человека, связанные с ПС, соответствуют моделям у животных. Около 10 лет назад было идентифицировано сублатеродорзальное ядро (*sublaterodorsal nucleus*) у крыс, которое является аналогом области под голубым пятном (*subcoeruleus*) или вентральное голубого

пятна (*peri-locus coeruleus*) у кошек и структурой, ответственной за ПС [25]. Глутаматергические нейроны сублатеродорзального ядра или аналогичного ядра у кошек имеют проекции к глицин/ГАМКергическим интернейронам вентральных рогов спинного мозга; последние угнетают моторные нейроны, продуцирующие мышечную атонию во время ПС. Доказательства ключевой роли нейронов сублатеродорзального ядра в инициации ПС, формировании iRBD или ассоциации его с синуклеопатиями представляются достаточно убедительными. Электролитические и нейрхимические повреждения этого ядра устраняют атонию тонических мышц и повышают активность фазических мышц, что проявляется в виде подергиваний конечностей и двигательной демонстрации страха, оборонительного поведения или агрессии. Высказана гипотеза, что это обусловлено поражением только одной из субпопуляций запускающих ПС глутаматергических нейронов сублатеродорзального ядра, которая отвечает за индукцию мышечной атонии через нисходящие проекции к премоторным ГАМК/глицинергическим нейронам вентрального ретикулярно-гигантоклеточного ядра [42].

Согласно современной классификации БП [26] выделяются 6 стадий нейродегенеративного процесса, в основе которых лежит образование в структурах мозга внутриклеточных включений белка альфа-синуклеина в виде телец и нейритов Леви: 3 доклинические, или премоторные, и 3 клинические. На стадии 1 патология Леви развивается в продолговатом мозге и покрывке Варолиевого моста, а также в обонятельном луковиче и переднем обонятельном ядре. На стадии 2 поражаются гигантоклеточное ядро ретикулярной формации продолговатого мозга, области вентральнее голубого пятна и сублатеродорзальное ядро. Критическим условием проявления синдрома iRBD является достаточная дегенерация сублатеродорзального ядра. Для стадии 3 характерна дегенерация ядер ножек моста, черной субстанции и базальных ядер Мейнерта. Паркинсонизм и типичные для него моторные симптомы выявляются при достаточной дегенерации черной субстанции, а когнитивные нарушения — при дегенерации ядер Мейнерта. На стадиях 4–6 поражения охватывают структуры лимбической системы и новой коры. Именно такая последовательность распространения в мозге альфа-синуклеиновой патологии может быть ис-

пользована для объяснения, почему iRBD предшествует паркинсонизму, когнитивным нарушениям (конец стадии 3 и стадия 4) и деменции (стадии 4–6) у многих пациентов с синуклеопатиями [3, 14, 23, 24, 26].

5. ОБ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ПАРКИНСОНИЗМА У ЖИВОТНЫХ

Ряд фактов, изложенных в разделе 3, ослабляют гипотезу об iRBD как раннем немоторном маркере БП и ограничивают его применение при диагностике доклинических стадий. Решающим аргументом для постановки диагноза БП по-прежнему остается выявление симптомов моторной триады (“визитной карточки” БП) — тремора покоя, ригидности и/или брадикинезии. Признается необходимость дальнейшего поиска ранних маркеров БП, в том числе полисомнографических, доступных для широкого применения в клинических условиях. Ускорения поиска таких маркеров можно достичь при создании моделей доклинической стадии у животных. К сожалению, в большинстве моделей воспроизводятся симптомы “неизличимой” клинической стадии БП с глубокой дегенерацией нигростриатной системы. Адекватные модели доклинической стадии паркинсонизма созданы на мышах линии C57BL/6 на основе пролонгированного действия специфического токсина DAергических нейронов 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) [16–19, 60]. Детально изучены характеристики компенсаторных процессов в нигростриатной DAергической системе, разработаны методы диагностики доклинической стадии на основе химической провокации моторных симптомов, получен ряд других важных фактов. Однако изменения цикла сон–бодрствование в этих работах не исследовались.

В последние годы ведущее значение в патогенезе БП придается снижению активности шаперонной и убиквитин-протеасомной систем, контролирующих turnover белков. Ослабление работы протеасомной системы, ответственной за утилизацию 90% белков, в первую очередь “больных” белков, приводит к накоплению в клетках токсичных белковых агрегатов [14, 28, 34, 61]. Этот механизм вовлечен в действие известных нейротоксинов (6-гидроксидофамина, МФТП, ротенона, параквата, манеба), используемых для созда-

ния моделей БП у животных [22, 44]. К сожалению, разработка моделей доклинической стадии БП на основе дисфункции протеасомной системы не проводилась. Лишь в единичных работах [21, 34, 44, 47] изучены некоторые показатели модели клинической стадии, не поддающейся излечению. В последнем обзоре, описывающем модели БП у животных [57], модели на основе угнетения протеасомной активности не представлены.

Впервые модель доклинической стадии паркинсонизма на основе дисфункции протеасом разработана у крыс Вистар при применении специфического ингибитора ферментативной активности протеасом лактацистина [12, 15]. Лактацистин синтезируется почвенными микроорганизмами (*Streptomyces lactacystinaeus* и др.) и рассматривается как природный нейротоксин; предполагается, что в течение многих лет он может поступать с пищей и водой и накапливаться в организме человека [45]. Микроинъекции лактацистина и контрольного раствора (фосфатный буфер, рН 7.4) выполнялись билатерально в компактную часть черной субстанции через заранее имплантированные проводящие канюли. Угнетение протеасомной активности пролонгировали до 14–21 дня путем повторных микроинъекций лактацистина в черную субстанцию с недельным интервалом для исключения эффектов острой интоксикации.

Выбор черной субстанции в качестве основной мишени при создании модели паркинсонизма не случаен. Во-первых, нигростриатная ДАергическая система, включающая нейроны черной субстанции и их терминали в стриатуме, является ключевым звеном центральной регуляции моторного поведения и его нарушений при БП [1, 2, 17, 26]. Во-вторых, черная субстанция отличается от других структур мозга высокой уязвимостью нейронов при старении и действии нейротоксинов, что обусловлено исходно низкой активностью в ней ферментов протеасом [64]. В-третьих, подобное отличие черной субстанции от других структур мозга подтверждено при изучении секционного материала, полученного *postmortem* у пациентов с БП. Установлено более выраженное снижение в черной субстанции основных ферментов протеасом (в среднем на 50%), альфа-субъединиц протеасом, ответственных за их сборку и функционирование (на 40%), и экспрессии протеасомных активаторов RA700 и RA28 (в среднем на 33%) [35, 43, 44].

6. МОДЕЛЬ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ ПАРКИНСОНИЗМА У КРЫС НА ОСНОВЕ УМЕРЕННОЙ ПРОТЕАСОМНОЙ ДИСФУНКЦИИ; ПС КАК ВОЗМОЖНЫЙ РАННИЙ МАРКЕР

При умеренном снижении протеасомной активности у крыс не обнаружено каких-либо изменений в уровне двигательной, исследовательской и эмоциональной активности в тестах “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт”, а также тонких моторных дисфункций, оцениваемых по наиболее чувствительным тестам — “перевернутая решетка”, “перекладина”, “суок”, “длина шага” и тонкая моторика передних конечностей, рта и языка. При умеренном угнетении функции протеасом отмечаются потеря менее трети ДАергических нейронов компактной части черной субстанции и изменения архитектуры сна — увеличение общего времени ПС на 40% во время неактивной фазы суток [15]. Это увеличение обусловлено возрастанием средней длительности его эпизодов, что указывает на активацию механизмов поддержания ПС; число эпизодов не изменяется. Анализ спектральных характеристик ЭЭГ свидетельствует о повышении пропорции поверхностного ПС. Следовательно, разработана модель доклинической стадии паркинсонизма у крыс на основе пролонгированной дисфункции протеасомной системы, которая не сопровождается дегенерацией большого числа ДАергических нейронов черной субстанции и нарушениями моторного поведения, но приводит к изменениям временных характеристик ПС как показателя немоторного поведения.

В этой же модели выявлено увеличение уровня ключевого фермента синтеза ДА тирозингидроксилазы в нейронах компактной части черной субстанции на 10% и отсутствие изменений в уровне этого фермента в волокнах дорзальной части стриатума [15]. Методом иммуноблоттинга обнаружены сходные изменения тирозингидроксилазы в ткани черной субстанции и стриатума. Наиболее вероятным объяснением повышенного уровня тирозингидроксилазы в черной субстанции может быть активация механизмов мозга, направленных на компенсацию функциональной недостаточности нигростриатной системы. Следовательно, увеличение продолжительности ПС в условиях умеренного угнетения протеасомной функции согласу-

ется с умеренным повышением уровня тирозингидроксилазы в черной субстанции.

Какова реакция шаперонной системы, обладающей нейропротективными свойствами, на угнетение функции протеасомной системы? Ранее установлено, что шапероны семейства Heat Shock Protein 70 kDa (HSP70), в том числе главный шаперон – индуцибельный Hsp70i оказывают защитное действие в моделях стресса, тревожных состояний, нарушений сна, лихорадки, эпилепсии, различных заболеваний [6, 9, 32]; более полно эти данные представлены в обзорах [8, 13, 59]. Показано, что при недостатке шаперонов протеасомная функция нарушается, а при повышении их содержания – восстанавливается [31, 37 и др.].

При изучении взаимоотношений между этими системами в модели доклинической стадии БП у крыс получены следующие данные. С помощью конфокальной микроскопии и методов двойного иммунофлуоресцентного мечения с использованием специфических антител к тирозингидроксилазе и Hsp70i выяснено, что в контрольной популяции около четверти DAергических нейронов компактной части черной субстанции не содержат Hsp70i и примерно такое же число нейронов погибает при умеренном ослаблении протеасомной функции, типичном для модели премоторной стадии [10]. Такое совпадение может быть обусловлено пониженной устойчивостью к нейротоксину нейронов, которые не содержат шаперон. Из тех 77% нейронов, которые содержали Hsp70i в контроле, 15% нейронов под влиянием лактацистина теряют его (что может ослабить их устойчивость к нейротоксину при дальнейшем пролонгировании протеасомной дисфункции). Однако в большинстве DAергических нейронов (в 62% из числа выживших) содержание Hsp70i возрастает в 1.5 раза (что может предохранить их от дегенерации). Увеличение содержания Hsp70i в ткани черной субстанции подтверждено методом иммуноблотинга. Вполне возможно, что повышенной устойчивостью к протеасомной дисфункции обладают те нейроны, которые отличаются повышенным содержанием Hsp70i, обладающего защитными свойствами. Эти данные свидетельствуют о мобилизации нейропротективных резервов главного шаперона Hsp70i в модели умеренной протеасомной дисфункции нигростриатной системы [10]. Увеличение содержания Hsp70i в нейронах черной субстанции может

быть естественным ответом на накопление токсичных для клетки агрегаций белков с открытыми гидрофобными сайтами, которые служат сигналом к усилению экспрессии шаперонов. Молекулярный механизм действия Hsp70i направлен на восстановление активности протеасомной системы и сохранение целостности популяции DAергических нейронов. Совокупность полученных данных позволила высказать гипотезу: увеличение ПС является ранним немоторным маркером повышенного уровня доступных для мобилизации компенсаторных и нейропротективных резервов DAергической нигростриатной системы в доклинической стадии, когда еще не проявляются нарушения моторного поведения.

7. ИЗМЕНЕНИЯ ПС В МОДЕЛЯХ ПАРКИНСОНИЗМА У ЖИВОТНЫХ И В КЛИНИЧЕСКИХ СТАДИЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У ЧЕЛОВЕКА

Для проверки этой гипотезы начато изучение тех же показателей в модели глубокого угнетения протеасомной активности. Показано, что глубокое снижение протеасомной функции характеризуется [11]: 1) потерей около половины или более числа DAергических нейронов черной субстанции и их терминалей в стриатуме; 2) появлением первых признаков моторной дисфункции; 3) увеличением представленности поверхностного медленного сна и ПС; 4) кратковременным повышением уровня тирозингидроксилазы вследствие уменьшения ее аксонного транспорта; 5) не увеличением, а падением содержания шаперона Hsp70i в нейронах компактной части черной субстанции. Сравнение данных показывает, что модель умеренного снижения протеасомной функции в нигростриатной DAергической системе воспроизводит признаки доклинической, а модель глубокого снижения – клинической стадии БП. Можно полагать, что увеличение представленности поверхностного медленного сна и ПС в модели клинической стадии, сочетающееся с появлением первых симптомов моторной дисфункции и снижением уровня Hsp70i, может быть признаком ускорения процесса дегенерации DAергических нейронов и крайнего напряжения компенсаторных и нейропротективных механизмов.

Это предположение находит подтверждение при пролонгировании протеасомной

дисфункции (при продлении действия лактацистина на 7 дней): в течение такого короткого срока повышение уровня тирозингидроксилазы переходит в снижение, а падение уровня шаперона Hsp70i усиливается [11]. Выявленная в модели пролонгирования клинической стадии тенденция к уменьшению времени ПС отражает, по-видимому, истощение компенсаторных и защитных резервов nigростриатной ДАергической системы и необратимость процесса ее деградации. Сопоставление данных, полученных при изучении различных экспериментальных моделей [10, 11, 15], позволяет высказать гипотезу об изменениях временных и спектральных характеристик ПС как маркере, отражающем состояние компенсаторных и нейропротективных резервов nigростриатной системы на разных этапах развития БП.

К сожалению, данные о влиянии лактацистина на показатели сна и бодрствования в литературе отсутствуют. Увеличение ПС было найдено через 2–3 недели после введения 6-гидроксидофамина крысам в цистерну мозга [36] или в стриатум [30] и после внутрибрюшинного введения МФТП мышам [40, 46]. МФТП вызывал увеличение ПС, близкое по величине к действию лактацистина у крыс при дегенерации около трети нейронов черной субстанции. Однако авторы не располагают данными о точной локализации действия МФТП и полагают, что изменения ПС обусловлены его влиянием не только на ДАергические нейроны nigростриатной системы, но и другие медиаторные системы. В работах, не связанных с изучением сна, показано, что системные инъекции МФТП вызывают изменения в вентральной области покрышки, голубом пятне, фронтальной коре, гиппокампе и других областях мозга, а также в периферической нервной системе [5 и др.]. Кроме того, авторы не связывают эффекты МФТП с моделью доклинической стадии.

Показано, что у пациентов в клинической стадии БП (когда дегенерируют более половины нейронов черной субстанции и компенсаторные резервы nigростриатной системы могут истощаться) по сравнению со здоровыми добровольцами обнаружено уменьшение общего времени всего ночного сна (на 18%) и пропорции ПС (в 2 раза) [54]. В наших опытах при глубоком угнетении функции протеасом после локального введения лактацистина в компактную часть черной субстанции у крыс выявлена только тенденция к уменьшению

ПС, несмотря на глубокое снижение показателей компенсаторных процессов и уровня шаперона Hsp70i. Такое значительное сокращение времени ПС у пациентов с БП может быть обусловлено вовлечением в процесс деградации более широкого круга структур, участвующих в регуляции ПС. В работе [42] сообщается, что сокращение общего времени ПС обнаруживается только после обширного поражения сублатеродорзального ядра, которое включает субпопуляцию нейронов с восходящими проекциями.

У пациентов в клинической стадии БП выявлено уменьшение не только ночного, но и дневного ПС [12]. Анализ дневного сна – более легкая и более дешевая процедура по сравнению с анализом ночного сна. Полученные данные позволяют рекомендовать изучение дневного сна как доступную для клиник процедуру определения немоторных симптомов БП при широких профилактических обследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Различные нарушения сна найдены у 80–90% пациентов с БП, из них только парасомния RBD признается в качестве возможного раннего маркера БП. Однако этот маркер неспецифичен и проявляется не более чем у 50% пациентов с БП. Для ускорения поиска ранних маркеров впервые созданы модели БП у крыс Вистар на основе умеренной и глубокой дисфункции протеасом nigростриатной системы; умеренная дисфункция приводит к потере менее трети, а глубокая – более половины дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции. На основании анализа моторного, иных форм поведения и физиологических функций совместно с показателями иммуноцитохимии и конфокальной микроскопии высказана гипотеза об изменениях общего времени ПС как маркере, отражающем состояние нейропротективных и компенсаторных резервов nigростриатной системы на разных этапах развития БП. В перспективе рекомендуется: а) изучение дневного сна как более доступной для клиник процедуры определения немоторных симптомов БП (по сравнению с ночным сном) при широких профилактических обследованиях и б) разработка (на первом этапе – в моделях на животных) различных способов превентивной терапии БП на основе использования известных и новых

фармакологических и физических индукторов шаперонов Hsp70 с целью остановки или задержки нейродегенеративного процесса.

Автор выражает признательность сотрудникам Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН А.Ю. Чесноковой, И.В. Екимовой и М.В. Чернышеву за помощь в подготовке рукописи статьи.

Работа выполнена при поддержке программы президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине” и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-01588).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голубев В.Л. Лечение болезни Паркинсона: решенные и нерешенные вопросы. Избранные лекции по неврологии. М.: Эйдос Медиа, 2006: 395–421.
2. Голубев В.Л., Левин Я.И., Вейн А.М. Болезнь Паркинсона и синдром паркинсонизма. М.: МЕД-пресс, 1999. 412 с.
3. Гусев Е.И., Гехт А.Б., Попов Г.Р., Волкова Н.А., Пастухов Ю.Ф., Пронина Т.С., Чеснокова А.Ю., Екимова И.В. Болезнь Паркинсона. Клиника, диагностика и лечение. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты. Под ред. Угрюмова М.В. М.: Наука, 2010: 52–86.
4. Иллариошкин С.Н. Течение болезни Паркинсона и подходы к ранней диагностике. Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. По материалам II Национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движения. Под ред. Иллариошкина С.Н., Левина О.С. М.: Sandoz, 2011: 41–47.
5. Кучеряну В.Г., Магаева С.В., Базян А.С., Григорян Г.А., Бочаров Е.В., Пронина Т.С., Угрюмов М.В. Нейротоксические модели. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты. Под ред. Угрюмова М.В. М.: Наука, 2010: 215–221.
6. Лапшина К.В., Екимова И.В. Исследование защитных эффектов экзогенного белка теплового шока 70 кДа в модели депривации сна у голубя *Columba livia*. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2010. 46(5): 387–394.
7. Литвиненко И.В., Красаков И.В., Тихомирова О.В. Нарушения сна при болезни Паркинсона: патофизиологические механизмы, клинические варианты и направления коррекции. Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. По материалам II Национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движения. Под ред. Иллариошкина С.Н., Левина О.С. М.: Sandoz, 2011: 93–97.
8. Маргулис Б.А., Гужова И.В. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс. Цитология. 2009. 51(3): 219–228.
9. Ницинская Л.Е., Екимова И.В., Гужова И.В., Фейзулаев Б.А., Пастухов Ю.Ф. Влияние кверцетина на тяжесть химически индуцированных судорог и содержание белка теплового шока 70 кДа в структурах головного мозга крыс. Рос. физиол. журн. 2010. 96(3): 283–292.
10. Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В., Гужова И.В., Романова И.В., Артюхина З.Е. Содержание шаперона Hsp70 в дофаминергических нейронах черной субстанции возрастает при протеасомной дисфункции. Рос. физиол. журн. 2011. 97(7): 649–660.
11. Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В., Худик К.А., Чернышев М.В., Лапшина К.В., Романова И.В., Коржова В.В., Гужова И.В. Экспериментальное и клиническое исследование немоторных симптомов паркинсонизма в модели доклинической стадии у животных и при болезни Паркинсона у человека. Фундаментальные науки – медицине. Тезисы докладов на конференциях и семинарах по научным направлениям Программы в 2011 году. М.: Слово, 2011: 245–247.
12. Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В., Чеснокова А.Ю., Якимчук А.А., Романова И.В., Худик К.А., Гужова И.В., Буриков А.А., Андриенко О.А. Экспериментальное и клиническое исследование немоторных симптомов паркинсонизма в пролонгированной модели преклинической стадии у животных и в различные сроки болезни Паркинсона у человека. Фундаментальные науки – медицине. Тезисы докладов на конференциях и семинарах по научным направлениям Программы в 2009 году. М.: Слово, 2009: 189–191.
13. Пастухов Ю.Ф., Худик К.А., Екимова И.В. Шапероны в регуляции и восстановлении физиологических функций. Рос. физиол. журн. 2010. 96(7): 708–725.
14. Пастухов Ю.Ф., Чеснокова А.Ю. Альфа-синуклеин в патогенезе болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты. Под ред. Угрюмова М.В. М.: Наука, 2010: 189–200.
15. Пастухов Ю.Ф., Чеснокова А.Ю., Якимчук А.А., Екимова И.В., Романова И.В., Худик К.А. Изменения сна при дегенерации нейронов черной субстанции, вызванной ингибитором протеасомы лактацистином. Рос. физиол. журн. 2010. 96(12): 1190–1202.
16. Угрюмов М.В. Новые представления о патогенезе, диагностике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Вестн. РАМН. 2010(8): 6–19.
17. Угрюмов М.В. Традиционные и новые представления о патогенезе, диагностике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты. Под ред. Угрюмова М.В. М.: Наука, 2010: 8–35.

18. Хаиндрава В.Г., Козина Е.А., Кучеряну В.Г., Крыжановский Г.Н., Кудрин В.С., Клодт П.Д., Бочаров Е.В., Раевский К.С., Угрюмов М.В. Моделирование преклинической и ранней клинической стадий болезни Паркинсона. Журн. неврологии и психиатрии. 2010. 7: 41–47.
19. Хакимова Г.Р., Козина Е.А., Сапронова А.Я., Угрюмов М.В. Выделение дофамина в черной субстанции и в стриатуме на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма у мышей. Нейрохимия. 2011. 28(1): 42–48.
20. Abbott R.D., Ross G.W., White L.R., Tanner C.M., Masaki K.H., Nelson J.S., Curb J.D., Petrovitch H. Excessive daytime sleepiness and subsequent development of Parkinson disease. *Neurology*. 2005. 65(9): 1442–1446.
21. Ahn T.B., Jeon B.S. Protective role of heat shock and heat shock protein 70 in lactacystin-induced cell death both in the rat substantia nigra and PC12 cells. *Brain Res*. 2006. 1087: 159–167.
22. Betarbet R., Canet-Aviles R.M., Sherer T.B., Mastrotobardino P.G., McLendon C., Kim J.H., Lund S., Na H.M., Taylor G., Bence N.F., Kopito R., Seo B.B., Yagi T., Yagi A., Klinefelter G., Cookson M.R., Greenamyre J.T. Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. *Neurobiol. Dis*. 2006. 22(2): 404–420.
23. Boeve B.F. REM Sleep behavior disorder: Updated review of the core features, the RBD-neurodegenerative disease association, evolving concepts, controversies, and future directions. *Ann N. Y. Acad. Sci*. 2011. 1184: 15–54.
24. Boeve B.F., Silber M.H., Saper C., Ferman T.J., Dickson D.W., Parisi J.E., Benarroch E.E., Ahlskog J.E., Smith G.E., Caselli R.C., Timpman-Peikert M., Olson E.J., Lin S.C., Young T., Wszolek Z., Schenck C.H., Mahowald M.W., Castillo P.R., Del Tredici K., Braak H. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. *Brain*. 2007. 130(Pt11): 2770–2788.
25. Boissard E., Fort P., Gervasoni D., Barbagli B., Luppi P. Localization of the GABAergic and non-GABAergic neurons projecting to the sublaterodorsal nucleus and potentially gating paradoxical sleep onset. *Eur. J. Neurosci*. 2003. 18: 1627–1639.
26. Braak H., Ghebremedhin E., Rub U., Bratzke H., Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease related pathology. *Cell. Tissue Res*. 2004. 318: 121–134.
27. Comella C.L. Sleep disorders in Parkinson's disease: an overview. *Mov Disord*. 2007. 17: S367–S373.
28. Cook C., Petrucelli L. A critical evaluation of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta*. 2009. 1792(7): 664–675.
29. De Cock V., Vidailhet M., Leu S., Teixeira A., Apartis E., Elbaz A., Roze E., Willer J.C., Derenne J.P., Agid Y., Arnulf I. Restoration of normal motor control in Parkinson's disease during REM sleep. *Brain*. 2007. 130(Pt2): 450–456.
30. Decker M., Keating G., Freeman A., Rye D. Parkinsonian-like sleep-wake architecture in rats with bilateral striatal 6-OHDA lesions. *Soc. Neurosci. Abstr*. 2000. 26: 1514–1519.
31. Ding Q., Keller J.N. Proteasome inhibition in oxidative stress neurotoxicity: implications for heat shock proteins. *J. Neurochem*. 2001. 77(4): 1010–1017.
32. Ekimova I.V., Nizinskaya L.E., Romanova I.V., Pastukhov Yu.F., Margulis B.A., Guzhova I.V. Exogenous protein Hsp70 can penetrate into the brain structures and attenuate the severity of chemically-induced seizures. *J. Neurochem*. 2010. 115(4): 1035–1044.
33. Fantini M.L., Gagnon J.F., Filipini D., Montplaisir J. The effects of pramipexole in REM sleep behavior disorder. *Neurology*. 2003. 61(10): 1418–1420.
34. Fornai F., Lenzi P., Gesi M., Ferrucci M., Lazzeri G., Busceti C.L., Ruffoli R., Soldani P., Ruggieri S., Alessandri M.G., Paparelli A. Fine structure and biochemical mechanisms underlying nigrostriatal inclusions and cell death after proteasome inhibition. *J. Neurosci*. 2003. 23: 8955–8966.
35. Furukawa Y., Vigouroux S., Wong H., Guttman M., Rajput A.H., Ang L. Brain proteasomal function in sporadic Parkinson's disease and related disorders. *Ann. Neurol*. 2002. 51(6): 779–782.
36. Hartmann E., Chung R., Draskoczy P., Schildknauf J. 6-hydroxydopamine: effects on sleep in the rat. *Nature*. 1971. 233: 425–427.
37. Imai J., Yashiroda H., Maruya M., Yahara I., Tanaka K. Proteasomes and molecular chaperones: cellular machinery responsible for folding and destruction of unfolded proteins. *Cell Cycle*. 2003. 2(6): 585–590.
38. Iranzo A. Sleep-wake changes in the premotor stage of Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci*. 2011. 310: 283–285.
39. Iranzo A., Santamaria L., Tolosa E. The clinical and pathophysiological relevance of REM sleep behavior disorder in neurodegenerative diseases. *Sleep Med. Rev*. 2009. 13: 385–401.
40. Laloux C., Derambure P., Kreisler A., Houdayer E., Brueziere S., Bordet R., Destée A., Monaca C. MPTP-treated mice: long-lasting loss of nigral TH-ir neurons but not paradoxical sleep alterations. *Exp. Brain Res*. 2008. 186: 635–642.
41. Larsen J.P. Sleep disorders in Parkinson's disease. *Adv. Neurol*. 2003. 91: 329–334.
42. Luppi P.H., Clément O., Sapin E., Gervasoni D., Peyron C., Léger L., Salvetti D., Fort P. The neuronal network responsible for paradoxical sleep and its dysfunctions causing narcolepsy and rapid eye movement (REM) behavior disorder. *Sleep Med. Rev*. 2011. 15(3): 153–163.
43. McNaught K.S., Belizaire R., Jenner P., Olanow C.W., Isacson O. Selective loss of 20S proteasome alpha-subunits in the substantia nigra pars compacta in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett*. 2002. 326(3): 155–158.
44. McNaught K.S., Jnobaptiste R., Jackson T., Jengelly T.A. The pattern of neuronal loss and survival may reflect differential expression of proteasome activators in Parkinson's disease. *Synapse*. 2010. 64(3): 241–250.

45. *McNaught K.S., Perl D.P., Brownell A.L., Olanow C.W.* Systemic exposure to proteasome inhibitors causes a progressive model of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2004. 56(1): 149–162.
46. *Monaca C., Laloux C., Jacquesson J.-M., Gele P., Marechal X., Bordet R., Deste A., Derambure P.* Vigilance states in a parkinsonian model, the MPTP mouse. *Eur. J. Neurosci.* 2004. 20: 2474–2478.
47. *Niu C., Me, J., Pan Q., Fu X.* Nigral degeneration with inclusion body formation and behavioral changes in rats after proteasomal inhibition. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 2009. 87(2): 69–81.
48. *Olson E., Boeve B., Silber M.* Rapid eye movement sleep behavior disorder: demographic, clinical, and laboratory findings in 93 cases. *Brain.* 2000. 123(Pt2): 331–339.
49. *Ondo W.G., Dat Vuong K., Khan H., Atassi F., Kwak C., Jankovic J.* Daytime sleepiness and other sleep disorders in Parkinson's disease. *Neurology.* 2001. 57(8): 1392–1396.
50. *Pacchetti C., Manni R., Zangaglia R., Mancini F., Marchioni E., Tassorelli C., Terzaghi M., Ossola M., Martignoni E., Moglia A., Nappi G.* Relationship between hallucinations, delusions, and rapid eye movement sleep behavior disorder in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2005. 20(11): 1439–1448.
51. *Postuma R.B., Gagnon J.F., Vendette M., Fantini M.L., Massicotte-Marquez J., Montplaisir J.* Quantifying the risk of neurodegenerative disease in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology.* 2009. 72(15): 1296–1300.
52. *Schenck C.H., Bundlie S.R., Ettinger M.G., Mahowald M.W.* Chronic behavioral disorders of human REM sleep: a new category of parasomnia. *Sleep.* 1986. 9(2): 293–308.
53. *Schenck C.H., Bundlie S.R., Mahowald M.W.* Delayed emergence of a parkinsonian disorder in 38% of 29 older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder. *Neurology.* 1996. 46(2): 388–393.
54. *Shpirer I., Miniovitz A., Klein C., Goldstein R., Prokhorova T., Theitler J., Pollak L., Rabey J.M.* Excessive daytime sleepiness in patients with parkinson's disease: a polysomnography study. *Movement Disorders.* 2006. 21(9): 1432–1438.
55. *Stiasny-Kolster K., Doerr Y., Moller J.C., Höffken H., Behr T.M., Oertel W.H., Mayer G.* Combination of idiopathic REM sleep behaviour and olfactory dysfunction as possible indicator for synucleinopathy demonstrated by dopamine transporter FP-CIT-SPECT. *Brain.* 2005. 128(Pt1): 126–137.
56. *Tandberg E., Larsen J.P., Karlsen K.* Excessive daytime sleepiness and sleep benefit in Parkinson's disease: a community-based study. *Mov. Disord.* 1999. 14 (6): 922–927.
57. *Tieu K.* A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2011. 1(1): a009316.
58. *Trotti L.M.* REM Sleep behaviour disorder in older individuals: Epidemiology, pathophysiology, and management. *Drugs Aging.* 2010. 27(6): 457–470.
59. *Turturici G., Sconzo G., Geraci F.* Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases. *Biochem. Res. Int.* 2011. 2011: 618127.
60. *Ugrumov M.V., Khaindrava V.G., Kozina E.A., Kucheryanu V.G., Bocharov E.V., Kryzhanovsky G.N., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Klodt P.M., Rayevsky K.S., Pronina T.S.* Modeling of presymptomatic and symptomatic stages of parkinsonism in mice. *Neuroscience.* 2011. 181: 175–188.
61. *Uversky V.N.* Neuropathology, biochemistry, and biophysics of α -synuclein aggregation. *J. Neurochem.* 2007. 103(1): 17–37.
62. *Vetrugno R., Provini F., Cortelli P., Plazzi G., Lotti E.M., Pierangeli G., Canali C., Montagna P.* Sleep disorders in multiple system atrophy: a correlative video-polysomnographic study. *Sleep Med.* 2004. 5(1): 21–30.
63. *Wetter T.C., Collado-Seidel V., Pollmächer T., Yassouridis A., Trenkwalder C.* Sleep and periodic leg movement patterns in drug-free patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Sleep.* 2000. 23(3): 361–367.
64. *Zeng B.-Y., Medhurst A.D., Jackson M., Rose S., Jenner P.* Proteasomal activity in brain differs between species and brain regions and changes with age. *Mech. Age. Dev.* 2005. 126: 760–766.