

Оценка влияния нейротоксина МФТП и противопаркинсонического препарата гимантана на целостность ДНК в структурах головного мозга мышей C57BL/6

Анисина Е. А., Жанатаев А. К., Непоклонов А. В., Котельникова С. О., Вальдман Е. А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Аннотация. Гимантан (гидрохлорид n-(2-адамантил)гексаметиленимина) – противопаркинсонический препарат, обладающий поликомпонентным механизмом действия, включающим модулирующее влияние на активность дофамин- и серотонинергической медиаторных систем, избирательный ингибирующий эффект на MAO-B, свойства низкоаффинного неконкурентного блокатора ионного канала глутаматных рецепторов NMDA подтипа, обладает умеренной антирадикальной и противовоспалительной активностью. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния нейротоксина МФТП, применяемого для моделирования паркинсонического синдрома, и противопаркинсонического препарата гимантана на целостность ДНК в стриатуме и фронтальной коре головного мозга мышей C57BL/6 методом ДНК-комет – гель-электрофореза ДНК одиночных клеток. **Результаты.** В первом эксперименте гимантан вводили один раз в сутки в течение 5 дней до начала введения МФТП (20 мг/кг, в/б), затем вместе с МФТП один раз в сутки в течение 5 дней. Во втором – гимантан 10 мг/кг вводили предварительно 4 дня и за 40 мин до МФТП 30 мг/кг. Полученные результаты подтверждают отсутствие у гимантана в терапевтической дозе 10 мг/кг эффекта на ДНК. В использованных схемах экспериментов не удалось установить ожидаемого возрастания уровня ДНК повреждений под влиянием МФТП, и соответственно, оценить защитный эффект гимантана.

Ключевые слова: гимантан; МФТП; метод ДНК-комет; паркинсонизм; мыши C57BL/6

Для цитирования:

Анисина Е. А., Жанатаев А. К., Непоклонов А. В., Котельникова С. О., Вальдман Е. А. Оценка влияния нейротоксина МФТП и противопаркинсонического препарата гимантана на целостность ДНК в структурах головного мозга мышей C57BL/6. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(4):47–52. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-4-47-52>

Поступила: 01 декабря 2021 г. **Принята:** 15 декабря 2021 г. **Опубликована:** 30 декабря 2021 г.

Evaluation of the effect of the neurotoxin MPTP and the antiparkinsonian drug hemantane on the DNA integrity in the brain structures of C57BL/6 mice

Anisina EA, Zhanataev AK, Nepoklonov AV, Kotelnikova SO, Valdman EA

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia

Abstract. Hemantane (N-adamant-2-yl-hexamethylenimine hydrochloride) is an antiparkinsonian drug with a multicomponent mechanism of action, including a modulating effect on the activity of dopamine and serotonergic mediator systems, a selective inhibitory effect on MAO-B, properties of a low-affinity non-competitive channel blocker of glutamate NMDA receptors, has moderate antiradical and anti-inflammatory activity. *The aim* of this study was to assess the effect of the neurotoxin MPTP, which is used for modeling of parkinsonian syndrome, and the hemantane on the DNA integrity in the striatum and frontal cortex of the brain of C57BL/6 mice by the DNA comet assay – gel electrophoresis of DNA single cells. **Results.** In the first experiment, hemantane was administered once a day for 5 days before the MPTP (20 mg/kg, i.p.), then together with MPTP once a day for 5 days. In the second experiment hemantane 10 mg/kg was injected preliminarily for 4 days and 40 minutes before MPTP 30 mg/kg. The obtained results confirm the absence of an effect on DNA of hemantane at a therapeutic dose of 10 mg / kg. In the experimental schemes used, we did not reveal the expected increase in the level of DNA damage under the influence of MPTP, and, accordingly, we were not able to assess the protective effect of hemantane.

Keywords: hemantane; MPTP; DNA-comet assay; parkinsonism; C57BL/6 mice

For citations:

Anisina EA, Zhanataev AK, Nepoklonov AV, Kotelnikova SO, Valdman EA. Evaluation of the effect of the neurotoxin MPTP and the antiparkinsonian drug hemantane on the DNA integrity in the brain structures of C57BL/6 mice. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2021;(4):47–52. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-4-47-52>

Received: December 01, 2021. **Accepted:** December 15, 2021. **Published:** December 30, 2021

Введение / Introduction

Болезнь Паркинсона (БП) – второе по частоте встречаемости после болезни Альцгеймера нейродегенеративное заболевание. В основе развития симптоматики БП лежит дегенерация дофаминергических нейронов чёрной субстанции. В клинической картине заболевания преобладают двигательные нарушения – тремор, олиго- и брадикинезия, ригидность, постуральные расстройства, которые проявляются тогда, когда уже погибло более 58–64 % нейронов компактной части чёрной субстанции, а содержание дофамина в стриатуме снизилось на 60–80 % [1]. Суще-

ствующие средства фармакотерапии преимущественно являются симптоматическими. Даже при наличии у ряда противопаркинсонических препаратов нейропротекторных свойств назначение их на развёрнутой стадии не позволяет предотвратить прогрессирование заболевания.

Усилия исследователей во всём мире направлены на изучение патогенеза БП, поиск генетических маркеров для оценки риска развития, диагностических возможностей для определения заболевания на до-симптомных стадиях, совершенствование экспериментальных моделей с целью повышения их предикторной значимости при поиске нейропротекторов, создание и

внедрение средств патогенетической терапии, позволяющих замедлить прогрессирование БП. Поскольку отдельные звенья патогенеза БП достаточно хорошо изучены, но первичное звено не определено, в качестве потенциальных нейропротекторов рассматриваются препараты, воздействующие на несколько звеньев патогенеза БП.

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова разработан препарат гимантан (гидрохлорид *n*-(2-адамантил)гексаметиленмина), обладающий выраженной противопаркинсонической активностью.

Установлен поликомпонентный механизм действия гимантана. Гимантан оказывает дозозависимое модулирующее влияние на активность дофамин- и серотонинергической медиаторных систем в стриатуме [2–4], избирательный ингибирующий эффект на моноаминоксидазы-В (МАО-В) [5, 6], является низкоаффинным неконкурентным блокатором ионного канала глутаматных рецепторов NMDA подтипа [7], обладает умеренной антирадикальной и иммунотропной активностью [8]. Антиоксидантные свойства гимантана в дозе 10 мг/кг подтверждены на модели паркинсонического синдрома, вызванного введением нейротоксина МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) у мышей C57BL/6. Предварительное до МФТП введение гимантана предотвращало повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов в коре и стриатуме [9].

Известно, что окислительный стресс, сопровождающийся образованием активных форм кислорода (АФК), играет важную роль в развитии различного генеза повреждений нейронов и нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Паркинсона [10, 11]. Для изучения окислительного стресса в тканях мозга используются биомаркеры – биологические молекулы, химическая структура которых модифицируется под влиянием АФК. В качестве биомаркеров окисления молекул ДНК используют методы оценки повреждений оснований ДНК, в частности оценку ДНК повреждений методом ДНК-комет-гель-электрофореза ДНК одиночных клеток [12].

Целью настоящего исследования явилась оценка влияния нейротоксина МФТП и противопаркинсонического препарата гимантана на уровень поврежденности ДНК в структурах головного мозга мышей C57BL/6.

Материалы и методы / Materials and methods

Гимантан (гидрохлорид *n*-(2-адамантил)гексаметиленмина) синтезирован в опытно-технологическом отделе НИИ фармакологии имени В.В. Закусова.

Исследования проводились на мышах-самцах линии C57BL/6 массой 18–20 г, полученных из ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России, филиал «Столбовая».

Животные содержались в условиях вивария при естественной смене светового режима со свободным

доступом к стандартному гранулированному корму и воде. Соблюдались требования Приказа Минздрава РФ от 01.04.2016 №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и Решения Совета ЕЭК №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического Союза в сфере обращения лекарственных средств», а также правила лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33044-2014 – Принципы надлежащей лабораторной практики). Все манипуляции с животными были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Паркинсонический синдром моделировали у мышей C57BL/6 системным введением нейротоксина МФТП по разным схемам. Ранее удалось зарегистрировать наиболее выраженный защитный эффект гимантана от МФТП при повторном предварительном до нейротоксина введении [13], поэтому гимантан в дозе 10 мг/кг внутривентриально вводили до МФТП.

В первом эксперименте гимантан вводили один раз в сутки в течение 5 дней до начала введения МФТП (20 мг/кг, в/б), затем вместе с МФТП один раз в сутки в течение 5 дней.

Во втором эксперименте использовали однократное введение МФТП в дозе 30 мг/кг. Гимантан 10 мг/кг вводили предварительно 4 дня и за 40 мин до введения МФТП. Животных декапитировали через 24 ч после последней инъекции.

Оценку поврежденности ДНК проводили методом ДНК-комет в щелочной версии [12]. После эвтаназии животных максимально быстро извлекали головной мозг, помещали его на лёд и выделяли стриатум и кору обоих полушарий. Полученные структуры помещали в охлажденный фосфатно-солевой буфер, содержащий 20 mM EDTA-Na₂ и 10 % диметилсульфоксида (pH 7,5), измельчали и выдерживали для осаждения крупных фрагментов тканей. Суспензии клеток вносили в агарозный гель на предметные стекла и лизировали в буфере (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2,5M NaCl, 100 mM EDTA-Na₂, 1 % Triton X-100, 10 % диметилсульфоксид) не менее 1 часа. После окончания лизиса микропрепараты переносили в охлажденный до 4 °C буфер для электрофореза – 300 mM NaOH, 1 mM EDTA-Na₂ [pH>13]. Инкубировали в течение 20 минут для реализации щелочно-лабильных сайтов и щелочной денатурации ДНК и далее проводили электрофорез в течение 20 минут при напряженности поля 1В/см и силе тока ~300 мА. По окончании электрофореза микропрепараты отмывали в фосфатно-солевом буфере и фиксировали в 70 % растворе этанола.

Микропрепараты окрашивали SYBR Green I (1:10000 в ТЕ-буфере [pH 8,5] в 50 % глицерине). Анализ проводили на эпифлуоресцентном микроскопе Микмед-2 12Т («Ломо», Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения (VEC-335,

«ЭВС», Россия), при увеличении $\times 200$. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет анализировали с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2 [14]. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (% ДНК в хвосте). С каждого микропрепарата анализировали не менее 100 ДНК-комет.

При статистической обработке данных метода ДНК-комет нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Значимость различий определяли с использованием параметрического критерия Даннета. Полученные результаты представляли в виде средних арифметических медиан для отдельного животного и их стандартных отклонений ($M \pm SD$) [15]. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Эксперимент 1

В эксперимент были включены 4 группы мышей.

Группе 1 ($n = 8$) вводился физиологический раствор (физ. р-р) в течение 10 дней по схеме — 5 дней — одна инъекция и 5 дней — 2 инъекции;

Группе 2 ($n = 8$) вводили гимантан 10 мг/кг 5 дней, далее 5 дней 10 мг/кг гимантан + физ. р-р;

Группе 3 ($n = 8$) 5 дней вводили физ. р-р + МФТП, с 5-го по 10-й день — физ. р-р и 20 мг/кг в день МФТП;

Группе 4 ($n = 8$) вводили 5 дней гимантан по 10 мг/кг в день, далее 5 дней — гимантан 10 мг/кг и через 30 мин после гимантана — 20 мг/кг МФТП.

Структуры мозга извлекали через 24 часа после последней инъекции.

Таблица 1

Эксперимент 1. Уровень ДНК повреждений в коре и стриатуме мышей C57BL / 6

Table 1

Experiment 1. DNA damage in frontal cortex and striatum of C57BL / 6 mice

Группа / Group		% ДНК в хвосте / % DNA in tail	
		Фронтальная кора / Frontal cortex	Стриатум / Striatum
1	Физраствор Saline	0,73 $\pm$ 0,47	0,78 $\pm$ 0,70
2	Гимантан 10 мг/кг Hemantane 10 mg/kg	0,63 $\pm$ 0,48	0,63 $\pm$ 0,30
3	МФТП 20 мг/кг МРТП 20 mg/kg	1,00 $\pm$ 0,60	0,70 $\pm$ 0,30
4	Гимантан 10 мг/кг + МФТП 20 мг/кг Hemantane 10mg/kg + МРТП 20 mg/kg	0,54 $\pm$ 0,29	0,70 $\pm$ 0,38

Примечание: результаты представлены в виде средней арифметической медиан и стандартного отклонения ($M \pm SD$).
Notes: the results are presented as mean of medians and standard deviation ($M \pm SD$).

При использованной схеме введения не выявлено увеличения поврежденности ДНК под воздействием нейротоксина МФТП, вводимого в дозе 20 мг/кг в течение 10 дней. Гимантан в дозе 10 мг/кг в течение 10 дней, также не оказывал эффекта на уровень поврежденности ДНК (табл. 1).

Эксперимент 2

Во втором эксперименте проводили однократное введение МФТП в дозе 30 мг/кг. Гимантан 10 мг/кг вводили предварительно 4 дня и за 40 мин до МФТП. Контрольной группе вводили физиологический раствор. Оценку поврежденности ДНК после введения *per se* гимантана не проводили, поскольку в предыдущем эксперименте на фоне субхронического введения препарат не проявил повреждающей ДНК активности. Поврежденность ДНК оценивали через 3 часа после введения МФТП. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Эксперимент 2. Уровень повреждений ДНК в коре и стриатуме мышей C57BL / 6

Table 2

Experiment 2. DNA damage in frontal cortex and striatum of C57BL / 6 mice

Группа / Group		% ДНК в хвосте / % DNA in tail	
		Фронтальная кора / Frontal cortex	Стриатум / Striatum
1	Физраствор Saline	2,06 $\pm$ 0,72	2,48 $\pm$ 1,37
2	МФТП 20 мг/кг МРТП 20 mg/kg	3,29 $\pm$ 1,68 $p_1 = 0,21$	3,02 $\pm$ 2,00 $p_1 = 0,64$
3	Гимантан 10 мг/кг + МФТП 20 мг/кг Hemantane 10mg/kg + МРТП 20 mg/kg	2,64 $\pm$ 1,75 $p_2 = 0,6$	1,76 $\pm$ 0,63 $p_2 = 0,16$

Примечания: результаты представлены в виде средней арифметической медиан и стандартного отклонения ($M \pm SD$); p_1 — по сравнению с группой 1; p_2 — по сравнению с группой 2.

Notes: the results are presented as mean of medians and standard deviation ($M \pm SD$); p_1 — as compared with group 1; p_2 — as compared with group 2.

Через 3 часа после однократного введения высокой дозы МФТП (30 мг/кг) отмечено некоторое увеличение уровня ДНК повреждений под влиянием нейротоксина, однако не достигающее даже уровня тенденции. Установлена тенденция к снижению уровня повреждений ДНК в стриатуме при предварительном до МФТП введении гимантана.

В рамках описываемого исследования уровень повреждений ДНК также оценивался через 3 часа и через 8 часов после однократного введения нейротоксина МФТП в дозе 30 мг/кг. Как и в предыдущих двух экспериментах, значимых различий с контрольной группой зафиксировано не было.

Таким образом, при схемах с однократным и многократным введением не удалось выявить ожидаемого

возрастания уровня повреждений ДНК в клетках фронтальной коры и стриатума мышей под действием нейротоксина МФТП, и соответственно, оценить потенциальный протекторный эффект гимантана.

Использованная в эксперименте 1 схема введения МФТП 20 мг/кг в течение 5 дней один раз в день соответствует субхронической модели с апоптотической гибелью клеток [16]. Имеются данные о индукции повреждений ДНК после введения МФТП в дозе 20 мг/кг 4 раза через 2 часа [17]. Эта схема считается моделью острого начала заболевания с развитием некротической гибели нейронов [18]. Вместе с тем, на микропрепаратах ДНК-комет не выявлялись так называемые атипичные ДНК-кометы, являющиеся косвенным свидетельством клеточной гибели [19].

Попытки оценивать повреждения ДНК, вызванные МФТП, представлены всего в нескольких работах. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования, в котором авторам не удалось установить увеличения базального уровня ДНК повреждений после однократного введения МФТП в дозе 30 мг/кг, при этом установлено, что ДНК становилась менее устойчивой к повреждениям, но в то же время активизировались процессы репарации. В этом же исследовании при попытке оценить защитный эффект статинов, обладающих нейропротекторной активностью в других тестах, были получены результаты, указывающие на то, что сами эти препараты вызывают повреждения ДНК. Профилактическое применение правастатина, симвастатина и аторвастатина, обладающих нейропротекторной активностью, приводило к повышению базального уровня повреждений ДНК [20].

Повреждающее действие МФТП на клетки мозга связывают в первую очередь с индукцией окислительного стресса за счёт образования цитотоксических хинонов и гидроксильного радикала [21]. Последний,

являясь высокореактивной АФК, повреждает все макромолекулы клетки, включая ДНК. Возможно, при этом, что окислительный стресс, вызываемый МФТП при использованных нами схемах введения, не достаточно выражен для детекции с использованием в качестве биомаркера повреждений ядерной ДНК, но способен запустить каскад митохондриальной клеточной гибели. Установлено, что индуцируемый МФТП окислительный стресс вызывает каспаза-независимый путь апоптотической гибели путём активации апоптоз-индуцируемого фактора AIF митохондрий [21]. Примечательно, ряд исследователей указывает, что следует оценивать преимущественно не ядерную, а митохондриальную ДНК, повреждения которой вносят больший вклад в этиопатогенез БП [22]. Очевидна перспективность исследований по оценке первичных повреждений и мутаций в митохондриальной ДНК на модели МФТП-индуцированной БП с целью определения их в качестве чувствительного биомаркера нейротоксических поражений.

Полученные в настоящем исследовании результаты подтверждают выявленные ранее экспериментальные данные об отсутствии у гимантана в терапевтической дозе 10 мг/кг генотоксической активности.

Выводы / Conclusions

1. Нейротоксин МФТП при введении в течение 5 дней в дозе 20 мг/кг в сутки однократно, а также при однократном введении в дозе 30 мг/кг не индуцирует детектируемые методом ДНК-комет повреждения ДНК клеток стриатума и фронтальной коры мышей C57BL/6.

2. Гимантан при введении в течение 10 дней в дозе 10 мг/кг в сутки не вызывает повреждений ДНК в клетках стриатума и фронтальной коры мышей C57BL/6.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Анисина Елена Александровна

e-mail: anisinalena@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7542-5658>

н. с. лаборатории фармакологии мутагенеза
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва,
Россия

Жанатаев Алий Курманович

e-mail: azhanataev@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>

SPIN-код: 7070-0510

в. н. с. лаборатории фармакологии мутагенеза
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва,
Россия

Anisina Elena A.

e-mail: anisinalena@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7542-5658>

junior researcher, laboratory of pharmacology of
mutagenesis, FSBI «Zakusov Institute of Pharma-
cology», Moscow, Russia

Zhanataev Aliy K.

e-mail: azhanataev@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>

SPIN code: 7070-0510

Leading researcher, laboratory of pharmacology of
mutagenesis, FSBI «Zakusov Institute of Pharma-
cology», Moscow, Russia

Непоклов Алексей Викторович

e-mail: lesstalkmorerock@list.ru

м. н. с. лаборатории психофармакологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва,
Россия

Котельникова Светлана Олеговна

e-mail: ailantha@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

с. н. с. лаборатории психофармакологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва,
Россия

Вальдман Елена Артуровна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: natalipharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6412-4833>

SPIN-код: 2656-4174

м. н. с. лаборатории радиоизотопных
методов исследований, ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт фармакологии
имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Nepoklonov Alexey V.

e-mail: lesstalkmorerock@list.ru

Junior researcher, laboratory of psychopharmacol-
ogy, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology»,
Moscow, Russia

Kotelnikova Svetlana O.

e-mail: ailantha@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

Senior researcher, laboratory of psychopharmacol-
ogy, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology»,
Moscow, Russia

Valdman Elena A.

Corresponding author

e-mail: evaldman@mail.ru

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9716-499X>

SPIN code: 6806-3799

Leading researcher, laboratory of psychopharma-
cology, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacol-
ogy», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Tissingh P, Bergmans J, Booij A et al. Drug-naïve patients with Parkinson's disease in Hoehn and Yahr stages I and II show a bilateral decrease in striatal dopamine transporters as revealed by [123I]beta-CIT SPECT. *J Neurol.* 1998;245(1):14–20. DOI: 10.1007/s004150050168.
2. Абаймов Д.А., Зимин И.А., Ковалев Г.И. Влияние гимантана на основные подсистемы дофаминовых рецепторов стриатума крыс *ex vivo*. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2008;71(1):18–21. [Abaimov DA, Zimin IA, Kovalev GI. Subchronic effects of hemantane on the main subtypes of dopamine receptors in rat striatum *ex vivo*. *Experimental and clinical pharmacology.* 2008;71(1):18–21. (In Russ).].
3. Абаймов Д.А., Зимин И.А., Кудрин В.С., Ковалев Г.И. Влияние противопаркинсонического препарата гимантана на содержание и метаболизм нейромедиаторных моноаминов в структурах головного мозга мышей линии C57 BL/6. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2009;72(1):64–67. [Abaimov D, Zimin I, Kudrin V, Kovalev G. Effects of antiparkinsonian drug hemantane on the level and metabolism of biogenic monoamines in brain structures of C57BL/6 mice. *Experimental and clinical pharmacology.* 2009;72(1):64–67. (In Russ).].
4. Андриянова Э.А., Вальдман Е.А., Кудрин В.С. и др. Влияние нового потенциального противопаркинсонического средства гимантана на содержание моноаминов и их метаболитов в стриатуме крыс (микродиализное исследование). *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2001;64(6):13–17. [Andriyanova EA, Valdman EA, Kudrin VS et al. Effect of a novel potential antiparkinsonian drug hemantane on the content of monoamines and its metabolites in the striatum of rats (microdialysis assay). *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2001;64(6):13–17. (In Russ).].
5. Вальдман Е.А., Воронина Т.А., Аксенова Л.Н. и др. Влияние нового противопаркинсонического препарата гимантана на активность моноаминоксидаз. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2003;5:3–5. [Valdman EA, Voronina TA, Aksenova LN et al. Effect of a new antiparkinsonian drug hemantane on monoamine oxidase activity. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2003;5:3–5. (In Russ).].
6. Вальдман Е.А., Капица И.Г., Неробкова Л.Н. и др. Влияние длительного введения мышам изатина и гимантана на чувствитель-

ность моноаминоксидазы Б мозга к ингибированию депренилом *in vivo* и *in vitro*. *Биомедицинская химия.* 2004;50(5): 509–513. [Valdman EA, Kapitsa IG, Nerobkova LN et al. The effect of long-term administration of isatin and himantan to mice on sensitivity of brain monoamine oxidase B to inhibition by deprenyl *in vivo* and *in vitro*. *Biomeditsinskaya Khimia* 2004;50(5): 509–513 (In Russ).].

7. Елшанская М.В., Соболевский А.И., Вальдман Е.А., Ходоров Б.И. Взаимодействие потенциального противопаркинсонического средства производного адамантана с ионными каналами глутаматных рецепторов NMDA подтипа. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2001;64(1):18–21. [Elshanskaia MV, Sobolevskii AI, Val'dman EA, Khodorov BI. Effect of the potential antiparkinsonian agent adamantane derivative on ion channels of NMDA glutamate receptors. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2001;64(1):18–21. (In Russ).].

8. Нежинская Г.И., Вальдман Е.А., Назаров П.Г., Сапронов Н.С. Оценка пролонгированного иммунотропного эффекта гимантана — потенциального противопаркинсонического средства. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2003;66(3):44–46. [Estimation of the prolonged immunotropic effect of the new potential antiparkinsonian drug himantane. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2003;66(3):44–46. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0869-2092-2003-66-3-44-46.

9. Иванова Е.А., Капица И.Г., Золотов Н.Н., Вальдман Е.А., Непоклонов А.В., Колясникова К.Н., Воронина Т.А. Влияние гимантана на уровень продуктов перекисного окисления липидов в головном мозге при экспериментальном паркинсоническом синдроме. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2016;(3):9–12. [Ivanova EA, Kapitsa IG, Zolotov NN, Valdman EA, Nepoklonov AV, Kolyasnikova KN, Voronina TA. Effects of Hemantane upon the level of lipid peroxidation in brain in experimental parkinsonian syndrome. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2016;(3):9–12. (In Russ).].

10. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem.* 1992;59(5):1609–1623. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb10990.x.

11. Hald A, Lotharius J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Experimental Neurology.* 2005;193(2):279–290. DOI: 10.1016/j.expneurol.2005.01.013.

12. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К. и др. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. Москва: 2012;115-128. [Durnev AD, Merkulov VA, Zhanataev AK et al. Guidelines for the assessment of DNA damage by alkaline gel electrophoresis of single cells in pharmacological studies. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Ed. A.N. Mironov. Moscow: 2012. (In Russ).].
13. Непоклонов А.В. Изучение эффектов гимантана на ранних стадиях развития болезни Паркинсона и при индуцированных леводопой дискинезиях (экспериментальное исследование). Дис. канд. мед. наук. — Москва. 2013. [Nepoklonov AV. Study of the effects of hemantane on the early stages of Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesia (experimental study). [dissertation]. Moscow; 2013. (In Russ).].
14. Konca K, Lankoff A, Banasik A. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay. *Mutat Res.* 2003;534(1-2): 15–20. DOI: 10.1016/s1383-5718(02)00251-6.
15. Moller P., Loft S. Statistical analysis of comet assay results. *Front Genet.* 2014;5:292. DOI: 10.3389/fgene.2014.00292.
16. Schmidt N, Ferger B. Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2001;108(11):1263–1282. DOI: 10.1007/s007020100004.
17. Hoang T, Choi DK, Nagai M. et al. Neuronal NOS and cyclooxygenase-2 contribute to DNA damage in a mouse model of Parkinson disease. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(7):1049–1056. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.013.
18. Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE, Przedborski S. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neurodegeneration.* 1995;4(3):257–269. DOI: 10.1016/1055-8330(95)90015-2.
19. Жанатаев А.К., Анисина Е.А., Чайка З.В., Мирошкина И.А., Дурнев А.Д. Феномен атипичных ДНК-комет. *Цитология.* 2017;59(3):163-168. [Zhanataev AK, Anisina EA, Chaika ZV, Miroshkina IA, Durnev AD. The phenomenon of atypical DNA comets. *Citologia.* 2017;59(3):163–168. (In Russ).].
20. Coetsee N, Pretorius PJ, Terre Blanche G, Bergh JJ. Investigating the potential neuroprotective effects of statins on DNA damage in mouse striatum. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(9):3186–3192. DOI: 10.1016/j.fct.2008.07.006.
21. Meredith GE, Rademacher DJ. MPTP mouse models of Parkinson's disease: an update. *J Parkinsons Dis.* 2011;1(1):19–33. DOI: 10.3233/JPD-2011-11023.
22. Pickrell AM, Pinto M, Hida A, Moraes CT. Striatal dysfunctions associated with mitochondrial DNA damage in dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2011;31(48):17649–17658. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4871-11.2011.