



Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома

Мариевский В. Е., Любанский И. А., Шангин С. В., Зайнуллина Л. Ф., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Болезнь Паркинсона (БП) — нейродегенеративное заболевание, характеризующееся двигательными нарушениями. Используемая в настоящее время противопаркинсоническая фармакотерапия, несмотря на симптоматическое улучшение пациентов, сопряжена с выраженными побочными эффектами. Комбинация субстанций ладастена с фабомотизолом может обладать потенциальным нейропротекторным эффектом в условиях нейродегенерации, наблюдаемой при БП, благодаря своему мультитаргетному механизму действия.

Цель работы. Изучение потенциальной антипаркинсонической активности комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома (ПС).

Методы. ПС моделировали внутрибрюшинным введением мышам линии C57Bl/6 параквата (10 мг/кг) 1 раз каждые 3–4 дня на протяжении 21 дня. Животные были разделены на 4 группы: 1) пассивный контроль, 2) активный контроль, 3) комбинация ладастен + фабомотизол, 4) леводопа. Животные были протестированы в батарее поведенческих тестов на каждой неделе эксперимента.

Результаты. Комбинация субстанций ладастена с фабомотизолом успешно устраняла все проявления ПС в батарее поведенческих тестов, причём наиболее выраженная разница по сравнению с активным контролем в большинстве тестов была обнаружена на 3-й неделе эксперимента. Так, на фоне данной комбинации время удержания в тесте «вращающийся стержень» было выше в 2,38 ($p < 0,0001$) и в 1,5 раза ($p < 0,01$) при постоянной и нарастающей скорости, время поворота и спуска в тесте «вертикальный стержень» сократилось в 1,4 ($p < 0,05$) и 1,53 раза ($p < 0,001$).

Заключение. Комбинация ладастена с фабомотизолом снижала выраженность ПС, моделируемого внутрибрюшинным введением параквата, в батарее поведенческих тестов, при этом сопоставимо с эффектами леводопы.

Ключевые слова: паркинсонический синдром; ладастен; фабомотизол; моторный дефицит; паракват; брадикинезия; ригидность; мыши C57Bl/6

Для цитирования:

Мариевский В. Е., Любанский И. А., Шангин С. В., Зайнуллина Л. Ф., Дорофеев В. Л. Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):43–52. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-43-52>. EDN: JGKWSH

Поступила: 04.02.2025. В доработанном виде: 05.03.2025. Принята к печати: 21.03.2025. Опубликована: 31.03.2025.

The study of antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome

Valentin E. Marievskii, Ivan A. Lyubanskii, Stanislav V. Shangin, Liana F. Zainullina, Vladimir L. Dorofeev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by motor impairments. The currently used antiparkinsonian pharmacotherapy, despite the symptomatic improvement of patients, is associated with severe side effects. The combination of ladasten with fabomotizole may have a potential neuroprotective effect in the neurodegeneration conditions observed in PD, due to its multitargeting action.

Objective. The study explores the potential antiparkinsonian activity of a combination of ladasten and fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome (PS).

Methods. PS was modeled by intraperitoneal administration of paraquat (10 mg/kg) 1 time every 3–4 days for 21 days. The C57Bl/6 mice were divided into 4 groups: 1) passive control, 2) active control, 3) ladasten + fabomotizole combination, 4) levodopa. The animals were tested in the battery of behavioral tests each week of the experiment.

Results. The combination of ladasten with fabomotizole successfully treated all manifestations of PS in the battery of behavioral tests, and the greatest difference compared with the active control was found in most tests on the 3rd week of the experiment. Thus, the combination increased latency to fall in the «rotarod test» by 2,38 ($p < 0,0001$) and 1.5 times ($p < 0,01$) at fixed and accelerating speed, decreased the turning and descent time in the «pole test» by 1.4 ($p < 0,05$) and 1.53 times ($p < 0,001$).

Conclusion. The combination of ladasten with fabomotizole reduced the severity of paraquat-induced PS in the battery of behavioral tests, and it was comparable with the effects of levodopa.

Keywords: parkinsonian syndrome; ladasten; fabomotizole; motor deficit; paraquat; bradykinesia; rigidity; C57Bl/6 mice

For citations:

Marievskii VE, Lyubanskii IA, Shangin SV, Zainullina LF, Dorofeev VL. The study of antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):43–52. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-43-52>. EDN: JGKWSH

Received: 04.02.2025. Revision received: 05.03.2025. Accepted: 21.03.2025. Published: 31.03.2025.

Введение / Introduction

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространённых нейродегенеративных заболеваний, частота заболеваемости которым неуклонно повышается. По оценкам, основанным на предоставлении медицинских услуг, заболеваемость БП колеблется от 5/100000 до более чем 35/100000 новых случаев в год [1]. Несмотря на то что средний возраст пациентов с БП составляет 60 лет, 5 % заболеваемости приходится на 40 лет [2], причём наблюдается тенденция к «омоложению» болезни [3] и снижению возраста начала манифестации симптомов. Особенностью паркинсонизма является наличие выраженных клинических симптомов, которые в первую очередь проявляются двигательными нарушениями, например, тремором рук, брадикинезией, мышечной ригидностью, поструральной неустойчивостью [4, 5]. Однако зачастую присутствуют и немоторные проявления, например, резкое изменение настроения, нарушение сна, апатия, тревожность, депрессия и др. [6]. БП является мультифакторным заболеванием, однако среди основных звеньев патогенеза можно выделить агрегацию α -синуклеина в виде нерастворимых клеточных включений — телец Леви, что приводит к избирательной гибели дофаминергических нейронов чёрной субстанции (ЧС) [7], а также взаимосвязанную с накоплением альфа-синуклеина митохондриальную дисфункцию, приводящую в итоге к митофагии [8], нарушению в работе убиквитин-протеасомной системы [9] и индуцированию нейровоспаления [10]. Важно отметить, что диагностика БП крайне затруднена ввиду отсутствия специфических инструментальных методов подтверждения, поэтому диагноз ставится клинически в зависимости от наличия характерных двигательных проявлений [11].

В настоящее время фармакотерапия БП носит патогенетический и симптоматический характер, поскольку ещё не существует этиологического лечения. В качестве наиболее эффективных лекарственных средств (ЛС) используется леводопа в сочетании с агонистами дофаминовых рецепторов, что позволяет отсрочить срок наступления леводопа-ассоциированных дискинезий в первые 3–5 лет [12]. Несмотря на это, имеется высокий риск развития двигательных осложнений, таких как дискинезии и моторные флуктуации на фоне приёма леводопы, а также нейропсихические осложнения (тошнота, расстройства сна и др.) на фоне агонистов дофаминовых рецепторов [13]. Помимо вышеуказанных препаратов, используются также производные адамантана, ингибиторы МАО-Б и КОМТ, однако их эффективность менее выражена, в связи с чем данные ЛС назначаются при стартовой терапии БП [14]. Таким образом, поиск новых эффективных и хорошо переносимых противопаркинсонических препаратов остаётся актуальным.

Ладастен (N-(2-адамантил)-N-(2-n-бромфенил)амин), являющийся производным адамантана, и фабомотизол (5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио]бензимидазола дигидрохлорида) были синтезированы и фармакологически охарактеризованы в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и являются потенциальными нейропротекторными препаратами. Так, ладастен показал себя в качестве дофамин-позитивного средства на интактных крысах, причём способным усиливать биосинтез дофамина (ДА) *de novo* в дофаминергических структурах головного мозга [15]. Фабомотизол, в свою очередь, способен оказывать нейропротекторное действие в моделях паркинсонического синдрома (ПС) у мышей, восстанавливая содержание ДА в стриатуме и улучшая двигательную активность животных [16]. Учитывая вышеизложенные свойства данных препаратов, можно предположить синергичное нейропротекторное действие в условиях нейродегенерации при их комбинировании, причём с «неистошающим» пул ДА принципом воздействия.

Таким образом, целью работы является изучение потенциальной антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного ПС.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные / Animals. Исследование выполнено на 24 мышцах-самцах линии C57Bl/6 массой 21–24 г (питомник филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Московская область). Животных содержали в условиях вивария при 20–22 °С, относительной влажности 30–70 % и 12-часовом световом цикле в пластиковых клетках по 6 особей. Мыши имели свободный доступ к воде и корму.

Все экспериментальные процедуры были одобрены комитетом по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Все процедуры с лабораторными животными выполнялись в соответствии с российскими и международными документами: Решением Совета ЕЭК №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016, ГОСТом 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 20.11.2014 и Рекомендацией Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении Доклинических (неклинических) исследований».

Дизайн эксперимента / Experiment design. Общая продолжительность эксперимента составила 21 день. В данном исследовании использовалась методи-

ка воспроизведения ПС при длительном внутрибрюшинном введении параквата (1,1-диметил,4,4-дипиридил хлорид, PQ) [17].

PQ растворялся в физиологическом растворе NaCl 0,9 % (физ. р-р) и вводился внутрибрюшинно (в/б) в дозе 10 мг/кг на 1-, 5-, 8-, 12-, 15-, 19-й дни эксперимента. С первого дня исследования животным вводили перорально (п/о) плацебо (раствор твин-80 в воде) (группа активный контроль), комбинацию ладастена (50 мг/кг) с фабототизолом (10 мг/кг) и леводопу (50 мг/кг) (рис. 1). Выбранные дозы комбинации хорошо показали себя в устранении различных проявлений ПС на унилатеральной 6-OHDA модели заболевания [18]. Мышам группы пассивного контроля вводили физ. р-р аналогичным с паракватом образом и плацебо (п/о).

Таким образом, мыши случайно были разделены на 4 группы (см. рис. 1):

- 1) пассивный контроль (физ. р-р в/б + плацебо п/о) ($n = 6$);
- 2) активный контроль (PQ 10 мг/кг в/б + плацебо п/о) ($n = 6$);
- 3) комбинация ладастена с фабототизолом (PQ 10 мг/кг в/б + ладастен (50 мг/кг) п/о и фабототизол (10 мг/кг) п/о) ($n = 6$);
- 4) леводопа (PQ 10 мг/кг в/б + леводопа 50 мг/кг п/о) ($n = 6$).

Тест «вращающийся стержень». Тестирование проводилось на установке «Ротарод» (ООО «Нейроботикс», Москва) с диаметром стержня 4 см на 6-, 13- и 20-й дни эксперимента. Мышей адаптировали к установке посредством обучающей сессии за

день до проведения тестовой сессии. В обучающей сессии каждое животное дважды помещалось на стержень со скоростью вращения 10 оборотов в минуту, при этом с перерывом не менее 60 минут между попытками. Если мыши держались на стержне меньше 1 минуты в какой-либо из сессий, то они признавались малоподвижными и исключались из эксперимента. Тестовая сессия проводилась в двух режимах вращения стержня: при постоянной скорости вращения (20 оборотов/мин) и при нарастающей скорости вращения (от 4 до 30 оборотов/мин) [16]. Время пребывания животных на установке фиксировалось с момента помещения мыши на стержень до её падения, при этом мышам давалось 3 попытки для каждого тестового режима с перерывом в 30 минут. По окончании тестирования использовали максимальное время удержания мышей в каждом варианте теста из всех попыток.

Тест «вертикальный стержень». Тестирование проводилось на 7-, 14- и 21-й дни. Установка «вертикальный стержень» представляет собой металлический стержень (высота 50 см, диаметр 1 см), обёрнутый бинтом с пробковым набалдашником диаметром 1,5 см. Стержень плотно прикреплен к металлической подставке и помещён в клетку с опилками. Мыши помещались на верхнюю часть стержня таким образом, чтобы они располагались мордочками вверх. Затем фиксировалось время, которое требовалось животному для того, чтобы сориентироваться — повернуть голову вниз и спуститься по стержню. Всего предъявлялось по 5 проб в день тестирования. По полученным данным высчитывали среднее значение



Рис. 1. Дизайн эксперимента
Fig. 1. Design of experiment

из всех попыток для каждого параметра (поворота и спуска). За день до тестирования мышей адаптировали к установке, также предъявляя по 5 проб в день [19]. Максимальное время тестирования составляло 60 секунд [20].

Тест «длина шага». Тестирование проводилось на 7-, 14- и 21-й дни и осуществлялось в узком коридоре из акрилового стекла (высота 8 см, ширина 4 см) (ООО «НПК Открытая Наука», Красногорск), соединённого с чёрным приёмным боксом, под который был подложен лист белой бумаги. Лапки мышей окрашивали гуашью (передние лапы красили красным цветом, задние — синим) [21], после чего сразу же запускали мышь в коридор. Перед проведением тестирования мышам давали освоиться в коридоре и приёмном боксе с целью избежания поворачивания или прекращения прохода в установку. По окончании тестирования измеряли длину шага между передними и задними лапами. Вычисляли среднее между каждым шагом с обеих сторон, при этом не учитывались самые первые и самые последние шаги, совершённые животным [21].

Статистическая обработка экспериментальных данных / Statistical processing of experimental data. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.4.3. Нормальность распределения проверяли при помощи критерия Шапиро–Уилка. Использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету.

Результаты / Results

Согласно результатам теста «вращающийся стержень» был зафиксирован моторный дефицит у мышей группы активного контроля на протяжении всех 3 недель эксперимента. Так, время удержания активного контроля на 1-й неделе (после двух инъекций PQ) в тесте «вращающийся стержень» при постоянной скорости вращения достоверно уменьшалось в 1,8 раза ($p < 0,001$), а при нарастающей — в 1,5 раза ($p < 0,01$) по сравнению с пассивным контролем (рис. 2А, Б). На 2-й экспериментальной неделе (после четырёх инъекций PQ) было отмечено сохранение ухудшения двигательной активности и координации движений в обоих режимах тестирования, однако более выражено снизилось время удержания в режиме вращения при постоянной скорости, а именно в 2,8 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с пассивным контролем, а при нарастающей скорости время удержания было ниже в 1,4 раза ($p < 0,001$). На 3-й неделе исследования (после шести инъекций PQ) у группы активного контроля наблюдалось сохранение ухудшения координации движений мышей при постоянной скорости вращения (снижение в 2,5 раза по сравнению с пассивным

контролем ($p < 0,0001$), а также ещё большее ухудшение в способности удерживаться при нарастающей скорости по сравнению со 2-й неделей (снижение времени удержания в 1,7 раза по сравнению с пассивным контролем ($p < 0,001$)). Таким образом, на протяжении 3 недель эксперимента зафиксировано достоверное снижение двигательной активности и способности сохранять координацию движения у активного контроля.

Комбинация ладастена с фабототизолом способствовала устранению моторного дефицита, причём с возрастанием эффективности на протяжении всех 3 недель эксперимента. Так, время удержания в тесте «вращающийся стержень» на 1-й неделе было достоверно выше в 1,8 раз ($p < 0,001$) при постоянной скорости вращения по сравнению с активным контролем, а на 2- и 3-й неделе время удержания было выше в 2,57 раза ($p < 0,0001$) и в 2,38 раза ($p < 0,0001$), соответственно (рис. 2А). При этом на фоне введения леводопы у мышей наблюдалось достоверное улучшение в способности удерживаться на вращающиеся с постоянной скоростью стержне в 1,6 раза ($p < 0,01$) на 1-й неделе, в 2,68 раза ($p < 0,0001$) — на 2-й неделе и в 2,3 раза ($p < 0,001$) — на 3-й неделе по сравнению с активным контролем, причём время удержания данной группы было сопоставимо с таковым для группы ладастен + фабототизол (см. рис. 2А). Сходным образом было выявлено улучшение двигательной активности и способности сохранять координацию движений по сравнению с активным контролем в варианте тестирования при нарастающей скорости вращения на фоне введения комбинации ладастена с фабототизолом и в группе с введением леводопы. Животные, получавшие комбинацию ладастена с фабототизолом, удерживались на стержне в данном режиме работы в 1,5 раза ($p < 0,01$), в 1,23 раза ($p < 0,01$) и в 1,5 раза ($p < 0,01$) дольше по сравнению с активным контролем на 1-, 2- и 3-й неделе, соответственно (рис. 2Б). У экспериментальной группы, получавшей леводопу, наблюдалось улучшение двигательной активности на протяжении всех 3 недель эксперимента, а время удержания мышей в этом режиме было сопоставимо с таковым для группы, получавшей комбинацию ладастена с фабототизолом (см. рис. 2Б).

В данной модели паракват-индуцированного паркинсонизма брадикинезия, проявляющаяся в виде замедленных действий животных на «вертикальном стержне», развилась только ко 2-й неделе эксперимента у активного контроля, поскольку на 1-й неделе не было обнаружено достоверных различий по времени поворота и спуска с установки у данной группы. Причём достоверные различия между контролями наблюдались только по времени спуска на 2-й неделе исследования, поскольку данный показатель был в 1,3 раза больше у группы

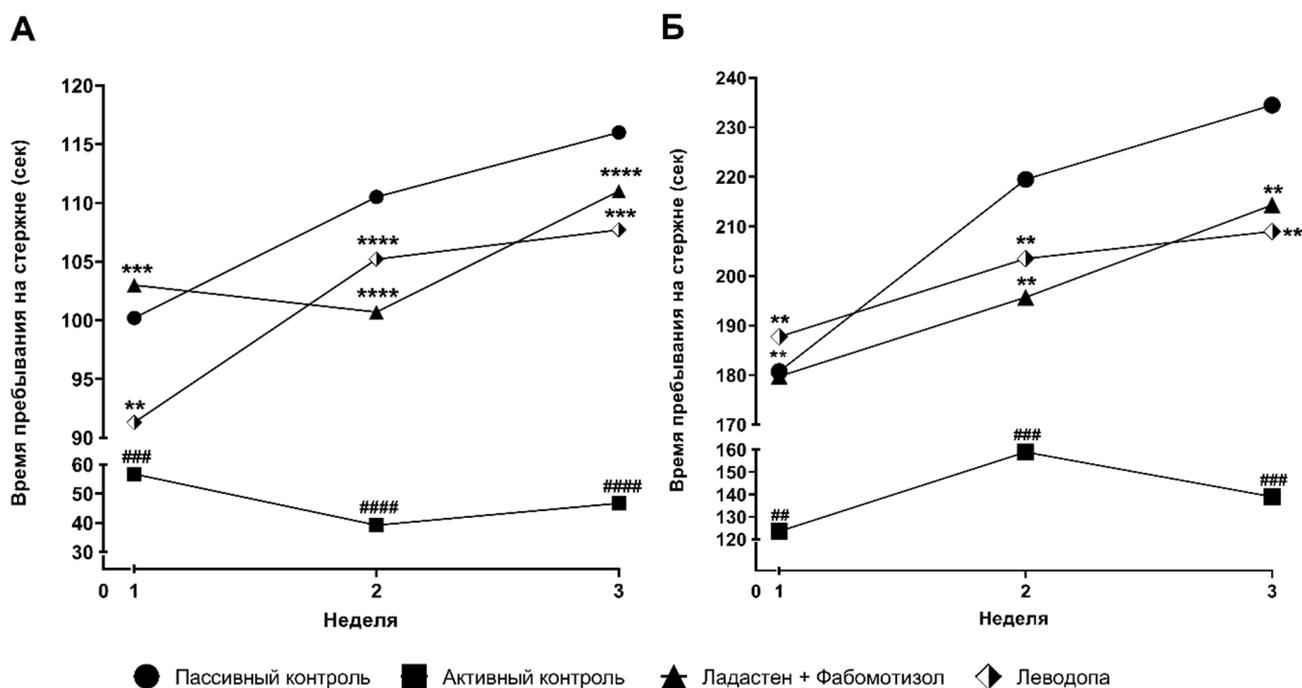


Рис. 2. Влияние комбинации ладастена с фабототизолом на двигательную активность в тесте «вращающийся стержень» при постоянной (А) и нарастающей скорости (Б)

Fig. 2. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on motor activity in the «rotarod» test at fixed (A) and accelerating speed (B)

Примечания: Данные представлены в виде медианы: ##### — $p < 0,0001$, ### — $p < 0,001$, ## — $p < 0,01$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); **** — $p < 0,0001$, *** — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$ — статистически значимые различия с группой активного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: ##### — $p < 0.0001$, ### — $p < 0.001$, ## — $p < 0.01$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); **** — $p < 0.0001$, *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

активного контроля ($p < 0,05$) (рис. 3Б). К 3-й неделе эксперимента уже наблюдалось выраженное развитие брадикинезии, поскольку время поворота и спуска животных группы активного контроля достоверно превышало в 1,5 раза ($p < 0,01$) и 1,75 раза ($p < 0,0001$), соответственно, данные показатели группы пассивного контроля (см. рис. 3А и Б).

Вводимые субстанции значительно улучшали способность мышей ориентироваться на стержне, притом, что эффективность комбинации ладастена с фабототизолом вновь была сопоставима с эффектами леводопы и даже несколько превосходила их. Так, на 3-й неделе исследования время поворота и спуска сократилось в 1,4 раза ($p < 0,05$) и 1,53 раза ($p < 0,001$) на фоне комбинации, в то время как на фоне леводопы достоверно сокращалось лишь время спуска в 1,4 раза ($p < 0,01$) по сравнению с активным контролем (рис. 3А, Б). На 2-й неделе эксперимента комбинация ладастена с фабототизолом и группа с введением леводопы достоверно сокращали лишь время спуска в 1,2 раза ($p < 0,05$) и в 1,25 раза ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с активным контролем (см. рис. 3Б).

В тесте «длина шага» зафиксировано развитие экстрапирамидной ригидности животных группы активного контроля, проявляющейся в виде сокращения длины шагов передних и задних лап. Шаговая ригидность была установлена уже на 1-й неделе исследования, поскольку длина шага передних и задних лап у активного контроля была достоверно ниже на 1,5 см (18,3 %) ($p < 0,01$) и на 1,7 см (21,5 %) ($p < 0,001$) по сравнению с пассивным контролем (рис. 4А, Б). Далее наблюдалось небольшое увеличение длины шага передних и задних лап у активного контроля на 2-й неделе исследования, переходящее в резкое снижение данного показателя на 3-й неделе. Так, на 3-й неделе эксперимента зафиксировано достоверное снижение у группы активного контроля длины шага передних и задних лап на 1,05 см (13,3 %) ($p < 0,01$) и на 1,2 см (14,9 %) ($p < 0,01$) по сравнению с пассивным контролем (см. рис. 4А, Б).

Исследуемые субстанции снижали выраженность экстрапирамидной ригидности мышей, увеличивая длину шага до значений, сопоставимых с таковыми у группы пассивного контроля. На 1-й неделе эксперимента установлено достоверное увеличение

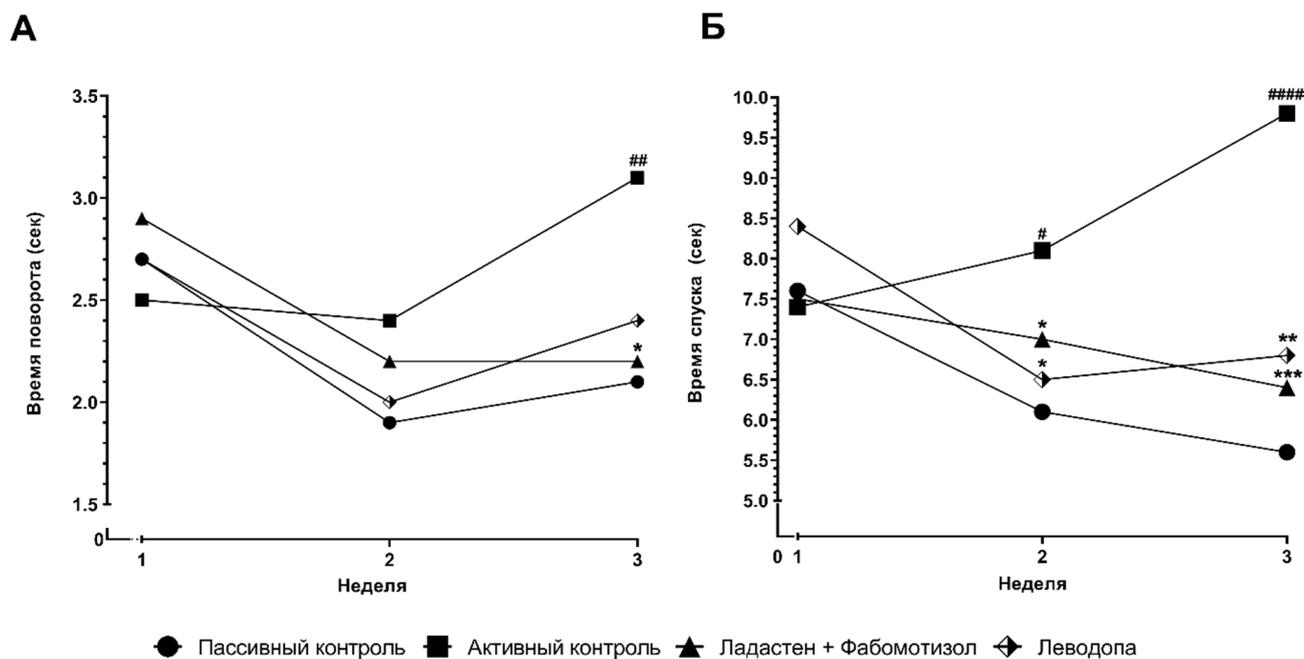


Рис. 3. Влияние комбинации ладастена с фабомотизолом на выраженность брадикинезии в тесте «вертикальный стержень» во время поворота (А) и спуска (Б) со стержня

Fig. 3. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on the severity of bradykinesia in the «pole test» during orientation downward (A) and descent (B) from the pole

Примечания: Данные представлены в виде медианы: #### — $p < 0,0001$, ## — $p < 0,01$, # — $p < 0,05$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); *** — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$, * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия с группой активный контроль (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: #### — $p < 0.0001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

длины шага передних и задних лап на 1,1 см (16,4 %) ($p < 0,01$) и на 1,5 см (24,2 %) ($p < 0,001$) под действием комбинации ладастена с фабомотизолом по сравнению с активным контролем, в то время как на 2-й — на 1,1 см (15,5 %) ($p < 0,05$) и на 0,7 см (9,6 %) ($p < 0,05$), соответственно, а 3-й неделе длина между передними и задними лапами увеличивалась на 0,85 см (12,4 %) ($p < 0,05$) (рис. 4А, Б). Эффективность леводопы была сопоставима с комбинацией ладастена с фабомотизолом, однако наибольшая эффективность по всем исследуемым показателям наблюдалась только на 3-й неделе эксперимента, поскольку длина шага передних и задних лап превышала на 1 см (14,6 %) ($p < 0,05$) и на 1,45 см (21,2 %) ($p < 0,01$) длину шага группы активного контроля (см. рис. 4А, Б).

Обсуждение / Discussion

В данном исследовании была использована модель паракват-индуцированного паркинсонизма, предполагающая развитие двигательных нарушений на фоне потери дофаминергических нейронов ЧС

[22, 23]. PQ является пестицидом, который может выступать этиологическим фактором риска развития БП из внешней среды [24]. Однако в данный момент нет консенсуса по поводу этого предположения ввиду отсутствия однозначных доказательств развития БП после контакта человека с паракватом из-за ещё довольно ограниченных эпидемиологических данных [25]. Тем не менее на различных экспериментальных моделях, в том числе на мышиных, PQ широко используется для создания различных патологических проявлений БП [26]. PQ имеет структурное сходство с МПП + (активным метаболитом хорошо известного токсина для моделирования ПС — МФТП), но, несмотря на это, опровергается роль переносчика ДА DAT в транспорте пестицида через гематоэнцефалический барьер [27]. В настоящее время считается, что PQ попадает в нейроны за счёт ионного обмена с отдачей хлорид-ионов, а затем переносится через мембраны с помощью нейтрального переносчика аминокислот [28]. Далее PQ окисляется НАДФ-зависимой редуктазой, что приводит к образованию свободного радикала и дальнейшему формированию супероксид радикала и пероксида водорода.

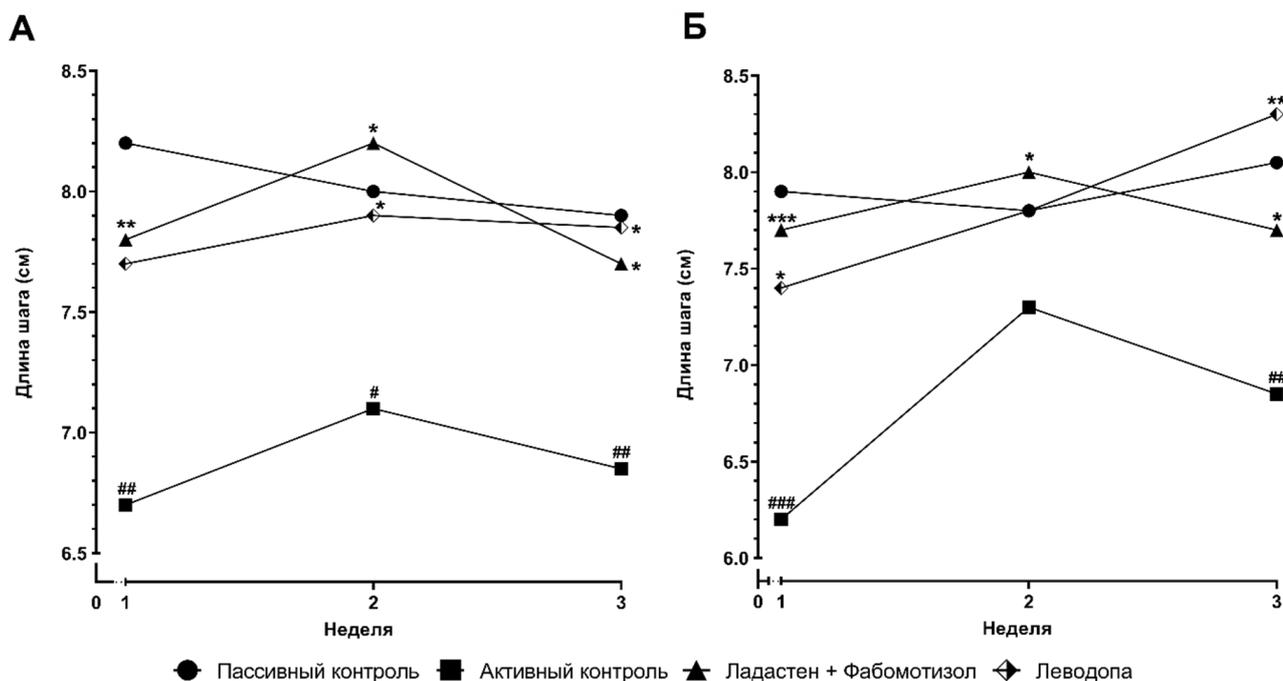


Рис. 4. Влияние комбинации ладастена с фабомотизолом на выраженность экстрапирамидной ригидности в тесте «длина шага» передних (А) и задних (Б) лап

Fig. 4. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on the severity of extrapyramidal rigidity in the «stride length test» of forelimbs (A) and hindlimbs (B)

Примечания: Данные представлены в виде медианы: ### — $p < 0,001$, ## — $p < 0,01$, # — $p < 0,05$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); *** — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$, * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия с группой активный контроль (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: ### — $p < 0.001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

Последний, гидролизуясь, приводит к образованию свободных форм кислорода, которые взаимодействуют с липидной мембраной, вызывая перекисное окисление липидов и гибель нейронов [29]. Кроме того, PQ может вызывать накопление α -синуклеина и дегенерацию дофаминовых нейронов в чёрной субстанции [30], и, более того, подавлять аутофагию, конкурентно нарушая формирование комплекса между амфотерином (HMGB1) и Beclin1 [31]. Таким образом, учитывая патофизиологический профиль PQ, он может быть использован в качестве индуктора экспериментального ПС.

Использованные в работе поведенческие тесты позволяют комплексно оценить развитие различных проявлений ПС, которые отражают диагностически важные симптомы БП. Тест «вращающийся стержень» выявил развитие моторного дефицита и нарушение в координации движений у группы активного контроля при тестировании в режиме постоянной и нарастающей скорости вращения стержня, что согласуется с характерным повреждением дофаминергической системы. Брадикинезия, зафиксированная в тесте «вертикальный стержень»,

и мышечная ригидность в тесте «длина шага» у группы активного контроля также позволяют сделать вывод о развитии нейродегенеративных изменений. Причём все вышеперечисленные проявления были зафиксированы во всех тестах на 3-й неделе эксперимента, однако уже могли наблюдаться почти на каждой неделе исследования, как в случае теста «вращающийся стержень», что может быть обусловлено его высокой чувствительностью при оценке двигательных нарушений ввиду морфологических и функциональных изменений nigrostriatalного пути [32]. Учитывая, что PQ оказывает системное воздействие, в том числе токсическое влияние на лёгкие [33], а значит, может повлиять на результаты поведенческих испытаний, появляется необходимость оценить, может ли леводопа облегчить двигательный дефицит по аналогии с другими моделями ПС, например, индуцированными МФТП и 6-гидроксидофамином (6-OHDA). Во всех поведенческих тестах было показано успешное устранение различных проявлений на фоне введения леводопы, что является подтверждением повреждения nigrostriatalного пути в данной модели ПС.

Комбинированное введение ладастена с фаботизолом успешно снижало выраженность всех проявлений ПС, причём по эффективности было сопоставимо с леводопой. Наличие подобной противопаркинсонической активности предположительно можно обосновать комплексным действием вводимых ЛС. Ладастен обладает выраженным дофамин-позитивным воздействием, что было продемонстрировано в ряде экспериментов на интактных крысах [15, 34, 35]. Обобщая данные этих исследований, можно заключить, что ладастен способен стимулировать синтез ДА *de novo*, снижать его обратный захват и ускорять его метаболизм. Помимо прямого влияния на дофаминергическую систему, ладастен повышает активность различных протеинкиназ и МАРК-зависимых киназ ERK1/ERK2 [15], что также может лежать в основе фосфорилирования тирозин-гидроксилазы и, в итоге, приводить к увеличению уровня ДА. Фаботизол, в свою очередь, является лигандным активатором Sigma1-рецептора [16], который представляет собой белок-шаперон и вовлечён в обеспечение нейропротекторного действия при БП. Ранее было показано, что фаботизол может оказывать нейропротекторное влияние на модели 6-ОНДА-индуцированного паркинсонизма, вероятно за счёт лигандной активации Sigma1-рецептора [16]. Также подобное действие фаботизола может быть объяснено ингибированием хинонредуктазы 2 (NQO2), что также было продемонстрировано в той же модели ПС [36]. Нейропротекторные эффекты фаботизола были доказаны и на других моделях, приводящих к повреждению нейронов [37, 38]. Кро-

ме того, ранее нами было установлено эффективное устранение различных проявлений ПС на фоне введения комбинации ладастена с фаботизолом на унилатеральной 6-ОНДА модели [18]. Учитывая отличия паракват-индуцированного паркинсонизма от 6-ОНДА в связи с более выраженным системным воздействием (способность проникать через гемато-энцефалический барьер без прямого введения в структуры головного мозга, а также поражать лёгкие и почки), можно сделать вывод о наличии нейропротекторного эффекта данной комбинации в других условиях, также приводящих к нейродегенерации.

Таким образом, учитывая вышеперечисленные эффекты ладастена и фаботизола по отдельности, можно заключить, что наблюдаемое устранение различных проявлений ПС в использованной модели может быть обусловлено комплексным дофамин-позитивным и нейропротекторным действием.

Заключение / Conclusion

В проведённом исследовании была использована модель паракват-индуцированного паркинсонизма, приводящего к развитию различных двигательных проявлений ПС. Пероральное введение комбинации субстанций ладастена с фаботизолом снижало выраженность всех подобных проявлений, в том числе моторного дефицита и нарушенной координации движений, брадикинезии и экстрапирамидной ригидности. Стоит также отметить, что эффективность данной комбинации была сопоставима с таковой у леводопы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Мариевский В. Е. — проведение экспериментов, анализ и обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Любанский И. А.* — проведение экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Шангин С. В.* — участие в проведении экспериментов; *Зайнуллина Л. Ф.* — анализ полученных результатов, написание текста статьи; *Дорофеев В. Л.* — консультация при написании текста статьи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FGFG-2025-0004.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest..

Authors' participation

Marievskii VE — conducting experiments, processing the results obtained, writing article's text; *Lubanskii IA* — conducting experiments, processing the results obtained, writing article's text; *Shangin SV* — participation in conducting experiments; *Zainullina LF* — analysis of the data obtained, writing article's text; *Dorofeev VL* — consultation when writing writing article's text.

Funding

This work was conducted under the government contracts of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project FGFG-2025-0004).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Мариевский Валентин Евгеньевич — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: marievskii@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>
РИНЦ SPIN-код: 2760-7297

Valentin E. Marievskii — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding autor
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>
RSCI SPIN code: 2760-7297

Любанский Иван Алексеевич — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-1412-0060>

Ivan A. Lyubanskii — laboratory assistant-researcher of Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-1412-0060>

Шангин Станислав Владимирович — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>
РИНЦ SPIN-код: 6105-1054

Stanislav V. Shangin — Junior Researcher of Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>
RSCI SPIN code: 6105-1054

Зайнуллина Лиана Фанзилевна — к. б. н., заведующий лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1019-9677>

Liana F. Zainullina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of laboratory of molecular pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1019-9677>

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и/о генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584>

Список литературы / References

1. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med*. 2020 Feb;36(1):1-12. doi: 10.1016/j.cger.2019.08.002.
2. Евтушенко С.К., Головченко Ю.И., Труфанов Е.А. Болезнь Паркинсона и паркинсонические синдромы (лекция). *Международный неврологический журнал*. 2014;4(66):16-31. [Yevtushenko SK, Golovchenko YuI, Trufanov YeA. Parkinson's disease and Parkinsonian syndromes (lecture). *International Neurological Journal*. 2014;4(66):16-31. (In Russ.)].

3. Иллариошкин С.Н. Современные подходы к лечению болезни Паркинсона. *Нервные болезни*. 2004;(4):14-21. [Illarioshkin SN. Modern approaches to the treatment of Parkinson's disease. *Nervous Diseases*. 2004;(4):14-21. (In Russ.)].
4. Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2021 May;20(5):385-397. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00030-2.
5. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Mar 23;3:17013. doi: 10.1038/nrdp.2017.13.

6. Goldman JG, Sieg E. Cognitive Impairment and Dementia in Parkinson Disease. *Clin Geriatr Med*. 2020 May;36(2):365-377. doi: 10.1016/j.cger.2020.01.001.
7. Ingelsson M. Alpha-Synuclein Oligomers—Neurotoxic Molecules in Parkinson's Disease and Other Lewy Body Disorders. *Front Neurosci*. 2016 Sep 5;10:408. doi: 10.3389/fnins.2016.00408.
8. Vekrellis K, Xilouri M, Emmanouilidou E, et al. Pathological roles of α -synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011 Nov;10(11):1015-25. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70213-7.
9. Bi M, Du X, Jiao Q, et al. Expanding the role of proteasome homeostasis in Parkinson's disease: beyond protein breakdown. *Cell Death Dis*. 2021 Feb 4;12(2):154. doi: 10.1038/s41419-021-03441-0.
10. Troncoso-Escudero P, Parra A, Nassif M, Vidal RL. Outside in: Unraveling the Role of Neuroinflammation in the Progression of Parkinson's Disease. *Front Neurol*. 2018 Oct 15;9:860. doi: 10.3389/fneur.2018.00860.
11. Ахметжанов В. К., Шашкин Ч. С., Керимбаев Т. Т. Болезнь Паркинсона. Критерии диагностики. Дифференциальная диагностика. *Нейрохирургия и неврология Казахстана*. 2016;4(45):18-25. [Ахметжанов ВК, Шашкин ЧС, Керимбаев ТТ. Parkinson's disease. Diagnostic criteria. Differential diagnosis. *Neurosurgery and Neurology of Kazakhstan*. 2016;4(45):18-25. (In Russ.)].
12. Bähr M. Neuroprotection: models, mechanisms and therapies. John Wiley & Sons; 2006.
13. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet*. 2021 Jun 12;397(10291):2284-2303. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00218-X.
14. Титова Н.В., Портупеев А.А. Практические аспекты назначения противопаркинсонических препаратов. Место амантадинов в лечении болезни Паркинсона. *Медицинский совет*. 2021;(1):63-74. [Titova NV, Portupueev AA. Practical aspects of prescribing antiparkinsonian drugs. The place of amantadines in the management of Parkinson's disease. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(1):63-74. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2021-2-63-74.
15. Вахитова Ю.В. О механизмах действия ладастена. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(2):34-40. [Vaxitova YuV. On the mechanism of ladasten action. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2021;84(2):34-40. (In Russ.)] doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-34-40.
16. Voronin MV, Kadnikov IA, Voronkov DN, Seredenin SB. Chaperone Sigma 1R mediates the neuroprotective action of afobazole in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Sci Rep*. 2019 Nov 19;9(1):17020. doi: 10.1038/s41598-019-53413-w.
17. Rudyk C, Dwyer Z, McNeill J, et al. Chronic unpredictable stress influenced the behavioral but not the neurodegenerative impact of paraquat. *Neurobiol Stress*. 2019 May 31;11:100179. doi: 10.1016/j.ynstr.2019.100179.
18. Мариевский В. Е., Зайнуллина Л. Ф. Исследование антипаркинсонического действия комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паркинсонического синдрома, вызванного 6-гидроксидофамином. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2024;87(9):9-14. [Marievskii VE, Zainullina LF. The study of the antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in 6-hydroxydopamine model of parkinsonian syndrome. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2024;87(9):9-14. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2024-87-9-9-14.
19. Valdman E, Kapitsa I, Ivanova E, et al. Evolution of anti-parkinsonian activity of monoterpenoid (1R,2R,6S)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-3-ene-1,2-diol in various in vivo models. *Eur J Pharmacol*. 2017 Nov 15;815:351-363. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.09.022.
20. Glajch KE, Fleming SM, Surmeier DJ, Osten P. Sensorimotor assessment of the unilateral 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*. 2012 May 1;230(2):309-16. doi: 10.1016/j.bbr.2011.12.007.
21. Brooks SP, Trueman RC, Dunnett SB. Assessment of Motor Coordination and Balance in Mice Using the Rotarod, Elevated Bridge, and Footprint Tests. *Curr Protoc Mouse Biol*. 2012 Mar 1;2(1):37-53. doi: 10.1002/9780470942390.mo110165.
22. Brooks AI, Chadwick CA, Gelbard HA, et al. Paraquat elicited neurobehavioral syndrome caused by dopaminergic neuron loss. *Brain Res*. 1999 Mar 27;823(1-2):1-10. doi: 10.1016/s0006-8993(98)01192-5.
23. McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis*. 2002 Jul;10(2):119-27. doi: 10.1006/nbdi.2002.0507.
24. Dinis-Oliveira RJ, Remião F, Carmo H, et al. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. *Neurotoxicology*. 2006 Dec;27(6):1110-22. doi: 10.1016/j.neuro.2006.05.012.
25. Darweesh SKL, Vermeulen RCH, Bloem BR. Paraquat and Parkinson's disease: has the burden of proof shifted? *Int J Epidemiol*. 2024 Aug 14;53(5):dyae126. doi: 10.1093/ije/dyae126.
26. Sharma P, Mittal P. Paraquat (herbicide) as a cause of Parkinson's Disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2024 Feb;119:105932. doi: 10.1016/j.parkreldis.2023.105932.
27. Richardson JR, Quan Y, Sherer TB, et al. Paraquat neurotoxicity is distinct from that of MPTP and rotenone. *Toxicol Sci*. 2005 Nov;88(1):193-201. doi: 10.1093/toxsci/kfi304.
28. Ishola IO, Akinyede AA, Adeluwa TP, Micah C. Novel action of vinpocetine in the prevention of paraquat-induced parkinsonism in mice: involvement of oxidative stress and neuroinflammation. *Metab Brain Dis*. 2018 Oct;33(5):1493-1500. doi: 10.1007/s11011-018-0256-9.
29. McKnight S, Hack N. Toxin-Induced Parkinsonism. *Neurol Clin*. 2020 Nov;38(4):853-865. doi: 10.1016/j.ncl.2020.08.003.
30. Bastias-Candia S, Zolezzi JM, Inestrosa NC. Revisiting the Paraquat-Induced Sporadic Parkinson's Disease-Like Model. *Mol Neurobiol*. 2019 Feb;56(2):1044-1055. doi: 10.1007/s12035-018-1148-z.
31. Wang K, Zhang B, Zhang B, et al. Paraquat Inhibits Autophagy Via Intensifying the Interaction Between HMGB1 and α -Synuclein. *Neurotox Res*. 2022 Apr;40(2):520-529. doi: 10.1007/s12640-022-00490-x.
32. Monville C, Torres EM, Dunnett SB. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. *J Neurosci Methods*. 2006 Dec 15;158(2):219-23. doi: 10.1016/j.jneumeth.2006.06.001.
33. Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit Rev Toxicol*. 2008;38(1):13-71. doi: 10.1080/10408440701669959.
34. Мирошниченко И.И., Кудрин В.С., Сергеева С.А. и др. Влияние броматана на дофамин-и серотонинергическую систему головного мозга крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1995;58(4):8-11. [Miroshnichenko II, Kudrin VS, Sergeeva SA, et al. Vliyanie bromatana na dofamin-i serotoninergicheskuyu sistemu golovnogogo mozga kry's. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1995;58(4):8-11. (In Russ.)].
35. Морозов И.С., Пухова Г.С., Авдулов Н.А. др. Механизмы нейротропного действия броматана. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1999;62(1):11-14. [Morozov IS, Pukhova GS, Avdulov NA, et al. Mechanisms of bromantan neurotropic effect. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1999;62(1):11-14. (In Russ.)].
36. Кадников И.А., Воронков Д.Н., Воронин М.В. и др. Анализ роли хинонредуктазы 2 в механизме противопаркинсонического действия афобазола. *Нейрохимия*. 2020;37(2):173-182. [Kadnikov IA, Voronkov DN, Voronin MV, et al. Analysis of the Role of Quinone Reductase 2 in the Mechanism of Anti-Parkinsonic Action of Afobazole. *Neirokhimiya*. 2020;37(2):173-182. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S1027813320010112.
37. Зенина Т.А., Гавриш И.В., Мелкумян Д.С. и др. Изучение нейротропных свойств афобазола в опытах *in vitro*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005;140(8):161-163. [Zenina TA, Gavrish IV, Melkumyan DS, et al. Neuroprotective properties of afobazol *in vitro*. *Vyulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2005;140(8):161-163. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-005-0443-7.
38. Середенин С.Б., Поварова О.В., Медведев О.С. и др. Доказательство нейротропных свойств афобазола на экспериментальной модели фокальной ишемии головного мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006;69(4):3-5. [Seredenin SB, Povarova OV, Medvedev OS, et al. Evidence for the neuroprotective properties of afobazole in experimental model of focal brain ischemia. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2006;69(4):3-5. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2006-69-4-3-5.