

# Противопаркинсоническое действие дихолина сукцината на модели МФТП-индуцированного паркинсонизма

А.К. Сариев, В.М. Рычихин, И.А. Помыткин, Т.А. Воронина

Научный центр неврологии РАМН;

ООО «Биосигнал»;

НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва)

*Изучено противопаркинсоническое действие дихолина сукцината при интраназальном введении в дозах от 0,2 до 5,0 мг/кг на модели паркинсонизма, индуцированного у мышей линии C57B1/6 однократной внутрибрюшинной инъекцией 25 мг/кг 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП). Выявлено, что дихолина сукцинат обладает достоверным противопаркинсоническим эффектом, который выражается в уменьшении проявлений акинезии по показателям горизонтальной двигательной активности в тесте «открытого поля» (в дозах 0,2, 1,0 и 5 мг/кг) и мышечной ригидности по показателю длины шага животного (в дозах 1 и 5 мг/кг). Вместе с тем дихолина сукцинат не устраняет такие проявления основной симптоматики паркинсонического синдрома, вызванного МФТП, как тремор, пилоэрекция, латеро- и ретропульсия.*

**Ключевые слова:** дихолина сукцинат, противопаркинсоническое действие, акинезия, тест «открытого поля», тремор, пилоэрекция, латеропульсия, ретропульсия.

**Б**лезнь Паркинсона (БП) как системное прогрессирующее заболевание может быть смоделирована у грызунов применением селективных нейротоксинов, вызывающих избирательное повреждение дофаминергических нейронов ЦНС [1]. Одной из наиболее признанных является модель паркинсонизма у мышей с применением нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина: при внутрибрюшинном введении этого нейротоксина у животных возникает триада основных симптомов БП: олигокинезия, ригидность, тремор [1, 2, 5]. Использование нейротоксина вызывает у животных схожие с человеческими поведенческие и биохимические проявления паркинсонического синдрома (ПС). С молекулярной точки зрения эффект МФТП обусловлен токсическим действием его метаболита 1-метил-4-фенилпиридиния (МФП+), вызывающим энергетическую недостаточность и усиление процессов свободнорадикального окисления в нигральных дофамин-продуцирующих нейронах, что и ведет их к гибели [2, 3].

Дихолина сукцинат (ДХС) — средство, улучшающее чувствительность клеток ЦНС к собственному эндогенному инсулину. Действует на уровне активации инсулинового рецептора, усиливая активность рецепторной тирозинкиназы в ответ на неэффективные субоптимальные концентрации инсулина [6, 7]. Важным также является позитивное воздействие производных янтарной кислоты на электрон-транспортную цепь митохондрий, нарушение активности которой является одним из ключевых молекулярных звеньев БП [4].

Целью настоящей работы является выявление противопаркинсонического действия ДХС при интраназальном введении в течение 7 дней на модели МФТП-индуцированного паркинсонизма у мышей линии C57B1/6.

## Материалы и методы

Исследования были выполнены в опытах на мышках линии C57B1/6 массой тела 25–30 г. Экспериментальные животные были получены из Центрального питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область). Мыши содержались на постоянном доступе к корму и воде, в помещении при температуре 20–22°C, их содержание осуществлялось в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» (№ 1045-73 от 06.04.1973 г.).

МФТП (в физиологическом растворе) вводился однократно внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг. Животным контрольной группы вводился физиологический раствор. Оценку основных экстрапирамидных нарушений начинали сразу после введения нейротоксина и продолжали наблюдение в течение 2–3 ч и через 24 ч. Под влиянием МФТП у животных развивались все основные признаки паркинсонического синдрома: тремор и пилоэрекция (взъерошивание шерсти), олигокинезия, мышечная ригидность. Тремор и пилоэрекция (наличие либо отсутствие) оценивали сразу после введения МФТП. Ригидность оценивали через 10–12 мин после введения нейротоксина, помещая животное в один из отсеков пенала с полом, выстланным бумагой, предварительно окрасив мышам лапки типографской краской: при этом определяли расстояние между следами, оставшимися от передних и задних лапок.

При ПС, вызываемом нейротоксином, наблюдается не только уменьшение количества движений, но и нарушение их качественной структуры. Понятие «олигокинезия» включает уменьшение количества и качества локомоторной активности животных. Животных тестируют в открытом поле, регистрируя в течение 2 мин число горизонталь-

ных движений, вертикальных движений (стойки), груминг. Как правило, олигокинезия наиболее выражена через 90 мин после введения МФТП и сохраняется на протяжении 2–3 ч.

Эффективность ДХС оценивали по его способности ослаблять основные двигательные проявления ПС, вызываемого введением МФТП, а также по его влиянию на наличие и выраженность слюнотечения, пилоэрекции, ретропульсии, нарушений дыхания. ДХС вводили в течение 7 дней (1 раз в день) интраназально в дозах 0,2; 1 и 5 мг/кг (в объеме 10 мкл, по 5 мкл на ноздрю). Животным контрольной группы вводили физиологический раствор интраназально в эквивалентном объеме. В каждой группе было по 8 животных.

Статистический анализ результатов проводили с применением компьютерной программы «Биостат» с использованием параметрического критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Динамическая оценка локомоторных и вегетативных функций животных группы, получавших МФТП, показала, что в среднем через 2 мин после инъекции нейротоксина отчетливо проявлялись все виды экстрапирамидных расстройств, характерных для ПС (табл. 1):

- мелкоамплитудный и среднеамплитудный генерализованный тремор (появлялся вскоре после введения и сохранялся на протяжении 20–40 мин);
- пилоэрекция, ретро- или латеропульсия (появлялась через 2–3,5 мин);
- ригидность (появлялась через 10–12 мин) – нарушение походки, напряжение передних и задних конечностей и появление характерного «горба».

Как видно из табл. 1, субхроническое интраназальное применение ДХС (в дозах 0,2; 1 и 5 мг/кг) полностью не снимало ряда проявлений основной симптоматики ПС, вызванного внутрибрюшинным введением МФТП. Так, у животных всех групп отмечали тремор, пилоэрекцию, латеро- и ретропульсию.

Определение показателей, характеризующих выраженность мышечной ригидности, выявило после введения нейротоксина статистически значимое уменьшение длины

таблица 1: Влияние ДХС (интраназальное 7-дневное введение) на показатели экстрапирамидных и вегетативных расстройств, вызванных применением МФТП у мышей линии C57B1/6.

Группы животных	Латентное время наступления тремора, мин	Пилоэрекция	Латеро- или ретропульсия	Слюнотечение	Гибель
МФТП 25 мг/кг	2,06	8/8	8/8	7/8	3/8 (37,5%)
ДХС 0,2 мг/кг + МФТП	2,02	8/8	8/8	8/8	8/8 (100%)
ДХС 1 мг/кг + МФТП	1,57	8/8	8/8	8/8	7/8 (87,5%)
ДХС 5 мг/кг + МФТП	2,10	8/8	8/8	5/8	5/8 (62,5%)

таблица 2: Влияние ДХС (интраназальное 7-дневное введение) на МФТП-индуцированную ригидность (M±m).

	Интakтный контроль, физ. р-р	МФТП 25 мг/кг в/брюшинно	ДХС 0,2 мг/кг+ МФТП	ДХС 1 мг/кг+ МФТП	ДХС 5 мг/кг+ МФТП
Длина шага, см	6,77 ± 0,20	4,07 ± 0,14 <sup>#</sup>	4,45±0,22	4,91±0,19 <sup>*</sup>	4,74±0,20 <sup>*</sup>

Примечание: # – p<0,05 (достоверность различий относительно группы интактных животных, получавших только физраствор); \* – p<0,05 (достоверность различий относительно группы животных, получавших только МФТП).

шага мышей – в 1,7 раз по сравнению с интактными животными (табл. 2). ДХС в дозах 1 и 5 мг/кг вызывал достоверное увеличение длины шага животных по сравнению с показателями животных группы сравнения, получавших только МФТП. Эти результаты свидетельствуют о способности ДХС снижать ригидность, вызванную МФТП (рис. 1).

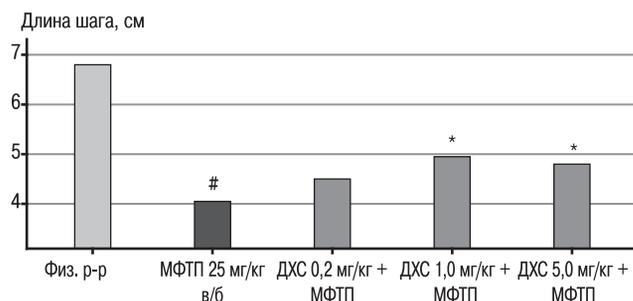


рис. 1: Влияние ДХС на мышечную ригидность, вызванную введением МФТП.

Примечание: # – p<0,05 (достоверность различий относительно группы интактных животных, получавших физраствор); \* – p<0,05 (достоверность различий относительно группы животных, получавших только МФТП).

Измерение двигательной активности в тесте «открытого поля» показало, что через 90 мин после введения МФТП в дозе 25 мг/кг отмечалось статистически значимое снижение двигательной активности по сравнению с интактными животными (табл. 3). У животных этой группы отмечались периоды «фризинга» (замирания), стереотипии, неустойчивость походки, бег на задних лапах, ротационные движения.

таблица 3: Влияние ДХС (интраназальное 7-дневное введение) на нарушения поведения мышей в тесте «открытое поле» (M±m).

Группы животных	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Частый груминг (стереотипия)
Интakтный контроль, физ. р-р	47,88 ± 3,0	14,25 ± 1,56	0
МФТП 25 мг/кг	25,38 ± 2,59 <sup>*</sup>	2,0 ± 1,09 <sup>*</sup>	3/8
ДХС 0,2 мг/кг+ МФТП	70,4 ± 17,24 <sup>*</sup>	5,7 ± 2,03	3/8
ДХС 1 мг/кг+ МФТП	67,63 ± 27,85 <sup>*</sup>	4,0 ± 1,32	0
ДХС 5 мг/кг+МФТП	88,14 ± 22,42 <sup>*</sup>	10,14 ± 4,01 <sup>*</sup>	0

Примечание: # – p<0,05 (достоверность различий относительно группы интактных животных, получавших только физраствор); \* – p<0,05 (достоверность различий относительно группы животных, получавших только МФТП).

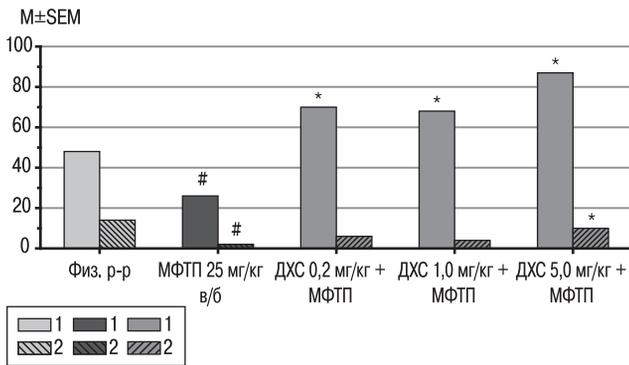


рис. 2: Влияние ДХС на акинезию, вызываемую МФТП, в тесте «открытое поле».

Примечание: # –  $p < 0,05$  (достоверность различий относительно группы интактных животных, получавших физраствор); \* –  $p < 0,05$  (достоверность различий относительно группы животных, получавших только МФТП). 1 – до ДХС, 2 – после ДХС.

ДХС оказывал выраженное влияние на акинезию, вызываемую МФТП в «открытом поле». Под влиянием препарата статистически значимо увеличивается число горизонтальных перемещений, что свидетельствует о способности препарата во всех трех используемых дозах (0,2; 1 и 5 мг/кг) устранять акинезию, вызванную нейротоксином. Этот эффект ДХС имеет дозозависимый характер и увеличивается с повышением дозы препарата (рис. 2).

Несколько меньший эффект ДХС оказывает на показатель вертикальной двигательной активности. По этому показателю достоверный эффект наблюдается лишь при введении ДХС в дозе 5 мг/кг.

Эффект ДХС на акинезию, вызванную МФТП в «открытом поле», имеет свои особенности. Животные после введения ДХС совершали мало актов принюхиваний, выходов в центр поля, а движение мышей проходило по периферии поля, стойки осуществлялись только в углах. Для некоторых животных (20%) после введения ДХС в дозе 1 мг/кг были характерны кругообразные движения, порывистость, резкая реакция на приближение руки. Так, лежащие животные с полной акинезией при взятии их рукой дергались, высоко подпрыгивали и пытались убежать.

Таким образом, ДХС при его интраназальном применении в течение 7 дней характеризовался достоверным противопаркинсоническим эффектом на модели ПС, вызванного у мышей линии C57B1/6 нейротоксином МФТП. Этот эффект препарата выражается в уменьшении проявлений акинезии по показателям горизонтальной двигательной активности в тесте «открытого поля» (в дозах 0,2; 1 и 5 мг/кг) и мышечной ригидности (в дозах 1 и 5 мг/кг) по показателю длины шага животного. Вместе с тем ДХС (в дозах 0,2; 1 и 5 мг/кг) не устраняет такие проявления основной симптоматики ПС, вызванного МФТП, как тремор, пилоэрекция, латеро- и ретропульсия.

## Список литературы

1. Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению антипаркинсонической активности фармакологических веществ, Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005: 295–307.
2. Gerlach M., Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: An empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. J. Neural Transm. 1996; 103: 987–1041.
3. German D.C., Nelson E.L., Liang C.L. et al. The neurotoxin MPTP causes degeneration of specific nucleus A8, A9 and A10 dopaminergic neurons in the mouse. Neurodegeneration 1996; 5: 299–312.
4. Schapira A.H.V. Progress in neuroprotection in Parkinson's disease. Eur. J. Neurol. 2008; 15 (Suppl. 1): 5–13.
5. Schmidt N., Feger B. Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. J. Neural Transm. 2001; 108: 1263–1282.
6. Storozheva Z.I., Proshin A.T., Sherstnev V.V. et al. Dicholine salt of succinic acid, a neuronal insulin sensitizer, ameliorates cognitive deficits in rodent models of normal aging, chronic cerebral hypoperfusion, and beta-amyloid peptide-(25-35)-induced amnesia. BMC Pharmacol. 2008; 8: 1.
7. Storozhevykh T.P., Senilova Y.E., Persiyantseva N.A. et al. Mitochondrial respiratory chain is involved in insulin-stimulated hydrogen peroxide production and plays an integral role in insulin receptor autophosphorylation in neurons. BMC Neurosci. 2007; 8: 84.

## Antiparkinsonian effect of dicholine succinate on the model of MPTP-induced parkinsonism

A.K. Sariev, V.M. Rychikhin, I.A. Pomytkin, T.A. Voronina

*Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences;  
Biosignal, Ltd;*

*Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences (Moscow)*

**Key words:** dicholine succinate, antiparkinsonian effect, akinesia, “open field” test, tremor, piloerection, lateropulsion, retropulsion.

Antiparkinsonian effects of dicholine succinate (intranasal application of 0.2–5.0 mg/kg) was studied in the C57Bl/6 mice model of parkinsonism caused by a single i.p. injection of 25 mg/kg 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Dicholine succinate was found to be characterized by significant antiparkinsonian effects, as indicated by reduction of

akinesia in the “open field” test horizontal locomotor activity (0.2, 1.0 and 5.0 mg/kg) and reduction of muscle rigidity assessed through the step length (1.0 and 5.0 mg/kg). However, dicholine succinate did not exhibit any effect on such major MPTP-induced parkinsonian symptoms as tremor, piloerection, latero- and retropulsion.

**Контактный адрес:** Сариев Абрек Куангалиевич – докт. мед. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клинической фармакокинетики Научного центра неврологии РАМН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-24-09.

Рычихин В.М. – науч. сотр. НЦН РАМН;

Помыткин И.А. – директор ООО «Биосигнал»;

Воронина Т.А. – зав. лаб. психофармакологии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН.