

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 615.015

АНТИПАРКИНСОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРА ПРОЛИЛЭНДОПЕПТИДАЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У МЫШЕЙ

А.П. Калинина*, И.Г. Капица, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина

Лаборатория психофармакологии, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия,
125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8
*e-mail: viburnum.fbm@gmail.com

Пролилэндопептидаза участвует в процессах нейродегенерации, пролиферации, нейровоспаления и дифференцировки нейронов. Обнаружена корреляция между развитием нейродегенеративных заболеваний и повышением уровня пролилэндопептидазы в структурах мозга. Показано, что пролилэндопептидаза взаимодействует с прионоподобными белками, которые считаются ключевыми факторами в развитии нейродегенеративных заболеваний. Все вышеперечисленное позволяет считать ингибиторы пролилэндопептидазы перспективной группой веществ для терапии нейродегенеративных заболеваний. В настоящей работе проведено исследование влияния бензилоксикарбонил-метионил-2(S)-цианопирролидина, нового неконкурентного ингибитора пролилэндопептидазы, в тесте галоперидоловой катаlepsии на аутбредных мышцах SHK и на модели паркинсонического синдрома, вызванного однократным системным введением нейротоксина 1-метил-4-фенил-тетрагидропиридина в дозе 30 мг/кг, у мышей инбредной линии C57Bl/6. Результаты проведенного экспериментального исследования свидетельствуют о способности изученного ингибитора пролилэндопептидазы снижать выраженность основных экстрапирамидных симптомов — ригидности и олигокинезии. Однако антикатаlepsического действия выявлено не было. Полученные данные свидетельствуют о возможном наличии нейропротекторной активности у изученного ингибитора пролилэндопептидазы и об отсутствии его прямого влияния на дофаминергическую систему.

Ключевые слова: пролилэндопептидаза, ингибиторы пролилэндопептидазы, паркинсонический синдром, мышцы, болезнь Паркинсона, нейродегенерация

Пролилолигопептидаза, или пролилэндопептидаза (ЕС 3.4.21.26; ПЭП), входит в небольшую группу высокоспецифичных пептидаз, которые, в отличие от других пептидаз, обладают способностью расщеплять пептидные связи, образованные остатком пролина. Пролинспецифичные ферменты вовлечены в регуляцию различных метаболических процессов, участвуют в дифференциации и созревании клеток, секреции и процессинге белков, катаболических процессах, иммунном ответе.

ПЭП представляет собой высококонсервативную сериновую протеазу, которая расщепляет короткие пептиды (менее 3 кДа) после пролинового остатка. Основными субстратами ПЭП являются гормоны, нейропептиды, адгезионные молекулы и т.д. [1]. ПЭП может влиять на экспрессию генов различных белков [2].

ПЭП экспрессируется повсеместно, наиболее высокая активность фермента обнаружена в

мышцах, семенниках, кортикальном слое почек и подчелюстной железе, клетках эпителия, фибробластах, лимфоцитах и тромбоцитах, сравнительно низкая — в сердце, брыжейке и аорте; относительно высокая активность ПЭП найдена в коре головного мозга, в то время как другие отделы мозга имеют весьма низкую ферментативную активность [3]. Иммуногистохимическим методом выявлено обилие ПЭП в нигростриарной системе, в частности в черной субстанции, хвостатом ядре и бледном шаре [4].

Показана роль ПЭП в процессах нейродегенерации, пролиферации, дифференцировки нейронов, развития мозга, а также при воспалении [5]. Выявлено драматическое повышение экспрессии ПЭП в астроцитах и микроглии мозга мышей после воспалительного повреждения [6, 7], при этом животные, нокаутированные по гену ПЭП, устойчивы к активации микроглии после введения липополисахарида, вызывающего нейровос-

паление [8].

Повышенный уровень ПЭП отмечается при болезни Альцгеймера (БА), болезни Паркинсона (БП) и болезни Гентингтона [9–10]. Повышение активности глии при БА и БП также связывают с повышением экспрессии ПЭП [9].

ПЭП задействована в секреции и разрушении белка α -синуклеина [2, 11]. Было установлено, что ПЭП, взаимодействуя с ним, стимулирует агрегационный процесс, а также препятствует элиминации токсичных олигомеров и фибрилл из клеток [12, 13]. При БП внутри нейронов накапливаются тельца Леви, основным компонентом которых и является α -синуклеин [14]. В посмертных образцах мозга пациентов с нейродегенерацией, возникающей при БП и БА, было обнаружено, что неправильно свернутые белки взаимодействуют с ПЭП [9]. Кроме того, повышение концентрации ПЭП было показано на модели паркинсонического синдрома (ПС), вызванного введением ротенона крысам [15]. На модели депрессивного синдрома, индуцированного введением нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), у крыс выявлено повышение активности ПЭП в структурах мезолимбической и нигростриатной дофаминергических систем [16].

С учетом роли фермента в метаболических процессах, модуляции функционирования различных гормонов и ферментов, участия в воспалительных и нейродегенеративных процессах, а также способности к образованию агрегатов с белками ингибирование ПЭП может оказаться перспективной стратегией в лечении нейродегенеративных заболеваний, в частности БП — заболевания, в развитие которого большой вклад вносят дисфункция митохондрий, нейровоспаление и накопление белка α -синуклеина, приводящие к гибели дофаминергических нейронов [17].

Для оценки возможности использования ингибитора ПЭП в качестве антипаркинсонического средства нами было проведено исследование его активности в тесте галоперидоловой каталепсии и на модели экспериментального ПС, индуцированного однократным введением мышам пронеуротоксина МФТП, вызывающего дефицит дофамина в стриатуме, при последующем проявлении экстрапирамидных нарушений. Целью настоящей работы являлось изучение антипаркинсонической активности ингибитора ПЭП бензилоксикарбонил-метионил-2(S)-цианопирролидина в эксперименте у мышей.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 30 самцах белых аутбредных мышей SHK массой 27–30 г и на 30 самцах мышей инбредной линии C57Bl/6 массой 25–28 г (питомник-филиал «Столбовая» ФГБУН

«Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»). Животные были рандомизированно распределены по группам (10 животных в каждой). Они содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме. Содержание животных осуществлялось в соответствии с нормативным документом СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Организация и проведение работы соответствовали международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказ Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Исследование выполнено согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств с противопаркинсонической активностью «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2012» [18].

Неконкурентный ингибитор ПЭП, бензилоксикарбонил-метионил-2(S)-цианопирролидин (Z-Met), синтезирован в ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» В.Ф. Поздневым.

Оценку влияния ингибитора ПЭП на дофаминергическую систему проводили с помощью теста галоперидоловой каталепсии на аутбредных мышях SHK. Галоперидол является типичным нейролептиком, вызывающим блокаду дофаминергических рецепторов, и при его применении наблюдается развитие экстрапирамидных нарушений. Z-Met в дозах 5 и 10 мг/кг или физиологический раствор вводили внутрибрюшинно в объеме 10 мл/кг за 10 мин до введения галоперидола (1 мг/кг внутрибрюшинно). Через полтора часа после введения галоперидола мышь располагали у горизонтального стержня, закрепленного на высоте 4 см диаметром 0,5 см так, чтобы она опиралась на обе передние лапки («поза лектора»). Попытки придать животному нужную позу продолжали не более 1 мин. Фиксировали время пребывания животного в неподвижном состоянии в неудобной позе. Максимальное время наблюдения составляло 2 мин. Эффективность ингибитора ПЭП Z-Met оценивали по способности уменьшать время каталептогенного состояния животных.

Моделирование ПС вызвали однократным внутрибрюшинным введением нейротоксина МФТП в дозе 30 мг/кг мышам линии C57Bl/6 [19]. Z-Met в дозе 10 мг/кг вводили за 30 мин до введения нейротоксина. Группы контрольных животных (с МФТП и без МФТП) получали внутрибрюшинно физиологический раствор в эквивалентном объеме (10 мл/кг).

Изучение влияния Z-Met на экстрапирамидные нарушения у мышей с ПС, вызванным МФТП, проводили с использованием теста оценки ригидности и тестов, позволяющих оценить олигокинезию: «Открытое поле», «Вращающийся горизонтальный стержень» и «Вертикальный стержень».

Оценку ригидности проводили через 10–12 мин после введения нейротоксина количественно по изменению длины шага у мышей (Stride Length Test). Каждое животное с предварительно окрашенными нетоксичными красками лапами помещали на маркировочную ленту, выстилающую пенал (высота стенок 8 см, ширина 8 см, длина 50 см). Измеряли расстояние (по прямой) между следами лапок в 4–6 шагах животного, вычисляли среднее значение для каждого животного. Шаги в начале и в конце аллеи не учитывали.

Через 90 мин после введения нейротоксина оценивали выраженность олигокинезии по изменению двигательной активности в актометре «Opto Varimex» (Columbus Instruments, США), представляющем собой квадратную арену со стороной 39 см и высотой 20 см с располагающимися по периметру регистрирующими передвигания животных фотоэлементами. Учитывали среднюю величину перемещений за 1 мин в пересчете на одно животное для каждой группы (общее время наблюдения 3 мин).

Тест «Вращающийся стержень» проводили в установке Roda Rod для мышей (Ugo Basile, Италия), которая представляет собой вращающийся барабан (6 см в диаметре), разделенный 6 дисками (25 см в диаметре) на 5 одинаковых частей. Каждое животное помещали в разделенные перегородками компартменты стержня, который вращался с постоянной скоростью 10 об./мин. Фиксировалось латентное время первого падения животного с барабана установки в течение 180 с.

Тест «Вертикальный стержень» (Pole Test) является одним из хорошо воспроизводимых методов для оценки экстрапирамидных нарушений у грызунов с ПС. Установка представляет собой металлический стержень высотой 50 см и диаметром 1 см, обернутый по всей длине бинтом, с пробковым окончанием на вершине диаметром 1,5 см, закрепленным на вершине стержня. Стержень, жестко закрепленный в тяжелом металлическом основании, удерживающем его в вертикальном

положении, располагают в домашней клетке мышей. Животное помещают на верхушку вертикального стержня носом вверх и регистрируют в течение нескольких последовательных подходов латентное время, необходимое животному для ориентирования: поворота в направлении спуска (t-поворота) и спуска в клетку (t-спуска). Максимальное время тестирования составляло 120 с.

Через 24 ч после введения МФТП проводили оценку двигательной активности в установке «Открытое поле» (TS0501-M, «НПК Открытая Наука», РФ), представляющей собой круглую арену диаметром 63 см с бортиком высотой 32 см. Пол арены расчерчен на 19 секторов примерно одинаковой площади, которые располагаются в 3 ряда, и имеет 13 круглых отверстий по 1 см в диаметре. Регистрировали горизонтальную двигательную активность, вертикальную активность у животных, а также число обследованных отверстий в течение 2 мин наблюдения.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета Statistica 10.0. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, равенство дисперсий оценивали с помощью критерия Левена. Критерий Ньюмана-Кейлса применяли при соблюдении двух условий: нормального распределения в группе и равенства дисперсий между группами, данные представляли в виде среднего $\pm$ стандартной ошибки среднего. В обратном случае использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса с последующим сравнением критерием Данна, данные представлены как медиана и квартили (25%÷75%). Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В тесте галоперидоловой каталепсии Z-Met не оказал влияния на каталептогенное состояние у мышей SHK. Так, в группе животных, получавших только галоперидол в дозе 1 мг/кг, продолжительность каталепсии в среднем составила $96,17 \pm 11,58$ с, а в группах мышей, которым до введения галоперидола вводили Z-Met в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг — $97,17 \pm 12,31$ и $100,14 \pm 12,43$ с соответственно.

Однократное системное введение МФТП в дозе 30 мг/кг мышам линии C57Bl/6 приводило к появлению выраженной ригидности мышц, что проявлялось уже через 10–12 мин после введения нейротоксина в уменьшении длины шага животных на 40,9% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). На фоне введения Z-Met в дозе 10 мг/кг отмечалось снижение выраженности ригидности, что выражалось в достоверном увеличении на 20% длины шага мышей по сравнению с группой «МФТП» (рис. 1).

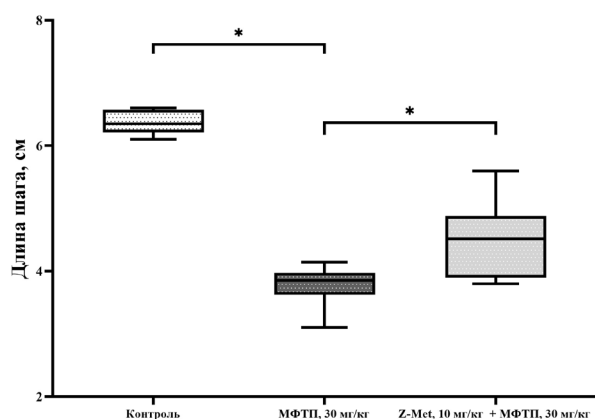


Рис. 1. Влияние ингибитора пролилэндопептидазы (Z-Met) на ригидность мышц у мышей C57BL/6 с паркинсоническим синдромом, вызванным однократным введением пронеуротоксина МФТП (подробности в тексте). * — $p < 0,05$ по сравнению с группой МФТП по критерию Краскела-Уоллиса с последующим сравнением критерием Данна. Границами ящичковой диаграммы служат 1-я и 3-я квартили (25% и 75%), линия в середине обозначает медиану (50%), концы усов — минимальное и максимальное наблюдаемые значения данных в выборке.

Оценку олигокинезии у животных с ПС, индуцированным однократным введением МФТП (30 мг/кг), проводили через 90–120 мин после введения нейротоксина. У животных группы «МФТП» отмечалось снижение двигательной активности в актометре (рис. 2). Количество горизонтальных

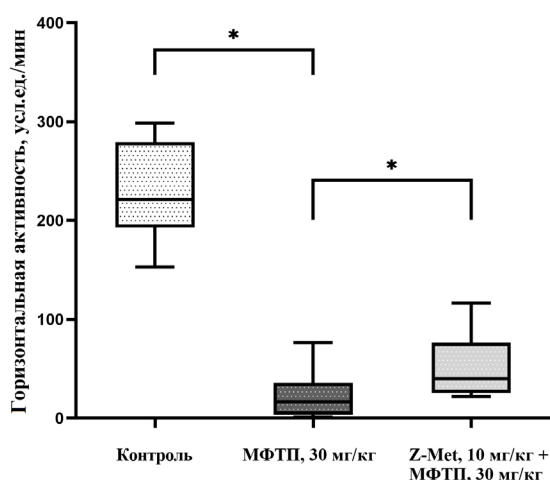


Рис. 2. Влияние ингибитора пролилэндопептидазы (Z-Met) на двигательную активность мышей C57BL/6 с паркинсоническим синдромом, вызванным однократным введением пронеуротоксина МФТП в актометре (подробности в тексте). * — $p < 0,05$ по сравнению с группой МФТП по критерию Краскела-Уоллиса с последующим сравнением критерием Данна. Границами ящичковой диаграммы служат 1-я и 3-я квартили (25% и 75%), линия в середине обозначает медиану (50%), концы усов — минимальное и максимальное наблюдаемые значения данных в выборке.

перемещений на фоне введения МФТП уменьши-

лось в 13,3 раза по сравнению с показателем контрольной группы животных ($p < 0,05$). Введение ингибитора ПЭП Z-Met в дозе 10 мг/кг снизило выраженность олигокинезии, увеличив число горизонтальных перемещений в 2,4 раза относительно группы «МФТП» ($p < 0,05$) (рис. 2).

У животных с ПС, вызванным однократным введением МФТП, через 90–100 мин после инъекции нейротоксина развивался выраженный моторный дефицит, регистрируемый в тесте «Вращающийся стержень» (табл. 1). Так, продолжительность удержания на вращающемся стержне мышцей группы «МФТП» была в 11,3 раза меньше показателя контрольной группы ($p < 0,05$). Введение ингибитора ПЭП приводило к уменьшению моторного дефицита у мышей с ПС, что выразилось в увеличении в 6,1 раза продолжительности удержания животных на вращающемся стержне по сравнению с группой, получавшей только нейротоксин, однако не достигавшем статистической значимости (табл. 1).

Оценка поведения мышей с ПС в условиях теста «Вертикальный стержень» показала, что животным с МФТП-индуцированным ПС было значительно труднее осуществить поворот в направлении движения к клетке (сверху вниз): среднее время, необходимое для поворота животных с ПС в сторону клетки, было в 31,0 раз больше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Также мышам с индуцированным МФТП ПС требовалось в 8,5 раза ($p < 0,05$) больше времени для спуска по тонкому вертикальному стержню в клетку, чем животным без патологии (табл. 1). Однократное введение Z-Met в дозе 10 мг/кг за 30 мин до инъекции нейротоксина приводило к уменьшению олигокинезии и выраженности нарушений координации движений в тесте «Вертикальный стержень». На фоне введения препарата наблюдалось уменьшение в 2,6 раза времени, необходимого для осуществления животными поворота в сторону клетки, и сокращение в 1,5 раза продолжительности спуска по сравнению с группой животных с ПС, не получавших препаратов (табл. 1).

Через 24 ч в тесте «Открытое поле» проводили оценку выраженности олигокинезии у мышей с ПС. В группе животных, которым вводили только МФТП, проявления экстрапирамидной симптоматики, характерной для ПС, продолжали наблюдаться. Так, число горизонтальных перемещений в группе «МФТП» было в 1,8 раза меньше по сравнению с показателем контрольной группы (табл. 2). Введение ингибитора ПЭП корректировало проявление олигокинезии, увеличивая горизонтальную активность животных в 1,44 раза по сравнению с группой «МФТП» (табл. 2).

Результаты проведенного экспериментального исследования свидетельствуют о способности

Таблица 1

Влияние ингибитора пролилэндопептидазы (Z-Met) на олигокинезию у мышей линии C57BL/6 с паркинсоническим синдромом (медиана, 25%÷75%)

Группа, доза, способ введения	Вращающийся стержень	Вертикальный стержень	
	Время удержания, с	Латентное время переворота, с	Продолжительность спуска, с
Контроль, физиологический раствор	180 (180÷180)*	1,0 (1,0÷1,25)*	7,5 (7,0÷8,75)*
МФТП, 30 мг/кг	16 (12÷55)	29,5 (20,0÷37,0)	63,0 (60,0÷82,5)
Z-Met, 10 мг/кг + МФТП, 30 мг/кг	98 (27÷180)	5,0 (3,0÷20,0)*	60,0 (30,0÷60,0)*

МФТП – нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин;

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой МФТП по критерию Краскела-Уоллиса с последующим сравнением критерием Данна

неконкурентного ингибитора ПЭП Z-Met снижать выраженность экстрапирамидных симптомов, вызванных введением нейротоксина МФТП, обуславливающим специфическое повреждение дофаминергических нейронов у мышей инбред-

тивных процессах [5, 9].

Таким образом, результаты проведенной экспериментальной работы свидетельствуют о перспективе ингибирования ПЭП как стратегии нейропротекторной терапии при нейродегенера-

Таблица 2

Влияние ингибитора пролилэндопептидазы (Z-Met) на двигательную активность мышей линии C57BL/6 с паркинсоническим синдромом в тесте «Открытое поле», (среднее + стандартная ошибка среднего)

Группа, доза, способ введения	Горизонтальная активность, усл.ед.	Вертикальная активность, усл.ед.
Контроль, физиологический раствор	54,86 ± 4,91*	5,29 ± 0,75
МФТП, 30 мг/кг	30,75 ± 2,54	2,88 ± 0,72
Z-Met, 10 мг/кг + МФТП, 30 мг/кг	44,33±4,07*	4,22±0,98

МФТП – нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин;

* – $p < 0,05$ достоверность отличий относительно группы МФТП по критерию Ньюмана-Кейлса

ной линии C57Bl/6.

Отсутствие влияния ингибитора ПЭП Z-Met на каталептогенное состояние мышей SHK, вызванное введением типичного нейрорептика галоперидола, вызывающего блокаду дофаминовых рецепторов nigrostriарной системы, позволяют сделать заключение об отсутствии непосредственного влияния исследуемого соединения на дофаминергическую систему. Следовательно, снижение выраженности симптомов ПС у мышей с МФТП-индуцированной экспериментальной патологией при введении Z-Met, вероятнее всего, обусловлено нейропротекторными свойствами соединения за счёт ингибирования ПЭП, активность которой повышается при нейродегенера-

тивных заболеваниях – в частности, БП, хотя это и требует дальнейшего изучения.

Исследование выполнено в рамках Государственного задания (проект № 0521-2019-0007).

Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Babkova K., Korabecny J., Soukup O., Nepovimova E., Jun D., Kuca K. Prolyl oligopeptidase and its role in the organism: attention to the most promising and clinically relevant inhibitors // *Future Med. Chem.* 2017. Vol. 9. N 10. P. 1015–1038.
2. Myohanen T.T., Hannula M.J., Van Elzen R., Gerard M., Van Der Veken P., Garcia-Horsman J.A., Baekelandt V., Mannisto P.T., Lambeir A.M. A prolyl oligopeptidase inhibitor, KYP-2047, reduces alpha-synuclein protein levels and aggregates in cellular and animal models of Parkinson's disease // *Brit. J. Pharmacol.* 2012. Vol. 166. N 3. P. 1097–1113.
3. Беседин Д.В., Руденская Г.Н. Пролинспецифические эндопептидазы // *Биорг. хим.* 2003. Т. 29. № 1. С. 3–20.
4. Myohanen T.T., Venalainen J.I., Tupala E., Garcia-Horsman J.A., Miettinen R., Mannisto P.T. Distribution of immunoreactive prolyl oligopeptidase in human and rat brain // *Neurochem. Res.* 2007. Vol. 32. N 8. P. 1365–1374.
5. Tenorio-Laranga J., Montoliu C., Urios A., Hernandez-Rabaza V., Ahabrach H., Garcia-Horsman J.A., Felipe V. The expression levels of prolyl oligopeptidase responds not only to neuroinflammation but also to systemic inflammation upon liver failure in rat models and cirrhotic patients // *J. Neuroinflamm.* 2015. Vol. 12: 183.
6. Penttinen A., Tenorio-Laranga J., Siikanen A., Morawski M., Rossner S., Garcia-Horsman J.A. Prolyl oligopeptidase: a rising star on the stage of neuroinflammation research // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2011. Vol. 10. N 3. P. 340–348.
7. Natunen T.A., Gynther M., Rostalski H., Jaako K., Jalkanen A.J. Extracellular prolyl oligopeptidase derived from activated microglia is a potential neuroprotection target // *Basic Clin. Pharmacol.* 2019. Vol. 124. N 1. P. 40–49.
8. Hofling C., Kuleskaya N., Jaako K., Peltonen I., Mannisto P.T., Nurmi A., Vartiainen N., Morawski M., Zharkovsky A., Voikar V., Rossner S., Garcia-Horsman J.A. Deficiency of prolyl oligopeptidase in mice disturbs synaptic plasticity and reduces anxiety-like behaviour, body weight, and brain volume // *Eur. Neuropsychopharm.* 2016. Vol. 26. N 6. P. 1048–1061.
9. Hannula M.J., Myohanen T.T., Tenorio-Laranga J., Mannisto P.T., Garcia-Horsman J.A. Prolyl oligopeptidase colocalizes with alpha-synuclein, beta-amyloid, tau protein and astroglia in the post-mortem brain samples with Parkinson's and Alzheimer's diseases // *Neuroscience.* 2013. Vol. 242. P. 140–150.
10. Mannisto P.T., Venalainen J., Jalkanen A., Garcia-Horsman J.A. Prolyl oligopeptidase: a potential target for the treatment of cognitive disorders // *Drug News Perspect.* 2007. Vol. 20. N 5. P. 293–305.
11. Dokleja L., Hannula M.J., Myohanen T.T. Inhibition of prolyl oligopeptidase increases the survival of alpha-synuclein overexpressing cells after rotenone exposure by reducing alpha-synuclein oligomers // *Neurosci. Lett.* 2014. Vol. 583. P. 37–42.
12. Di Daniel E., Glover C.P., Grot E., Chan M.K., Sanderson T.H., White J.H., Ellis C.L., Gallagher K.T., Uney J., Thomas J., Maycox P.R., Mudge A.W. Prolyl oligopeptidase binds to GAP-43 and functions without its peptidase activity // *Mol. Cell Neurosci.* 2009. Vol. 41. N 3. P. 373–382.
13. Myohanen T.T., Norrbacka S., Savolainen M.H. Prolyl oligopeptidase inhibition attenuates the toxicity of a proteasomal inhibitor, lactacystin, in the alpha-synuclein overexpressing cell culture // *Neurosci. Lett.* 2017. Vol. 636. P. 83–89.
14. Lashuel H.A., Overk C.R., Oueslati A., Masliah E. The many faces of alpha-synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target // *Nat. Rev. Neurosci.* 2013. Vol. 14. N 1. P. 38–48.
15. Ivanova E.A., Zolotov N.N., Kapitsa I.G., Pozdnev V.F., Valdman E.A., Voronina T.A. Proline-specific endopeptidase and adenosine deaminase activity in blood serum and cerebrospinal fluid in experimental parkinson's syndrome // *Immunologiya.* 2017. Vol. 38. N 4. P. 213–218.
16. Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Bogdanova N.G., Zolotov N.N. Effect of prolyl endopeptidase inhibitor benzyloxycarbonyl-methionyl-2(s)-cyanopyrrolidine on activity of proline-specific peptidases in brain structures of rats with experimental MPTP-induced depressive syndrome // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013. Vol. 155. N 6. P. 670–674.
17. Rocha E.M., De Miranda B., Sanders L.H. Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease // *Neurobiol. Dis.* 2018. Vol. 109. Part B. P. 249–257.
18. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
19. Blandini F., Armentero M.T. Animal models of Parkinson's disease // *FEBS J.* 2012. Vol. 279. N 7. P. 1156–1166.

Поступила в редакцию 25.01.2019 г.

После доработки 16.04.2019 г.

Принята в печать 23.04.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

THE ANTIPARKINSONIAN ACTION OF THE PROLYL ENDOPEPTIDASE INHIBITOR IN MICE

A.P. Kalinina*, I.G. Kapitsa, E.A. Ivanova, T.A. Voronina

Laboratory of Psychopharmacology, FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Baltiyskaya ul. 8,
Moscow, 125315, Russia;

*e-mail: viburnum.fbm@gmail.com

Prolyl endopeptidase is involved in neurodegeneration, proliferation, neuroinflammation and neuron differentiation. It has been observed that severity of neurodegenerative process correlates with increasing level of prolyl endopeptidase in the brain. According to the recent research, prolyl endopeptidase might interact with prion-like proteins, which are believed to be the key players in the development of neurodegenerative diseases. Consequently, prolyl endopeptidase inhibitors might be a promising group of chemicals to study in neurodegenerative diseases, particularly Parkinson's disease. The aim of the research was to determine the effects of a new inhibitor of prolyl endopeptidase by haloperidol catalepsy test in SHK mice and MPTP induced Parkinson-like syndrome in C57Bl/6 mice. Neurotoxin MPTP (30 mg/kg, single intraperitoneal injection) was used to provide the specific dopaminergic damage in C57Bl/6 mice. As a result, the compound reduces the severity of main extrapyramidal symptoms: rigidity and motor deficits. However, the anticataleptic activity was not found. According to our results, the prolyl endopeptidase inhibitor does not effect on the dopaminergic neurons directly, but provides neuroprotection to the neurons.

Keywords: *prolyl endopeptidase, prolyl endopeptidase inhibitors, Parkinson-like syndrome, mice, Parkinson's disease, neurodegeneration*

Сведения об авторах

Калинина Анна Павловна — лаборант-исследователь, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»; студентка факультета фундаментальной медицины МГУ. Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: viburnum.fbm@gmail.com

Капица Инга Геннадиевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: ingakap73@mail.ru

Иванова Елена Анатольевна — канд. фарм. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: iwanowaea@yandex.ru

Воронина Татьяна Александровна — докт. мед. наук, проф., зав. лабораторией психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Тел.: 8-495-601-24-14; e-mail: voroninata38@gmail.com