

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-P В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СИНДРОМА

© И.В. Черных, А.В. Шулькин, П.Ю. Мыльников, М.В. Гацанога,  
А.С. Есенина, М.М. Градинарь, Е.Н. Якушева

ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет  
им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия

**Актуальность.** Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1-белок) – мембранный белок-транспортер с широкой субстратной специфичностью, который локализуется в гепатоцитах, энтероцитах, эпителии почечных канальцев, а также в тканевых барьерах, включая гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Повышение активности Pgp в ГЭБ является одной из причин фармакорезистентности ряда заболеваний ЦНС. **Цель.** Анализ функциональной активности Pgp в ГЭБ при экспериментальном паркинсоническом синдроме. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 90 крысах-самцах вистар, разделенных на 3 серии (n=30 в каждой). Первой серии (контроль) в течение 7 сут подкожно 1 раз в сут вводили подсолнечное масло, на 8-е сут оценивали активность Pgp в ГЭБ. Второй и третьей серии (контроль патологии) – в течение 7 и 28 сут вводили ротенон подкожно в дозе 2,5 мг/кг 1 раз в сут для моделирования синдрома паркинсонизма, а в конце эксперимента оценивали активность Pgp. Для подтверждения паркинсонического синдрома, помимо клинической картины, у животных методом иммуноферментного анализа определяли уровень дофамина в стриатуме и среднем мозге. Функциональную активность Pgp в ГЭБ оценивали по степени проникновения в кору головного мозга маркерного субстрата транспортера – фексофенадина после его внутривенного введения в дозе 10 мг/кг. Содержание фексофенадина в плазме крови и в коре больших полушарий оценивали по площади под кривой концентрация фексофенадина (в крови или ткани мозга) – время ( $AUC_{0-t(плазма)}$  или  $AUC_{0-t(мозг)}$ ). Для оценки проницаемости ГЭБ рассчитывали соотношение  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$ . **Результаты.** Введение ротенона приводило к развитию типичной картины паркинсонизма: ригидность мышц, гипокинезия, нестабильность походки. Отмечалось снижение уровня дофамина в стриатуме на 7 сут на 69,6% (p=0,095), на 28 сут – на 93,9% (p=0,008), в среднем мозге – на 72,7% (p=0,095) и 68,7% (p=0,032) соответственно. При внутривенном введении контрольным крысам фексофенадина  $AUC_{0-t(плазма)}$  и  $AUC_{0-t(мозг)}$  вещества составили соответственно 266,2 (246,4; 285,6) мкг/мл\*мин и 5,9 (5,8; 6,6) мкг/г\*мин,  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  – 0,020 (0,019; 0,022). Введение животным ротенона в течение 7 дней приводило к возрастанию  $AUC_{0-t(мозг)}$  фексофенадина в 2,02 раза (p=0,0163),  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  – в 2,4 раза (p=0,0283). 28-дневное введение ротенона сопровождалось возрастанием  $AUC_{0-t(мозг)}$  фексофенадина в 1,75 раза (p=0,0283),  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  – в 2,27 раза (p=0,0163). **Вывод.** Развитие паркинсонического синдрома, вызванного введением ротенона, снижает функциональную активность Pgp в ГЭБ, что подтверждается накоплением в головном мозге маркерного субстрата транспортера – фексофенадина.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона; паркинсонический синдром; гликопротеин-P; функциональная активность; гематоэнцефалический барьер.



## FUNCTIONAL ACTIVITY OF P-GLYCOPROTEIN IN BLOOD-BRAIN BARRIER DURING EXPERIMENTAL PARKINSON'S SYNDROME

I.V. Chernykh, A.V. Shchulkin, P.Yu. Mylnikov, M.V. Gatsanoga,  
A.S. Yesenina, M.M. Gradinar, E.N. Yakusheva

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

**Background.** P-glycoprotein (Pgp, ABCB1-protein) is a membrane transporter with broad substrate specificity that is localized in hepatocytes, enterocytes, epithelial renal tubules, and also in tissue barriers, including blood-brain barrier (BBB). Increased Pgp activity in BBB is one of the reasons for the pharmacoresistance of a number of CNS diseases. **Aim.** Analysis of Pgp functional activity in BBB during experimental Parkinson's syndrome. **Materials and Methods.** The work was performed on 90 Wistar rats, divided into 3 series (n=30 in each). The 1 series (control) was subcutaneously injected sunflower oil once a day for 7 days, and Pgp activity in BBB was assessed on the 8<sup>th</sup> day. The 2 and 3 series (pathology control) – were administered rotenone at a dose of 2.5 mg/kg once a day for 7 and 28 days respectively to simulate parkinsonism. At the end of the experiment Pgp activity was estimated. To confirm Parkinson's syndrome, in addition to the clinical picture, level of dopamine in midbrain and striatum was determined using enzyme-linked immunosorbent assay. Pgp functional activity in BBB was assessed by the degree of penetration of its marker substrate fexofenadine into the brain after its intravenous administration at a dose of 10 mg/kg. The content of fexofenadine in the blood plasma and in brain tissue was estimated by the area under pharmacokinetic curve of the substance (in the blood or brain tissues) –  $AUC_{0-t(plasma)}$  or  $AUC_{0-t(brain)}$  respectively. To assess the BBB permeability the ratio  $AUC_{0-t(brain)} / AUC_{0-t(plasma)}$  was calculated. **Results.** Rotenone administration led to the development of parkinsonism typical picture: muscle stiffness, hypokinesia, gait instability. There was a decrease in dopamine level in the striatum after 7 days by 69.6% ( $p=0.095$ ), after 28 days – by 93.9% ( $p=0.008$ ), in midbrain – by 72.7% ( $p=0.095$ ) and 68.7% ( $p=0.032$ ) respectively. Fexofenadine  $AUC_{0-t(plasma)}$  and  $AUC_{0-t(brain)}$  after its intravenous administration to control rats were 266.2 (246.4; 285.6)  $\mu g/ml \cdot min$  and 5.9 (5.8; 6.6)  $\mu g/g \cdot min$  respectively,  $AUC_{0-t(brain)} / AUC_{0-t(plasma)}$  – 0.020 (0.019; 0.022). When rotenone was for 7 days administered – fexofenadine  $AUC_{0-t(brain)}$  increased 2.02 times ( $p=0.0163$ ),  $AUC_{0-t(brain)} / AUC_{0-t(plasma)}$  – 2.4 times ( $p=0.0283$ ). 28 days administration of rotenone led to augmentation of  $AUC_{0-t(brain)}$  of fexofenadine by 1.75 times ( $p=0.0283$ ),  $AUC_{0-t(brain)} / AUC_{0-t(plasma)}$  – by 2.27 times ( $p=0.0163$ ). **Conclusions.** The development of Parkinson's syndrome, caused by the administration of rotenone, inhibits Pgp functional activity in BBB, which is confirmed by the accumulation in the brain marker substrate of the transporter – fexofenadine.

**Keywords:** Parkinson's disease; Parkinson's syndrome; P-glycoprotein; functional activity; blood-brain barrier.

Болезнь Паркинсона – социально значимое хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, в основе патогенеза которого лежит гибель нейронов черной субстанции, среднего мозга и ряда других отделов головного мозга, основным ней-

ромедиатором которых является дофамин. Для болезни характерен широкий спектр двигательных, нервно-психических и сенсорных расстройств [1]. Этиология болезни Паркинсона до конца не выяснена, однако среди ее причин доминируют генетические, конституциональные, возрастные и

токсические факторы и механизмы. Среди химических агентов выделяют многие пестициды, инсектициды и другие нейротоксины, молекулярной основой действия которых являются изменения конформации молекулы пресинаптического белка  $\alpha$ -синуклеина и способность существенно ускорять темп образования в нейронах  $\alpha$ -синуклеиновых фибрилл и телец Леви [2].

Определенное значение в развитии паркинсонизма придается способности пестицидов нарушать функционирование митохондрий за счет ингибирования комплекса I дыхательной цепи, стимуляции окислительного стресса и реакций апоптоза, снижения активности убиквитин-протеасомной системы [3].

Для болезни Паркинсона и других видов хронической нейродегенерации (болезнь Альцгеймера, шизофрения, аутизм) характерна дисфункция гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) с нарушением структуры плотных контактов и дисрегуляцией белков-транспортёров. При паркинсонизме проницаемость ГЭБ может возрастать в черном веществе среднего мозга и стриатуме, что связано с изменением экспрессии транспортных белков и белков межклеточных контактов, повреждением сосудов, накоплением активированной микроглии с высвобождением провоспалительных цитокинов и изменением экспрессии белков плотных контактов ZO-1 и окклюдина. Воспалительная гиперэкспрессия белков межклеточной адгезии облегчает миграцию иммунных клеток в область повреждения, увеличивая проницаемость ГЭБ [4].

Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1-белок) – это один из переносчиков, локализованный в эндотелиоцитах ГЭБ, представляющий собой эффлюксный АТФ-зависимый трансмембранный белок с молекулярной массой 170 кДа, препятствующий проникновению из крови в головной мозг большого числа эндогенных и экзогенных веществ различной химической природы, являющихся его субстратами [5].

Функциональная активность Pgp может повышаться или снижаться под влия-

нием факторов внешней и внутренней среды, а также лекарственных веществ [6]. При ингибировании функции Pgp проницаемость ГЭБ для его субстратов и их содержание в ткани мозга увеличивается, а индукция активности транспортера, напротив, приводит к уменьшению концентрации его субстратов в головном мозге [7].

С повышением активности Pgp в ГЭБ связывают развитие фармакорезистентной эпилепсии, неэффективность лекарственной терапии острого нарушения мозгового кровообращения и болезни Альцгеймера [8]. С другой стороны, ряд авторов сообщает о сниженной активности транспортера как одном из ведущих патогенетических звеньев болезни Паркинсона [9], а фармакологическая индукция Pgp, возможно, является стратегией, позволяющей предотвратить развитие данной патологии.

Целью исследования явилась оценка функциональной активности Pgp в ГЭБ коры больших полушарий головного мозга крыс на фоне экспериментального паркинсонического синдрома.

### Материалы и методы

Исследование выполнено на 90 крысах-самцах вистар массой 280-320 г в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (Приказ МЗ РФ №199н от 1 апреля 2016 г).

Функциональную активность Pgp в ГЭБ оценивали по степени проникновения в кору головного мозга маркерного субстрата белка-транспортёра – фексофенадина, который вводили внутривенно (в/в) в дозе 10 мг/кг массы.

Животных разделяли на 3 серии (n=30 в каждой). Животным первой серии (контроль) в течение 7 суток подкожно 1 раз в сут вводили подсолнечное масло, на 8-е сутки им в хвостовую вену вводили фексофенадин. Животным второй и третьей серий (контроль патологии) – в течение соответственно 7 и 28 суток вводили ротенон подкожно в дозе 2,5 мг/кг массы 1 раз в сутки [10] для моделирования синдрома паркинсонизма, затем на 8-е сутки в/в вводили фексофенадин.

В связи с отсутствием лекарственной формы фексофенадина для инъекций производили экстракцию лекарственного вещества из таблеток «Аллегра», «Sanofy», Франция (180 мг) по следующей методике: одну таблетку измельчали и суспендировали в 20 мл ацетонитрила («ACROS ORGANICS», Бельгия) категории «Для ВЭЖХ», содержимое взбалтывали на приборе Shaker в течение 15 мин с последующим центрифугированием 15 мин при 1750 g. Надосадочный слой упаривали на роторно-вакуумном испарителе и сухой остаток растворяли в 10 мл воды для инъекций. Концентрацию фексофенадина определяли методом ВЭЖХ для последующего расчета дозы [11].

Крыс всех серий выводили из эксперимента через 5, 10, 15, 30, 45 и 60 мин после введения фексофенадина под золетиловым наркозом, брали по 5 животных на каждую временную точку для построения фармакокинетической кривой. Для анализа у них забирали кровь в объеме 4 мл из брюшной аорты, а также кору больших полушарий головного мозга, в которых затем определяли концентрацию фексофенадина методом ВЭЖХ с УФ-детектированием по методике, описанной ранее, после соответствующей пробоподготовки [7,12].

Общее содержание фексофенадина, попавшее в системный кровоток и в кору больших полушарий, оценивали по площади под кривой концентрация фексофенадина (в крови или ткани коры больших полушарий головного мозга) – время ( $AUC_{0-t(плазма)}$  или  $AUC_{0-t(мозг)}$ ), которые рассчитывали по методу трапеций. В связи с тем, что увеличение параметра  $AUC_{0-t(мозг)}$  может быть следствием как снижения функциональной активности  $P_{gr}$  локально в ГЭБ, так и возрастания концентрации маркерного субстрата транспортера в плазме крови, целесообразно дополнительно оценивать отношение  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$ , изменение которого будет характеризовать активность  $P_{gr}$  именно в ГЭБ [11].

Для подтверждения развития паркинсонического синдрома у животных,

помимо оценки его клинической картины, методом иммуноферментного анализа на ИФА анализаторе (Stat Fax – 2100, США) определяли уровень дофамина в стриатуме и среднем мозге выборочно у 5 крыс в каждой из 3-х серий (реактивы: CEA851Ge 96 Tests, Cloud-Clone Corp., США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statsoft Statistica 7.0 (США)». Характер распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данных статистическую значимость различий оценивали с помощью теста ANOVA, попарные сравнения выполняли с помощью критерия Фишера. При распределении данных, отличном от нормального, различия между сериями оценивали с помощью критерия Крускала-Уоллиса. При уровне значимости менее 0,05 проводили парное сравнение параметров с помощью критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферонни. Данные представлены в виде среднего арифметического  $\pm$  стандартное отклонение среднего при нормальном распределении данных или медианы, нижнего и верхнего квартилей при распределении данных, отличном от нормального.

### Результаты и их обсуждение

Введение ротенона в течение 7 и 28 дней приводило к развитию типичной картины паркинсонизма: ригидность мышц, гипокинезия, нестабильность и шаткость походки. У животных отмечалось снижение уровня дофамина в стриатуме на 7 сут на 69,6% ( $p=0,095$ ), на 28 сут – на 93,9% ( $p=0,008$ ), в среднем мозге – на 72,7% ( $p=0,095$ ) и на 68,7% ( $p=0,032$ ) соответственно (табл. 1). Достоверных различий между содержанием дофамина в среднем мозге на 7 и 28 дни введения ротенона выявлено не было ( $p>0,05$ ), однако, в стриатуме концентрация дофамина на 28 день была ниже значения на 7 день на 80,0% ( $p=0,056$ ).

Изменение плазменной концентрации фексофенадина и его содержания в гомогенате головного мозга крыс после однократного внутривенного введения в

Таблица 1

*Уровень дофамина (нг/мг ткани) в стриатуме и среднем мозге крыс после введения подсолнечного масла (контроль) и ротенона (статистическая значимость представлена по сравнению с контролем)*

Серия эксперимента	Уровень дофамина: стриатум	Уровень дофамина: средний мозг
Контроль (n=5)	14,8 (13,1; 16,5)	9,9 (6,6; 15,1)
Ротенон 7 дней (n=5)	4,5 (1,6; 11,3), p=0,095	2,7 (1,5; 8,5), p=0,095
Ротенон 28 дней (n=5)	0,9 (0,5; 1,7), p=0,008	3,1 (1,7; 6,5), p=0,032

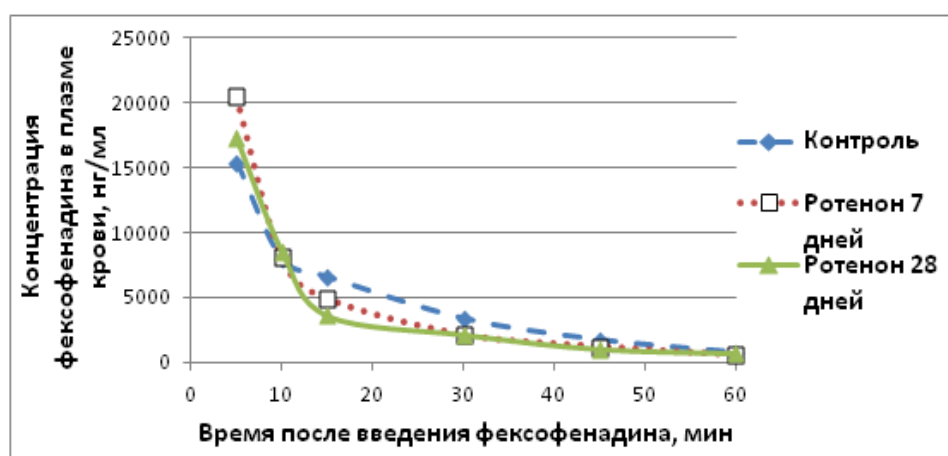


Рис. 1. Динамика плазменной концентрации фексофенадина после его внутривенного введения в сериях контроля и введения ротенона в течение 7 и 28 дней (медианы значений)

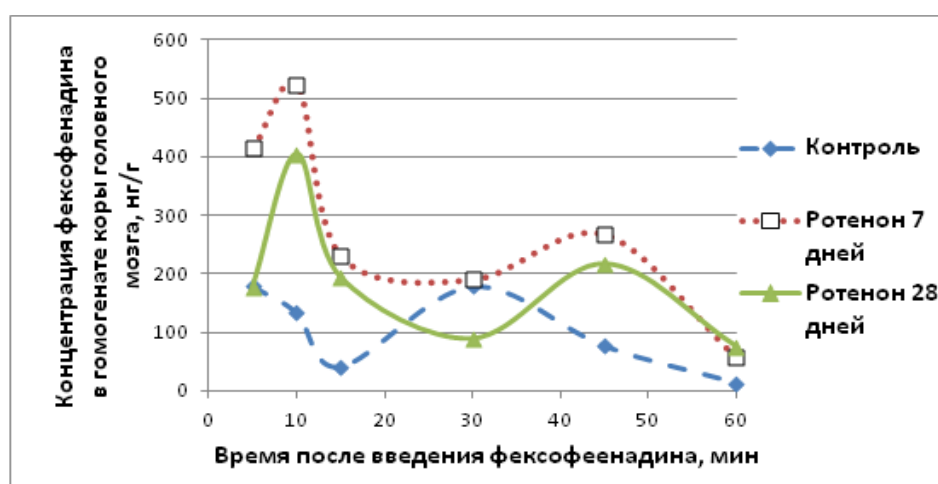


Рис. 2. Динамика концентрации фексофенадина после его внутривенного введения в гомогенате коры больших полушарий головного мозга в сериях контроля и введения ротенона в течение 7 и 28 дней (медианы значений)



различных экспериментальных сериях представлено на рисунках 1, 2 соответственно.

Динамика плазменных концентраций фексофенадина достоверно не отличалась во всех экспериментальных сериях ( $p > 0,05$ ). При этом, максимальная концентрация вещества определялась через 5 мин после введения с постепенным снижением к 60 мин наблюдения. Следует отметить, что в серии 28-дневного введения ротенона, через 15 мин содержание фексофенадина в плазме крови животных было ниже в 1,82 раза ( $p = 0,0472$ ) по сравнению с контролем.

Концентрация фексофенадина в гомогенате коры больших полушарий головного мозга крыс была выше контрольных значений после 7-дневного введения ротенона через 10 и 45 мин на уровне тенденции в 3,91 и в 3,53 раза соответственно ( $p = 0,0758$ ). 28-дневное введение ротенона приводило к возрастанию содержания фексофенадина в мозге через 10 мин в 3,02 раза ( $p = 0,0283$ ) и через 15 мин – в 4,85 раза (тенденция:  $p = 0,0758$ ).

При внутривенном введении контрольным крысам фексофенадина  $AUC_{0-t(плазма)}$  и  $AUC_{0-t(мозг)}$  вещества составили соответственно 266,2 (246,4; 285,6) мкг/мл \* мин и 5,9 (5,8; 6,6) мкг/г\*мин, отношение данных параметров  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  равнялось 0,020 (0,019; 0,022). Введение животным ротенона в течение 7 дней приводило к возрастанию  $AUC_{0-t(мозг)}$  фексофенадина в 2,02 раза ( $p = 0,0163$ ), отношения  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  – в 2,4 раза ( $p = 0,0283$ ). 28-дневное введение ротенона вызывало увеличение  $AUC_{0-t(мозг)}$  фексофенадина в 1,75 раза ( $p = 0,0283$ ), отношения  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  – в 2,27 раза ( $p = 0,0163$ ). Причем между показателями серий 7- и 28-дневного введения ротенона различий выявлено не было.

Установленные изменения фармакокинетики маркерного субстрата Pgp – фексофенадина свидетельствуют о снижении функциональной активности белка-транспортера в ГЭБ на фоне введения ротенона – пестицида, вызывающего развитие паркинсонического синдрома.

Таблица 2

**Значения  $AUC_{0-t(мозг)}$ ,  $AUC_{0-t(плазма)}$  и  $AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$  фексофенадина в сериях контроля и введения ротенона в течение 7 и 28 дней**

Серия/параметр	$AUC_{0-t(мозг)}$ , мкг/г*мин	$AUC_{0-t(плазма)}$ , мкг/мл*мин	$AUC_{0-t(мозг)} / AUC_{0-t(плазма)}$
Контроль	5915,8 (5783,2; 6645,2)	266181,6 (246356,3; 285630,8)	0,0202 (0,0199; 0,0222)
Ротенон 7 дней	11940,8 (9237,8; 24989,4)*	206994,0 (195394,7; 292076,2)	0,0484 (0,0396; 0,0856)*
Ротенон 28 дней	10343,9 (8448,6; 10770,3)*	235258,6 (231383,8; 267335,3)	0,0458 (0,0447; 0,0569)*

**Примечание:** \* – статистически значимые различия по сравнению с серией контроля; данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей

Ряд исследований, посвященных изучению корреляции между полиморфизмами гена *MDR1*, кодирующего Pgp, свидетельствуют о зависимости между функционированием транспортера и развитием болезни Паркинсона. На 606 пациентах японской популяции оценивалась корреляция полиморфизма гена *MDR1 C3435T* с риском развития заболевания. У

пациентов с генотипом *TT*, ассоциированным со сниженной активностью Pgp, был выявлен повышенный риск развития болезни Паркинсона по сравнению с больными с генотипом *CC* [13].

На пациентах с болезнью Паркинсона в шведской популяции была показана корреляционная зависимость между полиморфным маркером *C1236T* гена *MDR1* и

наличием заболевания, однако полиморфизмы 2677G/T/A и 3435C/T являлись незначимыми для его развития [14].

В европейской и азиатской популяциях выявлено отсутствие корреляции между наличием полиморфного маркера C3435T гена *MDR1* и развитием болезни Паркинсона на аллельных, гомозиготных, рецессивных и доминантных моделях, при этом была обнаружена статистическая значимость влияния полиморфизма C1236T на рецессивной модели [15].

Таким образом, в исследованиях по изучению взаимосвязи полиморфизмов гена *MDR1* и развитием болезни Паркинсона получены противоречивые результаты, что требует дальнейшего изучения данного вопроса, и не исключает участия Pgp в патогенезе заболевания.

На сегодняшний день также известны исследования, результаты которых свидетельствуют об изменении функциональной активности Pgp при паркинсонизме. Например, методом фотонно-эмиссионной томографии выявлено увеличение проникновения меченного  $^{11}\text{C}$  верапамила (субстрата Pgp) в головной мозг пациентов с болезнью Паркинсона [16].

В эксперименте на крысах обнаружено 3-кратное увеличение количества Pgp-позитивных клеток в ГЭБ среднего мозга при паркинсонизме, смоделированном курсовым подкожным введением ротенона [17].

Таким образом, данные о функционировании Pgp на фоне паркинсонизма также неоднозначны.

В ходе настоящего исследования изучалась активность Pgp в ГЭБ коры больших полушарий головного мозга крыс при развитии экспериментального паркинсонического синдрома. Паркинсонический синдром моделировали подкожным введением ротенона в дозе 2,5 мг/кг 1 раз в день в течение 7 и 28 суток.

В связи с признанием роли нейротоксинов в формирование болезни Паркинсона, ряд подобных веществ (6-гидроксидофамин, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропири-

дин, ротенон и др.) используют для моделирования паркинсонизма в экспериментах *in vivo* [4]. Причем по мнению многих авторов, оптимальной моделью является подкожное введение крысам ротенона по примененной нами схеме [4,18]. Преимуществом ротеноновой модели является способность нейротоксина провоцировать дофаминергическую нейродегенерацию, наиболее схожую по своим симптомам и молекулярно-биологическим признакам с таковыми при болезни Паркинсона. Так, введение ротенона ведет к избирательной прогрессирующей дегенерации нигростриарного пути, аналогичной при наличии болезни Паркинсона [19], а также к образованию убиквитин- и  $\alpha$ -синуклеин-позитивных включений в нигральных клетках, которые сходны с тельцами Леви.

Активность Pgp в ГЭБ оценивали по проникновению маркерного субстрата транспортера – фексофенадина в головной мозг. Маркерный субстрат – это вещество экзогенного или эндогенного происхождения, фармакокинетика которого зависит в большей степени от функционирования Pgp, то есть он не подвергается биотрансформации и не является субстратом других белков-транспортеров [11].

Введение ротенона, приводило к развитию типичной картины паркинсонизма (вызывало ригидность мышц, гипокинезию, нестабильность и шаткость походки) и снижало уровень дофамина в стриатуме и среднем мозге животных. Также было обнаружено повышение проникновения фексофенадина в кору больших полушарий головного мозга животных, что свидетельствует о снижении активности Pgp в ГЭБ.

Ингибирование активности Pgp в ГЭБ может привести к аккумуляции нейротоксинов – субстратов белка-транспортера в ткани головного мозга и, как следствие, способствовать развитию нейрогенеративных процессов и манифестации патологии.

Таким образом, одним из перспективных направлений профилактики возникновения и дальнейшего прогрессирования

паркинсонизма, особенно у лиц, по роду деятельности контактирующих с токсическими веществами, возможно, является применение индукторов Pgp. В настоящее время индуцирующее влияние на белок-транспортер выявлено у ряда лекарственных средств – дексаметазона, карбамазепина, морфина, рифампицина, ретиноевой кислоты, фенотиазина и др. [20]. Однако помимо влияния на Pgp, они обладают широким спектром основных и побочных эффектов. Безопасных веществ, селективно активирующих транспортер, в настоящее время не синтезировано, а подобное действие известных препаратов, например, из группы нейропротекторов не установлено.

Таким образом, гипотеза целесообразности индукции Pgp в ГЭБ с целью профилактики паркинсонизма, связанного с воздействием нейротоксических веществ, требует экспериментальной проверки.

### Вывод

Развитие паркинсонического синдрома, вызванного подкожным введением ротенона в дозе 2,5 мг/кг массы 1 раз в сут в течение 7 и 28 дней, приводит к снижению активности гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере коры больших полушарий головного мозга крыс, что подтверждается накоплением в головном мозге маркерного субстрата белка-транспортера – фексофенадина.

### Литература

1. Раздорская В.В., Юдина Г.К., Воскресенская О.Н. Статистика амбулаторных случаев болезни Паркинсона // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2012. Т. 112, №9. С. 72-76.
2. Uversky V.N., Li J., Fink A.L. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease // FEBS Letters. 2001. Vol. 500, №3. P. 105-108. doi: 10.1016/S0014-5793(01)02597-2
3. Franco R., Li S., Rodriguez-Rocha H., et al. Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease // Chemico-Biological Interactions. 2010. Vol. 188, №2. P. 289-300. doi:10.1016/j.cbi.2010.06.003
4. Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP // Cell Tissue Research. 2004. Vol. 318, №1. P. 215-224. doi:10.1007/s00441-004-0938-y
5. Sharom F.J. The P-glycoprotein multidrug transporter // Essays in Biochemistry. 2011. Vol. 50. P. 161-178. doi:10.1042/bse0500161
6. Якушева Е.Н., Черных И.В., Шулькин А.В., и др. Половые различия функциональной активности и экспрессии гликопротеина-Р у кроликов // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. 2014. Т. 100, №8. С. 944-952.
7. Якушева Е.Н., Черных И.В., Шулькин А.В., и др. Методика определения принадлежности лекарственных средств к числу субстратов гликопротеина-Р // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2015. №3. С. 49-53. doi:10.17816/PAVLOVJ2015349-53
8. Brenn A., Grube M., Jedlitschky G., et al. St. John's Wort reduces beta-amyloid accumulation in a double transgenic Alzheimer's disease mouse model: role of P-glycoprotein // Brain Pathology. 2014. Vol. 24, №1. P. 18-24. doi:10.1111/bpa.12069
9. Desai B.S., Monahan A.J., Carvey P.M., et al. Blood-Brain Barrier Pathology in Alzheimer's and Parkinson's Disease: Implications for Drug // Therapy Cell Transplantation. 2007. Vol. 16, №3. P. 285-299. doi:10.3727/000000007783464731
10. Воронков Д.Н., Дикалова Ю.В., Худоерков Р.М., и др. Изменения в нигростриатных образованиях мозга при моделировании паркинсонизма, индуцированного ротеноном (количественное иммуноморфологическое исследование) // Анналы неврологии. 2013. Т. 7, №2. С. 34-38.
11. Черных И.В., Шулькин А.В., Мыльников П.Ю., и др. Метод анализа функциональной активности гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере // Нейрохимия. 2019. Т. 36, №1. С. 1-5. doi:10.1134/S1027813319010060
12. Гацанова М.В., Черных И.В., Шулькин А.В., и др. Можно ли оценивать принадлежность лекарственных веществ к субстратам гликопротеина-Р на самках кроликов породы шиншилла // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2016. №3. С. 5-10.
13. Kiyohara C., Miyake Y., Koyanagi M., et al. Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group. MDR1 C3435T polymorphism and interaction with environmental factors in risk of Parkinson's disease: a case-control study in Japan // Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 2013. Vol. 28, №2. P. 138-143. doi:10.2133/dmpk.DMPK-12-RG-075
14. Westerlund M., Belin A.C., Olson L., et al. Expression of multi-drug resistance 1 mRNA in human and rodent tissues: reduced levels in Parkinson patients // Cell Tissue Research. 2008. Vol. 334. P. 179-185. doi:10.1007/s00441-008-0686-5
15. Ahmed S.S.S.J., Husain R.S.A., Kumar S., et al. Association between MDR1 gene polymorphisms



and Parkinson's disease in Asian and Caucasian populations: a meta-analysis // *Journal of Neurological Sciences*. 2016. Vol. 368. P. 255-262. doi: 10.1016/j.jns.2016.07.041

16. Kortecaas R., Leenders K.L., van Oostrom J.C.H., et al. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo // *Annals of Neurology*. 2005. Vol. 57, №2. P. 176-179. doi:10.1002/ana.20369
17. Bartels A.L., van Berckel B.N., Lubberink M., et al. Blood-brain barrier P-glycoprotein function is not impaired in early Parkinson's disease // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2008. Vol. 14, №6. P. 505-508. doi:10.1016/j.parkreldis.2007.11.007
18. Cannon J.R., Tapias V., Mee N.H., et al. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease // *Neurobiology of Disease*. 2009. Vol. 34, №2. P. 279-290. doi:10.1016/j.nbd.2009.01.016
19. Begley D.J. ABC transporters and the blood-brain barrier // *Current Pharmaceutical Design*. 2004. Vol. 10, №12. P. 1295-1312. doi: 10.2174/1381612043384844
20. Якушева Е.Н., Шулькин А.В., Попова Н.М. и др. Структура, функции гликопротеина-Р и его значение для рациональной фармакотерапии // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2014. Т. 12, №2. С. 3-11.

#### References

1. Razdorskaya VV, Yudina GK, Voskresenskaya ON. Statistics of outpatient cases of Parkinson's disease. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2012;112(9):72-6. (In Russ).
2. Uversky VN, Li J, Fink AL. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Letters*. 2001;500(3):105-8. doi: 10.1016/S0014-5793(01)02597-2
3. Franco R, Li S, Rodriguez-Rocha H, et al. Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease. *Chemico-Biological Interactions*. 2010;188(2):289-300. doi:10.1016/j.cbi.2010.06.003
4. Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Research*. 2004;318(1):215-24. doi:10.1007/s00441-004-0938-y
5. Sharom FJ. The P-glycoprotein multidrug transporter. *Essays in Biochemistry*. 2011;50:161-78. doi: 10.1042/bse0500161
6. Yakusheva EN, Chernykh IV, Shchulkin AV, et al. Sex differences of P-glycoprotein functional activity and expression in rabbits. *Russian Journal of Physiology*. 2014;100(8):944-52. (In Russ).
7. Yakusheva EN, Chernykh IV, Shchulkin AV, et al. Methods of identification of drugs as P-glycoprotein substrates. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2015;(3):49-53. (In Russ). doi:10.17816/PAVLOVJ2015349-53
8. Brenn A, Grube M, Jedlitschky G, et al. St. John's Wort reduces beta-amyloid accumulation in a double transgenic Alzheimer's disease mouse model: role of P-glycoprotein. *Brain Pathology*. 2014;24(1):18-24. doi:10.1111/bpa.12069
9. Desai BS, Monahan AJ, Carvey PM, et al. Blood-Brain Barrier Pathology in Alzheimer's and Parkinson's Disease: Implications for Drug. *Therapy Cell Transplantation*. 2007;16(3):285-99. doi: 10.3727/000000007783464731
10. Voronkov DN, Dikalova YuV, Khudoerikov RM, et al. Brain nigrostriatal system changes in rotenone-induced parkinsonism (quantitative immune-morphological study). *Annaly Nevrologii*. 2013;7(2): 34-8. (In Russ).
11. Chernykh IV, Shchulkin AV, Mylnikov PYu, et al. Method of P-glycoprotein functional activity analysis in the blood-brain barrier. *Neurochemical Journal*. 2019;36(1):1-5. (In Russ). doi: 0.1134/S1027813319010060
12. Gatsanoga MV, Chernykh IV, Shchulkin AV, et al. The method of assessment of drugs belonging to the substrates of P-glycoprotein on female rabbits. *Nauka Molodykh (Eruditio Juvenium)*. 2016;(3):5-10. (In Russ).
13. Kiyohara C, Miyake Y, Koyanagi M, et al. Fukuo-ka Kinki Parkinson's Disease Study Group. MDR1 C3435T polymorphism and interaction with environmental factors in risk of Parkinson's disease: a case-control study in Japan. *Drug Metabolism Pharmacokinetics*. 2013;28(2):138-43. doi:10.2133/dmpk.DMPK-12-RG-075
14. Westerlund M, Belin AC, Olson L, et al. Expression of multi-drug resistance 1 mRNA in human and rodent tissues: reduced levels in Parkinson patients. *Cell Tissue Research*. 2008;334:179-85. doi: 10.1007/s00441-008-0686-5
15. Ahmed SSSJ, Husai RSA, Kumar S, et al. Association between MDR1 gene polymorphisms and Parkinson's disease in Asian and Caucasian populations: a meta-analysis. *Journal of Neurological Sciences*. 2016;368:255-62. doi:10.1016/j.jns.2016.07.041
16. Kortecaas R, Leenders KL, van Oostrom JCH, et al. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. *Annals of Neurology*. 2005; 57(2):176-9. doi:10.1002/ana.20369
17. Bartels AL, van Berckel BN, Lubberink M, et al. Blood-brain barrier P-glycoprotein function is not impaired in early Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2008;14(6):505-8. doi:10.1016/j.parkreldis.2007.11.007
18. Cannon JR, Tapias V, Mee NH, et al. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*. 2009;34(2):279-90. doi: 10.1016/j.nbd.2009.01.016
19. Begley DJ. ABC transporters and the blood-brain barrier. *Current Pharmaceutical Design*. 2004;10(12): 1295-312. doi:10.2174/1381612043384844
20. Yakusheva EN, Shchulkin AV, Popova NM, et al. Structure, functions of P-glycoprotein and its role in rational pharmacotherapy. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2014;12(2):3-11.

## Дополнительная информация [Additional Info]

**Источник финансирования.** Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований №18-415-620003 p\_a. [Financing of study. The work is supported by the grant of the Russian Foundation for Basic Research №18-415-620003 p\_a.]

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи. [Conflict of interests. The authors declare no actual and potential conflict of interests which should be stated in connection with publication of the article.]

**Участие авторов.** Черных И.В., Шулькин А.В. – концепция, обработка данных, написание текста, Гацанова М.В. – выполнение эксперимента, обработка данных, Есенина А.С., Градинарь М.М., Мыльников П.Ю. – выполнение эксперимента, Якушева Е.Н. – концепция, написание текста, редактирование. [Participation of authors. I.V. Chernykh, A.V. Shchulkin – concept, data processing, writing the text, M.V. Gatsanoga – execution of the experiment, data processing, A.S. Yesenina, M.M. Gradinar, P.Yu. Mylnikov – execution of the experiment, E.N. Yakusheva – concept, writing the text, editing.]

## Информация об авторах [Authors Info]

**\*Черных Иван Владимирович** – к.б.н., ассистент кафедры общей и фармацевтической химии, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Ivan V. Chernykh – PhD in Biological Sciences, Assistant of the Department of General Chemistry and Pharmachemistry, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
SPIN: 5238-6165, ORCID ID: 0000-0002-5618-7607, Researcher ID: R-1389-2017. E-mail: ivchernykh88@mail.ru

**Шулькин Алексей Владимирович** – к.м.н., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Aleksey V. Shchulkin – MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology with Course of Pharmacy of Faculty Additional Professional Education, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
SPIN: 2754-1702, ORCID ID: 0000-0003-1688-0017, Researcher ID: N-9143-2016.

**Мыльников Павел Юрьевич** – аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Pavel Yu. Mylnikov – PhD-Student of the Department of Pharmacology with Course of Pharmacy of Faculty Additional Professional Education, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
SPIN: 8503-3082, ORCID ID: 0000-0001-7829-2494, Researcher ID: T-8787-2017.

**Гацанова Мария Валериевна** – к.м.н., ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Maria V. Gatsanoga – MD, PhD, Assistant of the Department of Pharmacology with Course of Pharmacy of Faculty Additional Professional Education, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
SPIN: 9645-5079, ORCID ID: 0000-0002-1116-6271, Researcher ID: T-3803-2017.

**Градинарь Мария Михайловна** – студент, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Maria M. Gradinar – Student, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
ORCID ID: 0000-0002-2246-4127, Researcher ID: K-3854-2018.

**Есенина Анна Сергеевна** – студент, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Anna S. Yesenina – Student, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
ORCID ID: 0000-0002-3984-8979, Researcher ID: K-3849-2018.

**Якушева Елена Николаевна** – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии с курсом фармации ФДПО, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Elena N. Yakusheva – MD, PhD, Professor, Head of the Department of Pharmacology with Course of Pharmacy of Faculty Additional Professional Education, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]  
SPIN: 2865-3080, ORCID ID: 0000-0001-6887-4888, Researcher ID: T-6343-2017.

**Цитировать:** Черных И.В., Шулькин А.В., Мыльников П.Ю., Гацанова М.В., Градинарь М.М., Есенина А.С., Якушева Е.Н. Функциональная активность гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере на фоне экспериментального Паркинсонического синдрома // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2019. Т. 27, №2. С. 150-159. doi:10.23888/PAVLOVJ2019272150-159

**To cite this article:** Chernykh IV, Shchulkin AV, Mylnikov PYu, Gatsanoga MV, Gradinar MM, Yesenina AS, Yakusheva EN. Functional activity of P-glycoprotein in blood-brain barrier during experimental Parkinson's syndrome. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2019;27(2):150-9. doi:10.23888/PAVLOVJ2019272150-159

Поступила/Received: 10.03.2019  
Принята в печать/Accepted: 17.06.2019