

ОТСРОЧЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРА ФАБОМОТИЗОЛА НА ПРОТЕОМ МОЗГА КРЫС В РОТЕНОНОВОЙ МОДЕЛИ ПАРКИНСОНИЗМА

О.А. Бунеева^{1*}, И.Г. Капица², М.Г. Завьялова¹, С.А. Калошина¹, В.Г. Згода¹, А.Е. Медведев¹

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121 Москва, Погодинская ул., 10; *эл. почта: olbuneeva@gmail.com

²ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий,
125315 Москва, Балтийская ул., 8

Фабомотизол — оригинальный анксиолитик, разработанный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова и действующий на ряд важных рецепторных систем мозга. В модели болезни Паркинсона, вызванной у крыс курсовым введением пестицида ротенона, фабомотизол ослаблял нарушения поведенческих реакций животных, влиял на профиль и относительное содержание белков мозга. Через 5 дней после завершения курсового введения ротенона позитивное влияние фабомотизола на поведенческие реакции крыс сохранялось. По данным протеомного исследования, профиль белков мозга и изменения их относительного содержания существенно отличались от результатов, полученных сразу после завершения курсового введения ротенона, а также ротенона и фабомотизола. Изменения относительного содержания почти всех белков, обнаруженные сразу после завершения курсового введения ротенона или ротенона и фабомотизола, через пять дней уже не определялись. В то же время было обнаружено изменение относительного содержания других белков, ассоциированных с нейродегенерацией при болезнях Паркинсона и Альцгеймера. Такая динамика свидетельствует о волнообразном изменении содержания патогенетически важных белков мозга, вовлечённых в механизмы нейродегенерации и нейропротекции.

Ключевые слова: фабомотизол; нейропротектор; белки мозга; болезнь Паркинсона; ротенон; нейродегенерация; протеомное профилирование

DOI: 10.18097/PBMC1586

ВВЕДЕНИЕ

Для диагностики и терапии болезни Паркинсона (БП) — распространённого нейродегенеративного заболевания, характеризующегося повреждением nigrostriatalной дофаминергической (ДА) системы, — большое значение имеет создание экспериментальных моделей БП *in vivo*. Одной из наиболее адекватных широко используемых моделей БП у крыс служит так называемый ротеноновый паркинсонизм, индуцированный введением нейротоксина ротенона. Ингибируя комплекс I дыхательной цепи митохондрий, ротенон вызывает дегенерацию клеток ДА системы и развитие двигательных нарушений и других изменений, сходных по симптомам и молекулярно-биологическим признакам с таковыми у БП [1–6].

Фабомотизол (5-этокси 2-[2-(морфолино)этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид) — оригинальный анксиолитик, разработанный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова и действующий на ряд важных рецепторных систем мозга [7–9]. В модели ротенонного паркинсонизма у крыс фабомотизол снижал выраженность постральной неустойчивости и предотвращал гибель крыс. Непосредственно после завершения курса ротенона и его совместного введения с фабомотизолом обнаружены изменения относительного содержания белков мозга, ассоциированных с нейродегенерацией [10]. Изменения поведенческих реакций и протеомного

профиля белков мозга в отсроченный промежуток времени после прекращения введения токсина и нейропротектора не исследованы.

Целью настоящей работы было сравнительное исследование влияния фабомотизола на проявления БП у крыс, вызванные введением ротенона (поведенческие реакции и количественные изменения протеомного профиля мозга), через 5 дней после последнего введения нейротоксина.

МЕТОДИКА

Реактивы

В работе использовали следующие реактивы: Трис (гидрокси(метил)аминометан, гидрокарбонат аммония, дитиотреитол, мочевины, гуанидин гидрохлорид, хлористый натрий, 4-винилпиридин, Тритон X-100, Кумасси бриллиантовый синий G-250, ротенон (“Merck”, США); муравьиную кислоту, едкий натр (“Acros Organics”, США); ацетонитрил (“Fisher Chemical”, Великобритания); изопропанол, трифторуксусную кислоту (“Fluka”, США); трис-(2-карбоксиэтил)-фосфин (“Pierce”, США); модифицированный трипсин (mass spectrometry grade, “Promeiga”, США); фабомотизол (Афобазол, таблетки, 10 мг, “Отисифарм Про”, Россия).

Остальные реактивы были отечественного производства максимальной доступной чистоты.



Экспериментальные животные

Исследование выполнено на аутбредных белых крысах, полученных из филиала “Столбовая” ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий ФМБА” (Московская область). Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме в соответствии с ГОСТ 33215 и 33216.

Моделирование экспериментального паркинсонизма у крыс

Моделирование БП с помощью системного введения ротенона проводили согласно руководству [11]. Животные случайным образом были разделены на четыре группы:

- 1) группа “Контроль” (10 крыс); животным вводили ежедневно (7 дней) физиологический раствор внутривентриально в эквивалентном объёме 0,2 мл на 100 г веса тела животного;
- 2) группа “Ротенон” (12 крыс); животным вводили ежедневно (7 дней) внутривентриально ротенон в дозе 2,75 мг/кг;
- 3) группа “Ротенон+Фабомотизол” (9 крыс); животным вводили ежедневно (7 дней) внутривентриально ротенон в дозе 2,75 мг/кг и фабомотизол в дозе 10 мг/кг;
- 4) группа “Фабомотизол” (10 крыс); животным вводили ежедневно (7 дней) внутривентриально фабомотизол в дозе 10 мг/кг.

Ротенон вводили в растворе в нейтральном триглицериде миглиоле (Miglyol 840). Раствор готовили, как описано ранее [4]. После проведения поведенческих тестов на 12 день эксперимента (через 5 дней после последнего введения ротенона) животных декапитировали под лёгким эфирным наркозом, получали лизаты гомогенатов мозга и готовили пробы для масс-спектрометрического анализа.

Тестирование поведенческих реакций

Оценку олигокинезии в тестах “Открытое поле” и “Вращающийся стержень” проводили на 12-й день эксперимента, через 5 суток после последнего введения нейротоксина и нейропротектора, как это подробно описано ранее [4].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы “Statistica v. 10.0”. Результаты в таблицах представлены как среднее \pm ошибка среднего (Mean \pm SEM). Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Подготовка проб для масс-спектрометрического анализа

Ткань мозга (большие полушария) гомогенизировали при помощи гомогенизатора Heidolph SilentCrusher (“Heidolph”, Германия, 50000 оборотов в минуту) в 0,05 М калий-фосфатном буфере (pH 7,4) до конечной концентрации 30 мг/мл. Для оценки относительных количественных изменений содержания белков мозга у животных разных экспериментальных групп при подготовке проб использовали одинаковое количество

общего белка, которое контролировали с помощью метода Бредфорда [12]. После инкубации в присутствии 3% Тритона X-100 (4°C, 1 ч) лизаты разводили в 3 раза тем же буфером и центрифугировали 30 мин при 16000 g для получения осветлённой надосадочной жидкости. Экстракция белков, их алкилирование и трипсинолиз подробно описаны ранее [5, 13].

Масс-спектрометрический анализ

Масс-спектрометрический анализ осуществляли с использованием оборудования центра коллективного пользования “Протеом человека” Научно-исследовательского института биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (ИБМХ) — системы высокоэффективного жидкостного разделения пептидов Ultimate 3000 RSLCnano (“Thermo Scientific”, США) в нанопотоковом режиме масс-спектрометрического детектора Q-Exactive HFX (“Thermo Scientific”) как описано ранее [4]. Биоинформатическую обработку данных проводили согласно [4]. Каждый из представленных в таблицах белков был идентифицирован, по меньшей мере, в трёх независимых экспериментах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Системное курсовое введение крысам ротенона приводило к развитию тяжёлого паркинсонического синдрома, сопровождающегося характерными для развёрнутой стадии БП двигательными нарушениями [4, 13]. Корректирующее влияние фабомотизола, вводимого внутривентриально одновременно с ротеноном, снижало проявления постуральной неустойчивости и олигокинезии до уровня, характерного для животных контрольной группы [11].

Двигательные нарушения у животных, получавших курсовое введение ротенона, сохранялись и через пять дней после прекращения введения этого нейротоксина (табл. 1).

Снижение показателей двигательной, ориентировочно-исследовательской активности и координации движений животных, получавших ротенон, относительно контрольной группы наблюдалось и через 5 дней после последнего введения этого нейротоксина (табл. 1). В группе животных, получавших фабомотизол одновременно с ротеноном, уменьшение показателей олигокинезии сохранялось и через 5 дней после последнего введения ротенона (табл. 1). Исключение составила вертикальная двигательная активность, которая уже не отличалась от уровня контроля. У крыс, получавших одновременно с ротеноном инъекцию фабомотизола, через пять дней после последнего введения отмечено статистически значимое увеличение двигательной активности, оцениваемой по продолжительности времени удержания животных на горизонтальном стержне. При этом у крыс, получавших фабомотизол без введения ротенона, основные показатели локомоторной активности мало отличались от таковых у контрольных животных (табл. 1).

Таблица 1. Влияние фабомотизола на двигательную активность и координацию движений крыс с паркинсоническим синдромом, вызванным 7-дневным введением ротенона, через 5 дней после последнего введения ротенона

Группа, число животных	Двигательная активность, ед.		Продолжительность удержания на горизонтальном стержне, с
	Горизонтальная (число перемещений)	Вертикальная (число стоек)	
Контроль, n=10	14,67±2,42	9,67±2,22	177,75±2,25
Ротенон, n=12	6,92±0,95*	5,67±0,54	87,17±12,43**
Ротенон+Фабомотизол, n=9	8,78±1,45	8,00±1,26	128,88±15,50*#
Фабомотизол, n=10	14,67±3,87	5,89±1,02	—

Примечание. Результаты представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего. *, ** – $p < 0,01$, $p < 0,001$, соответственно, в сравнении с группой “Контроль”. # – $p < 0,05$, в сравнении с группой “Ротенон”.

Ранее проведенная непосредственно после окончания курса ротенона сравнительная протеомная идентификация белков мозга контрольных крыс и крыс с индуцированной ротеноном БП показала изменение уровня 86 белков, относящихся к различным функциональным группам [10]. Из них относительное содержание при введении ротенона увеличивалось у 65 белков, уменьшалось у 21 белка. Значимое увеличение относительного содержания было обнаружено у митохондриальных белков (компонентов цитохром *c*-оксидазного комплекса (номера по базе Uniprot S5RZM8, P10888, P11951, P12075, P20788) и потенциал-зависимых ионных каналов (P81155, Q9Z2L0, A0A0G2JSR0)), что согласуется с данными литературы о ключевой роли митохондриальной дисфункции в патогенезе БП [10]. Также количественные изменения были выявлены для белков, нарушение функций которых связано с нейродегенерацией: альфа-синуклеина (P37377), белка DJ-1 (O88767), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (P04797), TRIM2 (D3ZQG6), прохититина-2 (Q5XIH7) [10]. При совместном введении ротенона и фабомотизола было отмечено менее выраженное (по сравнению с введением только ротенона) увеличение относительного содержания ряда компонентов потенциал-зависимых ионных каналов (Voltage-dependent anion-selective channel proteins, Vdac) 1, 2 и 3 (Q9Z2L0, P81155, A0A0G2JSR0).

Через пять дней после последнего введения ротенона крысам обнаружены изменения относительного содержания 17 белков мозга; при этом только один белок (аминокислотный транспортер 2, P31596) был выявлен ранее в группе белков с изменяющимся относительным содержанием непосредственно после окончания курса ротенона. В случае острого эффекта нейротоксина относительное содержание аминокислотного транспортера существенно увеличивалось [10], а в случае отсроченного эффекта уменьшалось в 2 раза (табл. 2). Для группы животных, получавших ротенон и фабомотизол, изменения содержания по завершении курса и через пять дней были обнаружены только для субъединицы α протонной АТФазы V-типа (Q8R2H0), а также транспортера 2 возбуждающих аминокислот (P31596). Относительное содержание субъединицы α этой АТФазы увеличивалось в 22,6 и в 2,3 раза соответственно, а транспортера 2 — в 2 раза в обоих случаях ([10] и табл. 3).

У группы крыс, получавших фабомотизол, только у одного общего белка относительное содержание изменялось в обеих временных точках эксперимента. Это мембранный гликопротеин M6-а (Q812E9); его содержание увеличивалось в 3 и в 2 раза соответственно ([10] и табл. 4).

Через пять дней после завершения введения ротенона у 8 белков мозга обнаружено увеличение (более чем в 2 раза), а у 9 белков — некоторое уменьшение относительного содержания (табл. 2). У крыс, получавших инъекции ротенона и фабомотизола, изменение относительного содержания отмечено для 31 белка мозга: у 23-х оно увеличивалось в 2–3 раза, у восьми — уменьшалось в 2–3 раза (табл. 3). Введение фабомотизола вызывало у животных отсроченное увеличение относительного содержания (менее чем в 3,5 раза) у 10 белков, уменьшение (в 2–4,5 раза) — у 5 белков мозга (табл. 4). При этом обращает на себя внимание тот факт, что у множеств белков, содержание которых изменяется при введении нейротоксина и при одновременном введении нейротоксина и нейропротектора, практически нет общих элементов (рис. 1, диаграмма Венна). У животных, получавших только фабомотизол, почти половина белков

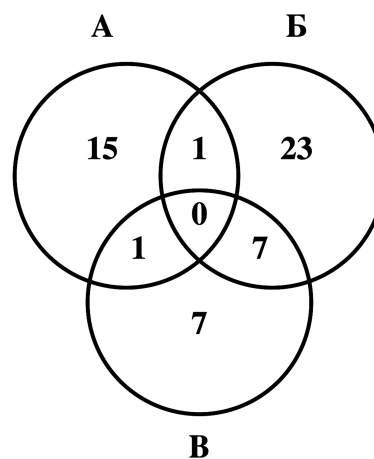


Рисунок 1. Диаграмма Венна, показывающая количество белков мозга крыс с изменяющимся относительным содержанием (по отношению к контролю) через 5 дней после введения животным нейротоксина ротенона, нейропротектора фабомотизола и их комбинации. А – ротенон, Б – ротенон+фабомотизол, В – фабомотизол.

ВЛИЯНИЕ РОТЕНОНА И ФАБОМОТИЗОЛА НА ПРОТЕОМ МОЗГА

Таблица 2. Отсроченное изменение относительного содержания белков мозга крыс, получавших курсовое введение ротенона

№	№ по базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-value)	Кратность изменения	Связь с нейродегенерацией
1	P11240	<i>Cox5a</i>	Cytochrome <i>c</i> oxidase subunit 5A, mitochondrial	1	Мх	4,46	3,29	[14]
2	D3ZD09	<i>LOC120103152</i>	Cytochrome <i>c</i> oxidase subunit 6B1-like	1	Мх	1,81	2,92	[14]
3	P63045	<i>Vamp2</i>	Vesicle-associated membrane protein 2	2	Ве, ПМ	5,23	2,50	[15, 16]
4	P62775	<i>Mtpn</i>	Myotrophin	3	Ц, Я	2,37	2,48	—
5	Q63028	<i>Add1</i>	Alpha-adducin	2	Ц, ПМ	1,11	2,16	—
6	Q6AYS2	<i>Sfxn1</i>	Sidoreflexin	2	Мх	2,15	2,16	[17]
7	Q63654	<i>Ubc</i>	Polyubiquitin	6	Ц, Я	3,38	2,08	[18]
8	Q7M079	<i>UniProtKB unreviewed (TrEMBL)</i>	Calcium-binding protein 4	3	Ц	1,85	2,07	[19, 20]
9	G3V846	<i>Slc1a3</i>	Amino acid transporter	2	М, ПМ	1,88	0,48	[21]
10	P04636	<i>Mdh2</i>	Malate dehydrogenase, mitochondrial	1	Мх	3,28	0,48	[22]
11	P10111	<i>Ppia</i>	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	6	Ц, Я, С	5,33	0,48	[23]
12	P07632	<i>Sod1</i>	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	4	Ц, Я	3,74	0,47	[24, 25]
13	P18418	<i>Calr</i>	Calreticulin	3	Ц, ЭПР, Ве, С	1,46	0,45	[26]
14	Q5BJ93	<i>Eno1</i>	Phosphopyruvate hydratase	1	Ц	5,38	0,44	[27]
15	P00507	<i>Got2</i>	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	6	Мх, ПМ	3,89	0,41	[28, 29]
16	Q5BJT9	<i>Ckmt1</i>	Creatine kinase U-type, mitochondrial	1	Мх	3,42	0,36	[30]
17	P27139	<i>Ca2</i>	Carbonic anhydrase 2	3	Ц, ПМ	4,25	0,26	[31]

Примечание. Здесь и в остальных таблицах приведено изменение относительного содержания белков по отношению к контролю (через 5 дней после завершения курсового введения препаратов).

Функциональные группы белков:

1. Белки/ферменты, участвующие в процессах генерации энергии и углеводного обмена.
2. Белки, участвующие в образовании цитоскелета и экзоцитозе.
3. Белки, участвующие в передаче сигнала и регуляции активности ферментов.
4. Антиоксидантные и защитные белки/ферменты.
5. Белки-регуляторы экспрессии генов, клеточного деления и дифференцировки.
6. Ферменты, участвующие в метаболизме белков, аминокислот и других азотистых соединений.

Локализация: Ц – цитоплазма, Я – ядро, М – мембраны, ПМ – плазматическая мембрана, ЭПР – эндоплазматический ретикулум, Г – комплекс Гольджи, Мх – митохондрии, Ве – везикулы, С – секреторный белок, Вне – внеклеточное пространство.

с изменяющимся по сравнению с контролем содержанием совпадает с белками мозга, содержание которых изменяется при совместном введении крысам ротенона и фабомотизола. Изменение уровня белков в этих случаях, по-видимому, обусловлено влиянием фабомотизола (рис. 1).

Таким образом, через 5 дней после завершения курсового введения нейротоксина ротенона и нейропротектора фабомотизола, как вместе, так и по отдельности, у крыс изменяется относительное содержание ряда белков. Подавляющее

большинство этих белков не совпадает с белками, характеризующимися изменённым относительным содержанием сразу же после завершения курсового введения препаратов. Однако практически все белки, содержание которых меняется в ходе эксперимента, ассоциированы с нейродегенерацией, многие — с болезнью Паркинсона (литература к таблицам 2–4).

Такая динамика позволяет предположить волнообразное изменение патогенетически важных белков мозга, вовлечённых в механизмы нейродегенерации и нейропротекции.

Таблица 3. Отсроченное изменение относительного содержания белков мозга крыс, получавших курсовое введение ротенона и фабомотизола

№	№ по базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-value)	Кратность изменения	Связь с нейродегенерацией
1	F1LMW7	<i>Marcks</i>	Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate	3	Ц, М	2,85	2,97	[32, 33]
2	P11505	<i>Atp2b1</i>	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	2	М	3,35	2,69	[34]
3	Q64715	<i>Map2</i>	Microtubule-associated protein	2	Ц	2,10	2,59	[35]
4	Q505J6	<i>Slc25a18</i>	Mitochondrial glutamate carrier 2	2	Мх	2,10	2,53	[36]
5	P97546	<i>Nptn</i>	Neuroplastin	3	М	3,32	2,44	[37]
6	P0DP31	<i>Calm3</i>	Calmodulin-3	3	Ц	1,32	2,37	[38]
7	D4A565	<i>Ndufb5</i>	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 5, mitochondrial	1	Мх	1,12	2,37	[39]
8	A0A0G2J178	<i>Rab6b</i>	RAB6B, member RAS oncogene family	2	Г	1,38	2,36	[40, 41]
9	Q2I6B2	<i>Atp6v0a1</i>	V-type proton ATPase subunit a	1	М, Be, C	1,94	2,32	[42]
10	P07936	<i>Gap43</i>	Neuromodulin	5	Ц, М	2,07	2,28	[43]
11	P32736	<i>Opcml</i>	Opioid-binding protein/cell adhesion molecule	3	М	4,63	2,27	[44]
12	Q6AYS2	<i>Sfxn1</i>	Sidoreflexin	2	Мх	2,43	2,19	[17]
13	Q8VHS9	<i>Cacna2d1</i>	L-type calcium channel alpha2/delta subunit	2	М	1,43	2,19	[45]
14	Q02563	<i>Sv2a</i>	Synaptic vesicle glycoprotein 2A	3	Be	2,03	2,13	[46]
15	Q5M7T6	<i>Atp6v0d1</i>	V-type proton ATPase subunit d	1	М	4,73	2,13	[42]
16	P32851	<i>Stx1a</i>	Syntaxin-1A	2	М, Be	3,63	2,11	[47]
17	P97710	<i>Sirpa</i>	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	3	М	2,58	2,11	[48]
18	Q6PW35	<i>Nrcam</i>	Neuronal cell adhesion molecule long isoform Nc7	3	М	1,68	2,08	[49]
19	D4A435	<i>Icam5</i>	Intercellular adhesion molecule 5	3	М	1,91	2,05	[50]
20	P31596	<i>Slc1a2</i>	Excitatory amino acid transporter 2	2	М	2,38	2,05	[51]
21	Q05175	<i>Basp1</i>	Brain acid soluble protein 1	5	ПМ	1,98	2,05	[52, 53]
22	P01830	<i>Thy1</i>	Thy-1 membrane glycoprotein	4	М	3,01	2,01	—
23	Q8R2H0	<i>Atp6v1g2</i>	V-type proton ATPase subunit G	1	М	1,54	2,01	[42]
24	Q08163	<i>Cap1</i>	Adenylyl cyclase-associated protein 1	5	М	1,35	0,50	[54, 55]
25	A0A8I5Y2B8	<i>ENSRNOG00000062500</i>	Thioredoxin-dependent peroxiredoxin	4	Ц	2,08	0,46	[56, 57]
26	Q9JI66	<i>Slc4a4</i>	Electrogenic sodium bicarbonate cotransporter 1	2	М	2,83	0,44	—
27	Q63910	<i>Hba-a3</i>	Globin c1	2	Вне	5,32	0,39	[58]
28	P47819	<i>Gfap</i>	Glial fibrillary acidic protein	2	Ц	5,18	0,37	[59]
29	M0RC65	<i>Cfl2</i>	Cofilin 2	2	Ц	1,21	0,37	[60]
30	Q6P7S0	<i>UniProtKB unreviewed (TrEMBL)</i>	Pyruvate kinase	1	Ц, Я	1,60	0,33	[61]
31	A0A1K0H3R5	<i>Hbb</i>	Globin a4	2	Вне	4,68	0,32	[58]

ВЛИЯНИЕ РОТЕНОНА И ФАБОМОТИЗОЛА НА ПРОТЕОМ МОЗГА

Таблица 4. Отсроченное изменение относительного содержания белков мозга крыс, получавших курсовое введение фабомотизола

№	№ по базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-value)	Кратность изменения	Связь с нейродегенерацией
1	P0DP31	<i>Calm3</i>	Calmodulin-3	3	Ц	2,44	3,46	[38]
2	Q63654	<i>Ubc</i>	Polyubiquitin	6	Ц, Я	4,09	3,32	[18]
3	B2RYS0	<i>Cox7a2</i>	Cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial	1	М, Мх	1,95	2,48	[14]
4	F1LMW7	<i>Marcks</i>	Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate	3	Ц, М	1,49	2,47	[32, 33]
5	Q64542	<i>Atp2b4</i>	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 4	2	М	4,42	2,31	[34]
6	B5DFC1	<i>Vps35</i>	Vps35 protein	2	М	2,02	2,18	[62, 63]
7	P61589	<i>Rhoa</i>	Transforming protein RhoA	2	Ц, М	2,11	2,13	[64]
8	Q812E9	<i>Gpm6a</i>	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	5	М	1,36	2,07	[65]
9	Q8VHS9	<i>Cacna2d1</i>	L-type calcium channel alpha2/delta subunit	2	М	2,00	2,06	[45]
10	P97710	<i>Sirpa</i>	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1	3	М	1,17	2,05	[48]
11	A0A8I5Y2B8	<i>ENSRNOG00000062500</i>	Thioredoxin-dependent peroxiredoxin	4	Ц	1,34	0,44	[56, 57]
12	Q08163	<i>Cap1</i>	Adenylyl cyclase-associated protein 1	5	М	1,73	0,43	[54, 55]
13	M0R757	<i>Eef1a1l1</i>	Elongation factor 1-alpha	6	Ц	1,72	0,40	[66]
14	Q6P7S0	<i>UniProtKB unreviewed (TrEMBL)</i>	Pyruvate kinase	1	Ц, Я	1,43	0,36	[61]
15	Q6AYZ1	<i>Tuba1c</i>	Tubulin alpha-1C chain	2	Ц	1,58	0,22	[67, 68]

БЛАГОДАРНОСТИ

Масс-спектрометрический анализ белков выполнен с использованием оборудования и ресурсов ЦКП “Протеом человека” при ИБМХ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.) (№ 122030100170-5).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты проводили с соблюдением общепринятых норм гуманного отношения к лабораторным животным, в соответствии с положениями, представленными в “Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований” (Приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 года №33).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fleming S.M., Zhu C., Fernagut P.-O., Mehta A., di Carlo C.D., Seaman R.L., Chesselet M.-F. (2004) Behavioral and immunohistochemical effects of chronic intravenous and subcutaneous infusions of varying doses of rotenone. *Exp. Neurol.*, **187**(2), 418–429. DOI: 10.1016/j.expneurol.2004.01.023
2. Duty S., Jenner P. (2011) Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br. J. Pharmacol.*, **164**, 1357–1391. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01426.x
3. Cannon J.R., Tapias V., Na H.M., Honick A.S., Drolet R.E., Greenamyre J.T. (2009) A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.*, **34**(2), 279–290. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.01.016
4. Каница И.Г., Казиева Л.Ш., Вавилов Н.Э., Згода В.Г., Копылов А.Т., Медведев А.Е., Бунеева О.А. (2023) Особенности поведенческих реакций и профиля изатин-связывающих белков мозга у крыс

- с индуцированным ротеноном экспериментальным паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **69**(1), 46–54. [Kapitsa I.G., Kazieva L.Sh., Vavilov N.E., Zgoda V.G., Kopylov A.T., Medvedev A.E., Buneeva O.A. (2023) Characteristics of behavioral reactions and the profile of brain isatin-binding proteins of rats with the rotenone-induced experimental parkinsonism. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(1), 46–54.] DOI: 10.18097/PBMC20236901046
5. Бунеева О.А., Капица И.Г., Казиева Л.Ш., Вавилов Н.Э., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2024) Отсроченное действие ротенона на относительное содержание изатин-связывающих белков мозга у крыс с экспериментальным паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **70**(1), 25–32. [Buneeva O.A., Kapitsa I.G., Kazieva L.Sh., Vavilov N.E., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2024) The delayed effect of rotenone on the relative content of brain isatin-binding proteins of rats with experimental parkinsonism. Biomeditsinskaya Khimiya, **70**(1), 25–32.] DOI: 10.18097/PBMC20247001025
 6. Бунеева О., Медведев А. (2025) Monoamine oxidase inhibitors in toxic models of Parkinsonism. Int. J. Mol. Sci., **26**(3), 1248. DOI: 10.3390/ijms26031248
 7. Воронин М.В., Кадников И.А., Абрамова Е.В. (2021) Молекулярные механизмы нейротропного действия афобазола. Экспериментальная и клиническая фармакология, **84**(2), 15–22. [Voronin M.V., Kadnikov I.A., Abramova E.V. (2021) Molecular mechanisms of afobazole neurotropic action. Eksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya, **84**(2), 15–22.] DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-15-22
 8. Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Tsypysheva I.P., Tsypyshev D.O., Rybina I.V., Kurbanov R.D., Abramova E.V., Seredenin S.B. (2021) Involvement of chaperone Sigma1R in the anxiolytic effect of fabomotizole. Int. J. Mol. Sci., **22**(11), 5455. DOI: 10.3390/ijms22115455
 9. Мирзоян Р.С., Баласанян М.Г., Топчян А.В., Акопян В.П., Ганьшина Т.С., Хайлов Н.А., Курдюмов И.Н., Турилова А.И., Антипова Т.А., Крайнева В.А., Середенин С.Б. (2022) Цереброваскулярные, нейропротекторные и антиаритмические свойства анксиолитика афобазола. Анналы клинической и экспериментальной неврологии, **16**(3), 65–73. [Mirzoyan R.S., Balasanyan M.G., Topchyan A.V., Hakobyan V.P., Gan'shina T.S., Khaylov N.A., Kurdyumov I.N., Turilova A.I., Antipova T.A., Kraineva V.A., Seredenin S.B. (2022) The cerebrovascular, neuroprotective and antiarrhythmic properties of the anxiolytic fabomotizole. Annals of Clinical and Experimental Neurology, **16**(3), 65–73.] DOI: 10.54101/ACEN.2022.3.8
 10. Бунеева О.А., Капица И.Г., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2023) Нейропротекторные эффекты изатина и афобазола сопровождаются увеличением уровня растворимого в Тритоне X-100 альфа-синуклеина в мозге крыс с экспериментальным ротеноновым паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **69**(5), 290–299. [Buneeva O.A., Kapitsa I.G., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2023) Neuroprotective effects of isatin and afobazole in rats with rotenone-induced parkinsonism are accompanied by increased brain levels of Triton X-100 soluble alpha-synuclein. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(5), 290–299.] DOI: 10.18097/PBMC20236905290
 11. Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н., Капица И.Г. (2012) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть первая (Миронов А.Н. (ред.)), Гриф и К, Москва, сс. 219-235. [Voronina T.A., Valdman E.A., Nerobkova L.N., Kapitsa I.G. (2012) In: Rukovodstvo Po Provedeniyu Doklinicheskikh Issledovaniy Lekarstvennykh Sredstv, Chast' Pervaya (Mironov A.N. (ed.)). Grif i K, Moscow, pp. 219-235.]
 12. Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., **72**, 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
 13. Бунеева О.А., Капица И.Г., Казиева Л.Ш., Вавилов Н.Э., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2023) Количественные изменения изатин-связывающих белков мозга у крыс с индуцированным ротеноном экспериментальным паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **69**(3), 188–192. [Buneeva O.A., Kapitsa I.G., Kazieva L.Sh., Vavilov N.E., Zgoda V.G. (2023) Quantitative changes of brain isatin-binding proteins of rats with the rotenone-induced experimental parkinsonism. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(3), 188–192.] DOI: 10.18097/PBMC20236903188
 14. Arnold S. (2012) Cytochrome c oxidase and its role in neurodegeneration and neuroprotection. Adv. Exp. Med. Biol., **748**, 305–339. DOI: 10.1007/978-1-4614-3573-0_13
 15. Agarwal A., Chandran A., Raza F., Ungureanu I.-M., Hilcenko C., Stott K., Bright N.A., Morone N., Warren A.J., Lautenschläger J. (2024) VAMP2 regulates phase separation of α -synuclein. Nat. Cell Biol., **26**(8), 1296–1308. DOI: 10.1038/s41556-024-01451-6
 16. Wang C., Zhang K., Cai B., Haller J.E., Carnazza K.E., Hu J., Zhao C., Tian Z., Hu X., Hall D., Qiang J., Hou S., Liu Z., Gu J., Zhang Y., Seroogy K.B., Burre J., Fang Y., Liu C., Brunger A.T., Li D., Diao J. (2024) VAMP2 chaperones α -synuclein in synaptic vesicle co-condensates. Nat. Cell Biol., **26**(8), 1287–1295. DOI: 10.1038/s41556-024-01456-1
 17. Laferrière F., Claverol S., Bezard E., de Giorgi F., Ichas F. (2022) Similar neuronal imprint and no cross-seeded fibrils in α -synuclein aggregates from MSA and Parkinson's disease. NPJ Parkinsons Dis., **8**, 10. DOI: 10.1038/s41531-021-00264-w
 18. Бунеева О., Медведев А. (2022) Atypical ubiquitination and Parkinson's disease. Int. J. Mol. Sci., **23**(7), 3705. DOI: 10.3390/ijms23073705
 19. Hurley M.J., Brandon B., Gentleman S.M., Dexter D.T. (2013) Parkinson's disease is associated with altered expression of CaV1 channels and calcium-binding proteins. Brain, **136**(Pt 7), 2077–2097. DOI: 10.1093/brain/awt134
 20. Zaichick S.V., McGrath K.M., Caraveo G. (2017) The role of Ca²⁺ signaling in Parkinson's disease. Dis. Model. Mech., **10**(5), 519–535. DOI: 10.1242/dmm.028738
 21. Zhong J., Tang G., Zhu J., Wu W., Li G., Lin X., Liang L., Chai C., Zeng Y., Wang F., Luo L., Li J., Chen F., Huang Z., Zhang X., Zhang Y., Liu H., Qiu X., Tang S., Chen D. (2021) Single-cell brain atlas of Parkinson's disease mouse model. J. Genet. Genomics Yi Chuan Xue Bao, **48**(4), 277–288. DOI: 10.1016/j.jgg.2021.01.003
 22. Curtis W.M., Seeds W.A., Mattson M.P., Bradshaw P.C. (2022) NADPH and mitochondrial quality control as targets for a circadian-based fasting and exercise therapy for the treatment of Parkinson's disease. Cells, **11**(15), 2416. DOI: 10.3390/cells11152416
 23. Favretto F., Baker J.D., Strohäker T., Andreas L.B., Blair L.J., Becker S., Zweckstetter M. (2020) The molecular basis of the interaction of cyclophilin A with α -synuclein. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **59**(14), 5643–5646. DOI: 10.1002/anie.201914878

24. Nakao N., Frodl E.M., Widner H., Carlson E., Eggerding F.A., Epstein C.J., Brundin P. (1995) Overexpressing Cu/Zn superoxide dismutase enhances survival of transplanted neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Nat. Med.*, **1**(3), 226–231. DOI: 10.1038/nm0395-226
25. Choi J., Rees H.D., Weintraub S.T., Levey A.I., Chin L.-S., Li L. (2005) Oxidative modifications and aggregation of Cu,Zn-superoxide dismutase associated with Alzheimer and Parkinson diseases. *J. Biol. Chem.*, **280**(12), 11648–11655. DOI: 10.1074/jbc.M414327200
26. Kuang X.-L., Liu F., Chen H., Li Y., Liu Y., Xiao J., Shan G., Li M., Snider B.J., Qu J., Barger S.W., Wu S. (2014) Reductions of the components of the calreticulin/calnexin quality-control system by proteasome inhibitors and their relevance in a rodent model of Parkinson's disease. *J. Neurosci. Res.*, **92**(10), 1319–1329. DOI: 10.1002/jnr.23413
27. Katayama T., Sawada J., Takahashi K., Yahara O., Hasebe N. (2021) Meta-analysis of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase levels in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. *Alzheimers Res. Ther.*, **13**(1), 163. DOI: 10.1186/s13195-021-00907-3
28. Villa R.F., Arnaboldi R., Ghigini B., Gorini A. (1992) Mitochondrial factors involved in Parkinson's disease by MPTP toxicity in *Macaca fascicularis* and drug effect. *Neurochem. Res.*, **17**(11), 1147–1154. DOI: 10.1007/BF00967293
29. Keane P.C., Kurzawa M., Blain P.G., Morris C.M. (2011) Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.*, **2011**, 716871. DOI: 10.4061/2011/716871
30. Xu J., Fu X., Pan M., Zhou X., Chen Z., Wang D., Zhang X., Chen Q., Li Y., Huang X., Liu G., Lu J., Liu Y., Hu Y., Pan S., Wang Q., Wang Q., Xu Y. (2019) Mitochondrial creatine kinase is decreased in the serum of idiopathic Parkinson's disease patients. *Aging Dis.*, **10**(3), 601–610. DOI: 10.14336/AD.2018.0615
31. Poon H.F., Frasier M., Shreve N., Calabrese V., Wolozin B., Butterfield D.A. (2005) Mitochondrial associated metabolic proteins are selectively oxidized in A30P alpha-synuclein transgenic mice — a model of familial Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.*, **18**(3), 492–498. DOI: 10.1016/j.nbd.2004.12.009
32. Bar-Am O., Yogev-Falach M., Amit T., Sagi Y., Youdim M.B.H. (2004) Regulation of protein kinase C by the anti-Parkinson drug, MAO-B inhibitor, rasagiline and its derivatives, *in vivo*. *J. Neurochem.*, **89**(5), 1119–1125. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02425.x
33. Chen Z., Zhang W., Selmi C., Ridgway W.M., Leung P.S.C., Zhang F., Gershwin M.E. (2021) The myristoylated alanine-rich C-kinase substrates (MARCKS): a membrane-anchored mediator of the cell function. *Autoimmun. Rev.*, **20**(11), 102942. DOI: 10.1016/j.autrev.2021.102942
34. Erhardt B., Marcora M.S., Frenkel L., Boichicchio P.A., Bodin D.H., Silva B.A., Fariás M.I., Allo M.A., Höcht C., Ferrari C.C., Pitossi F.J., Leal M.C. (2021) Plasma membrane calcium ATPase downregulation in dopaminergic neurons alters cellular physiology and motor behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Eur. J. Neurosci.*, **54**(6), 5915–5931. DOI: 10.1111/ejn.15401
35. Pellegrini L., Wetzel A., Grannó S., Heaton G., Harvey K. (2016) Back to the tubule: microtubule dynamics in Parkinson's disease. *Cell. Mol. Life Sci.*, **74**(3), 409–434. DOI: 10.1007/s00018-016-2351-6
36. Song J., Yang X., Zhang M., Wang C., Chen L. (2021) Glutamate metabolism in mitochondria is closely related to Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, **84**(2), 557–578. DOI: 10.3233/JAD-210595
37. Villar-Conde S., Astillero-Lopez V., Gonzalez-Rodriguez M., Saiz-Sanchez D., Martinez-Marcos A., Ubeda-Banon I., Flores-Cuadrado A. (2023) Synaptic involvement of the human amygdala in Parkinson's disease. *Mol. Cell. Proteomics*, **22**(12), 100673. DOI: 10.1016/j.mcpro.2023.100673
38. Bohush A., Leśniak W., Weis S., Filipiek A. (2021) Calmodulin and its binding proteins in Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(6), 3016. DOI: 10.3390/ijms22063016
39. Chithra Y., Dey G., Ghose V., Chandramohan V., Gowthami N., Vasudev V., Srinivas Bharath M.M. (2023) Mitochondrial complex I inhibition in dopaminergic neurons causes altered protein profile and protein oxidation: implications for Parkinson's disease. *Neurochem. Res.*, **48**(8), 2360–2389. DOI: 10.1007/s11064-023-03907-x
40. Shi M.-M., Shi C.-H., Xu Y.-M. (2017) Rab GTPases: the key players in the molecular pathway of Parkinson's disease. *Front. Cell. Neurosci.*, **11**, 81. DOI: 10.3389/fncel.2017.00081
41. Bellucci A., Longhena F., Spillantini M.G. (2022) The role of Rab proteins in Parkinson's disease synaptopathy. *Biomedicines*, **10**(8), 1941. DOI: 10.3390/biomedicines10081941
42. Song Q., Meng B., Xu H., Mao Z. (2020) The emerging roles of vacuolar-type ATPase-dependent lysosomal acidification in neurodegenerative diseases. *Transl. Neurodegener.*, **9**(1), 17. DOI: 10.1186/s40035-020-00196-0
43. Remnestrål J., Just D., Mitsios N., Fredolini C., Mulder J., Schwenk J.M., Uhlén M., Kultima K., Ingelsson M., Kilander L., Lannfelt L., Svenningsson P., Nellgård B., Zetterberg H., Blennow K., Nilsson P., Häggmark-Månberg A. (2016) CSF profiling of the human brain enriched proteome reveals associations of neuromodulin and neurogranin to Alzheimer's disease. *Proteomics Clin. Appl.*, **10**(12), 1242–1253. DOI: 10.1002/prca.201500150
44. Piccini P., Weeks R.A., Brooks D.J. (1997) Alterations in opioid receptor binding in Parkinson's disease patients with levodopa-induced dyskinesias. *Ann. Neurol.*, **42**(5), 720–726. DOI: 10.1002/ana.410420508
45. Verma A., Ravindranath V. (2019) CaV1.3 L-type calcium channels increase the vulnerability of substantia nigra dopaminergic neurons in MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.*, **11**, 382. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00382
46. Matuskey D., Tinaz S., Wilcox K.C., Naganawa M., Toyonaga T., Dias M., Henry S., Pittman B., Ropchan J., Nabulsi N., Suridjan I., Comley R.A., Huang Y., Finnema S.J., Carson R.E. (2020) Synaptic changes in Parkinson disease assessed with *in vivo* imaging. *Ann. Neurol.*, **87**(3), 329–338. DOI: 10.1002/ana.25682
47. Agliardi C., Meloni M., Guerini F.R., Zanzottera M., Bolognesi E., Baglio F., Clerici M. (2021) Oligomeric α -syn and SNARE complex proteins in peripheral extracellular vesicles of neural origin are biomarkers for Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.*, **148**, 105185. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.105185
48. He Y., Nan D., Wang H. (2023) Role of non-receptor-type tyrosine phosphatases in brain-related diseases. *Mol. Neurobiol.*, **60**(11), 6530–6541. DOI: 10.1007/s12035-023-03487-5
49. Hwang H., Zhang J., Chung K.A., Leverenz J.B., Zabetian C.P., Peskind E.R., Jankovic J., Su Z., Hancock A.M., Pan C., Montine T.J., Pan S., Nutt J., Albin R., Gearing M.,

- Beyer R.P., Shi M., Zhang J. (2010) Glycoproteomics in neurodegenerative diseases. *Mass Spectrom. Rev.*, **29**(1), 79–125. DOI: 10.1002/mas.20221
50. Birkner K., Loos J., Gollan R., Steffen F., Wasser B., Ruck T., Meuth S.G., Zipp F., Bittner S. (2019) Neuronal ICAM-5 plays a neuroprotective role in progressive neurodegeneration. *Front. Neurol.*, **10**, 205. DOI: 10.3389/fneur.2019.00205
51. Kim K., Lee S.-G., Kegelmann T.P., Su Z.-Z., Das S.K., Dash R., Dasgupta S., Barral P.M., Hedvat M., Diaz P., Reed J.C., Stebbins J.L., Pellecchia M., Sarkar D., Fisher P.B. (2011) Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: opportunities for developing novel therapeutics. *J. Cell. Physiol.*, **226**(10), 2484–2493. DOI: 10.1002/jcp.22609
52. Chung D., Shum A., Caraveo G. (2020) GAP-43 BASP1 in axon regeneration: implications for the treatment of neurodegenerative diseases. *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 567537. DOI: 10.3389/fcell.2020.567537
53. MacDonald K., Iulianella A. (2022) The actin-cytoskeleton associating protein BASP1 regulates neural progenitor localization in the neural tube. *Genesis*, **60**(1–2), e23464. DOI: 10.1002/dvg.23464
54. Gray M., Nash K.R., Yao Y. (2024) Adenylyl cyclase 2 expression and function in neurological diseases. *CNS Neurosci. Ther.*, **30**(7), e14880. DOI: 10.1111/cns.14880
55. Zhou Z., Chen Q.-Y., Zhuo M., Xu P.-Y. (2024) Inhibition of calcium-stimulated adenylyl cyclase subtype 1 (AC1) for the treatment of pain and anxiety symptoms in Parkinson's disease mice model. *Mol. Pain*, **20**, 17448069241266683. DOI: 10.1177/17448069241266683
56. Lee Y.M., Park S.H., Shin D.-I., Hwang J.-Y., Park B., Park Y.-J., Lee T.H., Chae H.Z., Jin B.K., Oh T.H., Oh Y.J. (2008) Oxidative modification of peroxiredoxin is associated with drug-induced apoptotic signaling in experimental models of Parkinson disease. *J. Biol. Chem.*, **283**(15), 9986–9998. DOI: 10.1074/jbc.M800426200
57. Roede J.R., Hansen J.M., Go Y.-M., Jones D.P. (2011) Maneb and paraquat-mediated neurotoxicity: involvement of peroxiredoxin/thioredoxin system. *Toxicol. Sci.*, **121**(2), 368–375. DOI: 10.1093/toxsci/kfr058
58. Santulli C., Bon C., Cecco E.D., Codrich M., Narkiewicz J., Parisse P., Perissinotto F., Santoro C., Persichetti F., Legname G., Espinoza S., Gustincich S. (2022) Neuronal haemoglobin induces loss of dopaminergic neurons in mouse substantia nigra, cognitive deficits and cleavage of endogenous α -synuclein. *Cell Death Dis.*, **13**(12), 1048. DOI: 10.1038/s41419-022-05489-y
59. Lin J., Ou R., Li C., Hou Y., Zhang L., Wei Q., Pang D., Liu K., Jiang Q., Yang T., Xiao Y., Zhao B., Chen X., Song W., Yang J., Wu Y., Shang H. (2023) Plasma glial fibrillary acidic protein as a biomarker of disease progression in Parkinson's disease: a prospective cohort study. *BMC Med.*, **21**(1), 420. DOI: 10.1186/s12916-023-03120-1
60. Lapeña-Luzón T., Rodríguez L.R., Beltran-Beltran V., Benetó N., Pallardó F.V., Gonzalez-Cabo P. (2021) Cofilin and neurodegeneration: new functions for an old but gold protein. *Brain Sci.*, **11**(7), 954. DOI: 10.3390/brainsci11070954
61. Liu K., Li F., Han H., Chen Y., Mao Z., Luo J., Zhao Y., Zheng B., Gu W., Zhao W. (2016) Parkin regulates the activity of pyruvate kinase M2. *J. Biol. Chem.*, **291**(19), 10307–10317. DOI: 10.1074/jbc.M115.703066
62. Williams E.T., Chen X., Moore D.J. (2017) VPS35, the retromer complex and Parkinson's disease. *J. Parkinsons Dis.*, **7**(2), 219–233. DOI: 10.3233/JPD-161020
63. Sassone J., Reale C., Dati G., Regoni M., Pellecchia M.T., Garavaglia B. (2021) The role of VPS35 in the pathobiology of Parkinson's disease. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **41**(2), 199–227. DOI: 10.1007/s10571-020-00849-8
64. Schmidt S.I., Blaabjerg M., Freude K., Meyer M. (2022) RhoA signaling in neurodegenerative diseases. *Cells*, **11**(9), 1520. DOI: 10.3390/cells11091520
65. León A., Aparicio G.I., Scorticati C. (2021) Neuronal glycoprotein M6a: an emerging molecule in chemical synapse formation and dysfunction. *Front. Synaptic Neurosci.*, **13**, 661681. DOI: 10.3389/fnsyn.2021.661681
66. Chalorak P., Dharmasaroja P., Meemon K. (2020) Downregulation of eEF1A/EFT3-4 enhances dopaminergic neurodegeneration after 6-OHDA exposure in *C. elegans*. *Model. Front. Neurosci.*, **14**, 303. DOI: 10.3389/fnins.2020.00303
67. Ren Y., Zhao J., Feng J. (2003) Parkin binds to alpha/beta tubulin and increases their ubiquitination and degradation. *J. Neurosci.*, **23**(8), 3316–3324. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-08-03316.2003
68. Mazzetti S., Giampietro F., Calogero A.M., Isilgan H.B., Gagliardi G., Rolando C., Cantele F., Ascagni M., Bramerio M., Giaccone G., Isaias I.U., Pezzoli G., Cappelletti G. (2024) Linking acetylated α -tubulin redistribution to α -synuclein pathology in brain of Parkinson's disease patients. *NPJ Parkinsons Dis.*, **10**, 2. DOI: 10.1038/s41531-023-00607-9

Поступила в редакцию: 11. 05. 2025.
 После доработки: 28. 05. 2025.
 Принята к печати: 29. 05. 2025.

**THE DELAYED EFFECT OF THE NEUROPROTECTOR FABOMOTIZOLE
ON THE BRAIN PROTEOME IN RATS WITH THE ROTENONE MODEL OF PARKINSONISM**

O.A. Buneeva^{1}, I.G. Kapitsa², M.G. Zavyalova¹, S.A. Kaloshina¹, V.G. Zgoda¹, A.E. Medvedev¹*

¹Institute of Biomedical Chemistry,

10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: olbuneeva@gmail.com

²Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies,

8 Baltiyskaya str., Moscow, 125315 Russia

Fabomotizole is an original anxiolytic agent developed at the Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies that acts on a number of important receptor systems of the brain. In a model of Parkinson's disease induced in rats by a course of rotenone administration, fabomotizole attenuated manifestations of behavioral impairments and influenced the profile and relative content of brain proteins. Five days after the last administration of rotenone, the fabomotizole effect on the behavioral reactions of rats persisted. According to the proteomic study, the profile of brain proteins and changes in their relative content differed significantly from the results obtained immediately after the last administration of rotenone, as well as rotenone in combination with fabomotizole. Changes in the relative content of almost all proteins detected immediately after the last administration of rotenone or rotenone with fabomotizole were not detectable five days later. However, at this time point, there were changes in the relative content of other proteins associated with neurodegeneration in Parkinson's and Alzheimer's diseases. Such dynamics suggests a wave-like change in the content of pathogenetically important brain proteins involved in the mechanisms of neurodegeneration and neuroprotection.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Keywords: fabomotizole; neuroprotector; brain proteins; Parkinson's disease; rotenone; neurodegeneration; proteomic profiling

Funding. The work was performed within the framework of the Program for Basic Research in the Russian Federation for a long-term period (2021–2030) (No. 122030100170-5).

Received: 11.05.2025; revised: 28.05.2025; accepted: 29.05.2025.