

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Тимошина Юлия Анатольевна

**Роль Na,K-АТФазы в поведенческих нарушениях у мышей, индуцированных
уабаином, марганцем и МФТП**

1.5.24. Нейробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2025

Работа выполнена на кафедре высшей нервной деятельности биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научный руководитель: **Латанов Александр Васильевич**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Кухарский Михаил Сергеевич** — доктор биологических наук, Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Институт физиологически активных веществ, лаборатория молекулярно-генетических механизмов нейродегенерации, заведующий лабораторией
Кучеряну Валериян Григорьевич — доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», лаборатория общей патологии нервной системы, главный научный сотрудник
Петрушанко Ирина Юрьевна — кандидат физико-математических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, лаборатория конформационного полиморфизма белков в норме и патологии, ведущий научный сотрудник

Защита диссертации состоится 15 декабря 2025 г. в 15:30 на заседании диссертационного совета МГУ.015.7 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет МГУ, аудитория М-1. E-mail: belka.umarova.msu@gmail.com

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте Диссовет 2.0: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3655>

Автореферат разослан _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета МГУ.015.7,
доктор биологических наук

Умарова Б.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Рост распространенности нейродегенеративных заболеваний в мире, обусловленный демографическими изменениями и усложнением значимых патогенетических факторов, остро ставит задачу исследования их молекулярных основ и разработки эффективных стратегий профилактики и лечения.

Большое количество исследований свидетельствуют об участии Na,K -АТФазы в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Паркинсона (БП). Na,K -АТФаза – фермент, экспрессирующийся во всех клетках организма и отвечающий за трансмембранный ко-транспорт ионов Na^+ из клетки и ионов K^+ в клетку (Skou, 1992). Кроме своей основной функции по поддержанию электрохимического градиента, Na,K -АТФаза участвует в регуляции работы мембранных рецепторов за счет белок-белковых взаимодействий (Zhang, 2013).

Среди применяемых в клинике кардиотонических стероидов (КТС) большинство принадлежит к фармакологической группе специфических ингибиторов Na,K -АТФазы (Лопачева, 2018). Связывание с КТС приводит к изменению конформации Na,K -АТФазы, что, в свою очередь, изменяет характер белковых взаимодействий и запускает активацию внутриклеточных каскадов (Каргрова, 2010). Однако имеющиеся данные об участии КТС в работе Na,K -АТФазы в основном получены в экспериментах *in vitro*, в то время как о влиянии КТС на физиологические и патофизиологические процессы нервной системы целого организма известно мало. Было показано, что фармакологическое ингибирование фермента (El-Mallakh, 2003; Kurauchi, 2019), а также мутации в $\alpha 3$ -субъединице приводят к возникновению у лабораторных животных мания-подобного поведения (Kirshenbaum, 2011; Clapcote, 2009), а у пациентов с биполярным расстройством, в свою очередь, снижается активность Na,K -АТФазы (El-Mallakh, 2021). Кроме того, аутосомно-доминантные мутации в $\alpha 3$ -субъединице вызывают тяжелые неврологические расстройства, а именно быстроразвивающуюся дистонию-паркинсонизм (БРДП) и альтернирующую гемиплегию детства (АГД) (Li, 2022; Zhang, 2022). В свою очередь, при БП происходит образование внутриклеточных кластеров α -синуклеина с $\alpha 3$ -субъединицей, приводящее к инактивации последней и формированию мембранных областей с пониженным содержанием Na,K -АТФазы (Shrivastava, 2015). Токсические аддукты хино-протеинов, образующиеся вследствие аутоокисления цитоплазматического дофамина, дозозависимо инактивируют Na,K -АТФазу, что также может способствовать гибели дофаминергических нейронов при развитии БП (Khan, 2003). Вместе с этим в моделях паркинсоноподобных состояний у животных сообщается о значительном снижении активности данного фермента. В свою очередь мутации в $\alpha 1$ -субъединице Na,K -АТФазы, вызывающие

снижение её активности (Ilesanmi, 2019), усугубляют действие токсических агентов в моделях БП.

Известно, что Mn-индуцированное гиперметилирование промотора гена ATP1A3 и эпигенетическое выключение генов нарушают гиппокампальный нейрогенез у потомства мышей, подвергшихся воздействию Mn во время беременности (Wang, 2013). Кроме этого, вызываемый марганцем окислительный стресс может быть причиной подавления активности α 3-субъединицы в мозге (Petrushanko, 2007). Интересно, что многие неврологические симптомы манганизма тесно перекликаются с симптомами, развивающимися у людей с гаплонедостаточностью по гену, кодирующему α 3-субъединицу Na,K-АТФазы (Arystarkhova, 2019; Böttger, 2016). Важным отличием данных состояний от БП является то, что симптомы паркинсонизма как при манганизме, так при БРДП и АГД, не корректируются применением леводопы и глубинной стимуляцией мозга (Cersosimo, 2006).

Изучение влияния прямого ингибирования Na,K-АТФазы КТС позволит проанализировать связь дисфункции данного фермента с развитием двигательных нарушений у животных. В свою очередь в экспериментальных моделях манганизма и паркинсонизма возможно оценить корреляцию тяжести двигательных нарушений с активностью Na,K-АТФазы. Оценка негативных эффектов веществ, имеющих клиническое значение, может способствовать пониманию механизмов экстрапирамидных расстройств и выявлению новых мишней их фармакологической коррекции.

Цель и задачи работы:

Цель: охарактеризовать механизмы модуляции активности Na,K-АТФазы при действии убацина, марганца и нейротоксина МФТП в культуре клеток и мозге мышей.

Задачи:

1. Изучить нейрохимические механизмы токсичности ингибитора Na,K-АТФазы убацина на культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y недифференцированной и дифференцированной по дофаминергическому типу.

2. Исследовать возможную связь между поведенческими эффектами однократного и многократного внутрижелудочкового введения убацина мышам линии C57Bl/6 (локомоторную активность животных, стереотипию двигательной активности и координацию движений) и изменениями биохимических параметров структур мозга, вовлеченных в контроль локомоторной активности (экспрессию изоформ α -субъединицы и активность Na,K-АТФазы и дофаминзависимых сигнальных каскадов).

3. Исследовать возможную связь между поведенческими эффектами хронического потребления марганца мышами линии C57Bl/6 (двигательные функции, способность к

обучению в пищедобывательной задаче в «Челночной камере») и изменениями биохимических параметров структур мозга, вовлеченных в контроль локомоторной активности (экспрессию изоформ α -субъединицы и активность Na,K -АТФазы, активность дофаминзависимых сигнальных каскадов, содержание катехоламинов).

4. Описать поведенческие (двигательные функции и пространственную память) и биохимические (активность Na,K -АТФазы, содержание катехоламинов, тирозингидроксилазы, супероксиддисмутазы, цитохромоксидазы) характеристики модели премоторной стадии паркинсонизма у мышей линии C57Bl/6, вызванной хроническим введением низкой дозы токсина МФТП.

Научная новизна работы. В работе впервые показано различие токсических концентраций убацина при действии на недифференцированную и дифференцированную по дофаминергическому типу культуру нейробластомы человека SH-SY5Y. С использованием анализа ингибиторных эффектов исследовано участие глутаматных ионотропных рецепторов, дофаминовых D2-рецепторов, протеинкиназы С и киназы ERK1/2, а также проапоптотических и антиапоптотических белков в реализации нейротоксичности убацина.

Впервые проведено многократное внутрижелудочковое введение убацина в нетоксической концентрации мышам с последующей оценкой их двигательной активности и неврологической симптоматики, проведено сравнение эффектов однократного и многократного введения убацина. Проанализировано влияние многократного введения убацина на активацию киназ Akt и ERK1/2, соотношения про-(Bax, Bak) и антиапоптотических (Bcl-2, Bcl-xL) белков, а также количества $\alpha 1$ - и $\alpha 3$ -изоформ α -субъединицы Na,K -АТФазы.

В модели хронического потребления мышами хлорида марганца (II) с питьевой водой впервые проведена оценка динамики изменения активности и содержания субъединиц Na,K -АТФазы при накоплении ионов марганца. Также проанализирована динамика развития моторных нарушений и влияние ионов Mn на активацию киназ Akt и ERK1/2, содержание белков-регуляторов апоптоза (Bax, Bak, Bcl-2, Bcl-xL).

В новой разработанной нами модели премоторной стадии МФТП-индуцированного паркинсонизма при хроническом введении низкой дозы токсина было продемонстрировано отсутствие дисфункции Na,K -АТФазы на ранних этапах развития паркинсоноподобного состояния на фоне понижения содержания дофамина и дегенерации нейронов компактной части черной субстанции (кЧС).

Теоретическая и практическая значимость работы. Изучение особенностей функционирования Na,K -АТФазы в моделях паркинсоноподобных состояний, вызванных хроническим потреблением марганца или МФТП, а также разработка модели

паркинсоноподобного состояния при длительном ингибиции нейрональной Na,K -АТФазы уабаином, расширяет понимание роли данного фермента в патофизиологических процессах мозга. В настоящее время известно, что неврологические расстройства могут быть вызваны мутациями в гене ATP1A3, кодирующем $\alpha 3$ -субъединицу Na,K -АТФазы. На сегодняшний день ATP1A3 является единственным известным геном, мутации в котором обнаруживаются при БРДП и АГД. При этом данные заболевания тяжело поддаются фармакологической и хирургической коррекции, не восприимчивы к классической противопаркинсонической терапии. Вместе с этим имеется мало данных о влиянии функциональной недостаточности фермента на развитие паркинсоноподобных состояний. Дальнейшее изучение изменений в функционировании Na,K -АТФазы в целом, модуляции её работы экзогенными факторами и эндогенными КТС, а также механизмов взаимодействия Na,K -АТФазы с дофаминергической системой в различных моделях на физиологическом и нейрохимическом уровнях может открыть потенциально новые фармакологические мишени в лечении паркинсонизма.

Методология и методы исследования. Исследования *in vitro* проводили на культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, дифференцированной по дофаминергическому типу. Жизнеспособность клеток культуры определяли по МТТ-тесту. При оценке наличия двигательных нарушений в экспериментах *in vitro* использовали стандартные методики поведенческого тестирования, направленные на оценку локомоции, координации, когнитивных задач. Уровень катехол-, индоламинов и их метаболитов в структурах мозга и лизатах клеток культуры определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД). Содержание ионов марганца, натрия и калия в гомогенатах мозга определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанный плазмой (АЭС-ИСП). Анализ содержания субъединиц Na,K -АТФазы, сигнальных молекул и белков-регуляторов апоптоза проводили методом Вестерн-блотт. Активность Na,K -АТФазы определяли по количеству выделяющегося в ходе реакции неорганического фосфата по методу Rathbun and Betlach.

Эксперименты выполнены на кафедре высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, биохимический анализ проведен в лаборатории экспериментальной и трансляционной нейрохимии ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук».

Положения, выносимые на защиту:

1. Ингибиция Na,K -АТФазы головного мозга кардиотоническим стероидом уабаином приводит к гиперлокомоции и нарушению координации у животных.

2. Двигательные нарушения, вызванные длительным введением марганца и МФТП, не связаны с ингибированием насосной функции Na,K-АТФазы головного мозга.

3. Двигательные нарушения, вызванные длительным введением уабаина и марганца, опосредованы деактивацией киназы Akt и активацией киназы ERK1/2, соответственно.

Степень достоверности данных. Представленные в работе данные получены с использованием современных общепринятых экспериментальных методик, результаты, представленные в работе, статистически достоверны и воспроизводимы. Обзор литературы и обсуждение подготовлены с использованием актуальной тематической литературы.

Публикации. По результатам работы опубликовано 7 статей, все - в журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности и отрасли наук.

Апробация результатов. Результаты данной диссертационной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях: 33rd ECNP Congress – Vienna 2020 (Вена, Австрия, ноябрь 2020г.); VI ежегодная конференция ИТБМ СПбГУ «Актуальные проблемы трансляционной биомедицины – 2022» (Санкт-Петербург, Россия, 25-26 июля 2022 г.); XXIV съезд Физиологического Общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия, 11-15 сентября 2023 г.); 3rd Congress of International Society for Clinical Physiology&Pathology (ISCPP2025) (Москва, Россия, 12-14 мая 2025 г.). Апробация диссертации прошла на заседании кафедры высшей нервной деятельности МГУ имени М.В. Ломоносова 21 октября 2025 г.

Личный вклад автора. Соискатель лично принимал участие в разработке направления исследования, формулировании гипотез и концепции исследования. Соискатель лично осуществлял планирование экспериментов, адаптацию методик, работу с культурой клеток, выполнение стереотаксических манипуляций и проведение поведенческого тестирования, изготовление тканевых образцов, проведение биохимических, молекулярно-биологических и иммуногистохимических анализов, анализ данных, статистическую обработку и обобщение результатов, написание статей и тезисов, представление результатов работы на российских и международных конференциях.

Структура и объем работы. Материалы диссертации изложены на 172 страницах. Работа состоит из обзора литературы по выбранной теме, описания материалов и методов, использованных при выполнении данной работы, четырех глав результатов и их обсуждения, заключения и выводов. Диссертационная работа проиллюстрирована 41 рисунком и 1 таблицей. Список использованной литературы включает 281 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении обозначены актуальность исследования и степень разработанности научной темы, сформулированы цели и задачи, аргументирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, описаны методология и методы исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы. В обзоре литературы представлено современное состояние вопроса о работе Na,K -АТФазы как регулятора трансмембранных потенциала и рецептора к кардиотоническим стероидам, рассматривается его участие в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Описана функциональная значимость ионов марганца и механизмы его токсичности, приводящие к развитию манганизма, а также влияние марганца на работу Na,K -АТФазы.

Материалы и методы. В рамках настоящего исследования было проведено три серии экспериментов, в каждой из которых оценивали влияние уабаина, марганца или МФТП на поведение мышей линии C57Bl/6, активность Na,K -АТФазы и некоторые другие биохимические параметры головного мозга, а также эксперимент по изучению механизмов влияния уабаина на жизнеспособность клеток нейробластомы человека SH-SY5Y.

Все эксперименты на животных проводили в соответствии с Руководством Национального института здоровья по уходу и использованию лабораторных животных (NIH Publications No. 80-23), пересмотренным в 1996 г. Протоколы исследований были одобрены этическим комитетом по экспериментам на животных СПбГУ (протокол № 131-03-1 от 25.03.2019) и Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «РЦНН» (протокол №2-9/24 от 18.03.2024).

Изучение механизмов влияния ингибитора Na,K -АТФазы уабаина на жизнеспособность культуры клеток нейробластомы человека SH-SY5Y: Работа была проведена на быстрорастущей пересеваемой клеточной культуре нейробластомы человека SH-SY5Y (ATCC®, США), недифференцированной и дифференцированной по дофаминергическому типу. На первом этапе проводили оценку жизнеспособности культуры недифференцированной и дифференцированной нейробластомы SH-SY5Y с использованием МТТ-теста после инкубации клеток с уабаином. Для изучения механизмов токсического действия уабаина проводили оценку влияния его совместной инкубации с ингибитором протеинкиназы С хелеритрином, блокатором AMPA/каинатных рецепторов 6-суано-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX), ингибитором пути MEK/ERK PD0325901 или ингибитором дофаминовых D2-рецепторов галоперидолом на жизнеспособность клеток культуры нейробластомы с использованием МТТ-теста.

После определения минимальной токсической дозы уабаина проводили оценку его влияния на содержание дофамина в культуре клеток недифференцированной и дифференцированной нейробластомы методом ВЭЖХ-ЭД и на содержание белков регуляторов апоптоза в недифференцированной культуре методом Вестерн-блотт.

Моделирование двигательных нарушений у мышей линии C57Bl/6 путем внутрижелудочкового введения ингибитора Na,K-АТФазы уабаина: Для оценки влияния уабаина на двигательную активность животных и изучения механизмов этого влияния проводили его внутрижелудочковое (ICV) введение однократно или четырехкратно.

Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57Bl/6 ($n = 40$), полученных из вивария Санкт-Петербургского государственного университета. При помощи стереотаксической установки животным были установлены хронические канюли для введения веществ. Эксперименты проводили через 3 дня после постановки канюль.

При однократном введении уабаина (0,5 мкл 50 мКМ (25 пмоль, 14,6 нг)) у животных тестировали локомоторную активность в teste «Открытое поле» и наличие двигательных нарушений в тестах «Наклонная лесенка», «Приподнятая планка» и степпинг сразу после введения.

При четырехкратном (1 введение ежедневно в течение 4x дней) введении уабаина (1,5 мкл 50 мКМ (75 пмоль, 43,8 нг)) у животных тестировали локомоторную активность в teste «Открытое поле» и наличие двигательных нарушений в тестах «Наклонная решетка», «Приподнятая планка» и степпинг через 24 часа после последнего введения.

Эвтаназию животных и извлечение структур мозга осуществляли через 10 или 30 минут после введения в зависимости от последующих биохимических исследований после однократного введения и через 24 часа после последнего введения при четырехкратной схеме. В образцах мозга определяли активность Na,K-АТФазы, методом Вестерн-блотт определяли содержание субъединиц a1 и a3 Na,K-АТФазы, киназ ERK и pERK, Akt и pAkt, субъединицы NR2B NMDA-рецептора белков-регуляторов апоптоза Bak, Bax, Bcl-2, Bcl-xL.

Моделирование двигательных и когнитивных нарушений у мышей линии C57Bl/6, вызванных потреблением хлорида марганца с питьевой водой: Для оценки влияния длительного воздействия марганца на двигательную активность животных был проведен эксперимент, в котором животные потребляли питьевую воду с растворенным в ней хлоридом марганца в концентрации 0,5 г/л в течение 8 недель.

Исследование выполнено на самцах мышей линии C57Bl/6 ($n = 43$), приобретенных в Научном центре биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства (Москва, Россия). Еженедельно проводили поведенческое тестирование с использованием

тестов: стекинг-тест, «Сужающаяся дорожка», «Наклонная решетка»; пищедобывательное поведение в teste «Челночная камера»; «Открытое поле».

Для оценки динамики изменения биохимических параметров мозга животных, потреблявших Mn, подвергали эвтаназии через 2, 4, 6 и 8 недель эксперимента. Животные контрольной группы были подвергнуты эвтаназии через 8 недель после начала эксперимента. В образцах мозга было определено содержание ионов Na^+ и K^+ методом АЭС-ИСП, ионов Mn^{2+} методом МС-ИСП, активность Na,K -АТФазы, методом Вестерн-блотт оценивали содержание а1, а2, а3 субъединиц Na,K -АТФазы, содержание киназ ERK1/2 и pERK1/2, Akt и pAkt, белков-регуляторов апоптоза Bak, Bcl-xL, Bax, содержание дофамина и серотонина было определено методом ВЭЖХ-ЭД.

Моделирование досимптоматической стадии паркинсонизма у мышей линии C57Bl/6 введением низких доз токсина МФТП: Участие Na,K -АТФазы в формировании токсин-индукции паркинсоноподобного поведения оценивали в новой разработанной модели с длительным ежедневным введением 3 мг/кг МФТП.

Эксперимент проводили на самцах мышей линии C57Bl/6 (n=23), полученных из Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства (Москва, Россия). Моделирование ранней стадии паркинсонизма осуществляли путем ежедневного введения МФТП в дозе 3 мг/, суммарно каждое животное получало 35 введений. После 35-го введения МФТП проводили оценку наличия двигательных нарушений у животных в тестах «Открытое поле», «Сужающаяся дорожка» и «Наклонная решетка», а также оценку рабочей пространственной памяти в teste «Y-образный лабиринт» в парадигме спонтанного чередования. Через 24 часа после последнего введения МФТП животных подвергали эвтаназии.

В образцах мозга определяли содержание дофамина и его метаболитов методом ВЭЖХ-ЭД, активность Na,K -АТФазы, иммуногистохимическим методом определяли содержание тирозингидроксилазы, цитохромоксидазы и супероксиддисмутазы.

Статистическая обработка: Для сравнения средних значений выборок использовали t-test, one-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак или Тьюки или two-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак или Тьюки, разброс значений представлен стандартной ошибкой среднего.

Результаты исследования.

Механизмы влияния ингибиторной функции кардиотонического стероида уабаина на функционирование Na,K -АТФазы в культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y:

На культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, недифференцированной и дифференцированной по дофаминергическому типу, оценивали влияние уабаина в

концентрациях 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ и 1 мкм на жизнеспособность клеток по МТТ-тесту после 24 ч инкубации. Было обнаружено, что инкубация клеток с 10 нМ уабаином приводила к снижению жизнеспособности недифференцированной культуры на 10% ($89,69\pm1,371\%$, $F(4, 55) = 745,9$, $p<0,001$), а при 100 нМ и 1 мкМ уабаина - на 49% ($51,32\pm1,67\%$, $p<0,001$) и 70% ($29,68\pm0,69\%$, $p<0,001$), соответственно относительно интактной культуры.

В свою очередь, жизнеспособность дифференцированной по дофаминергическому типу культуры нейробластомы SH-SY5Y статистически значимо снижалась при инкубации клеток с 100 нМ уабаина на 27% ($72,71\pm3,754\%$, $F(4, 55) = 225,8$, $p<0,001$) и при инкубации с 1 мкМ уабаина — на 41% ($58,88\pm1,187\%$, $p < 0,001$) после 24 часов инкубации по данным МТТ-теста по сравнению с интактной культурой.

Для исследования участия дофаминовых и глутаматных рецепторов в реализацию токсического действия уабаина провели инкубирование культуры в течение 24 часов с ингибитором D2-рецепторов галоперидолом и ингибитором АМРА и кайнатных рецепторов CNQX соответственно. При совместной инкубации с ингибиторами уабаин не снизил свою токсичность (таблица 1).

Добавление 100 нМ хелеритрина достоверно снижало токсичность уабаина в недифференцированной культуре в обеих концентрациях ($99,47\pm4,65\%$, $p<0,01$ по сравнению с 10 нМ уабаином и $79,57\pm6,10\%$, $p<0,01$ по сравнению с 100 нМ уабаином, *уабаин*: $F(2, 57) = 10,22$, *ингибитор*: $F(1, 57) = 9,428$, *уабаин* \times *ингибитор*: $F(2, 57) = 4,092$, таблица 1). Жизнеспособность дифференцированной культуры при совместной инкубации 100 нМ уабаина и 100 нМ хелеретрина снижалась на 8% ($92,05\pm8,24\%$, *уабаин*: $F(2, 49) = 39,91$, *ингибитор*: $F(1, 49) = 7,84$, *уабаин* \times *ингибитор*: $F(2, 49) = 2,038$, $p<0,01$ по сравнению с 100 нМ уабаином).

В эксперименте с использованием ингибитора пути MEK/ERK PD0325901 в концентрации 1 мкМ было обнаружено, что PD0325901 не влиял на токсический эффект 100 нМ уабаина как в дифференцированной культуре ($65,00\pm1,21\%$), так и в недифференцированной ($64,73\pm2,14\%$), однако снизил токсичность уабаина в концентрации 10 нм ($99,00\pm1,76\%$, *уабаин*: $F(2, 59) = 46,09$, *ингибитор*: $F(1, 59) = 1,818$, *уабаин* \times *ингибитор*: $F(2, 59) = 3,17$, $p<0,01$ по сравнению с 10 нМ уабаина, таблица 1).

Инкубация с 10 нМ уабаина в течение 3-х часов не привела к изменению содержания про- и антиапоптотических белков. Вместе с этим инкубация со 100 нМ уабаином вызвала уменьшение количества белка Bcl-2 на 65% относительно интактных клеток ($p<0,05$, $F(2, 12) = 3,67$) без изменения в количестве других белков-регуляторов апоптоза.

Таблица 1. Величина жизнеспособности культуры клеток нейробластомы человека SH-SY5Y недифференцированной и дифференцированной по дофаминергическому типу при совместной 24-часовой инкубации уабаина в минимальных токсических концентрациях совместно с CNQX, галопериодолом, хелеритрином или PD0325901, оцениваемая в тесте МТТ.

	Недифференцированная культура		Дифференцированная культура	
	Жизнеспособность, % относительно контроля	P	Жизнеспособность, % относительно контроля	P
10 нм уабаин	89,69±1,37%***	p<0,001	102,5±1,55%	p=0,9968
100 нм уабаин	51,32±1,66%***	p<0,001	72,71±3,75%***	p<0,001
10 нм уабаин + 100 нм CNQX	91,5±2,27%	p=0,05	97,69±3,38%	p=0,8269
100 нм уабаин + 100 нм CNQX	65,71± 11,06%***	p<0,0001	69,23±4,69%****	p<0,0001
10 нм уабаин + 100 мкм галопериодол	91,86±0,89%*	p=0,0127	100,9±3,27%	p=0,8229
100 нм уабаин + 100 мкм галопериодол	70,67±1,7%***	p<0,0001	57,56±5,9%****	p<0,0001
10 нм уабаин + 100 нм хелеритрин	99,47±4,65%##	p<0,01	104,5±1,96%	p=0,9006
100 нм уабаин + 100 нм хелеритрин	79,57±6,1%##	p<0,01	92,05±8,24%#	p=0,017
10 нм уабаин + 1 мкм PD0325901	99±1,76%##	p=0,0052	97,88±1,17%	P=0,99
100 нм уабаин + 1 мкм PD0325901	65±1,21%****	p<0,0001	68,65±6,61%****	p<0,0001

* - по сравнению с контролем, # - по сравнению с соответствующей концентрацией уабаина.

Влияние уабаина на двигательные функции и нейрохимические характеристики в мозге мышей линии C57Bl/6:

Однократное ICV-введение 0,5 мкл 50 мкМ (25 пмоль, 14,6 нг) уабаина привело к увеличению пройденного мышами расстояния в 1,53 раза ($p<0,05$, $t=2,22$, $df=20$) и увеличению средней скорости движения в 1,9 раз ($p<0,0001$, $t=4,77$, $df=21$, рисунок 1, А-Б). В свою очередь, через 24 ч после 4-х дневного ICV-введения 1,5 мкл 50 мкМ (75 пмоль, 43,8 нг) уабаина было

обнаружено увеличение средней скорости движения в 1,9 раза ($p<0,05$, $t=2,21$, $df=18$) без увеличения пройденного расстояния (рисунок 1, В-Г).

По истечении 4-х дней животные, которым вводили уабаин, выполняли тесты «Наклонная лесенка» и «Приподнятая перекладина» в 1,8 раза ($p<0,05$, $t=3,06$, $df=13$) и в 2,2 раза медленнее ($p<0,05$, $t=2,45$, $df=14$), чем животные из контрольной группы, совершая при этом в 3,3 раза ($p<0,05$, $t=2,51$, $df=14$) и 7,75 раз ($p < 0,05$, $t=4,893$, $df=14$) больше ошибок, соответственно (рисунок 1, Д-З).

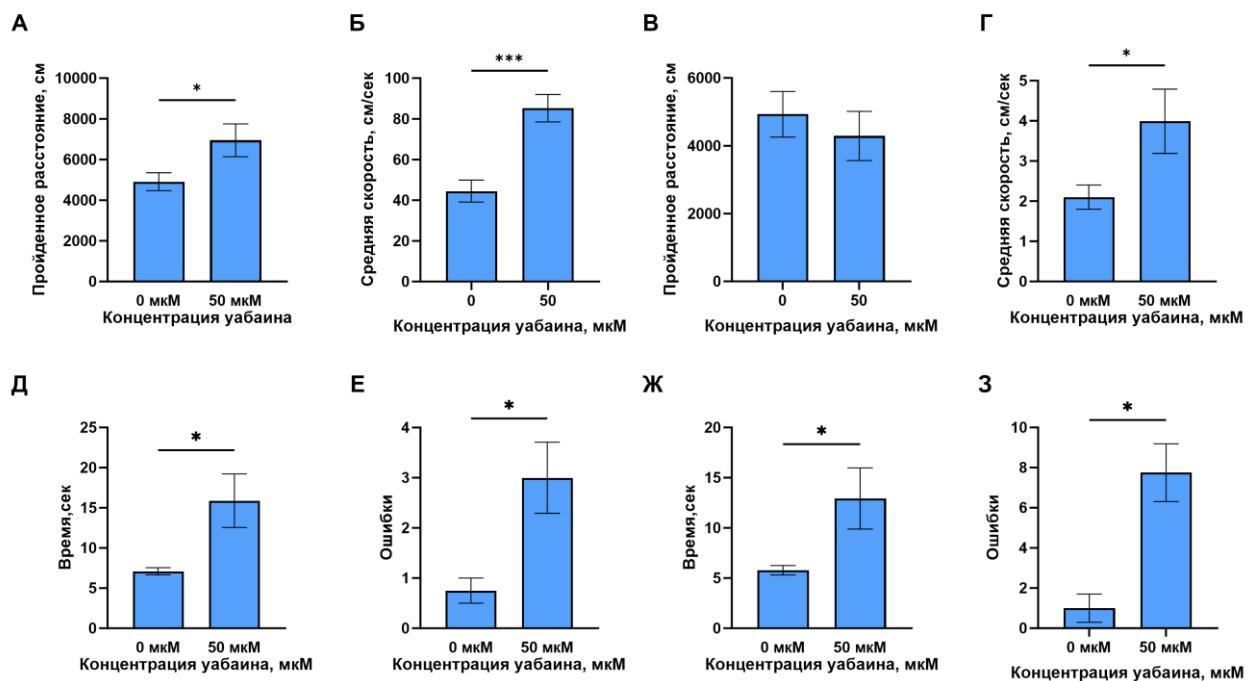


Рисунок 1. Расстояние, пройденное животными (А), и средняя скорость прохождения расстояния животными (Б) в teste «Открытое поле» в течение 20 минут после ICV введения 0,5 мкл 50 мкМ уабаина. Расстояние, пройденное животными (В), и средняя скорость прохождения расстояния животными (Г) в teste «Открытое поле», время прохождения (Д) и количество ошибок (Е) в teste «Наклонная лесенка», время прохождения (Ж) и количество ошибок (З) в teste «Приподнятая планка» после 4-х дневного ICV введения 1,5 мкл 50 мкМ уабаина. Данные представлены в виде ср.ап. \pm SEM, N=10 в каждой группе, сравнение групп проведено с использованием t-теста, * - $p<0,05$, *** - $p<0,001$ по сравнению с контролем.

Для оценки влияния уабаина на Na,K-АТФазу измеряли её активность в грубой синаптосомальной фракции стриатума, гиппокампа, среднего мозга и мозжечка животных через 10 и 30 минут после ICV-введения 1,5 мкл 50 мкМ уабаина. Уабаин вызвал увеличение активности Na,K-АТФазы в синаптосомальной фракции стриатума в 1,4 раза ($p<0,05$, $F(2, 12) = 3,59$) через 10 минут после введения. В синаптосомальной фракции среднего мозга животных

через 30 минут после введения уабаина наблюдалось снижение активности Na,K-АТФазы в 1,8 раз ($p<0,05$, $F(2, 12) = 3,73$) по сравнению с активностью в контрольной группе.

Для оценки участия дофаминовой системы в развитии гиперлокомоции методом Вестерн blotт оценивали активацию сигнальных каскадов Akt и MAPK в образцах ткани стриатума через 30 минут после ICV-введения 0,5 мкл 50 мкМ уабаина и через 24 часа после 4-х ICV-введений 1,5 мкл 50 мкМ уабаина. Было обнаружено, что однократное введение уабаина способствует активации Akt в стриатуме на 80% ($p<0,05$, $t=3,18$, $df=14$) и повышению активации ERK1/2 на 45% ($p<0,05$, $t=4,01$, $df=11$), в то время как после 4-х кратного введения наоборот происходит снижение активации Akt на 62% ($p<0,05$, $t=3,98$, $df=13$) без изменений в активации ERK1/2 (рисунок 2).

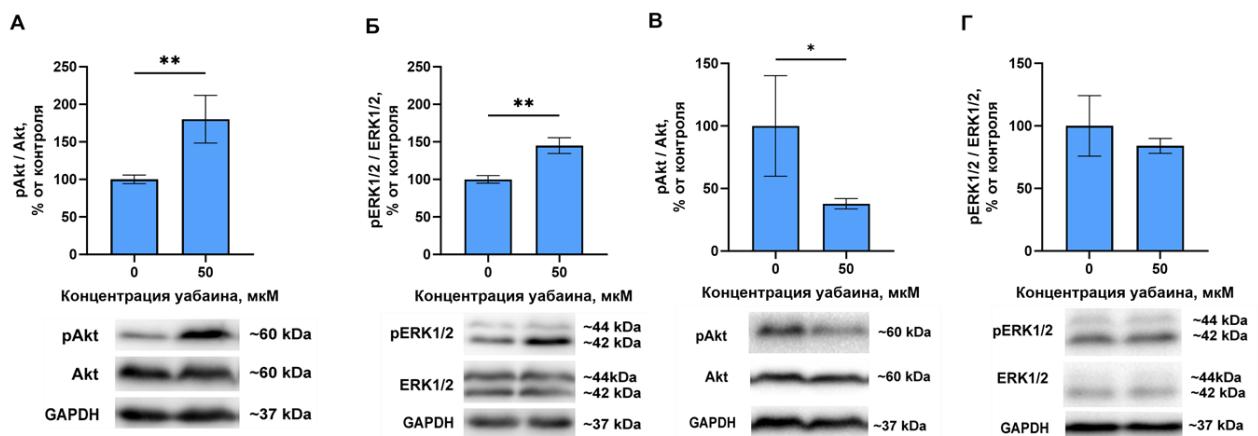


Рисунок 2. Влияние однократного ICV-введения 0,5 мкл 50 мкМ уабаина на активацию Akt (А) и ERK1/2 (Б) и 4-х дневного ICV-введения 1,5 мкл 50 мкМ уабаина на активацию Akt (В) и ERK1/2 (Г) в стриатуме мышей. Данные представлены в виде ср.ап.± SEM; N=8 в каждой группе, сравнение групп проведено с использованием t -теста, * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Влияние марганца на поведение, двигательные функции и нейрохимические характеристики в мозге мышей линии C57Bl/6:

При анализе локомоторной активности животных, оцениваемой по пройденному расстоянию в тесте «Открытое поле», было обнаружено, что животные, получавшие Mn, статистически значимо проходят меньшее расстояние на второй ($p<0,05$), седьмой ($p<0,05$) и восьмой ($p<0,05$) неделях эксперимента (неделя эксперимента: $F(2,126, 30,97) = 1,347$, потребление Mn: $F(1, 43) = 0,2387$, неделя эксперимента \times потребление Mn: $F(7, 102) = 0,4465$, рисунок 3А). В свою очередь, в пищедобывающем тесте мыши, получавшие Mn, демонстрировали существенно меньшую двигательную активность по сравнению с контрольными животными: начиная с третьей недели и до конца эксперимента они реже

переходили из одной камеры в другую (неделя эксперимента: $F (3,972, 60,07) = 9,773$, потребление Mn: $F (1, 16) = 22,67$, неделя эксперимента \times потребление Mn: $F (8, 121) = 1,658$, рисунок 3Б).

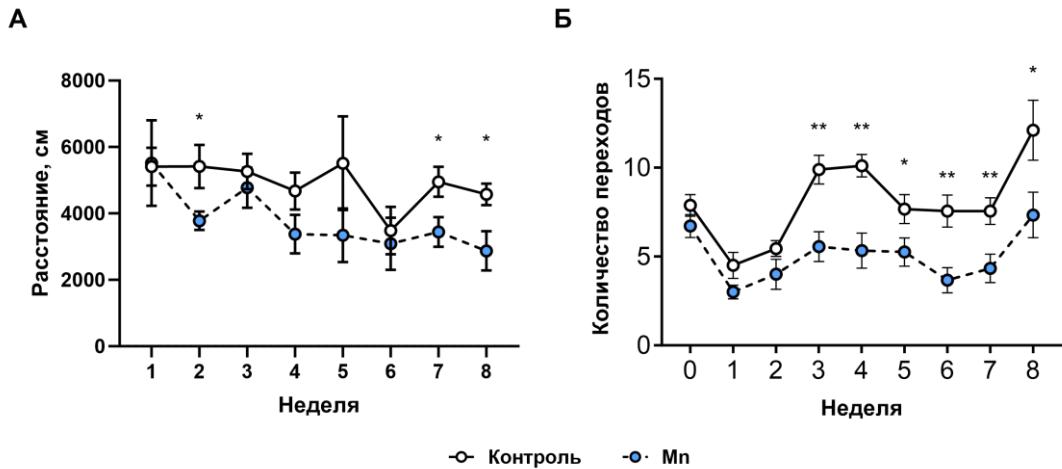


Рисунок 3. Динамика изменения пройденного расстояния (А) животными в teste «Открытое поле» и количество переходов между камерами в пищедобывающей задаче в teste «Челночная камера» на протяжении 8 недель потребления марганца. Данные представлены в виде ср.ар. \pm SEM, N=9 в каждой группе в каждой временной точке, сравнение групп проведено анализом two-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

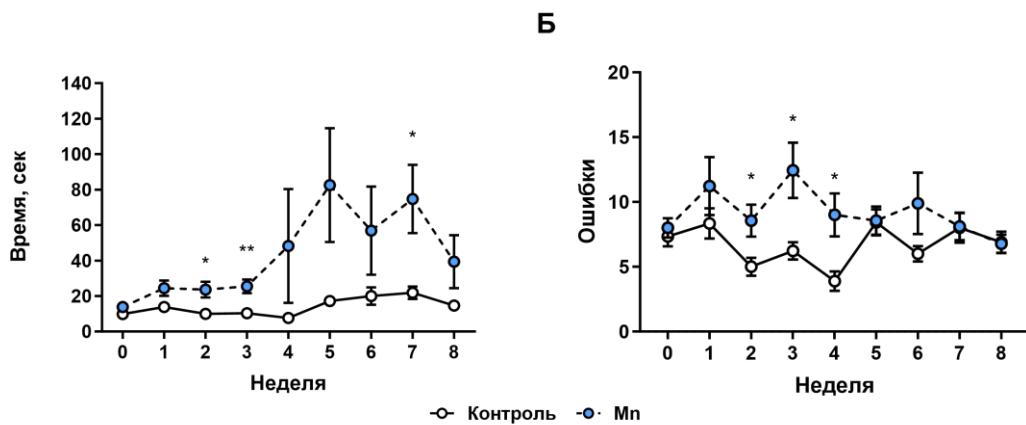


Рисунок 4. Анализ показателей животных в teste «наклонная решетка». А: Время подъема по решетке. Б: Количество ошибок при выполнении теста. Данные представлены в виде ср.ар. \pm SEM, N=9 в каждой группе в каждой временной точке, сравнение групп проведено анализом two-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

В teste «Наклонная решетка» на второй ($p < 0,05$), третьей ($p < 0,001$) и седьмой неделе ($p < 0,05$) эксперимента опытные животные затрачивали статистически значимо больше времени на подъем по решетке по сравнению с контролем (неделя эксперимента: $F (3,202, 47,23) =$

2,911, потребление Mn: F (1, 18) = 23,66, неделя эксперимента×потребление Mn: F (8, 118) = 1,612; рисунок 4А). Количество ошибок при постановке лапы на опору, оцениваемое в данном тесте также было выше у мышей Mn-группы, чем у контрольных животных, но со второй по четвертую неделю ($p<0,05$, $p<0,05$, $p<0,05$, неделя эксперимента: F (4,217, 73,27) = 1,6, потребление Mn: F (1, 139) = 16,48, неделя эксперимента×потребление Mn: F (8, 139) = 1,673; рисунок 4Б).

В стриатуме содержание α1 Na,K-АТФазы повышалось в 4,37 раз ($p<0,0001$, (4, 36)= 11,20) относительно контрольного уровня только на 2-й неделе эксперимента (рисунок 5). Количество других изоформ Na,K-АТФазы (α2 и α3) оставалось на уровне контрольных значений в течение всего эксперимента (рисунок 5Б-В). В мозжечке на второй неделе исследования происходило увеличение экспрессии всех трех изоформ: α1 в 2,6 раз ($p<0,01$, F (4, 31)=5.96), α2 в 3,7 раз ($p<0,0001$, F (4, 31)=18.82), α3 в 2,4 раза ($p<0,0001$, F (4, 31)=24.88) относительно контрольной группы. В остальные временные точки содержание α1 и α2 в мозжечке не отличалось от контрольных значений. В свою очередь экспрессия α3 в мозжечке была ниже в 2,3 раза ($F(4,31)=24.88$, $p<0,05$), чем в контроле, на шестой неделе эксперимента.

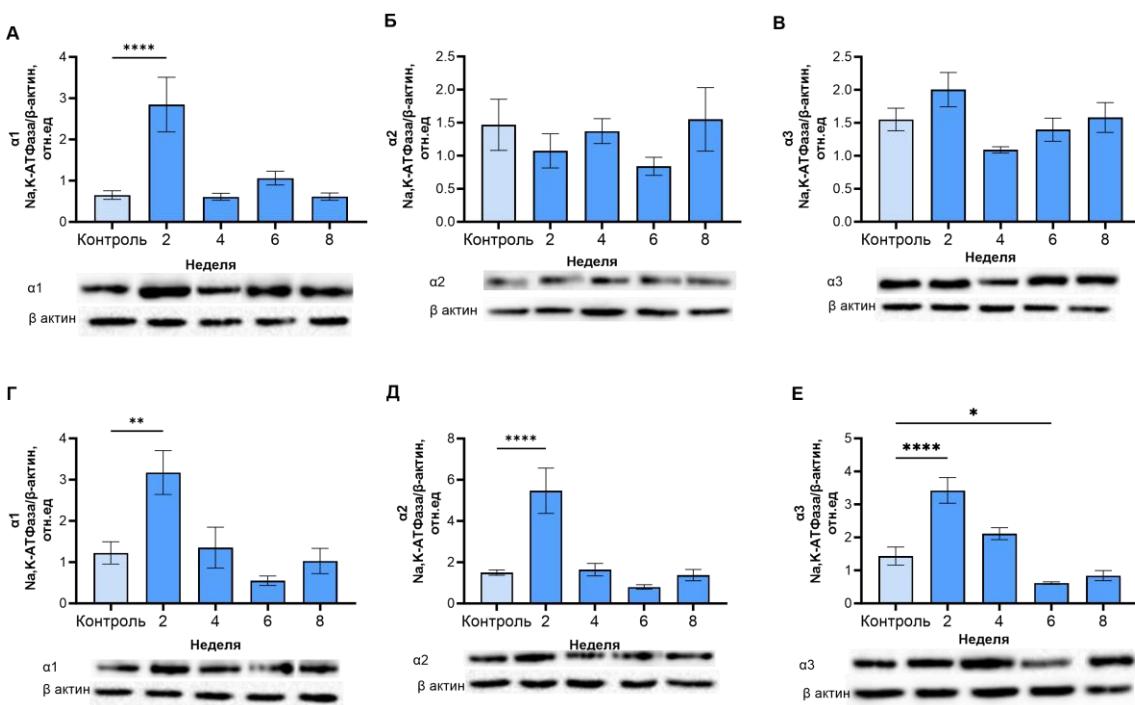


Рисунок 5. Экспрессия α1, α2, α3 изоформ Na,K-АТФазы в стриатуме (А-В) и мозжечке (Г-Е) у контрольных мышей (8 неделя) и на разных неделях эксперимента в Mn-группе. Данные представлены в виде ср.ар.±SEM. Количество животных в группе: 9 в контроле и 7, 8, 8 и 9 на 2-й, 4-й, 6-й и 8-й неделях в группе, получавшей Mn. Сравнение групп проведено с использованием one-way ANOVA с тестом на множественное сравнение Сидак, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, **** - $p < 0,0001$ по сравнению с контрольной группой.

В связи с тем, что изменение экспрессии субъединиц Na,K-АТФазы было зафиксировано в мозжечке, то измерение активности проводили также в этой структуре. Было обнаружено, что активность уабаин-чувствительной Na,K-АТФазы снижается на второй неделе потребления марганца ($p<0,01$, $F(4, 28) = 4.79$).

Было проведено исследование активации внутриклеточных сигнальных каскадов с участием pAkt (Ser473)/Akt и pERK1/2 (Thr202/ Tyr204) /ERK1/2 в стриатуме животных при хроническом потреблении Mn. На второй неделе эксперимента происходило увеличение активности киназы ERK1/2 в 2,17 раза по сравнению с контрольными животными ($p<0,05$, $F(4, 17) = 2,16$), в остальные временные точки разницы между экспериментальными группами обнаружено не было (рисунок 6А). Изменений в активности киназы Akt на всем протяжении эксперимента не было обнаружено, однако на последней неделе эксперимента активность Akt у мышей, потреблявших Mn, была в 1,43 выше, чем у контрольных животных ($F(4,18)=2,07$, $p=0,005$, рисунок 6Б).

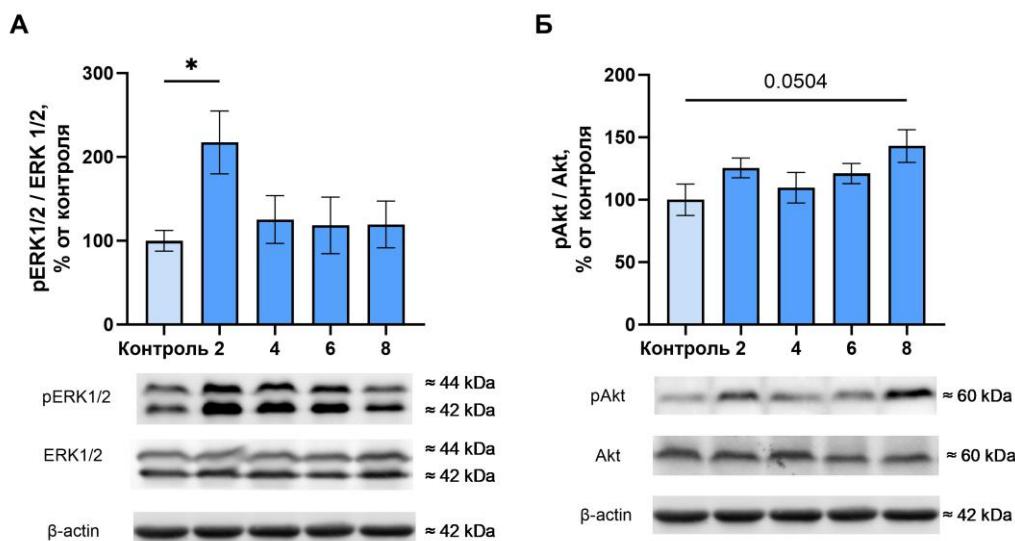


Рисунок 6. Влияние потребления Mn на активацию ERK1/2 (А) и Akt (Б) в стриатуме мышей на разных неделях эксперимента. Изображение характерных иммунореактивных полос на мембране. Данные представлены в виде ср.ап.± SEM, $N = 9$, сравнение групп проведено анализом one-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак,
*— $p<0,05$ по сравнению с контрольной группой. Под графиками приведены репрезентативные изображения иммунореактивных полос.

Оценка поведенческих и нейрохимических характеристик в модели премоторной стадии паркинсонизма у мышей линии C57Bl/6, вызванной хроническим введением низкой дозы токсина МФТП

Начиная с третьей недели и до конца эксперимента у животных, получавших МФТП, наблюдалось увеличение времени выполнения теста «Наклонная решетка» без изменения в количестве совершенных ошибок ($F(1,100)=22,6$, рисунок 7). Статистически значимых различий в выполнении теста «Сужающаяся дорожка» выявлено не было. Также по окончании эксперимента животные обеих групп проходили равное расстояние в teste «Открытое поле».

По истечении 35 введений животные обеих групп проходили равное расстояние в открытом поле. Вместе с этим при оценке наличия нарушений пространственной памяти в teste «Y-образный лабиринт» было обнаружено, что животные, получавшие МФТП, совершают правильные чередования только в 43 % ($p<0,01$, $t=3,230$, $df=10$), в то время как контрольные — в 73% (рисунок 7).

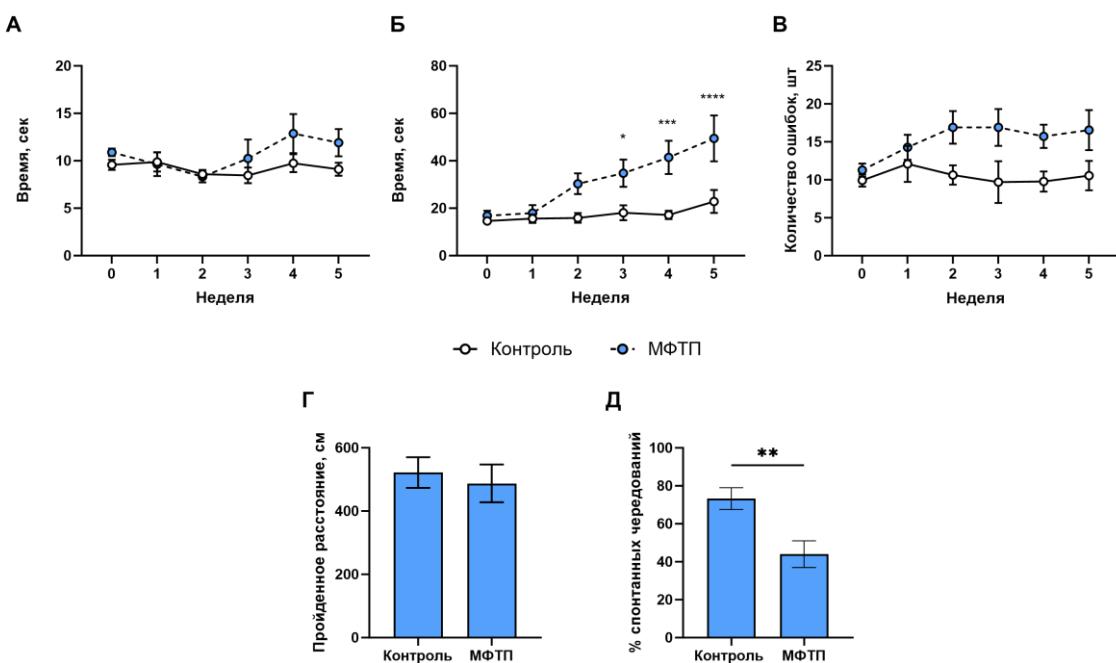


Рисунок 7. А. Время прохождения теста «Сужающаяся дорожка»; Б. Время прохождения теста «Наклонная решетка»; В. Количество ошибок, совершенных в teste «наклонная решетка»; Г. Пройденное животными расстояние в teste «Открытое поле»; Д. Процент спонтанных чередований в teste «Y-образный лабиринт». В группе контроль N=12, в группе МФТП N=11. Данные представлены в виде ср.ар. \pm SEM, сравнение групп проведено анализом two-way ANOVA с тестом множественного сравнения Сидак, * - $p<0,05$, *** - $p<0,001$, **** - $p<0,0001$ по сравнению с контролем.

Измерение общей активности Na,K-АТФазы не выявило различий в работе данного фермента как в среднем мозге ($p=0,8893$), так и в мозжечке ($p=0,2380$) относительно контроля, что свидетельствует об устойчивости фермента к воздействию малых доз нейротоксина и отсутствии нарушения в регуляции мембранного потенциала в ключевых структурах, задействованных в патологических процессах.

Повреждение нигростриарной системы оценивали по содержанию ключевого фермента синтеза дофамина — тирозингидроксилазы (ТГ) в стриатуме и кЧС иммуногистохимическим методом. Хроническое введение МФТП привело к снижению количества ТГ-позитивных клеток на 22% в кЧС ($p<0,05$, $t=2,39$, $df=65$) и повреждению аксональных терминалей дофаминергических нейронов в стриатуме на 37% ($p<0,01$, $t=2,55$, $df=33$) относительно контроля. Вместе с этим у животных, получавших МФТП, по окончании эксперимента содержание дофамина в стриатуме снизилось на 34% относительно контрольной группы ($p<0,05$, $t=2,507$, $df=13$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведены исследования по влиянию ингибирования насосной функции Na,K-АТФазы на двигательные функции животных с целью моделирования состояний, сходных с расстройствами движения, вызванными мутациями в ATP1A3. Было показано, что как однократное, так и четырехкратное введение уабаина приводит к увеличению двигательной активности животных и формированию стереотипичных движений, вместе с этим четырехкратное введение также вызывает нарушение координации животных. Более серьезных нарушений, как например акинезия, сгорблленность, потеря позы, при используемом протоколе зафиксировать не удалось. В свою очередь, выявленная в настоящей работе гиперлокомоция также наблюдается у животных с мутациями в ATP1A3 (Calderon, 2015, Hunanyan, 2015) и при ICV введении уабаина крысам и мышам (Maidana, 2025; El-Mallakh, 2003). Использование в настоящей работе уабаина в концентрации 1,5 мкл 50 мкМ приводит к кратковременному повышению активности Na,K-АТФазы синаптосомальной фракции стриатума с последующим восстановлением до контрольных значений без изменения общего содержания а1- и а3-субъединиц, что может быть связано с распадом неактивных тетramerных комплексов Na,K-АТФазы и высвобождением дополнительных молекул фермента. Таким образом, наблюдаемые в настоящей работе повышение двигательной активности и нарушение координации не связаны со снижением активности Na,K-АТФазы. Клинические данные, эксперименты *in vitro* и *in vivo* при изучении механизмов патогенеза БРДП и АГД свидетельствуют о том, что нет прямой корреляции между активностью данного фермента и тяжестью неврологической симптоматики (de Carvalho Aguiar, 2004).

В настоящем исследовании на культуре клеток человеческой нейробластомы SHY5Y недифференцированной и дифференцированной по дофаминергическому типу было обнаружено, что реализация токсического эффекта уабаина связана с активацией протеинкиназы C, MAP/ERK-киназного пути и снижением содержания анти-апоптотического белка Bcl-2. В продолжении экспериментов *in vitro* у животных при однократном действии уабаина происходит активация киназ Akt и ERK1/2, а при четырехкратном — деактивация киназы Akt без изменений в активности ERK1/2. В целом в первой серии экспериментов при ICV введении уабаина удалось вызвать незначительные двигательные нарушения на фоне деактивации киназы Akt и без изменений в количестве и активности Na,K-АТФазы.

Исходя из сходства симптомов заболеваний, связанных с мутациями в а3-субъединице и накоплением или нарушением выведения марганца, в настоящей работе было проведено исследование по оценке влияния потребления марганца на функционирование Na,K-АТФазы. Потребление 0,5 г/л марганца с водой в течение 8 недель привело к снижению двигательной активности животных и нарушению обучения в пищедобывающей задаче в челночной камере, а также нарушению координации движений. Однако прогрессирование наблюдавшихся отклонений не коррелировало с изменениями в экспрессии изоформ или общей активности Na,K-АТФазы в исследуемых структурах. Первые проявления гиполокомии и дискоординации происходили на 2 неделе эксперимента. В этот же период наблюдалось значительное снижение активности Na,K-АТФазы и увеличение экспрессии α1-α3 изоформ в мозжечке, а также активация киназы ERK1/2 в стриатуме, однако позднее данные параметры вернулись к контрольным значениям.

Общность симптомов при манганизме и заболеваниях, вызванных мутациями в а3 субъединице Na,K-АТФазу, а также универсальность данного фермента, позволяют рассматривать Na,K-АТФазу в качестве важного патофизиологического агента в развитии двигательных нарушений и особенно в патогенезе болезни Паркинсона. Так, во многих экспериментальных моделях токсин-индуцированного паркинсонизма на грызунах показано значительное снижение активности Na,K-АТФазы в мозге животных при развитии двигательной патологии (lesanmi, 2019; Anusha, 2017). В свою очередь в настоящей работе было изучено функционирование Na,K-АТФазы на ранних этапах развития нейродегенеративного процесса в модели МФТП-индуцированного паркинсоно-подобного состояния. В описанной модели хроническое введение токсина МФТП в дозе 3 мг/кг в течение 35 дней приводит к нарушению мелкой моторики у животных без развития гипокинезии и дисфункции пространственной памяти, сопровождающихся истощением содержания дофамина в префронтальной коре. Вместе с этим обнаруживается гибель клеток компактной части черной субстанции, снижение

содержания тирозингидроксилазы и, как следствие, дофамина в стриатуме, что в совокупности с фенотипическими характеристиками свидетельствует о формировании у экспериментальных животных ранней досимптоматической стадии паркинсонизма. Важным результатом настоящего этапа исследования является отсутствие изменений в функционировании Na,K-АТФазы, что может быть подтверждением вторичности возникновения её дисфункции при экспериментальном паркинсонизме.

Выводы:

1. Недифференцированная культура нейробластомы человека SH-SY5Y более чувствительна к токсическому действию уабаина, обусловленному активацией протеинкиназы С, активации ERK1/2 и снижением содержания антиапоптотического белка Bcl-2.
2. Многократное внутрижелудочковое введение ингибитора Na,K-АТФазы уабаина вызывает повышение двигательной активности мышей, что соответствует мания-подобному состоянию у мышей, нарушение координации движений, сопровождающихся снижением активности киназы Akt.
3. Длительное потребление марганца приводит к снижению двигательной активности животных и дискоординации движений, манифестация данных нарушений сопровождается снижением активности Na,K-АТФазы, увеличением экспрессии всех изоформ Na,K-АТФазы в мозжечке и увеличением активности киназы ERK1/2 в стриатуме.
4. В модели предсимптоматической стадии МФТП-индукционного паркинсонизма не происходит изменения активности Na,K-АТФазы в среднем мозге и мозжечке.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности и отрасли науки:

1. Lopachev A., Volnova A., Evdokimenko A., Abaimov D., **Timoshina Yu**, Kazanskaya R., Lopacheva O., Deal A., Budygin E., Fedorova T., Gainetdinov R. Intracerebroventricular injection of ouabain causes mania-like behavior in mice through D2 receptor activation //Scientific reports. — 2019. Vol. 9, No.1. – P. 1-13. EDN: FJWLWI. Импакт-фактор 3,9 (JIF). (1,5/0,15)*
2. Lopachev A.V., Khutorova A.V., Abaimov D.A., **Timoshina Y.A.**, Fedorova T.N., Kazanskay R.B. Comparative Evaluation of Cardiotonic Steroid Action on the Viability of Differentiated

- and Undifferentiated Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cell Culture // Human Physiology. – 2021. – Vol. 47, No. 8. – P. 861-869. EDN: HUJOFV. Импакт-фактор 0,5 (SJR). (1,1/ 0,28)*
3. Smolyaninova L.V., **Timoshina Y.A.**, Berezhnoy D.S., Fedorova T.N., Mikheev I.V., Seregina I.F., Loginova N.A., Dobretsov M. G. Impact of manganese accumulation on Na,K-ATPase expression and function in the cerebellum and striatum of C57Bl/6 mice // NeuroToxicology. – 2023. – Vol. 98. – P. 86-97. EDN: CMBZUS. Импакт-фактор 3,9 (JIF). (1,5/0,3)*
 4. **Тимошина Ю.А.**, Казанская Р.Б., Завьялов В.А., Вольнова А.Б., Латанов А.В., Федорова Т.Н., Гайнэтдинов Р.Р., Лопачев А.В. Хроническое внутрижелудочковое введение убацина вызывает моторные нарушения у мышей линии C57Bl/6 // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2023. – Т. 17. – № 4. – С. 40-51. EDN: KIGQAR. Импакт-фактор 0,75 (РИНЦ). (1,04/0,5)*
 5. Markina A.A., Kazanskaya R.B., **Timoshina J.A.**, Zavialov V.A., Abaimov D.A., Volnova A.B., Fedorova T.N., Gainetdinov R.R., Lopachev A.V. Na⁺,K⁺-ATPase and Cardiotonic Steroids in Models of Dopaminergic System Pathologies // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11. - № 7. – P. 1820. EDN: RTLGZF. Импакт-фактор 3,9 (JIF). (1,62/ 0,18)*
 6. **Тимошина Ю.А.**, Терещенко Л.В., Куликова О.И., Федорова Т.Н., Латанов А.В. Моделирование предсимптомной стадии паркинсоноподобного состояния на животных (грызуны и обезьяны) // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2024. – Т79. - №2S. – С. 81-88. EDN: JYZGPB. Импакт-фактор 0,778 (РИНЦ). (0,81/ 0,4)*
 7. **Timoshina Y.A.**, Pavlova A.K., Voronkov D.N., Abaimov D.A., Latanov A.V., Fedorova T.N. Assessment of the Behavioral and Neurochemical Characteristics in a Mice Model of the Premotor Stage of Parkinson's Disease Induced by Chronic Administration of a Low Dose of MPTP // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – № 18. – P. 8856. — DOI 10.3390/ijms26188856. Импакт-фактор 4,9 (JIF).(1,62/ 0,81)*

* – Объем в усл. печ. л./вклад автора в усл. печ. л.