

УДК 616.8

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar111944>

Научная статья



Эффекты человеческого лактоферрина при нейротоксическом воздействии: экспериментальное исследование

М.Ю. Копаева, А.Б. Черепов, И.Ю. Зарайская

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Актуальность. Трансляционные исследования с использованием лабораторных животных, направленные на раскрытие особенностей патогенеза болезни Паркинсона, служат инструментом для поиска новых терапевтических стратегий.

Цель: изучение влияния человеческого лактоферрина (многофункционального глобулярного гликопротеина) на поведение мышей в модели 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин-индуцированной гибели нейронов.

Материалы и методы. Нигростриатное дофаминергическое повреждение индуцировали однократным подкожным введением 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (40 мг/кг) пятимесячным мышам линии C57BL/6. Поведенческие функции животных оценивали с использованием тестов «Открытое поле» и ротарод, анализа длины шага.

Результаты. Предварительное введение лактоферрина привело к значительному уменьшению степени тяжести поражения нервной системы, индуцированного 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином. Выявлен зависящий от срока введения положительный эффект лактоферрина на исследовательское поведение животных, нарушенное нейротоксином. Экзогенный белок при двойном предварительном введении оказал защитное действие на изменение массы тела мышей после острого воздействия 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина. Это говорит об уменьшении системного токсического действия на фоне терапии лактоферрином.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о возможности потенциального использования лактоферрина в качестве перспективного терапевтического средства при лечении нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; дофаминергические нейроны; исследовательская активность; нейродегенерация; нейротоксин МФТП; ротарод; тест «Открытое поле»; человеческий лактоферрин.

Как цитировать:

Копаева М.Ю., Черепов А.Б., Зарайская И.Ю. Эффекты человеческого лактоферрина при нейротоксическом воздействии: экспериментальное исследование // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022. Т. 41. № 4. С. 385–392. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar111944>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar111944>

Research Article

Effects of human lactoferrin under conditions of neurotoxic exposure: experimental research

Marina Yu. Kopaeva, Anton B. Cherepov, Irina Yu. Zarayskaya

National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

BACKGROUND: Translational research using laboratory animals aimed at revealing the features of the pathogenesis of Parkinson's disease serve as a tool for finding new therapeutic strategies.

AIM: Was to investigate the effects of human lactoferrin (a multifunctional globular glycoprotein) on behavior the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice as the model of dopaminergic neurons loss.

MATERIALS AND METHODS: Nigrostriatal dopaminergic injury was induced by single administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (40 mg/kg) to five-month-old C57Bl/6 mice. Behavioral functions were assessed in the open field and rotarod tests and by the stride length analysis.

RESULTS: Preliminary administration of lactoferrin resulted in a significant reduction in the severity of nervous system lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. The positive effect of lactoferrin on the exploratory behavior of animals disturbed by neurotoxin, depending on the time of administration, was revealed. Exogenous protein with double preliminary administration had a protective effect on the change in body weight of mice after acute 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure. This suggests a reduction in systemic toxic effects against the background of lactoferrin therapy.

CONCLUSION: The results obtained indicate the possibility of the potential use of lactoferrin as a promising therapeutic agent in the treatment of neurodegenerative diseases.

Keywords: Parkinson's disease; dopaminergic neurons; exploratory activity; neurodegeneration; neurotoxin MPTP; rotarod; open field test; human lactoferrin.

To cite this article:

Kopaeva MYu, Cherepov AB, Zarayskaya IYu. Effects of human lactoferrin under conditions of neurotoxic exposure: experimental research. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2022;41(4):385–392. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar111944>

Received: 17.10.2022

Accepted: 20.10.2022

Published: 17.11.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время много усилий сосредоточено на поиске агентов, способных ослабить прогрессирование болезни Паркинсона (БП), предотвратить дальнейшую нейродегенерацию и восстановить дегенерированные дофаминергические нейроны [1].

Трансляционные исследования с использованием лабораторных животных позволяют углубленно изучать механизмы, лежащие в основе процесса нейродегенерации, и служат инструментом для поиска новых терапевтических стратегий. Среди наиболее широко используемых моделей БП — те, в которых применяют токсины. Нейродегенерация, индуцированная 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МФТП) у мышей, является одной из таких моделей [2, 3]. Применение МФТП-модели позволило пролить свет на патофизиологию, а также на некоторые причины заболевания. Что еще более важно, оно предоставило исследователям модельные платформы для тестирования симптоматических и нейропротективных препаратов. МФТП избирательно разрушает дофаминергические нейроны nigrostriatной системы, вызывая ряд симптомов, наблюдаемых при идиопатической БП [4]. Эта мышьяная модель ограничена быстрым развитием токсикоза, в то время как идиопатическая форма БП прогрессирует медленно. Двигательный дефицит не полностью повторяет тот, который наблюдается при БП, тем не менее мышьяные МФТП-модели имитируют многие аспекты заболевания [5, 6].

Лактоферрин (Лф) — многофункциональный глобулярный гликопротеин из семейства трансферринов с молекулярной массой около 80 кДа. Впервые он был идентифицирован в 1939 г. в коровьем молоке, а затем в 1958 г. — в женском грудном. Этот белок широко представлен в различных секреторных жидкостях млекопитающих, таких как молоко, слюна, секреты носовых желез, слезы, а также в гранулах нейтрофилов. Лф участвует во многих физиологических и патофизиологических процессах, включая связывание и транспорт ионов железа, иммунные и воспалительные реакции [7], модулирует целый спектр нейрональных процессов, усиливает экспрессию генов, участвующих в выживании, дифференцировке и росте нейронов [8]. Лф активно исследуется в экспериментальных патологических моделях заболеваний человека в качестве иммуномодулирующего, радиопротекторного агента [9, 10], белка, способного ослабить прогрессирование нейродегенеративных заболеваний и стимулировать нейрогенерацию [11]. Многочисленные исследования показали, что Лф обладает большим терапевтическим потенциалом. Повышенная экспрессия Лф-рецепторов в мозге пациентов, страдающих нейродегенеративными заболеваниями, позволяет предположить, что Лф может играть важную роль в их патогенезе и саногенезе [12]. Благодаря наличию Лф-рецепторов на эндотелиальных клетках капилляров головного мозга

и нейронах экзогенный Лф может пересекать гематоэнцефалический барьер и достигать нервных клеток [13, 14].

Целью исследования стало изучение влияния человеческого Лф на поведение мышей в модели МФТП-индуцированной гибели нейронов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован Лф, выделенный из женского молозива (ООО «Лактобио», Москва). Исследование было проведено на 5-месячных самцах мышей линии C57BL/6 (ФГБУН ФИБХ РАН питомник «Пушино», Россия). Животные содержались в стандартных лабораторных клетках (Techniplast, Италия) по 5 особей в каждой при контролируемых температуре и влажности воздуха со сменой темной и светлой фаз суток 12/12 ч при свободном доступе к пище и воде. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», а также требованиями Локального этического комитета по вопросам биомедицинских исследований НИЦ «Курчатовский институт» (протокол № 6 от 22.11.2017), одобрявшего настоящее исследование.

Животные в случайном порядке были разделены на группы: контрольная ($n = 14$), МФТП1 ($n = 12$), МФТП2 ($n = 16$), МФТП3 ($n = 10$), МФТП+Лф1 ($n = 12$), МФТП+Лф2 ($n = 18$) и МФТП+Лф3 ($n = 10$). Нейротоксин (40 мг/кг) вводили однократно подкожно [3, 11]. Контрольной группе был введен 0,9 % раствор NaCl в эквивалентном объеме. Лф (4,0 мг/животное, внутривентриально) или фосфатный буфер (pH 7,4; PBS) вводили: а) дважды — за 24 и 3 ч до МФТП (группы МФТП+Лф1 и МФТП1 соответственно); б) за 1 ч до МФТП (группы МФТП+Лф2 и МФТП2 соответственно) или в) через 24 ч после МФТП (группы МФТП+Лф3 и МФТП3 соответственно). Дозировка белка и сроки его введения были основаны на данных литературы и результатах наших пилотных экспериментов. Массу тела мышей измеряли еженедельно. Поведенческие функции животных оценивали с использованием тестов «Открытое поле» (ОП) и ротарод, анализа длины шага до инъекций и через 60, 120 мин, 1, 2, 7 и 28 дней после введения МФТП/NaCl. Процедуры тестирования были подробно описаны нами ранее [11]. Во время тестирования в ОП проводили регистрацию поведения мышей при помощи видеокамеры WV-CP500G (Panasonic, Япония) и системы видеорегистрации EthoVision XT 8.5 (Noldus Information Technology, Нидерланды). Полученные видеозаписи анализировали в программе EthoVision XT 8.5.

Статистическую обработку данных проводили в программном пакете GraphPad Prism 8.0.1. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В соответствии с типом распределения большинства данных использовали непараметрический однофакторный дисперсионный анализ Краскелл-Уоллиса ANOVA

с последующим *post hoc* анализом по критерию Данна для множественных сравнений. Данные представлены в виде средних значений и стандартной ошибки среднего. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных, получивших МФТП, наблюдали экстрапиримидные нарушения. Генерализованный тремор низкой и средней амплитуды появился вскоре после инъекции и сохранялся в течение 30–40 мин. Пилоэрекция появилась через 2–3 мин, реакция Штрауба, ригидность и гипокинезия — через 10–14 мин. Предварительное введение Лф не предотвращало эти острые эффекты МФТП.

Введение нейротоксина вызвало значительное снижение массы тела во всех группах, кроме группы, дважды получившей Лф (МФТП+Лф1; за 24 и 3 ч до МФТП), которое наблюдали на 7-й день (табл. 1).

Прирост массы в этих группах был ниже по сравнению с контролем на 7, 14, 21 и 28-й дни ($p < 0,05$, $p < 0,01$).

В контрольной группе и группе МФТП+Лф1 масса тела мышей постепенно увеличивалась с 7-го по 28-й день (табл. 1). К 14-му дню масса тела в этих группах (контрольной и МФТП+Лф1) начала превышать исходную. В течение всего эксперимента не наблюдали различий в приросте массы между контрольной группой и группой МФТП+Лф1.

Мы использовали ротарод для выявления моторного дефицита. Все мыши успешно обучились и достигли стабильного уровня результативности накануне введения МФТП/NaCl. В последующие дни контрольные животные сохраняли равновесие на ротароде практически на протяжении всего времени тестирования (120 с) (табл. 2).

За день до введения МФТП/NaCl (–1-й день) достоверных различий в длине шага между группами не зафиксировали (табл. 2). Средняя длина шага в контрольной группе была практически постоянной на протяжении всего периода эксперимента.

У мышей, получивших МФТП, наблюдали значительное нарушение координации движений (в тесте ротарод)

Таблица 1. Изменение прироста массы тела мышей, получивших МФТП/NaCl, в течение эксперимента (%)

Группа	Срок введения Лф/PBS	День			
		7-й	14-й	21-й	28-й
Контроль		$-1,3 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,7$	$5,4 \pm 0,9$	$6,3 \pm 1,0$
МФТП+Лф1	за 24 и 3 ч до МФТП	$-0,7 \pm 3,2$	$2,9 \pm 3,3$	$5,2 \pm 4,0$	$7,7 \pm 3,8$
МФТП1		$-8,3 \pm 4,7^*$	$-3,4 \pm 2,7^*$	$-2,3 \pm 2,7^*$	$-3,2 \pm 2,7^{*##}$
МФТП+Лф2	за 60 мин до МФТП	$-5,0 \pm 0,9^*$	$0,4 \pm 0,9$	$1,0 \pm 0,8^*$	$1,2 \pm 0,8^*$
МФТП2		$-5,6 \pm 1,0^{**}$	$-1,6 \pm 1,3^*$	$0,0 \pm 1,4^{**}$	$1,3 \pm 1,5^*$
МФТП+Лф3	через 24 ч после МФТП	$-3,8 \pm 0,5^*$	$-2,4 \pm 1,5^*$	$-0,9 \pm 1,7^*$	$-1,0 \pm 1,7^*$
МФТП3		$-4,0 \pm 0,9^*$	$-2,6 \pm 1,1^{**}$	$-1,0 \pm 1,4^*$	$-0,5 \pm 1,4^*$

* $p < 0,01$; ** $p < 0,01$ — отличия от контрольной группы; # $p < 0,05$ — отличия от группы МФТП+Лф1 в то же время.

Таблица 2. Латентный период падения в тесте ротарод (с) и длина шага (см) мышей, получивших Лф/PBS дважды — за 24 и 3 ч до МФТП

Группа	Срок тестирования						
	–1-й день	60 мин	120 мин	1-й день	2-й день	7-й день	28-й день
Ротарод							
Контроль	101 ± 7	93 ± 9	100 ± 9	97 ± 9	110 ± 5	109 ± 7	119 ± 1
МФТП+Лф1	101 ± 7	$5 \pm 2^{***}$	$7 \pm 2^{***}$	72 ± 9	$55 \pm 11^{**}$	92 ± 13	90 ± 19
МФТП1	104 ± 7	$6 \pm 3^{***}$	$6 \pm 2^{***}$	$55 \pm 11^*$	$54 \pm 13^{**}$	86 ± 17	101 ± 14
Длина шага							
Контроль	$4,6 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,2$	$4,5 \pm 0,1$
МФТП+Лф1	$4,8 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,3^{**}$	$2,8 \pm 0,4^{**}$	$4,1 \pm 0,2^*$	$3,8 \pm 0,1^{**}$	$4,3 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,1$
МФТП1	$4,5 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,3^{**}$	$2,8 \pm 0,2^{**}$	$3,6 \pm 0,4^*$	$4,0 \pm 0,2^*$	$4,1 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,2$

* $p < 0,01$ ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ — отличия от контрольной группы в то же время.

Таблица 3. Общий пройденный путь мышей в тесте ОП, получивших Лф/PBS за 60 мин до МФТП (м)

Группа	Срок тестирования						
	-1-й день	60 мин	120 мин	1-й день	2-й день	7-й день	28-й день
Контроль	34,2 ± 1,2	22,3 ± 1,6	18,5 ± 1,8	9,6 ± 1,4	11,7 ± 1,8	14,8 ± 2,2	12,1 ± 1,9
МФТП+Лф2	32,8 ± 1,5	2,3 ± 0,6**	1,0 ± 0,5**	16,7 ± 1,6*	16,2 ± 2,0	21,2 ± 4,1	18,5 ± 2,7
МФТП2	32,6 ± 1,5	6,2 ± 1,2**	2,1 ± 1,0**	17,1 ± 2,1*	12,0 ± 2,1	20,1 ± 3,7	14,5 ± 3,4

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ — отличия от контрольной группы в то же время.

и уменьшение средней длины шага в первые 2 сут после инъекции (табл. 2). Введение Лф не оказало существенного влияния на оба изученных параметра. Восстановление координации движений и средней длины шага наблюдали во всех группах, получивших нейротоксин, на 7-й день. Наши данные согласуются с результатами, полученными ранее. Rosa и соавт. (2018) не обнаружили различий между группами МФТП и контрольной в тесте ротарод (на 14, 37 и 52-й дни) и при анализе длины шага (на 7, 30 и 45-й дни) [15].

Общий пройденный путь отражает горизонтальную двигательную активность мышей [16], а количество стоек является мерой их исследовательской активности [17]. Все группы показали сходную двигательную активность (табл. 3) и исследовательское поведение (рисунок) перед инъекцией МФТП/NaCl. Повторное тестирование в ОП приводило к зависящим от времени изменениям в поведении животных контрольной группы. Поведенческие реакции, связанные со страхом в ответ на новизну, наблюдаемые на начальных этапах, проявлялись слабее, а двигательная активность снижалась благодаря привыканию.

Острая интоксикация МФТП снижала двигательную активность мышей. Общий пройденный путь в ОП был меньше по сравнению с контролем во всех группах,

получивших нейротоксин, в день его введения и на следующий день (табл. 3). На более поздних сроках тестирования различий по этому параметру между группами не наблюдали.

В 1-й день не было обнаружено различий между группами по количеству стоек (рисунок). На 2-й день в группах МФТП1 ($3,3 \pm 1,8$), МФТП2 ($4,4 \pm 1,5$) и МФТП+Лф1 ($2,9 \pm 1,4$) количество стоек в ОП было меньше, чем в контроле ($10,4 \pm 1,6$) ($p < 0,01$). На 7-й день в группе МФТП+Лф1 ($12,2 \pm 2,9$) наблюдали увеличение этого показателя до уровня контроля ($13,6 \pm 1,2$), чего не произошло в группе МФТП1 ($2,6 \pm 1,1$; $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; $p < 0,05$ по сравнению с группой МФТП+Лф1). На 28-й день только группа МФТП2 ($7,5 \pm 2,0$; $p < 0,05$) отличалась от контроля ($12,7 \pm 1,4$). Группы МФТП3 и МФТП+Лф3 (введение Лф/PBS через 24 ч после МФТП) не отличались от контроля по этому параметру на протяжении всего эксперимента.

Известно, что разные показатели поведения восстанавливаются с разной скоростью. Поведение в тесте ОП отражает баланс между страхом, исследовательским поведением и моторными возможностями животного. Постепенное восстановление моторной и исследовательской активности происходило у мышей, получивших МФТП, после их сильнейшего подавления, которое наблюдали

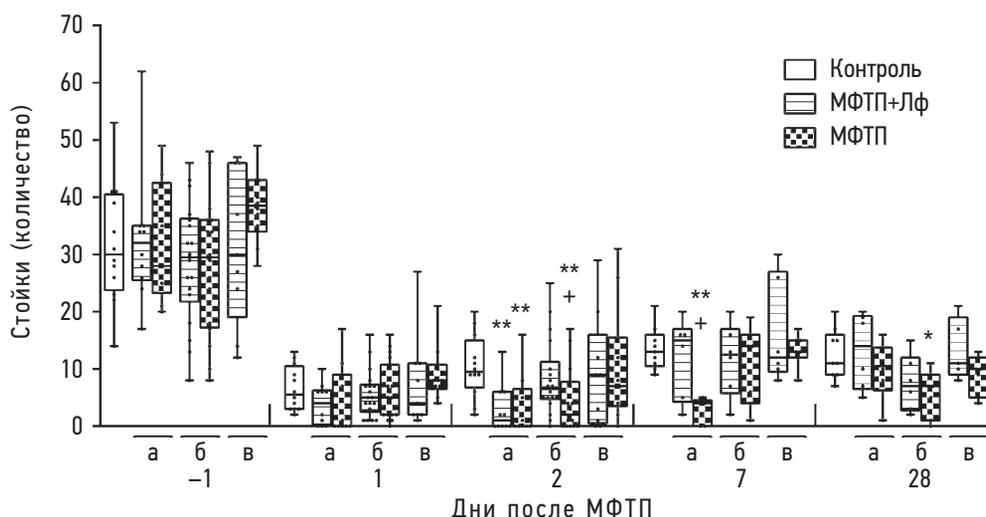


Рисунок. Результаты тестирования мышей в ОП на разных сроках после введения МФТП. Лф/PBS вводили дважды — за 24 и 3 ч до МФТП (а); за 1 ч до МФТП (б); через 24 ч после МФТП (в). Каждая точка представляет одно животное. Данные представлены в виде медиан, квартилей, минимального и максимального значений; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ — отличия от контрольной группы; + $p < 0,05$ — отличия от соответствующей группы, получившей Лф, в каждый момент

на 60-й и 120-й мин после введения нейротоксина. Это согласуется с опубликованными ранее данными [15, 18] о снижении двигательной активности при использовании аналогичной схемы введения МФТП. Моторный дефицит у этих животных исчезал к 7-му дню. Однако в группах МФТП1 и МФТП2 действие нейротоксина на поведение наблюдали более длительно, чем моторный дефицит.

Представленные данные свидетельствуют о том, что мыши, предварительно получившие Лф, полностью восстановились по изученным показателям на 7-й день. Животные, получившие Лф, так же как и контрольные мыши, демонстрировали стабильный уровень всех зарегистрированных параметров поведения на 7-й и 28-й дни. Это согласуется с результатами Ху и соавт. (2019), которые показали, что введение рекомбинантного Лф, экспрессированного в рисе (в/б, 4 мг/кг × 7 дней), может эффективно корректировать двигательные и поведенческие расстройства у 6-месячных мышей, вызванные МФТП [19]. Liu и соавт. (2020) также продемонстрировали, что предварительное введение Лф (внутрижелудочно в различных дозах; за 2 дня до и в течение 5 дней во время введения МФТП) ослабляло эффект МФТП в тесте «Вертикальный стержень» на следующий день после последнего введения [20]. Однако следует отметить, что схожие эффекты восстановления в нашей работе и работах указанных авторов были опосредованы разными протоколами введения Лф: двукратным или однократным предварительным по сравнению с длительным как предваряющим введение нейротоксина, так и на фоне его введения. Лф, введенный через 24 ч после нейротоксина, не оказал существенного влияния на изученные параметры.

Мы предполагаем, что Лф запускает каскад долговременных событий в клетке, которые помогают ей пережить острое нейротоксическое воздействие и впоследствии восстановить свою функциональную активность. Это могут быть механизмы, опосредованные изменением экспрессии генов [8] и вследствие этого долговременными изменениями в клетках, подвергшихся воздействию как Лф, так и нейротоксина. Механизм действия Лф в этой модели нейротоксичности еще недостаточно ясен. Однако предыдущие исследования показали, что этот белок ингибирует МФТП-индуцированный окислительный стресс и нейровоспаление [19, 20], защищает от нарушения обмена железа [20] и митохондриальной дисфункции [21].

В наших предыдущих исследованиях было показано, что в нейрональных культурах в условиях стимуляции Лф усиливает экспрессию транскрипционного фактора c-Fos, являющегося маркером нейрональной активности

и долговременной пластичности [22]. Мы предполагаем, что Лф активирует процессы восстановления пластических ресурсов нейронов, временно утративших способность к синтезу дофамина. Также Лф может стимулировать вовлечение резервных нейронов, находящихся в состоянии физиологического покоя, в синтез дофамина. Это требует дополнительной проверки. В процессе нашего исследования собран обширный биологический материал, который мы планируем изучить на предмет возможного влияния Лф на уровень восстановления экспрессии тирозингидроксилазы (ключевого фермента биосинтеза дофамина) в nigrostriatalной системе мозга животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши данные свидетельствуют о том, что предварительное введение Лф привело к значительному уменьшению степени тяжести поражения нервной системы, индуцированного МФТП. Выявлен зависящий от срока введения положительный эффект Лф на исследовательское поведение животных, нарушенное нейротоксином МФТП. Лф при двойном предварительном введении оказал защитное действие на изменение массы тела животных после острого воздействия МФТП. Это свидетельствует об уменьшении системного токсического действия на фоне терапии Лф.

Таким образом, введение Лф во временных окнах, совпадающих с воздействием патогенного фактора, позволило снизить негативные последствия в нашей экспериментальной модели. Экзогенный белок проявил положительный эффект в условиях профилактического применения. Полученные результаты свидетельствуют о возможности потенциального использования Лф в качестве перспективного терапевтического средства при лечении нейродегенеративных заболеваний.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом НИЦ «Курчатовский институт».

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Литвиненко И.В., Труфанов А.Г., Юрин А.А., и др. Болезнь Паркинсона и синдромы паркинсонизма. Казань, 2018. 54 с.
2. Dauer W., Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models // *Neuron*. 2003. Vol. 39, No. 6. P. 889–909. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00568-3

3. Sedelis M., Schwarting R.K., Huston J.P. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease // *Behav. Brain Res.* 2001. Vol. 125, No. 1–2. P. 109–125. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00309-6
4. Cao Q., Qin L., Huang F., et al. Amentoflavone protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease model mice through PI3K/Akt and ERK signaling pathways // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2017. Vol. 319. P. 80–90. DOI: 10.1016/j.taap.2017.01.019
5. Jackson-Lewis V., Przedborski S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease // *Nat. Protoc.* 2007. Vol. 2, No. 1. P. 141–151. DOI: 10.1038/nprot.2006.342
6. Gubellini P., Kachidian P. Animal models of Parkinson's disease: An updated overview // *Rev. Neurol. (Paris)*. 2015. Vol. 171, No. 11. P. 750–761. DOI: 10.1016/j.neurol.2015.07.011
7. García-Montoya I.A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1820, No. 3. P. 226–236. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018
8. Chen Y., Zheng Z., Zhu X., et al. Lactoferrin Promotes Early Neurodevelopment and Cognition in Postnatal Piglets by Upregulating the BDNF Signaling Pathway and Polysialylation // *Mol. Neurobiol.* 2015. Vol. 52, No. 1. P. 256–269. DOI: 10.1007/s12035-014-8856-9
9. Копеева М.Ю., Алчинова И.Б., Нестеренко М.В., и др. Лактоферрин положительно влияет на динамику восстановления физиологических и поведенческих показателей мышей при остром гамма-облучении // *Патогенез.* 2020. Т. 18, № 1. С. 29–33. DOI: 10.25557/2310-0435.2020.01.29-33
10. Копеева М.Ю., Алчинова И.Б., Черепов А.Б., et al. New Properties of a Well-Known Antioxidant: Pleiotropic Effects of Human Lactoferrin in Mice Exposed to Gamma Irradiation in a Sublethal Dose // *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11, No. 9. P. 1833. DOI: 10.3390/antiox11091833
11. Копеева М.Ю., Черепов А.Б., Нестеренко М.В., Зарайская И.Ю. Pretreatment with Human Lactoferrin Had a Positive Effect on the Dynamics of Mouse Nigrostriatal System Recovery after Acute MPTP Exposure // *Biology (Basel)*. 2021. Vol. 10, No. 1. P. 24. DOI: 10.3390/biology10010024
12. Faucheux B.A., Nillesse N., Damier P., et al. Expression of lactoferrin receptors is increased in the mesencephalon of patients with Parkinson disease // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92, No. 21. P. 9603–9607. DOI: 10.1073/pnas.92.21.9603
13. Fillebeen C., Descamps L., Dehouck M.P., et al. Receptor-mediated transcytosis of lactoferrin through the blood-brain barrier // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274, No. 11. P. 7011–7017. DOI: 10.1074/jbc.274.11.7011
14. Suzuki Y.A., Lopez V., Lönnerdal B. Mammalian lactoferrin receptors: structure and function // *Cell Mol. Life Sci.* 2005. Vol. 62, No. 22. P. 2560–2575. DOI: 10.1007/s00018-005-5371-1
15. Rosa A.I., Duarte-Silva S., Silva-Fernandes A., et al. Tauroursodeoxycholic Acid Improves Motor Symptoms in a Mouse Model of Parkinson's Disease // *Mol. Neurobiol.* 2018. Vol. 55, No. 12. P. 9139–9155. DOI: 10.1007/s12035-018-1062-4
16. Mandillo S., Tucci V., Hölter S.M., et al. Reliability, robustness, and reproducibility in mouse behavioral phenotyping: a cross-laboratory study // *Physiol. Genomics.* 2008. Vol. 34, No. 3. P. 243–255. DOI: 10.1152/physiolgenomics.90207.2008
17. Carola V., D'Olimpio F., Brunamonti E., Mangia F., Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // *Behav. Brain Res.* 2002. Vol. 134, No. 1–2. P. 49–57. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1
18. Ferger B., Teismann P., Earl C.D., Kuschinsky K., Oertel W.H. The protective effects of PBN against MPTP toxicity are independent of hydroxyl radical trapping // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000. Vol. 65, No. 3. P. 425–431. DOI: 10.1016/s0091-3057(99)00229-4
19. Xu S.F., Zhang Y.H., Wang S., et al. Lactoferrin ameliorates dopaminergic neurodegeneration and motor deficits in MPTP-treated mice // *Redox. Biol.* 2019. Vol. 21. P. 101090. DOI: 10.1016/j.redox.2018.101090
20. Liu H., Wu H., Zhu N., et al. Lactoferrin protects against iron dysregulation, oxidative stress, and apoptosis in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinson's disease in mice // *J. Neurochem.* 2020. Vol. 152, No. 3. P. 397–415. DOI: 10.1111/jnc.14857
21. Rousseau E., Michel P.P., Hirsch E.C. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis // *Mol. Pharmacol.* 2013. Vol. 84, No. 6. P. 888–898. DOI: 10.1124/mol.113.087965
22. Копеева М.Ю., Азиева А.М., Черепов А.Б., и др. Лактоферрин человека усиливает экспрессию транскрипционного фактора c-Fos в нейрональных культурах в условиях стимуляции // *Патогенез.* 2021. Т. 19, № 1. С. 74–78. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.01.74-78

REFERENCES

1. Litvinenko IV, Trufanov AG, Yurin AA. *Parkinson's disease and parkinsonism syndromes.* Kazan; 2018. 54 p.
2. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron.* 2003;39(6):889–909. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00568-3
3. Sedelis M, Schwarting RK, Huston JP. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res.* 2001;125(1–2):109–125. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00309-6
4. Cao Q, Qin L, Huang F, et al. Amentoflavone protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease model mice through PI3K/Akt and ERK signaling pathways. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017;319:80–90. DOI: 10.1016/j.taap.2017.01.019
5. Jackson-Lewis V, Przedborski S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Nat Protoc.* 2007;2(1):141–151. DOI: 10.1038/nprot.2006.342
6. Gubellini P, Kachidian P. Animal models of Parkinson's disease: An updated overview. *Rev Neurol (Paris)*. 2015;171(11):750–761. DOI: 10.1016/j.neurol.2015.07.011
7. García-Montoya IA, Cendón TS, Arévalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1820(3):226–236. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018
8. Chen Y, Zheng Z, Zhu X, et al. Lactoferrin Promotes Early Neurodevelopment and Cognition in Postnatal Piglets by Upregulating the BDNF Signaling Pathway and Polysialylation. *Mol Neurobiol.* 2015;52(1):256–269. DOI: 10.1007/s12035-014-8856-9
9. Копеева MY, Alchinova IB, Nesterenko MV, et al. Lactoferrin beneficially influences the recovery of physiological and behavioral indexes in mice exposed to acute gamma-irradiation. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020;18(1):29–33. (In Russ.) DOI: 10.25557/2310-0435.2020.01.29-33

10. Kopaeva MY, Alchinova IB, Cherepov AB, et al. New Properties of a Well-Known Antioxidant: Pleiotropic Effects of Human Lactoferrin in Mice Exposed to Gamma Irradiation in a Sublethal Dose. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(9):1833. DOI: 10.3390/antiox11091833
11. Kopaeva MY, Cherepov AB, Nesterenko MV, Zarayskaya IY. Pretreatment with Human Lactoferrin Had a Positive Effect on the Dynamics of Mouse Nigrostriatal System Recovery after Acute MPTP Exposure. *Biology (Basel)*. 2021;10(1):24. DOI: 10.3390/biology10010024
12. Faucheux BA, Nillesse N, Damier P, et al. Expression of lactoferrin receptors is increased in the mesencephalon of patients with Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92(21):9603–9607. DOI: 10.1073/pnas.92.21.9603
13. Fillebeen C, Descamps L, Dehouck MP, et al. Receptor-mediated transcytosis of lactoferrin through the blood-brain barrier. *J Biol Chem*. 1999;274(11):7011–7017. DOI: 10.1074/jbc.274.11.7011
14. Suzuki YA, Lopez V, Lönnerdal B. Mammalian lactoferrin receptors: structure and function. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(22):2560–2575. DOI: 10.1007/s00018-005-5371-1
15. Rosa AI, Duarte-Silva S, Silva-Fernandes A, et al. Tauroursodeoxycholic Acid Improves Motor Symptoms in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol*. 2018;55(12):9139–9155. DOI: 10.1007/s12035-018-1062-4
16. Mandillo S, Tucci V, Hölter SM, et al. Reliability, robustness, and reproducibility in mouse behavioral phenotyping: a cross-laboratory study. *Physiol Genomics*. 2008;34(3):243–255. DOI: 10.1152/physiolgenomics.90207.2008
17. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav Brain Res*. 2002;134(1–2):49–57. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1
18. Ferger B, Teismann P, Earl CD, Kuschinsky K, Oertel WH. The protective effects of PBN against MPTP toxicity are independent of hydroxyl radical trapping. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000;65(3):425–431. DOI: 10.1016/s0091-3057(99)00229-4
19. Xu SF, Zhang YH, Wang S, et al. Lactoferrin ameliorates dopaminergic neurodegeneration and motor deficits in MPTP-treated mice. *Redox Biol*. 2019;21:101090. DOI: 10.1016/j.redox.2018.101090
20. Liu H, Wu H, Zhu N, et al. Lactoferrin protects against iron dysregulation, oxidative stress, and apoptosis in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinson's disease in mice. *J Neurochem*. 2020;152(3):397–415. DOI: 10.1111/jnc.14857
21. Rousseau E, Michel PP, Hirsch EC. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis. *Mol Pharmacol*. 2013;84(6):888–898. DOI: 10.1124/mol.113.087965
22. Kopaeva MY, Azieva AM, Cherepov AB, et al. Human lactoferrin enhances the expression of transcription factor c-Fos in neuronal cultures under stimulated conditions. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021;19(1):74–78. (In Russ.) DOI: 10.25557/2310-0435.2021.01.74-78

ОБ АВТОРАХ

***Марина Юрьевна Копеева**, научный сотрудник;
адрес: 123181, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6100-2830>;
Scopus Author ID: 57211437591; eLibrary SPIN: 1480-6220;
Author ID: 819255; Researcher ID: AAE-3285-2020;
e-mail: m.kopaeva@mail.ru

Антон Борисович Черепов, ведущий инженер;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3757-5292>;
Scopus Author ID: 6507318449; eLibrary SPIN: 1465-2380;
Author ID: 95260; Researcher ID: D-8053-2014;
e-mail: ipmagus@mail.ru

Ирина Юрьевна Зарайская, канд. биол. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2371-0227>;
Scopus Author ID: 55389409800; eLibrary SPIN: 6858-2891;
Author ID: 129628; e-mail: irzar2003@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Marina Yu. Kopaeva**, Researcher;
address: 1, Akademika Kurchatova sq., 123182, Moscow;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6100-2830>;
Scopus Author ID: 57211437591; eLibrary SPIN: 1480-6220;
Author ID: 819255; Researcher ID: AAE-3285-2020;
e-mail: m.kopaeva@mail.ru

Anton B. Cherepov, M.D., Lead Engineer;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3757-5292>;
Scopus Author ID: 6507318449; eLibrary SPIN: 1465-2380;
Author ID: 95260; Researcher ID: D-8053-2014;
e-mail: ipmagus@mail.ru

Irina Yu. Zarayskaya, Ph.D. (Biology);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2371-0227>;
Scopus Author ID: 55389409800; eLibrary SPIN: 6858-2891;
Author ID: 129628; e-mail: irzar2003@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author