

经颅磁声刺激调控线粒体自噬与动力学平衡 对帕金森病模型鼠的神经保护作用*

张 帅^{1,2,3)**} 王焱缤^{1,2,3)} 徐亦豪^{1,2,3)} 半金睿^{1,2,3)} 路小超^{1,2,3)} 安雨晨^{1,2,3)}刘济舟^{1,2,3)} 孙嘉琪^{2,3)}⁽¹⁾ 河北工业大学生命科学与健康工程学院, 天津 300130; ⁽²⁾ 智能配用电装备与系统全国重点实验室(河北工业大学), 天津 300130;⁽³⁾ 河北省生物电磁与神经工程重点实验室(河北工业大学), 天津 300130

摘要 **目的** 经颅磁声刺激(transcranial magneto-acoustic stimulation, TMAS)是一种新型非侵入性神经调控技术,为帕金森病(Parkinson's disease, PD)治疗提供了新的非药物干预策略。PD的核心病理特征是多巴胺能神经元进行性死亡,而线粒体功能障碍及其质量控制失衡(包括自噬与动力学平衡)是介导多巴胺能神经元死亡的核心机制。本研究旨在探讨TMAS是否通过调节线粒体自噬及裂变/融合的动态平衡,改善PD小鼠的神经损伤和运动功能障碍,从而为TMAS在PD治疗中的应用提供理论和实验支持。**方法** 采用C57BL/6小鼠构建1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的PD模型。干预组接受14 d的TMAS刺激,通过爬杆实验和旷场实验评估运动能力。采用免疫组织化学检测运动皮层(M1)区c-Fos表达及黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNc)酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)阳性神经元数量;采用蛋白质印迹法检测线粒体自噬相关蛋白(PINK1、Parkin、LC3-II、p62)及线粒体动力学相关蛋白(Drp1、Opa1)的表达水平;同时测定SNc区域线粒体活性氧类(reactive oxygen species, ROS)水平及三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量以评估线粒体功能和能量代谢状态。**结果** TMAS能够有效激活目标运动皮层神经元,表现为健康刺激组M1区c-Fos阳性细胞数量较健康对照组显著增加($P<0.0001$)。与健康对照组相比,PD小鼠运动功能显著受损,表现为旷场实验中总移动距离显著降低($P<0.0001$)、平均速度显著下降($P=0.0001$),以及爬杆实验中转向时间和爬下时间显著延长(均 $P<0.0001$),同时,SNc区域TH阳性神经元大量丢失($P<0.0001$),并伴随线粒体功能障碍。机制研究显示,MPTP抑制了PINK1和Parkin的表达,导致自噬底物p62异常下降及LC3-II累积,提示线粒体自噬过程受损,同时Drp1过度激活而Opa1受抑制,提示线粒体动力学平衡向过度裂变状态偏移。经TMAS干预后,PD小鼠运动障碍明显改善,爬杆实验中转向时间和爬下时间显著缩短(均 $P<0.0001$),TH阳性神经元存活率显著提高($P<0.0001$),同时ATP含量升高($P<0.001$),ROS水平降低($P<0.01$)。此外,TMAS还可上调PINK1、Parkin和p62的表达,减少LC3-II异常累积,并纠正Drp1/Opa1失衡,从而促进受损线粒体清除并重建线粒体动力学平衡。**结论** TMAS能够有效减轻PD小鼠的神经损伤并改善运动功能,其作用机制与对线粒体质量控制系统的调控密切相关。TMAS可通过修复PINK1/Parkin介导的线粒体自噬过程、重建线粒体动力学平衡并改善线粒体能量代谢,恢复线粒体稳态,从而发挥神经保护作用。

关键词 帕金森病, 经颅磁声刺激, 线粒体自噬, 线粒体动力学, 运动功能**中图分类号** R742.5, R318**DOI:** 10.3724/j.pibb.2026.0007**CSTR:** 32369.14.pibb.20260007

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是全球第二大神经退行性疾病,其核心病理特征为黑质致密部多巴胺能神经元的进行性丢失,导致震颤、运动迟缓和肌强直等运动功能障碍^[1-3]。目前,临床上主要采用多巴胺替代疗法进行治疗,但这种方法无法阻止疾病的进展,并且长期使用可能导致严重的副作用^[4]。因此,开发能够靶向PD核心病理机

制的新型干预策略迫在眉睫。

线粒体作为细胞的能量工厂,其功能稳态对高

* 国家自然科学基金(52377224, 51877069)和中央引导地方科技发展资金项目(236Z7711G)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 13920280121, E-mail: zs@hebut.edu.cn

收稿日期: 2026-01-05, 接受日期: 2026-04-02

度依赖能量的多巴胺能神经元至关重要^[5]。线粒体的质量控制主要通过两个关键过程维持：一是线粒体自噬，即选择性地清除受损的线粒体；二是线粒体动力学，即线粒体通过不断地融合和裂变来维持其形态、数量及空间分布的动态平衡过程^[6]。研究表明，PD患者的大脑中存在线粒体复合物I活性降低、PTEN诱导的假定激酶1（PTEN-induced putative kinase 1, PINK1）/Parkin 蛋白（Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase, Parkin）通路功能障碍以及动力蛋白相关蛋白1（dynamin-related protein 1, Drp1）/视神经萎缩蛋白1（optical atrophy 1, Opa1）介导的裂变与融合失衡，这些线粒体功能障碍是导致多巴胺能神经元进行性死亡的主要原因^[5, 7]。PINK1和Parkin作为线粒体质量控制的关键调节因子，其突变会导致线粒体自噬受损，从而引起线粒体功能障碍和神经元死亡^[8-9]。同时，Drp1介导的过度线粒体裂变和Opa1介导的融合失衡会导致线粒体网络异常，进一步加剧能量代谢危机^[7, 10]。通过使用基因或药理学手段恢复线粒体自噬或纠正线粒体动力学失衡，已被证明能有效减缓PD模型的病理进展^[11-13]。例如，NIP3样蛋白X（NIP3-like protein X, Nix）介导的线粒体自噬可以作为PINK1/Parkin通路的替代途径，有效清除受损线粒体，而调节Drp1和Opa1的表达水平可以恢复线粒体动力学平衡，改善线粒体功能^[11]。因此，针对线粒体质量控制的策略可能成为逆转PD发病过程中能量代谢危机的一种有前景的方法。

经颅磁声刺激（transcranial magneto-acoustic stimulation, TMAS）是一种新兴的非侵入性神经调控技术，已在多种神经系统疾病的研究与治疗中得到了广泛应用，尤其是在PD方面。TMAS通过结合磁场和声波的双重作用，能够实现对深部脑区的精确刺激。该技术将低强度聚焦超声与静磁场结合作用于特定脑区，通过超声波驱动脑内带电离子运动，在静磁场产生的洛伦兹力作用下诱发瞬态感应电流，从而调控大脑活动^[14-15]。目前，基于啮齿类动物模型的多项研究表明，TMAS能够有效缓解运动功能障碍和认知功能障碍^[16-17]。最新的分子机制研究发现，TMAS通过激活小胶质细胞内的Piezo型机械敏感离子通道组分1（Piezo type mechanosensitive ion channel component 1, Piezo1）离子通道，增强自噬过程，促进 β 淀粉样蛋白的吞噬和降解，从而显著改善阿尔茨海默病小鼠模型的神经炎症、突触可塑性损伤和神经振荡异常^[18]。

该研究团队的另一项研究进一步证实，TMAS治疗能够通过激活磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B（phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-AKT）信号通路，刺激海马区的小胶质细胞，从而显著改善认知障碍^[19]。我们之前的研究也表明，TMAS不仅能够改善PD模型鼠的运动功能并调节其运动皮层的皮质兴奋性，还能够改善黑质区域多巴胺能神经元的活性，展现出一定的神经保护作用^[20-21]。

然而，TMAS改善PD症状的具体细胞与分子机制，尤其是其对线粒体这一核心病理环节的影响，尚不清楚。本研究提出，TMAS的神经保护作用源于其对线粒体质量控制系统的调节。本研究旨在系统探讨TMAS是否通过恢复PINK1/Parkin介导的线粒体自噬功能以及重建Drp1/Opa1介导的线粒体动态平衡，来改善MPTP诱导的PD小鼠模型的运动功能障碍，从而为TMAS作为一种新型物理干预策略治疗PD提供坚实的理论和实验支持。

1 材料与方法

1.1 动物和分组

本研究使用雄性C57BL/6小鼠（体重20~25 g，周龄5周，购自中国河南斯克贝斯生物技术有限公司）。实验小鼠饲养于标准环境中，采用12 h光照/黑暗循环（7:00开灯，19:00关灯），自由摄食和饮水。经过适应性喂养后，将小鼠随机分为4组：健康对照组（Control+Sham）、健康刺激组（Control+TMAS）、PD对照组（MPTP+Sham）、PD刺激组（MPTP+TMAS）。鉴于各实验的研究目的和检测指标不同，各实验所使用的小鼠数量如下：c-Fos免疫组化染色实验 $N=10$ ；行为学测试实验 $N=40$ ；TH免疫组化染色实验 $N=20$ ；活性氧类（reactive oxygen species, ROS）与三磷酸腺苷（adenosine triphosphate, ATP）测定实验 $N=12$ ；蛋白质印迹法（Western blotting）实验 $N=16$ 。所有实验程序均严格遵循河北工业大学生物医学伦理委员会的指导原则（批准号：HEBUTaCUC2022063）。

1.2 注射MPTP制备PD模型

在PD对照组和PD刺激组中，通过连续7 d对小鼠进行腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶（MPTP）以建立PD模型，注射剂量为25 mg/kg，1次/d，每天同一时间段进行。与此同时，健康对照组和健康刺激组小鼠则接受等量的生理盐水注射作为对照组。

1.3 经颅磁声刺激 (TMAS)

在实验小鼠的生理状态稳定后,使用自行搭建的经颅磁声刺激系统开展研究。该系统集成了双通道任意信号发生器、示波器、射频功率放大器和聚焦超声换能器,并结合两个直径为40 mm、厚度为10 mm的钕铁硼永磁体,构建出一个静态磁场环境(磁场强度为0.3 T)。本研究采用的TMAS刺激参数参考了先前已验证有效的TMAS神经调控研究^[20-23],并进一步通过校准后的水听器测量进行优化,以确保颅内声压和声强均处于公认的安全限值范围内。刺激参数经过严格校准:超声基频(fundamental frequency, *FF*)设定为0.5 MHz,脉冲重复频率(pulse repetition frequency, *PRF*)为1 kHz,脉冲串持续时间(tone-burst duration, *TBD*)设为0.5 ms,超声照射持续时间(sonication duration, *SD*)为400 ms,超声压力达到0.3 MPa,空间峰值脉冲平均强度(spatial-peak pulse-average intensity, *ISPPA*)为2.839 W/cm²,总刺激时长为10 min。在刺激过程中,超声焦点被精确定位于运动皮层,并使用超声耦合剂以确保能量传输效率。健康刺激组和PD刺激组接受1次/d TMAS刺激,持续14 d;健康对照组和PD对照组则以相同方式处理,但超声探头保持关闭状态,仅接受假刺激。本研究的实验时间安排、TMAS设备和刺激参数见图1a~c。

1.4 行为学测试

1.4.1 爬杆实验

采用爬杆实验评估小鼠的运动协调性和耐力,通过测量小鼠从杆的顶部爬到底部所需的时间进行分析。测试设备由一个直径为1 cm、高度为50 cm的金属杆构成,顶部装有一个直径为2 cm的纱布包裹球体,以提高摩擦力。爬杆实验设备如图1d所示。在正式测试前的24 h内,进行适应性训练,包括3次重复测试,间隔1 min/次。在测试过程中,小鼠被放置在杆的顶部,头部朝上,同时记录两个行为参数:从放置开始到小鼠头部完全朝下所需的时间(t_{turn}),以及从起始位置到双前肢接触底部平台的总时间(t_{La})。为确保数据的准确性,每只小鼠连续进行3次测试,间隔5 min/次,最终统计分析时取3次测试的平均值。测试时在装置底座上放置减震垫,防止小鼠摔伤。

1.4.2 旷场实验

通过旷场实验评估小鼠的探索行为和运动能

力。实验场地为一个边长50 cm的正方形,采用亚克力材料制成,底面平坦,墙壁光滑。实验中使用轨迹追踪软件,摄像头安装在场地上方并与计算机相连。每只小鼠都被放置在场中心,观察其活动10 min。旷场实验设备(图1e)通过轨迹追踪软件实时记录小鼠重心的坐标变化,系统根据坐标位移自动累加计算得出总移动距离,并以总路程除以测试时间得出平均速度。实验结束后,使用70%的酒精对开放场地进行擦拭,以去除气味,防止对后续小鼠产生影响。在整个实验过程中,环境保持安静。

1.5 免疫组织化学染色

为评估TMAS对神经元活性的调节作用及组织生理学影响,本研究采用免疫组织化学法检测运动皮层M1区域c-Fos及黑质致密部酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)的表达。小鼠经磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)和4%多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)心脏灌注固定后取脑,脑组织置于4%PFA中后固定24 h。制备包含M1和SNc区域的石蜡切片,经梯度乙醇脱水、抗原修复及羊血清封闭处理后,分别与c-Fos一抗或TH一抗于4℃孵育12~16 h。切片经PBS洗涤3次后,使用通用型二抗检测试剂盒(Proteintech, PK10006)于室温孵育50 min,并采用3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)试剂盒(Proteintech, PK10006)进行显色反应。随后进行苏木精复染、梯度酒精脱水、二甲苯透明及中性树脂封片。图像采集使用Nikon TI-S倒置显微镜及NIS-Elements D软件。利用ImageJ软件对阳性细胞数量进行计数分析。

1.6 蛋白质印迹法

小鼠经异氟烷深度麻醉后断头处死,迅速分离并提取双侧黑质致密部组织,置于-80℃保存备用。组织样本按1:10(g/L)比例加入放射免疫沉淀法裂解液(radioimmunoprecipitation assay lysis buffer),冰浴匀浆裂解30 min。裂解液于4℃、10 000 r/min离心5 min,取上清液。采用二喹啉甲酸法蛋白定量试剂盒(bicinchoninic acid protein assay kit)测定蛋白质浓度,加入5×上样缓冲液后于100℃金属浴变性10 min。每泳道上样量为50 μg,经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)分离(浓缩胶80 V, 20 min;分离

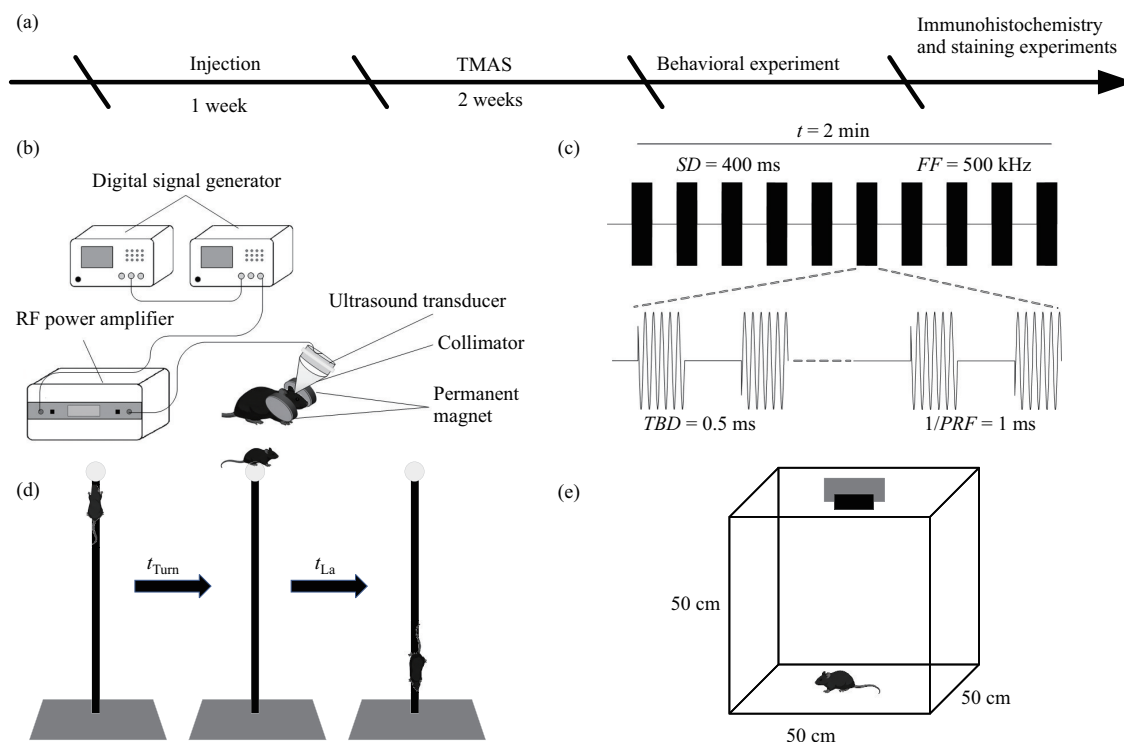


Fig. 1 Experimental timeline, TMAS apparatus, stimulation parameters, and behavioral testing setup

(a) Experimental timeline. (b) Schematic of the TMAS system. (c) Ultrasound stimulation parameters. (d) Pole test apparatus. (e) Open-field test apparatus. TMAS: transcranial magneto-acoustic stimulation; RF: radio frequency; FF: fundamental frequency; PRF: pulse repetition frequency; TBD: tone-burst duration; SD: sonication duration.

胶 120 V，至溴酚蓝跑出)。电泳结束后，构建滤纸-凝胶-聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF)-滤纸转印夹层，其中 PVDF 膜 (0.2 μm 孔径) 预先经甲醇激活 30 s 并于转印缓冲液中平衡。在 300 mA 恒流条件下进行湿式转膜。转膜后的 PVDF 膜经 5% 脱脂奶粉溶于含吐温-20 的 Tris 缓冲盐溶液 (Tris-buffered saline with Tween-20, TBST) 并室温封闭 1 h，随后分别与以下一抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜：PINK1 (1 : 2 000)、Parkin (1 : 750)、自噬接头蛋白 p62 (sequestosome 1, p62; 1 : 20 000)、微管相关蛋白 1 轻链 3-II (microtubule-associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II; 1 : 4 000)、Opa1 (1 : 750)、Drp1 (1 : 6 000) 及内参 β 微管蛋白 (beta-tubulin, β -tubulin (1 : 3 000))。膜经 TBST 洗涤 3 次 (5 min/次) 后，与辣根过氧化物酶标记的二抗 (1 : 5 000) 于室温孵育 50 min。最后，使用增强型化学发光试剂盒显色，通过凝胶成像系统获取图像，并利用 ImageJ 软件分析目标条带的灰度值。

1.7 ATP 含量测定

采用商业化 ATP 检测试剂盒测定 SNe 组织中的

ATP 浓度。简言之，新鲜 SNe 组织经匀浆后，立即使用试剂盒配套的蛋白质去除液处理以抑制 ATP 降解。上清液与反应混合液按说明书比例加入 96 孔板，室温避光孵育 30 min。使用酶标仪在 570 nm 波长处测定吸光度值，并根据标准曲线计算 ATP 浓度。

1.8 活性氧类水平检测

小鼠脑组织经 4%PFA 固定 24 h 后，行梯度蔗糖脱水沉降，制备厚度为 20~30 μm 的冰冻切片。切片经 PBS 清洗后，与 10 $\mu\text{mol/L}$ 二氢乙锭 (dihydroethidium, DHE) 探针于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min。PBS 洗涤 3 次以去除未结合染料，使用抗荧光猝灭封片剂封片。在激光共聚焦显微镜下 (激发波长 488 nm，发射波长 525 nm) 采集图像，并使用 ImageJ 软件量化分析 ROS 荧光强度。

1.9 数据统计分析

所有数据均使用 GraphPad Prism 10.1.2 软件进行分析，结果以均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)，并通过 Tukey's post hoc test 进行事后多重比较。当 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 TMAS有效激活运动皮层神经元

为了验证 TMAS 对目标脑区的调控效果,我们检测了小鼠 M1 中神经元激活标志物 c-Fos 的表达情况。实验结果(图 2a, b)显示,与健康对照组相比,健康刺激组的运动皮层区域 c-Fos 阳性细胞的数量显著增加 ($P<0.0001$)。这一结果证实,本研究所采用的 TMAS 参数能够有效诱导目标运动皮层神经元的兴奋。

2.2 TMAS改善PD小鼠的运动功能障碍

接下来,通过旷场实验和爬杆实验评估 TMAS 对 MPTP 诱导的小鼠运动功能受损的改善作用。在旷场实验中,移动总距离和平均速度是评估小鼠自主运动能力的关键指标,用于比较不同实验组小鼠的运动表现。结果显示,与健康对照组相比,PD 对照组运动轨迹、运动总距离 ($P<0.0001$) 以及平均速度 ($P=0.0001$) 显著降低(图 2c~e)。经 TMAS 干预后,PD 刺激组的运动表现得到显著改善,说明 TMAS 能够有效改善 PD 模型小鼠的运动功能。

在爬杆实验中,转向时间(t_{turn})和爬下时间(t_{down})被视为 PD 模型小鼠运动迟缓及平衡能力的评估指标。爬杆实验显示(图 2f, g),MPTP 处理导致转向时间和爬下时间显著延长 ($P<0.0001$)。TMAS 治疗显著缩短了这两项指标的时间 ($P<0.0001$),表明 TMAS 有效改善了 PD 小鼠的运动迟缓。

综上所述, TMAS 不仅能改善小鼠的自主运动能力,还能有效缓解 PD 病理损伤所致的运动迟缓和平衡能力下降。

2.3 TMAS缓解PD小鼠黑质致密部多巴胺能神经元的丢失

MPTP 诱导的神经病理变化与 PD 高度相似,包括 SNc 多巴胺能神经元的丢失。酪氨酸羟化酶是多巴胺合成过程中的限速酶,存在于 SNc 神经元中,其表达变化可反映 SNc 多巴胺能神经元的损伤情况。为了探究 TMAS 对小鼠 SNc 区域多巴胺能神经元的影响,对不同组小鼠 SNc 区域进行酪氨酸羟化酶免疫组化分析。TH 免疫组化染色结果显示(图 3a, b, e),与健康对照组相比,PD 对照组的 TH 阳性神经元显著减少,证实了 MPTP 导致多巴胺能神经元的显著损失。经过 TMAS 治疗后,PD 刺激组 TH 阳性神经元数量较 PD 对照组显著增加 ($P<0.0001$),表明 TMAS 能够有效促进 SNc 区域

多巴胺能神经元的存活。

2.4 TMAS改善了MPTP诱导的线粒体功能障碍

线粒体功能障碍是导致多巴胺能神经元死亡的主要原因之一,同时线粒体的 ROS 水平和 ATP 含量被视为线粒体功能受损的指示因素。为探讨 TMAS 是否通过改善 MPTP 诱导的线粒体功能障碍进而缓解多巴胺能神经元丢失,我们检测了黑质致密部区域的 ROS 水平和 ATP 含量。图 3c, d 分别为 ROS 染色图以及 SNc 区域局部放大图。图 3f, g 分别为 ROS 水平与 ATP 含量统计图。结果显示,与健康对照组相比,在 PD 对照组观察到线粒体 ROS 水平显著增加,而 ATP 含量则明显降低,提示 MPTP 可以诱导小鼠 SNc 多巴胺能神经元出现线粒体功能障碍。经过 TMAS 处理后,ATP 含量升高 ($P<0.001$),ROS 水平降低 ($P<0.01$),提示 TMAS 能够改善线粒体能量代谢并发挥显著的线粒体保护作用。

2.5 TMAS调节MPTP诱导的异常线粒体自噬

MPTP 通过抑制线粒体复合体 I 并破坏 PINK1/Parkin 介导的自噬过程,导致多巴胺能神经元的死亡,这一机制与 PD 的病理特征高度一致。为阐明 TMAS 改善线粒体功能的分子机制,本研究通过蛋白质印迹法检测了黑质区线粒体自噬相关蛋白的表达(图 4a)。对相关蛋白质表达水平进行统计分析后发现:与健康对照组相比,PD 对照组 PINK1 和 Parkin 的表达水平显著下调,降幅分别达到 58.8% 和 57.5% (图 4b~e),提示线粒体质量控制的启动机制受到严重损害。值得注意的是,MPTP 处理导致 LC3-II 的表达显著提高,但关键自噬接头蛋白 p62 的表达水平却显著降低,这种矛盾的表达模式反映了受损线粒体因自噬启动因子(PINK1/Parkin)缺失而无法有效募集 p62。在接受 TMAS 干预后,PD 刺激组的 PINK1、Parkin 表达水平显著回升,p62 的表达也随之显著上调,并伴随 LC3-II 的回落。这些结果表明, TMAS 能够部分修复 PINK1/Parkin 通路,通过恢复 p62 介导的识别机制促进受损线粒体的清除。

2.6 TMAS对线粒体分裂与融合动力学平衡的重建

线粒体稳态依赖于线粒体裂变与融合过程的动态平衡,其中 Drp1 和 Opa1 分别是调控裂变与融合的关键蛋白质。为探讨 TMAS 对 MPTP 诱导的线粒体裂变/融合失衡的影响,检测了促裂变蛋白 Drp1 和促融合蛋白 Opa1 的表达水平,以评估 TMAS 对

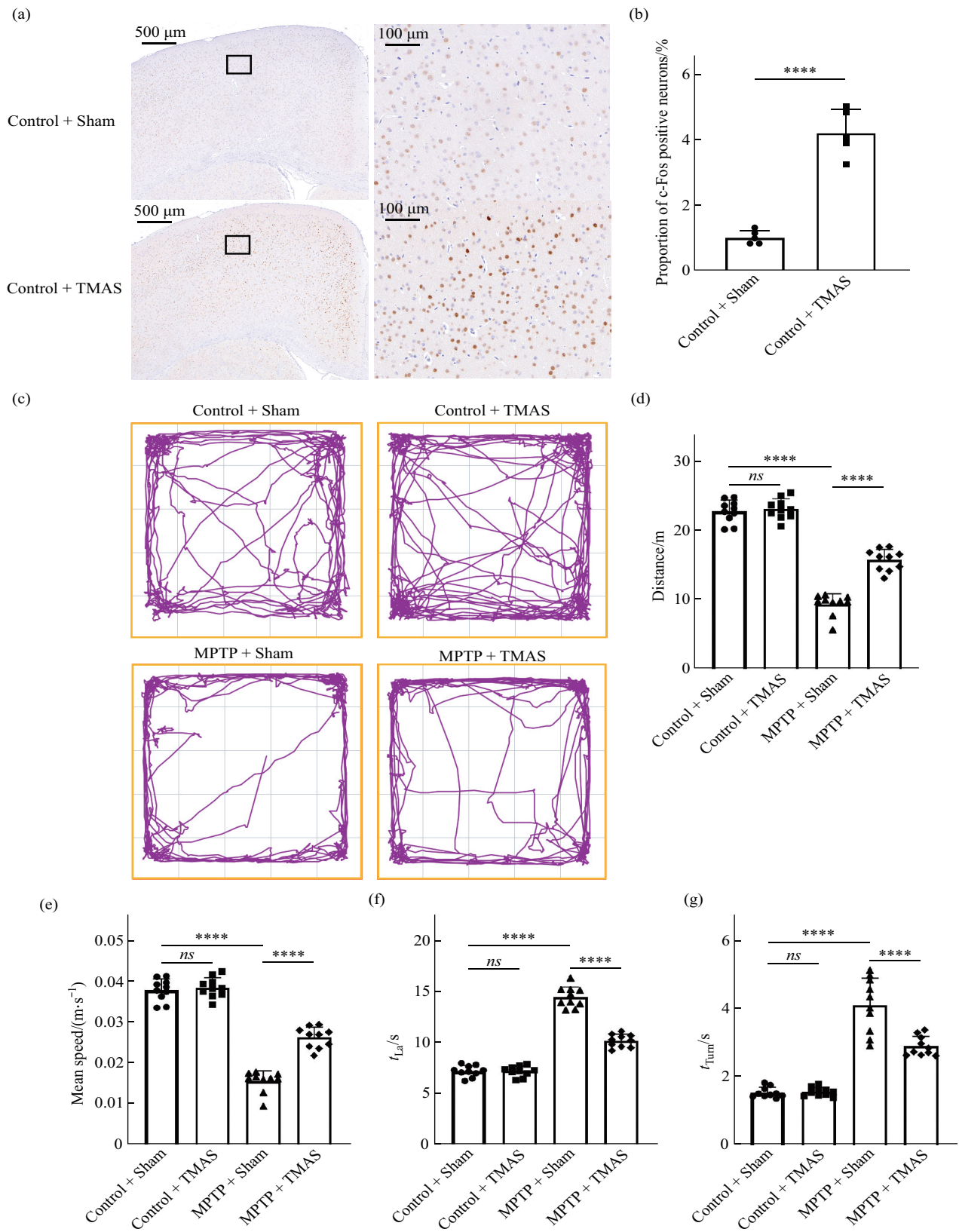


Fig. 2 TMAS activates neurons in the motor cortex and improves motor behavior in PD mice

(a) Representative c-Fos immunohistochemical staining images in the M1 region from the Control+Sham and Control+TMAS groups. (b) Quantification of c-Fos-positive cells in the M1 region. (c) Representative locomotor trajectories in the open-field test (10 min). (d) Total distance traveled during the open-field test. (e) Mean speed in the open-field test. (f) Total climbing time in the pole test. (g) Turn time in the pole test. PD: Parkinson's disease; M1: primary motor cortex; t_{Turn} : turn time; t_{La} : total climbing time. **** $P<0.0001$; ns, not significant.

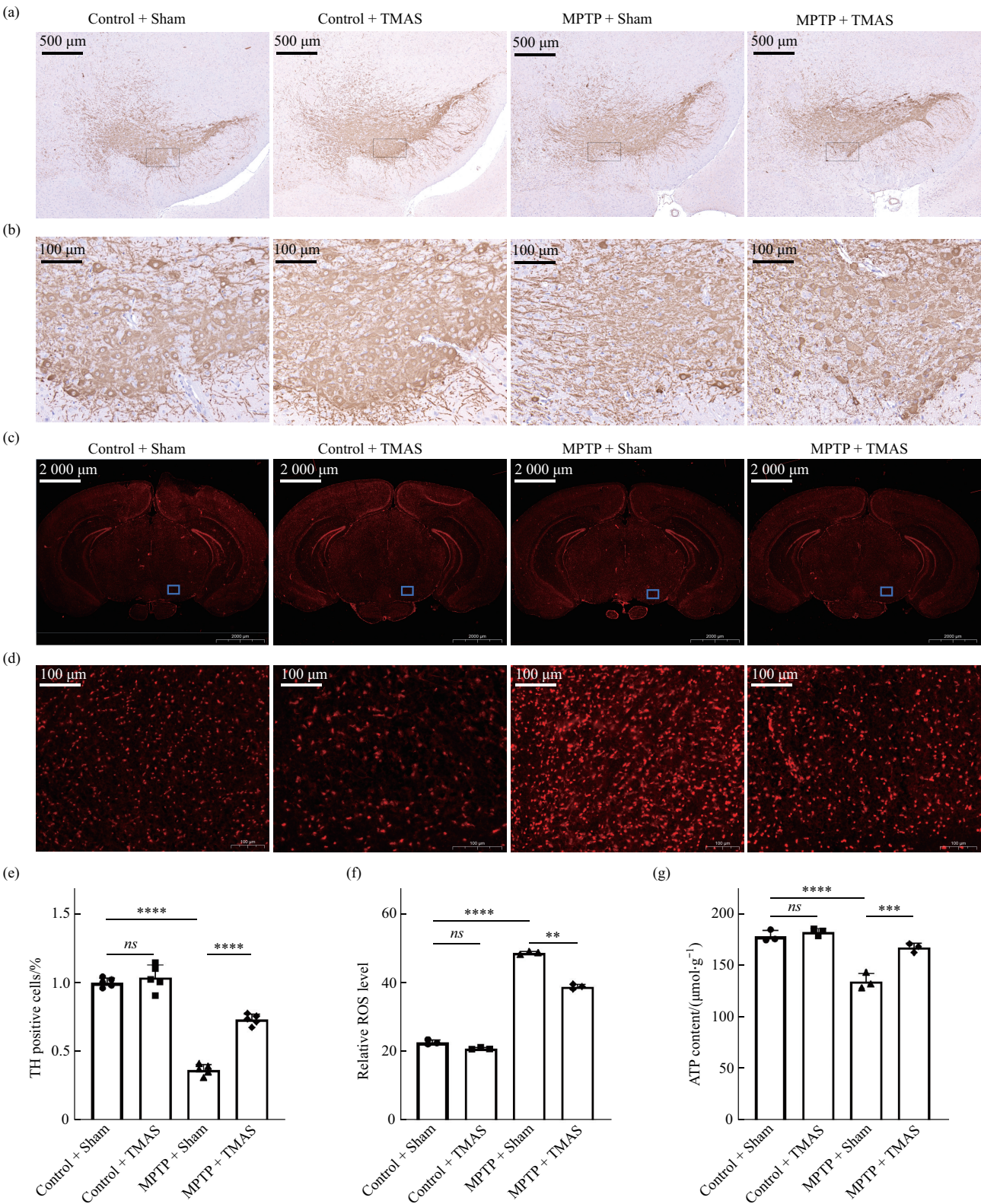


Fig. 3 TH immunohistochemistry, ROS levels, and ATP content in the substantia nigra pars compacta

(a) Representative TH immunohistochemical staining images in the SNc. (b) High-magnification images of TH immunohistochemistry in the SNc. (c) Representative whole-brain ROS fluorescence images. (d) High-magnification ROS fluorescence images in the SNc. (e) Quantification of TH-positive cells in the right SNc. (f) Quantification of relative ROS levels. (g) Quantification of ATP content. TH: tyrosine hydroxylase; ROS: reactive oxygen species; ATP: adenosine triphosphate; SNc: substantia nigra pars compacta. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$; ns, not significant.

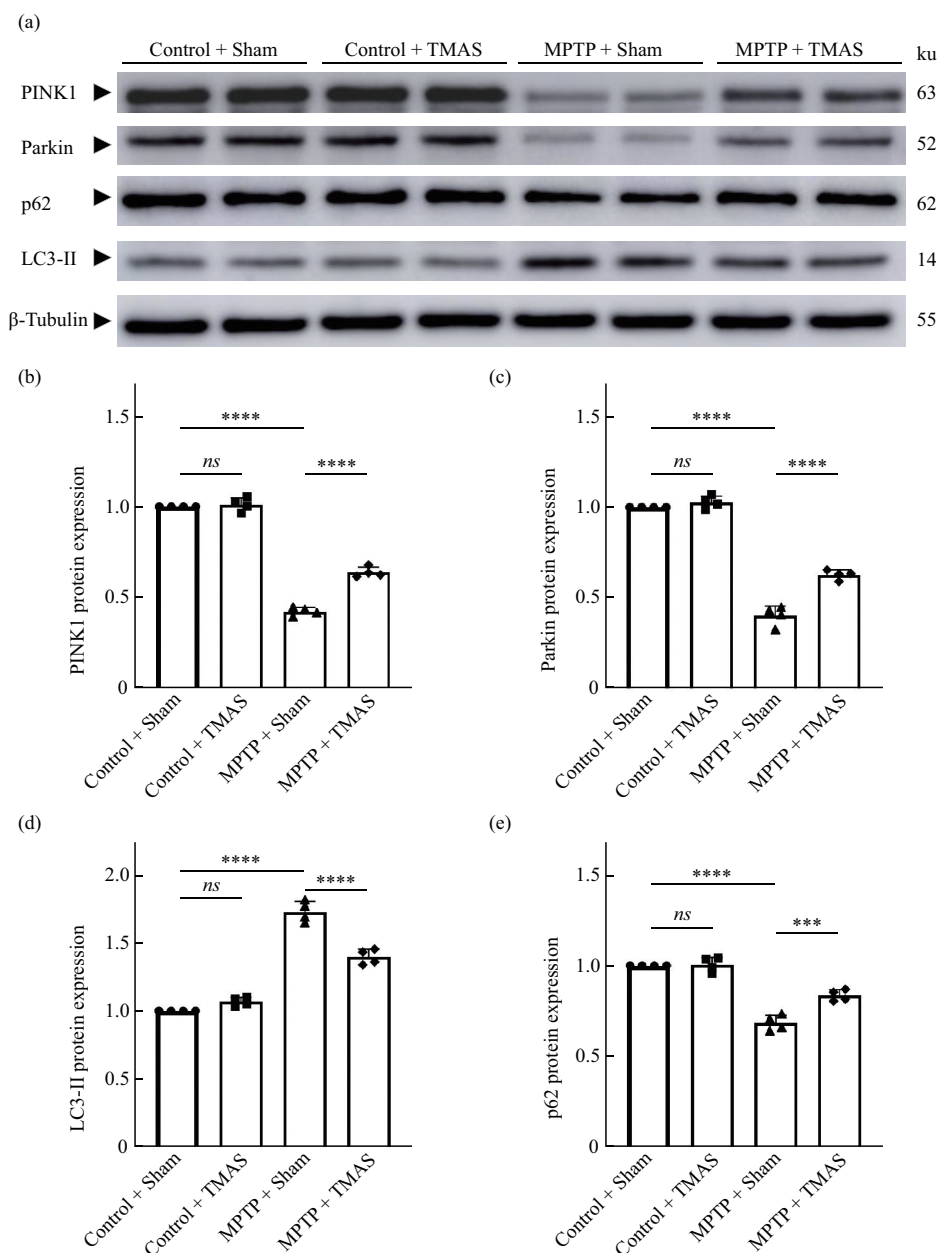


Fig. 4 Western blot analysis of mitophagy-related proteins in the substantia nigra

(a) Representative immunoblot bands of PINK1, Parkin, LC3-II, p62, and β -tubulin, with molecular mass indicated in ku. (b–e) Relative densitometric quantification of PINK1, Parkin, LC3-II, and p62. PINK1: PTEN-induced putative kinase 1; LC3: microtubule-associated protein 1 light chain 3; p62: sequestosome 1; β -tubulin: beta-tubulin. *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$; *ns*, not significant.

线粒体动态平衡的调控作用（图5a~c）。研究结果显示，与健康对照组相比，MPTP处理显著降低了促融合蛋白Opa1的水平，同时显著提高了促分裂蛋白Drp1的水平，表明线粒体动力学平衡向过度分裂状态偏转。经TMAS干预治疗后，PD刺激组

小鼠黑质中的Opa1水平明显回升，而Drp1的表达受到抑制，使线粒体网络结构趋于稳定。综合以上实验证据，TMAS通过协同调节线粒体自噬与动力学平衡，重建了线粒体稳态，从而发挥了对PD病模型鼠的神经保护作用。

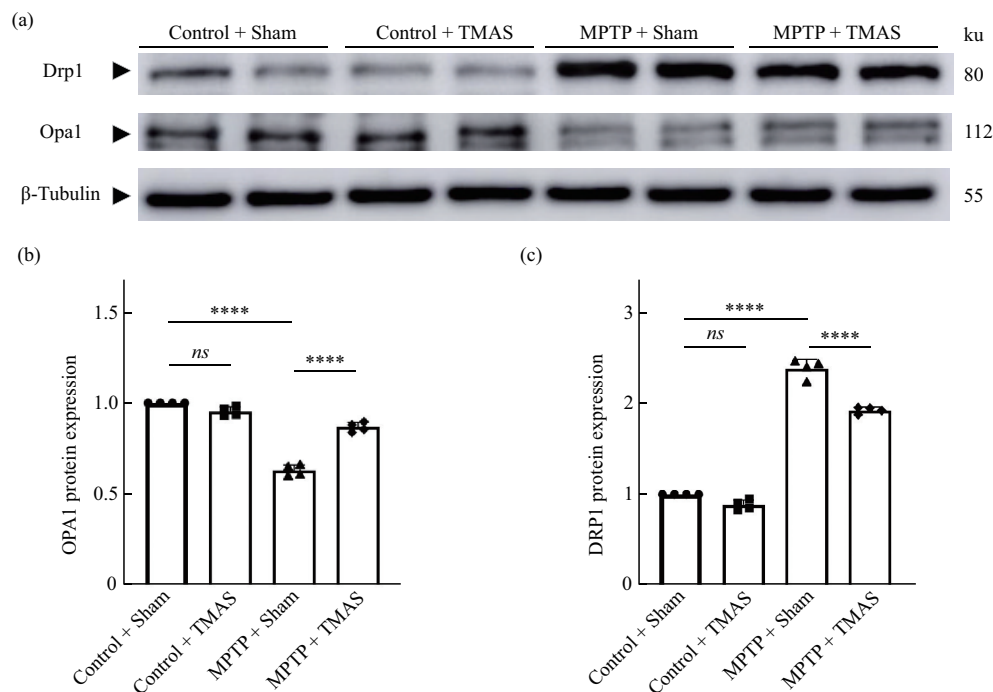


Fig. 5 Western blot analysis of mitochondrial dynamics-related proteins in the substantia nigra

(a) Representative immunoblot bands of Drp1, Opa1, and β-tubulin, with molecular mass indicated in ku. (b, c) Relative quantification of Drp1 and Opa1 protein expression. Drp1: dynamin-related protein 1; Opa1: optic atrophy 1. **** $P<0.0001$; ns, not significant.

3 讨 论

本研究系统探讨了TMAS对MPTP诱导的PD模型小鼠的神经保护作用及其潜在机制。与目前临床上广泛应用的多巴胺替代疗法（如左旋多巴）不同——后者主要致力于缓解运动症状而难以逆转神经退行性病变^[24]。左旋多巴作为PD最有效的对症治疗药物，能够显著改善运动迟缓和僵硬等核心运动体征，在控制运动症状方面具有无可争议的疗效^[25]。然而，左旋多巴治疗存在显著的局限性：长期使用容易引起不自主运动（异动症）^[26]；同时可能导致运动控制的不稳定^[27]。此外，左旋多巴的口服给药方式复杂，由于其吸收不稳定、代谢广泛以及较短的血浆半衰期，使得药物浓度难以维持稳定^[28]。同时，间歇性口服给药方式会导致非生理性的多巴胺恢复，引起受体刺激的脉冲式变化，最终可能促进运动并发症的发生^[29]。这些局限性使得左旋多巴虽然在症状缓解方面效果显著，但在疾病治疗和长期安全性方面仍有不足。本研究发现TMAS能够干预疾病进程，其核心机制在于对多巴胺神经元线粒体质量控制系统的系统性修复。此

外，与深部脑刺激这种侵入性手术相比，TMAS作为一种新型非侵入性技术，不仅避免了手术创伤，还展现出通过物理场调控神经环路进而缓解疾病进展的能力。

首先，通过c-Fos免疫组化验证了TMAS参数的有效性，证明其能够精准激活M1运动皮层。在此基础上，行为学实验表明，TMAS干预能显著逆转MPTP引起的运动迟缓和自主活动能力下降。这一发现与近期关于其他非侵入性脑刺激技术可改善PD模型运动症状的研究结果一致^[16, 30]。研究显示，高频重复经颅磁刺激和经颅直流电刺激均能通过调节皮质兴奋性来改善PD患者的运动表现^[31-32]。尤其是高频重复经颅磁刺激对M1皮层的刺激已被证明可以增强皮质-纹状体通路的功能连接，这与我们的TMAS研究结果具有相似的神经调控效应^[33]。这些证据进一步支持了物理神经调控作为PD潜在辅助疗法的可行性。

值得注意的是，皮层是一个高度复杂的神经网络系统。传统非侵入性脑刺激技术往往面临空间分辨率受限的问题，非特异性的广泛兴奋不仅难以达到最佳调控效果，甚至可能增加诱发癫痫的风险。

相比之下, TMAS 结合了两种物理场的作用机制。一方面, TMAS 利用低强度超声在静磁场中诱发磁声耦合电场; 另一方面, 超声的机械效应也协同参与调控^[30]。研究表明, TMAS 诱导的肌电振幅及突触可塑性均显著优于单一超声刺激, 且神经反应潜伏期更短^[22, 34], 证实了其卓越的调控效能。更为关键的是, TMAS 能够实现高达 2 mm 的高空间分辨率^[30], 这种极高的空间靶向性在精准重塑目标网络的同时, 有效避免了非靶区皮层的连带广泛兴奋, 保障了物理干预的安全性。

线粒体功能障碍引发的能量代谢危机是多巴胺能神经元死亡的核心诱因。MPTP 的经典毒性机制是抑制线粒体复合物 I, 导致 ROS 爆发和 ATP 耗竭, 进而触发神经元死亡^[1, 35]。本研究发现, TMAS 处理能显著逆转这一现象, 直接证明了其对线粒体功能障碍的改善作用。这一效应很可能是 TMAS 发挥神经保护作用的上游事件, 通过改善微环境中的氧化应激水平, 为后续细胞内质量控制机制的修复创造了条件。值得注意的是, 线粒体功能障碍不仅是 PD 的病理基础, 也是多种神经退行性疾病的共同特征^[36-37]。研究表明, 抗氧化剂和线粒体功能调节剂在 MPTP 模型中均显示出神经保护作用, 这为 TMAS 的作用机制提供了间接支持^[38-41]。

本研究进一步阐明了 TMAS 对 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬通路的修复作用。PINK1/Parkin 通路在维持线粒体质量平衡中起着核心作用, 其功能障碍已被证实是家族性 PD 的重要发病机制^[42-43]。有趣的是, LRRK2 等 PD 相关基因也被发现通过影响 PINK1/Parkin 通路参与线粒体质量控制^[9, 44-45], 这表明 TMAS 可能通过调控这一共同通路发挥神经保护作用。此外, 线粒体稳态的维持还高度依赖于 Drp1/Opa1 介导的线粒体动力学平衡。MPTP 诱导的线粒体过度分裂会导致线粒体网络碎片化, 丧失能量产出能力^[10]。线粒体动力学失衡是 PD 的另一个重要病理特征, Drp1 介导的过度分裂和 Opa1 介导的融合不足共同导致线粒体网络结构的破坏^[46]。研究表明, 调节线粒体动力学平衡可能是 PD 治疗的新靶点^[47-48]。近年来, 靶向线粒体功能已成为评估 PD 神经干预疗效的重要维度。最新研究表明, 临床上广泛应用的丘脑底核深部脑刺激能够调节线粒体自噬来缓解 PD 小鼠和猴子模型的氧化应激, 并在 PD 患者中通过脑脊液氧化应激指标的检测进一步支持了这一结果^[49]。

基于上述发现, 本文总结了 TMAS 改善 PD 模型小鼠神经损伤的靶点与机制网络。在宏观脑区与环路层面, TMAS 精准靶向激活 M1, 推测其通过皮质-基底核环路, 将神经保护效应延伸至深部黑质致密部。在微观分子机制层面, TMAS 靶向启动了 SNc 多巴胺能神经元的线粒体质量控制系统: 一方面, 疏通了受损线粒体的自噬降解流程; 另一方面, 重建了线粒体裂变与融合的动力学平衡。这两种分子途径共同逆转了细胞内的能量代谢危机, 最终显著提高了多巴胺能神经元的存活率并改善了小鼠的运动症状。

值得探讨的是, TMAS 对正常小鼠也表现出轻微的运动改善和神经元存活提升, 提示该技术在调节神经网络稳态方面具有潜在的神经调节效应。这种双向调节效应与其他非侵入性脑刺激技术的特性相似^[50]。然而, 本研究也存在一定的局限性。首先, 本研究重点关注与线粒体相关的机制上, 尚未与其他神经调控方法进行直接比较, 以突出 TMAS 的独特优势。其次, 尽管 c-Fos 的结果证实了刺激的靶向性, 但 TMAS 所激活的特定神经回路及其与下游黑质致密部神经元保护之间的因果关系, 仍需借助光遗传学或化学遗传学等技术进行更深入的探讨^[51]。最后, 本研究基于 MPTP 模型, 未能充分反映 PD 慢性进展的复杂病理过程。慢性 PD 模型可能更能真实模拟人类 PD 的病理特征, 包括逐渐加重的神经退行性变和炎症反应^[52]。未来, 结合转录组学、蛋白质组学等多种组学技术, 在更接近人类 PD 病理的慢性或遗传模型中验证 TMAS 的长期疗效与安全性, 并探索最佳刺激参数, 将是推动其临床应用的重要步骤^[53]。

4 结 论

本研究系统验证了 TMAS 在 MPTP 诱导的 PD 小鼠模型中的神经保护作用, 表现为运动功能障碍改善及黑质致密部多巴胺能神经元丢失减少。更为重要的是, 本研究揭示了 TMAS 的神经保护机制主要在于其对线粒体稳态的多方面调节: 通过恢复 PINK1/Parkin 信号通路来促进受损线粒体的选择性清除, 同时纠正 Drp1/Opa1 介导的线粒体动力学失衡, 从而共同改善线粒体的功能。这些发现为 TMAS 作为一种新型非侵入性物理干预方法在 PD 治疗中的应用提供了重要的实验证据。

参 考 文 献

- [1] Dionísio P A, Amaral J D, Rodrigues C M P. Oxidative stress and regulated cell death in Parkinson's disease. *Ageing Res Rev*, 2021, **67**: 101263
- [2] McGregor M M, Nelson A B. Circuit mechanisms of Parkinson's disease. *Neuron*, 2019, **101**(6): 1042-1056
- [3] Imai Y, Lu B. Mitochondrial dynamics and mitophagy in Parkinson's disease: disordered cellular power plant becomes a big deal in a major movement disorder. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, **21**(6): 935-941
- [4] Armstrong M J, Okun M S. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*, 2020, **323**(6): 548-560
- [5] Malpartida A B, Williamson M, Narendra D P, *et al.* Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's disease: from mechanism to therapy. *Trends Biochem Sci*, 2021, **46**(4): 329-343
- [6] Gao J, Wang L, Liu J, *et al.* Abnormalities of mitochondrial dynamics in neurodegenerative diseases. *Antioxidants (Basel)*, 2017, **6**(2): 25
- [7] Feng S T, Wang Z Z, Yuan Y H, *et al.* Dynamin-related protein 1: a protein critical for mitochondrial fission, mitophagy, and neuronal death in Parkinson's disease. *Pharmacol Res*, 2020, **151**: 104553
- [8] Barazzuol L, Giamogante F, Brini M, *et al.* PINK1/parkin mediated mitophagy, Ca^{2+} signalling, and ER-mitochondria contacts in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(5): 1772
- [9] Bonello F, Hassoun S M, Mouton-Liger F, *et al.* LRRK2 impairs PINK1/Parkin-dependent mitophagy *via* its kinase activity: pathologic insights into Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*, 2019, **28**(10): 1645-1660
- [10] Santos D, Esteves A R, Silva D F, *et al.* The impact of mitochondrial fusion and fission modulation in sporadic Parkinson's disease. *Mol Neurobiol*, 2015, **52**(1): 573-586
- [11] Koentjoro B, Park J S, Sue C M. Ni_x restores mitophagy and mitochondrial function to protect against PINK1/Parkin-related Parkinson's disease. *Sci Rep*, 2017, **7**: 44373
- [12] Miller S, Muqit M M K. Therapeutic approaches to enhance PINK1/Parkin mediated mitophagy for the treatment of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2019, **705**: 7-13
- [13] Gai C, Feng W D, Qiang T Y, *et al.* Da-bu-Yin-Wan and Qian-Zheng-San ameliorate mitochondrial dynamics in the Parkinson's disease cell model induced by MPP. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 372
- [14] Liu R, Ma R, Liu X, *et al.* A noninvasive deep brain stimulation method *via* temporal-spatial interference magneto-acoustic effect: simulation and experimental validation. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2022, **69**(8): 2474-2483
- [15] Yuan Y, Chen Y, Li X. Theoretical analysis of transcranial magneto-acoustical stimulation with Hodgkin-Huxley neuron model. *Front Comput Neurosci*, 2016, **10**: 35
- [16] Zhang S, Fan R, Lv J, *et al.* Transcranial magneto-acoustic stimulation suppresses the power and coherence of beta-oscillations in Parkinsonian rat model with improvement motor performance. *Clin Neurophysiol*, 2025, **177**: 2110807
- [17] Zhang S, Xie X, Xu Y, *et al.* Effects of transcranial magneto-acoustic stimulation on cognitive function and neural signal transmission in the hippocampal CA1 region of mice. *Neuroscience*, 2024, **556**: 86-95
- [18] Chu F, Tan R, Wang X, *et al.* Transcranial magneto-acoustic stimulation attenuates synaptic plasticity impairment through the activation of Piezo1 in Alzheimer's disease mouse model. *Research (Wash DC)*, 2023, **6**: 0130
- [19] Zhang C, Tan R, Zhou X, *et al.* Transcranial magneto-acoustic stimulation protects synaptic rehabilitation from amyloid-beta plaques *via* regulation of microglial functions. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(9): 4651
- [20] Zhang S, Wang Q, Xu Y, *et al.* Transcranial magneto-acoustic stimulation enhances motor function and modulates cortical excitability of motor cortex in a Parkinson's disease mouse model. *Behav Brain Res*, 2025, **480**: 115364
- [21] Xu Y, Zhang S, Mi J, *et al.* Modulatory effects of transcranial magneto-acoustic stimulation on behavior and corticostriatal transmission of oscillatory activity in a mouse model of Parkinson's disease induced by MPTP. *Exp Neurol*, 2025, **392**: 115352
- [22] Wang H, Zhou X, Cui D, *et al.* Comparative study of transcranial magneto-acoustic stimulation and transcranial ultrasound stimulation of motor cortex. *Front Behav Neurosci*, 2019, **13**: 241
- [23] Wang Y, Feng L, Liu S, *et al.* Transcranial magneto-acoustic stimulation improves neuroplasticity in hippocampus of Parkinson's disease model mice. *Neurotherapeutics*, 2019, **16**(4): 1210-1224
- [24] Elkouzi A, Vedam-Mai V, Eisinger R S, *et al.* Emerging therapies in Parkinson disease—repurposed drugs and new approaches. *Nat Rev Neurol*, 2019, **15**(4): 204-223
- [25] Olanow C W. Levodopa is the best symptomatic therapy for PD: nothing more, nothing less. *Mov Disord*, 2019, **34**(6): 812-815
- [26] Pringsheim T, Day G S, Smith D B, *et al.* Dopaminergic therapy for motor symptoms in early Parkinson disease practice guideline summary: a report of the AAN guideline subcommittee. *Neurology*, 2021, **97**(20): 942-957
- [27] Bressman S, Saunders-Pullman R. When to start levodopa therapy for Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 2019, **380**(4): 389-390
- [28] Urso D, Chaudhuri K R, Qamar M A, *et al.* Improving the delivery of levodopa in Parkinson's disease: a review of approved and emerging therapies. *CNS Drugs*, 2020, **34**(11): 1149-1163
- [29] Olanow C W, Calabresi P, Obeso J A. Continuous dopaminergic stimulation as a treatment for Parkinson's disease: current status and future opportunities. *Mov Disord*, 2020, **35**(10): 1731-1744
- [30] Zhou X, Liu S, Wang Y, *et al.* High-resolution transcranial electrical simulation for living mice based on magneto-acoustic effect. *Front Neurosci*, 2019, **13**: 1342
- [31] Chen K S, Chen R. Invasive and noninvasive brain stimulation in Parkinson's disease: clinical effects and future perspectives. *Clin Pharmacol Ther*, 2019, **106**(4): 763-775

- [32] Begemann M J, Brand B A, Ćurčić-Blake B, *et al.* Efficacy of non-invasive brain stimulation on cognitive functioning in brain disorders: a meta-analysis. *Psychol Med*, 2020, **50**(15): 2465-2486
- [33] Leodori G, de Bartolo M I, Guerra A, *et al.* Motor cortical network excitability in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2022, **37**(4): 734-744
- [34] Ma X, Wang X, Zhu K, *et al.* Study on the role of physical fields in TMS to modulate synaptic plasticity in mice. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2024, **71**(5): 1531-1541
- [35] Paul R, Choudhury A, Kumar S, *et al.* Cholesterol contributes to dopamine-neuronal loss in MPTP mouse model of Parkinson's disease: involvement of mitochondrial dysfunctions and oxidative stress. *PLoS One*, 2017, **12**(2): e0171285
- [36] Chen W, Zhao H, Li Y. Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, **8**(1): 333
- [37] Li X, Huang L, Lan J, *et al.* Molecular mechanisms of mitophagy and its roles in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res*, 2021, **163**: 105240
- [38] Ren Z L, Wang C D, Wang T, *et al.* Ganoderma lucidum extract ameliorates MPTP-induced Parkinsonism and protects dopaminergic neurons from oxidative stress *via* regulating mitochondrial function, autophagy, and apoptosis. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, **40**(4): 441-450
- [39] Lee S, Suh Y J, Yang S, *et al.* Neuroprotective and anti-inflammatory effects of evernic acid in an MPTP-induced Parkinson's disease model. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(4): 2098
- [40] Wu L K, Agarwal S, Kuo C H, *et al.* Artemisia Leaf Extract protects against neuron toxicity by TRPML1 activation and promoting autophagy/mitophagy clearance in both *in vitro* and *in vivo* models of MPP+/MPTP-induced Parkinson's disease. *Phytomedicine*, 2022, **104**: 154250
- [41] Vaidya B, Polepalli M, Sharma S S, *et al.* 2-Aminoethoxydiphenyl borate ameliorates mitochondrial dysfunctions in MPTP/MPP⁺ model of Parkinson's disease. *Mitochondrion*, 2023, **69**: 95-103
- [42] Ge P, Dawson V L, Dawson T M. PINK1 and Parkin mitochondrial quality control: a source of regional vulnerability in Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*, 2020, **15**(1): 20
- [43] Heo J M, Ordureau A, Paulo J A, *et al.* The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy. *Mol Cell*, 2015, **60**(1): 7-20
- [44] Hung C M, Lombardo P S, Malik N, *et al.* AMPK/ULK1-mediated phosphorylation of Parkin ACT domain mediates an early step in mitophagy. *Sci Adv*, 2021, **7**(15): eabg4544
- [45] Ma K Y, Fokkens M R, Reggiori F, *et al.* Parkinson's disease-associated VPS35 mutant reduces mitochondrial membrane potential and impairs PINK1/Parkin-mediated mitophagy. *Transl Neurodegener*, 2021, **10**(1): 19
- [46] Lin C Y, Chen W J, Fu R H, *et al.* Upregulation of OPA1 by carnosis acid is mediated through induction of IKK γ ubiquitination by parkin and protects against neurotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2020, **136**: 110942
- [47] Han H, Tan J, Wang R, *et al.* PINK1 phosphorylates Drp1^{S616} to regulate mitophagy-independent mitochondrial dynamics. *EMBO Rep*, 2020, **21**(8): e48686
- [48] Zhang X L, Huang W M, Tang P C, *et al.* Anti-inflammatory and neuroprotective effects of natural cordycepin in rotenone-induced PD models through inhibiting Drp1-mediated mitochondrial fission. *Neurotoxicology*, 2021, **84**: 1-13
- [49] Chen Y, Zhu G, Yuan T, *et al.* Subthalamic nucleus deep brain stimulation alleviates oxidative stress *via* mitophagy in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis*, 2024, **10**(1): 52
- [50] Mosilhy E A, Alshial E E, Eltaras M M, *et al.* Non-invasive transcranial brain modulation for neurological disorders treatment: a narrative review. *Life Sci*, 2022, **307**: 120869
- [51] Manto M, Argyropoulos G P D, Bocci T, *et al.* Consensus paper: novel directions and next steps of non-invasive brain stimulation of the cerebellum in health and disease. *Cerebellum*, 2022, **21**(6): 1092-1122
- [52] Song C, Zhang J, Qi S, *et al.* Cardiolipin remodeling by ALCAT1 links mitochondrial dysfunction to Parkinson's diseases. *Aging Cell*, 2019, **18**(3): e12941
- [53] Liu R, Wang R, Zhou X, *et al.* Noninvasive deep brain stimulation using theta-burst transcranial magnetic-acoustic coupling to modulate cortical rhythms in Parkinsonian mice. *Exp Neurol*, 2026, **397**: 115592

Neuroprotective Effects of Transcranial Magneto-acoustic Stimulation on Parkinson's Disease Model Mice by Regulating Mitophagy and Mitochondrial Homeostasis*

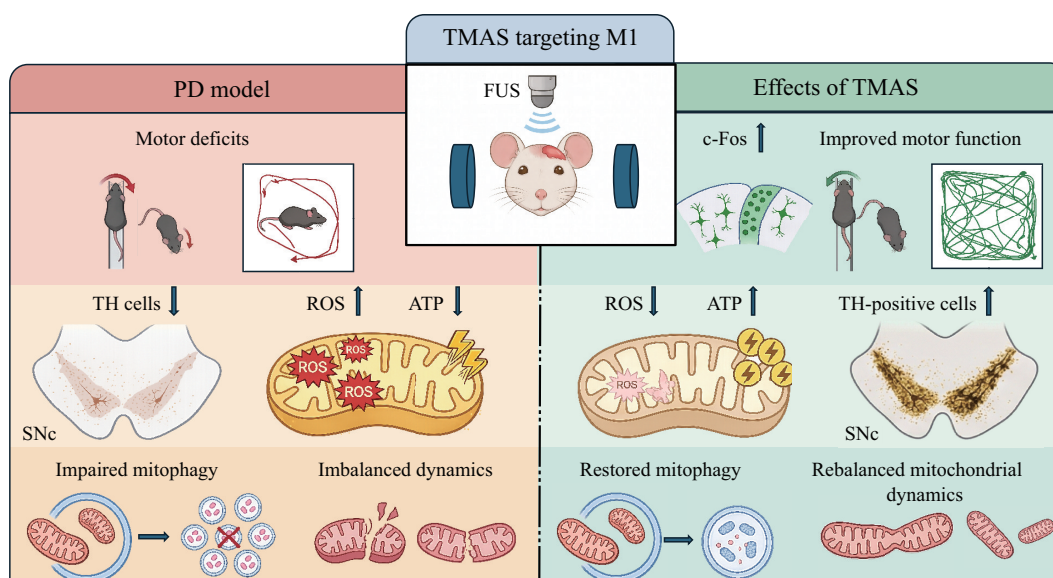
ZHANG Shuai^{1,2,3)**}, WANG Yan-Bin^{1,2,3)}, XU Yi-Hao^{1,2,3)}, MI Jin-Rui^{1,2,3)}, LU Xiao-Chao^{1,2,3)},
AN Yu-Chen^{1,2,3)}, LIU Ji-Zhou^{1,2,3)}, SUN Jia-Qi^{2,3)}

⁽¹⁾School of Health Sciences and Biomedical Engineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

⁽²⁾State Key Laboratory of Intelligent Power Distribution Equipment and System, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China;

⁽³⁾Hebei Key Laboratory of Bioelectromagnetics and Neuroengineering, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Graphical abstract



Abstract Objective Transcranial magneto-acoustic stimulation (TMAS) is an emerging non-invasive neuromodulation technique that may provide a novel non-pharmacological intervention strategy for Parkinson's disease (PD). PD is characterized by the progressive degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta (SNc), leading to motor impairments such as bradykinesia, tremor, and rigidity. Increasing evidence indicates that mitochondrial dysfunction and impaired mitochondrial quality control are central mechanisms underlying dopaminergic neuronal loss. In particular, abnormalities in mitophagy and mitochondrial fission-fusion balance contribute substantially to oxidative stress, energy metabolic failure, and neuronal injury.

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (52377224, 51877069) and Central Government Guides Local Science and Technology Development Fund Project (236Z7711G).

** Corresponding author.

Tel: 86-13920280121, E-mail: zs@hebut.edu.cn

Received: January 5, 2026 Accepted: April 2, 2026

At present, most clinical treatments for PD mainly alleviate symptoms but do not effectively halt disease progression. Therefore, exploring new interventions targeting the core pathological mechanisms is of considerable significance. This study aims to investigate whether TMAS can improve neural damage and motor dysfunction in PD mice by regulating mitophagy and the fission/fusion dynamic balance, thereby providing theoretical and experimental support for its application in PD treatment. **Methods** Male C57BL/6 mice were used in this study. A PD model was established by intraperitoneal injection of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) for 7 consecutive days. After model induction, mice in the intervention group received TMAS once daily for 14 consecutive days, whereas the corresponding control group received sham stimulation. The stimulation target was positioned over the primary motor cortex (M1). Motor performance was evaluated using the pole test and the open-field test. To verify the activation effect of TMAS on the target cortical region, c-Fos immunohistochemistry was performed in the M1. To assess nigral dopaminergic neuronal injury, tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry was used to quantify TH-positive neurons in the SNc. Mitochondrial function was evaluated by measuring reactive oxygen species (ROS) levels and adenosine triphosphate (ATP) content in the SNc. Western blot was further performed to determine the expression of mitophagy-related proteins, including PINK1, Parkin, LC3-II, and p62, as well as mitochondrial dynamics-related proteins, including Drp1 and Opa1. **Results** TMAS significantly increased the number of c-Fos-positive cells in M1 ($P<0.0001$), indicating effective activation of neurons in the targeted cortical region. Compared with the control group, MPTP-treated mice exhibited marked motor dysfunction, including a significant reduction in total distance traveled in the open-field test ($P<0.0001$) and mean speed ($P=0.0001$), as well as significant prolongation of turn time and total climbing time in the pole test ($P<0.0001$). These behavioral impairments were accompanied by a substantial loss of TH-positive dopaminergic neurons in the SNc, whereas TMAS significantly increased TH-positive neuron survival ($P<0.0001$). In parallel, MPTP induced a pronounced increase in ROS levels and a significant reduction in ATP content, indicating severe mitochondrial dysfunction and energy metabolism impairment ($P<0.01$). TMAS treatment significantly improved motor performance, as reflected by the reversal of MPTP-induced impairment in the open-field and pole tests, and significantly reduced ROS accumulation ($P<0.01$) while restoring ATP production ($P<0.001$). At the molecular level, MPTP markedly downregulated PINK1 and Parkin, decreased p62 expression, increased LC3-II accumulation, elevated Drp1 expression, and reduced Opa1 expression, whereas TMAS significantly reversed these abnormalities, suggesting restoration of mitophagy-related mitochondrial quality control and re-establishment of mitochondrial fission-fusion balance. Collectively, these findings indicate that TMAS ameliorates MPTP-induced neurotoxicity and restores mitochondrial homeostasis and energy metabolism. **Conclusion** TMAS effectively attenuates neural damage and improves motor dysfunction in MPTP-induced PD mice. Its neuroprotective effects are closely associated with multidimensional regulation of the mitochondrial quality control system, including restoration of PINK1/Parkin-mediated mitophagy and rebalancing of Drp1/Opa1-related mitochondrial dynamics. Rather than acting only as a symptomatic neuromodulatory intervention, TMAS may influence a key pathological axis of PD by improving mitochondrial homeostasis in SNc and protecting nigral dopaminergic neurons. These findings provide experimental evidence supporting TMAS as a promising non-invasive physical intervention for PD.

Key words Parkinson's disease, transcranial magneto-acoustic stimulation, mitophagy, mitochondrial dynamics, motor function

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0007

CSTR: 32369.14.pibb.20260007