

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.46.009 [http://www.crter.org]

王玉玲, 高华, 杨新玲. 6-羟基多巴胺单侧两点注射法构建的帕金森病模型鼠[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(46):8030-8035.

## 6-羟基多巴胺单侧两点注射法构建的帕金森病模型鼠\*★

王玉玲<sup>1</sup>, 高华<sup>2</sup>, 杨新玲<sup>1</sup> (1新疆医科大学第一附属医院综合内科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011; <sup>2</sup>新疆医科大学第五附属医院神经内科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054)

### 文章亮点:

1 实验特点为采用6-羟基多巴胺单侧双点黑质致密部和中脑腹侧被盖区毁损的方法, 模型的成功率可以达到44%, 基本符合大多数对模型成功率的要求。

2 实验在黑质致密部和中脑腹侧被盖区两点注射6-羟基多巴胺建立的帕金森病大鼠模型, 表现出明显的黑质神经元损伤帕金森病症状, 诱导后出现旋转行为, 说明手术定位的准确性, 从检测模型鼠行为及病理3方面改变说明帕金森病大鼠模型制作成功。

### 关键词:

组织构建; 组织构建实验造模; 帕金森病; 6-羟基多巴胺; 酪氨酸羟化酶; 旋转; 阿朴吗啡; 多巴胺; 省级基金

### 主题词:

帕金森病; 羟多巴胺; 酪氨酸 3-单加氧酶; 模型, 动物; 旋转

### 基金资助:

新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2013211A093)\*

### 摘要

**背景:** 帕金森病动物模型的建立对帕金森病的临床、基础实验研究中有重要作用, 同时其稳定性也直接影响到研究的结果。

**目的:** 评价6-羟基多巴胺单侧两点注射法构建的帕金森病模型大鼠行为及病理变化。

**方法:** SD大鼠62只随机分为实验组50只, 正常组12只, 采用脑内立体定向, 将6-羟基多巴胺注入实验组大鼠右侧黑质致密部和中脑腹侧被盖区以建立帕金森病模型, 观察大鼠行为变化、酪氨酸羟化酶及脑内多巴胺含量改变。

**结果与结论:** 2周后实验组经阿朴吗啡诱导后, 有22只向左侧旋转速度 $>7$  r/min, 2周与4周之间大鼠的旋转圈数差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。模型组中酪氨酸羟化酶及脑内多巴胺含量明显减少。说明应用6-羟基多巴胺单侧两点注射可成功建立行为及病理相似的帕金森病大鼠模型。

## Establishment of rat models of Parkinson's disease by unilateral two-point injection with 6-hydroxydopamine

Wang Yu-ling<sup>1</sup>, Gao Hua<sup>2</sup>, Yang Xin-ling<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; <sup>2</sup>Department of Neurology, Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** The establishment of animal models of Parkinson's disease plays an important role in clinical and basic experiments of Parkinson's disease, and its stability directly affected study results.

**OBJECTIVE:** To evaluate the behavior and pathological changes of rats with Parkinson's disease established by unilateral two-point injection with 6-hydroxydopamine.

**METHODS:** A total of 62 Sprague-Dawley rats were randomly assigned into experimental group ( $n=50$ ) and normal group ( $n=12$ ). Using stereotactic technique, 6-hydroxydopamine was injected into the right substantia nigra compact part and midbrain ventral tegmental area to establish models of Parkinson's disease in the experimental group. Behavioral changes of rats, tyrosine hydroxylase and dopamine content were observed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** At 2 weeks, after induction with apomorphine, left rotation speed  $> 7$  r/min was observed in only 22 rats of the experimental group. No significant difference in the number of rotation between 2 and 4 weeks was detected ( $P > 0.05$ ). Tyrosine hydroxylase and dopamine content significantly reduced in the model group. Results indicated that unilateral two-point injection of 6-hydroxydopamine could be used to successfully establish rat models of Parkinson's disease with similar behaviors and pathologies.

**Subject headings:** Parkinson disease; hydroxydopamine; tyrosine 3-monooxygenase; models, animal; rotation

**Funding:** the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2013211A093\*

王玉玲★, 女, 1971年生, 河南省鄆陵县人, 汉族, 硕士, 副主任医师, 主要从事运动障碍疾病的研究。

clwyl@yeah.net

通讯作者: 杨新玲, 博士, 主任医师, 教授, 新疆医科大学第一附属医院综合内科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

poplar862@sohu.com

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2013)46-08030-06

修回日期: 2013-08-22

(201308005/W·Q)

Wang Yu-ling★, Master, Associate chief physician, Department of Internal Medicine, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
clwyl@yeah.net

Corresponding author: Yang Xin-ling, M.D., Chief physician, Professor, Department of Internal Medicine, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
poplar862@sohu.com

Accepted: 2013-08-22

Wang YL, Gao H, Yang XL. Establishment of rat models of Parkinson's disease by unilateral two-point injection with 6-hydroxydopamine. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(46):8030-8035.

## 0 引言 Introduction

帕金森病是以多巴胺能神经元变性缺失,纹状体内多巴胺含量下降引起的中老年常见的中枢系统变性疾病,其发病机制尚未明了。探求一种更有效的治疗方案成为近年医学热点。目前尚无有效根治或者逆转病情的药物。为了更好地了解帕金森病的病理机制并寻求更有效的治疗药物,建立帕金森病相关动物模型至关重要。6-羟基多巴胺作为一种神经毒素可以有效建立帕金森病大鼠模型。

目前使用6-羟基多巴胺建立帕金森病模型的方法有:纹状体、黑质致密部、中脑腹侧被盖区及内侧前脑束单点或多点注射等。其中,纹状体、黑质及其周围注射小剂量6-羟基多巴胺,可保留相对较多的多巴胺能神经元,模拟中、早期帕金森病患者的症状;内侧前脑束注射会造成大多数神经元坏死,可模拟临床晚期帕金森病患者的特征。

帕金森病模型的行为学判定标准主要是动物的旋转行为及次数,阿朴吗啡诱导健侧旋转成为了鉴定帕金森病模型的最常用方法,据研究表明阿朴吗啡诱导动物的旋转圈数与黑质多巴胺能神经元的损毁程度成正比,即多巴胺能神经元损伤轻微时,黑质-纹状体通路的代偿作用造成应用阿朴吗啡后,不出现旋转现象。只有当多巴胺能神经元损毁至一定程度时,阿朴吗啡诱导旋转行为才会出现。

实验采用6-羟基多巴胺立体定向进行单侧黑质致密部和中脑腹侧被盖区两点注射法建立帕金森病模型,为进一步的研究治疗提供实验室基础研究平台。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 实验于2010年4月至2011年2月在新疆医科大学第一附属医院动物实验中心完成。

**材料:**

6-羟基多巴胺注射法建造帕金森病模型鼠实验所需药品和试剂:

药品和仪器	来源
氯胺酮复合剂	新疆医科大学实验动物中心
6-羟基多巴胺、阿朴吗啡	Sigma 公司
DAB 试剂盒	北京中杉

**实验动物:** SPF级雄性SD大鼠62只,体质量(120±

10) g,由新疆医科大学实验动物中心提供,动物质量合格证号:A-20091208003,实验过程中对动物的处置复合动物伦理学标准。大鼠饲养条件为:室温,光照,明暗交替,自由饮水、进食。

**实验方法:**

**实验分组:** 所有大鼠均经反复行为检测确认其无旋转行为后,随机分为实验组50只、对照组12只。

**6-羟基多巴胺单侧两点注射:** 将大鼠腹腔注射氯胺酮复合剂(7.5 μL/g)麻醉后,剪去顶部毛发,固定于脑立体定位仪上(双侧耳杆尖端插入外耳道,使头部固定保持水平,并尽量使前、后囟保持同一平面上)。碘酒消毒,切开头皮、皮下组织和骨膜。牙科钻小心钻透定位处的颅骨不要损伤硬脑膜,参照Paxinos等主编的《大鼠脑立体定位图谱》<sup>[1]</sup>,确定右侧、黑质致密部:前囟后(5.4±0.1) mm,矢状缝右侧(1.4±0.1) mm,硬脑膜下(7.8±0.1) mm;中脑腹侧被盖区:前囟后(5.0±0.1) mm,中线右侧(0.9±0.1) mm,硬脑膜下(7.2±0.1) mm。确定好的坐标将吸入药物的微量注射器连接于微量推进器上,向黑质致密部和中脑腹侧被盖区注射配置好的6-羟基多巴胺(2 g/L)5 μL,垂直入颅,缓慢进针,注射保持速度为1 μL/min,留针10 min,缓慢退针1 mm/min,术中观察大鼠生命体征。常规缝合,3 d连续腹腔注射青霉素5×10<sup>4</sup> U以防治感染。

**大鼠行为学检查:** 采用阿朴吗啡腹腔注射(0.5 mg/kg)诱导旋转实验,分别在2、4周人工计数注射后10-30 min时段内大鼠旋转圈数。若大鼠恒定转向左侧,且30 min旋转圈数> 210 r,则视为成功帕金森病大鼠模型。

**免疫组织化学检测:** 造模后4周取模型鼠和正常对照组大鼠各2只,氯胺酮复合剂麻醉后,打开大鼠胸腔经左心室行主动脉灌注固定,用300 mL生理盐水进行预灌注,将其体内血液冲出,再用40 g/L多聚甲醛固定溶液300 mL进行灌注固定,完整剥取脑组织后,将放入同一固定液中固定24 h后行石蜡包埋,选取纹状体区(前囟后0-2.0 mm)和黑质区(前囟后4.2-5.5 mm),连续作冠状切片,片厚为6 μm,然后行酪氨酸羟化酶的免疫组织化学染色。具体方法参照李耀宇,舒斯云等<sup>[2]</sup>免疫组织化学方法,DAB显色,观察目标阳性细胞胞浆呈棕黄色,复染细胞核呈紫蓝色。选取每只符合位置要求的大鼠脑切片间隔选取10张切片,每张切片在400倍相差显微镜下随机取2个纹状体不重叠视野,采用数码医学图像分析系统比较每个视野纹状体区的酪氨酸羟化酶免疫反应阳性神经元数目并计算其均数。

**高效液相色谱检测脑内多巴胺的含量:** 造模后4周取各组大鼠10只,过量氯胺酮复合剂麻醉安乐处死,置冰盘

上快速分离鼠脑黑质-纹状体, 吸干表面水分后, 精密称质量取纹状体0.2 g, 并记录,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。待测时加入0.1 mol/L的高氯酸1 mL, 除去蛋白, 玻璃匀浆器制成匀浆后, 将匀浆于 $4^{\circ}\text{C}$ 低温10 000 r/min离心3 min, 取上清液过0.22  $\mu\text{m}$ 的滤膜, 选用20  $\mu\text{L}$ 用于高效液相检测。流动相缓冲液为: 0.05 mol/L磷酸二氢钠-0.02 mol/L柠檬酸-甲醇(72:24:2), pH=6.0; 流速: 1.0 mL/min; 柱温:  $30^{\circ}\text{C}$ ; 检测波长: 280 nm; 进样量: 20  $\mu\text{L}$ 。检测灵敏度为0.01 mV, 记录45 min, 并参照峰值面积计算其测定值, 以计算值/脑组织湿质量( $\mu\text{g/g}$ )表示。

**主要观察指标:** ①大鼠行为学检测结果。②免疫组织化学检测大鼠脑损毁侧酪氨酸羟化酶反应阳性神经元结果。③高效液相色谱检测大鼠脑内多巴胺的含量。

**统计学分析:** 数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用SPSS 17.0软件包进行数据分析, 两样本均数比较先进行方差齐性检验, 方差齐采用独立样本 $t$ 检验, 方差不齐采用 $t'$ 检验。多个样本均数比较先进行方差齐性检验, 方差齐时采用单因素方差分析, 方差不齐采用近似 $F$ 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ ,  $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 实验选用大鼠62只, 分为2组, 全部进入结果分析。

**2.2 大鼠行为学检测结果** 见表1。

表1 6-羟基多巴胺注入大鼠脑部经阿朴吗啡诱导后2、4周大鼠旋转圈数比较

Table 1 Comparison of the number of rotation at 2 and 4 wk after induction with apomorphine in rats injected with 6-hydroxydopamine ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=22$ )

周数	圈数(r/5 min)
2周	40 $\pm$ 6
4周	41 $\pm$ 3
$F$	0.178
$P$	0.678

注: 2周与4周之间大鼠的旋转圈数差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

造模后大鼠出现头偏斜、尾僵、嗅探等异常表现, 于第2、4周后腹腔注射阿朴吗啡诱发大鼠向左侧(健侧)的旋转行为。注射后5-10 min大鼠就可出现行为学改变, 连续记录30 min: 旋转时多数以左侧后肢为支点, 身体首尾相接, 伴探嗅觅食样动作, 旋转速度间断不等, 有的因速度过快甚至出现翻转。选取的50只实验大鼠中有22只30 min恒定左转速度 $>210$  r; 21只30 min恒定左转速度 $<210$  r; 2只恒定右转鼠; 5只大鼠出现嗅探、

躁动、激惹等无旋转现象(其中2只死亡: 其中1只在手术中死亡, 1只在诱导旋转实验时死亡)。对照组动物未见旋转。经阿朴吗啡诱导后2周, 4周大鼠旋转圈数比较见表1。

**2.3 免疫组织化学检测结果** 造模后4周时帕金森病模型大鼠脑损毁侧酪氨酸羟化酶反应阳性神经元胞体较大, 突起明显, 数量较正常组明显减少, 差异有显著性意义。见表2。

表2 正常组与帕金森病模型组大鼠造模4周纹状体区酪氨酸羟化酶阳性的神经元数目

Table 2 The number of tyrosine hydroxylase-positive neurons in the corpus striatum at 4 wk after model induction between the normal and model groups ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=2$ )

组别	酪氨酸羟化酶
正常组	45.25 $\pm$ 5.87
模型组	10.09 $\pm$ 3.04
$F$	24.776
$P$	0.000

注: 帕金森病模型大鼠脑损毁侧酪氨酸羟化酶反应阳性神经元数量较正常组明显减少。

**2.4 高效液相检测结果** 造模后4周时帕金森病模型大鼠脑内多巴胺含量同正常组大鼠比较含量减少, 均数不等, 差异有显著性意义, 见表3。

表3 高效液相色谱检测造模后4周正常组与帕金森病模型组大鼠脑内多巴胺的含量

Table 3 High performance liquid chromatogram of dopamine content in the brain of rats of the normal and model groups at 4 wk after model induction ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ,  $\mu\text{g/g}$ )

组别	多巴胺
正常组	44.25 $\pm$ 2.87
模型组	10.23 $\pm$ 3.04
$F$	30.276
$P$	0.000

注: 帕金森病模型大鼠脑内多巴胺含量比正常组大鼠含量减少。

## 3 讨论 Discussion

帕金森病动物模型的建立对帕金森病的临床、基础研究中有重要作用, 同时其稳定性也直接影响到研究的结果。

帕金森病动物模型的建立方法有多种。神经毒素模型包括6-羟多巴胺模型、L-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶模型、鱼藤酮立体定向模型、百草枯模型、脂多糖模型。

6-羟多巴胺是多巴胺神经递质的羟基化衍生物, 与多巴胺结构类似, 不能透过血脑屏障, 需要局部定向注射到黑质内侧前脑束或纹状体部位, 损伤黑质纹状体多巴胺能神经元通路, 从而引发与人类帕金森病相似的病理和生化表现。

利用L-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶制作的帕金森病灵长类动物模型的症状、病理和生化指标均与人类帕金森病表征相似, 并且症状稳定。

鱼藤酮立体定向模型可以很好地模拟人类帕金森病慢性进展病程, 表现为谷胱甘肽和超氧化物歧化酶的活性下降, 符合帕金森病行为学和神经化学改变, 并能观察到路易小体的形成。

百草枯模型可模拟帕金森病病理和行为学方面的部分改变, 在研究环境因素与帕金森病发病机制的关系中有一定价值。

脂多糖是一种强有力的炎症刺激物, 黑质内注射脂多糖可用于研究炎症反应在帕金森病发病机制中的作用。此模型的缺点是造模周期较长。

新型神经毒素模型秀丽线虫是最近20年新兴的模式动物, 与传统模式动物相比, 秀丽线虫具有遗传背景清楚、基因操作简单、生命周期短、易大量保存和使用等优点。

帕金森病遗传基因模型包括过表达基因模型、转基因模型、基因敲除以及基因突变模型等。帕金森病遗传基因模型一般在病理特征、发病特点和症状表现上均与人类帕金森病有较高的一致性, 是新药开发和药物筛选的良好模型。

目前最常用的是6-羟基多巴胺制备的大鼠模型<sup>[3-24]</sup>, 以及1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine, MPTP)制作的小鼠或灵长类动物模型。帕金森病动物模型的建立文献报道成功率见表4。

6-羟基多巴胺是神经递质多巴胺的羟基化衍生物, 能高选择地引起交感神经肾上腺素能神经末梢急性溃变, 竞争性抑制多巴胺阻滞黑质线粒体呼吸链<sup>[28]</sup>, 是一种非脂溶性物质, 不能通过血脑屏障, 需立体定向注入脑内。6-羟基多巴胺建造帕金森病大鼠模型目前多采用黑质致密部、中脑腹侧被盖区、纹状体及前脑内侧束单点或双点注射法来制作单侧或双侧损毁帕金森病模型<sup>[29]</sup>。黑质致密部区域小, 一般造模成功率低。中脑腹侧被盖区作为另一个重要靶点与躯体运动密切相关, 与帕金森病病理有关的重要区域, 如果单独损伤, 也会出现造模率低的情况。采用黑质致密部与中脑腹侧被盖区

的双点联合毁损法, 可以使损伤范围较大, 缩短造模周期, 有效提高造模成功率建立稳定的模拟帕金森病中晚期的大鼠模型, 其次操作的熟练性和定位的准确性也是大鼠模型成功与否的重要条件。

表4 注射6-羟基多巴胺建立大鼠帕金森病模型成功率的文献报道

Table 4 Reported studies concerning the success rate of establishment of rat models of Parkinson's disease by injection with 6-hydroxydopamine

文献	方法	建模成功标准	结果
梅加明等 <sup>[25]</sup>	利用立体定向技术向大鼠纹状体内多靶点(双靶点、三靶点及四靶点)微量注射等量6-羟基多巴胺, 于注射后2, 3, 4和6周观察阿朴吗啡诱导的大鼠偏侧旋转行为学改变。	大鼠经阿朴吗啡诱导偏侧旋转圈数(210 r/30 min)。	双靶点诱导组, 大鼠成模型率为43.3% (13/30); 三靶点诱导组, 成模型率为70% (21/30); 四靶点诱导组大鼠成模型率为66.7% (20/30)。
陈刚等 <sup>[26]</sup>	采用立体定向微量注射6-羟基多巴胺于大鼠黑质致密部, 观察经阿朴吗啡诱导后大鼠的行为及黑质多巴胺能神经元形态学变化。	经阿朴吗啡诱导后在30 min ( $P < 0.01$ )的平均旋转圈数 $> 7$ r/min。	术后4周时, 共33只大鼠经阿朴吗啡诱导后在30 min ( $P < 0.01$ )的平均旋转圈数 $> 7$ r/min, 模型成功率为82.5% (33/40)。
贾丛康等 <sup>[27]</sup>	利用脑立体定向技术将6-羟基多巴胺注入大鼠右侧黑质致密部及中脑腹侧被盖。	经阿朴吗啡诱导表现为恒定左侧旋转且旋转圈数大于210 r/30 min。	80只大鼠中32只旋转圈数大于210 r/30 min, 成功率为40%。

阿朴吗啡诱导造模大鼠的旋转行为目前已成为衡量6-羟基多巴胺损毁效果, 模型成功与否的最常用方法<sup>[30]</sup>。6-羟基多巴胺单侧损毁法制备帕金森病模型是目前很常用并且操作技术成熟的研究帕金森病的造模方法, 成功的模型动物在病理、生化和行为学等方面都有与人类帕金森病有相似之处。酪氨酸羟化酶是多巴胺合成限速酶, 故酪氨酸羟化酶免疫阳性细胞数可反映多巴胺能神经元的数量和功能状态<sup>[31]</sup>。注射6-羟基多巴胺建立帕金森病模型大鼠脑部酪氨酸羟化酶阳性表达文献报道见表5。

实验采用6-羟基多巴胺单侧双点黑质致密部和中脑腹侧被盖区毁损的方法, 模型的成功率可以达到44%基本符合大多数对模型成功率的要求<sup>[35]</sup>, 但低于陆建明, 周厚广等<sup>[36]</sup>帕金森病造模成功率在70%左右的报道<sup>[37-38]</sup>。考虑可能是其所处脑内体积较小定位存在偏移, 动物个体差异性等。

表5 注射6-羟基多巴胺建立帕金森病模型大鼠脑部酪氨酸羟化酶阳性表达文献报道

Table 5 Reported studies addressing tyrosine hydroxylase expression in the brain of rat models of Parkinson's disease established by injection with 6-hydroxydopamines

文献	方法	结果
孙玉娟等 <sup>[32]</sup>	采用6-羟基多巴胺单侧损毁大鼠内侧前脑束。	与未损毁侧及对对照组相比,损毁侧中脑黑质区酪氨酸羟化酶阳性细胞显著减少( $t=20.619$ , $18.404$ , $P<0.01$ )。
陈刚等 <sup>[26]</sup>	采用立体定向微注射6-羟基多巴胺于大鼠黑质致密部,观察经阿朴吗啡诱导后大鼠的行为及黑质多巴胺能神经元形态学变化。经阿朴吗啡诱导后在30 min ( $P<0.01$ )的平均旋转圈数>7 r/min,达到成功模型的标准。	免疫组织化学观察发现模型组大鼠注射侧黑质区多巴胺能神经元较对侧和对照组注射侧区明显减少( $P<0.01$ )。
贾丛康等 <sup>[27]</sup>	利用脑立体定向技术将6-羟基多巴胺注入大鼠右侧黑质致密部及中脑腹侧被盖,经阿朴吗啡诱导表现为恒定左侧旋转且旋转圈数大于210 r/30 min,视为成功帕金森病大鼠模型。	免疫组织化学显示大鼠模型组损毁侧黑质区和纹状体区酪氨酸羟化酶阳性的神经元较对侧及对对照组减少( $P<0.01$ )。
谭雪峰等 <sup>[33]</sup>	6-羟基多巴胺损伤大鼠一侧前脑内侧束制备单侧帕金森病模型。	酪氨酸羟化酶蛋白表达在术后1 d损伤侧黑质中无明显变化,7 d开始下降,14 d达最低,28 d开始上升。
吕娥等 <sup>[34]</sup>	6-羟基多巴胺微量注射建立大鼠帕金森病模型	6-羟基多巴胺注射侧黑质致密部酪氨酸羟化酶阳性细胞数较正常侧均显著降低

实验在黑质致密部和中脑腹侧被盖区两点注射6-羟基多巴胺建立的帕金森病大鼠模型,表现出明显的黑质神经元损伤帕金森病症状,诱导后出现旋转行为。部分大鼠于术后2-24 h可出现头偏斜、行动迟缓、少动、尾僵、嗅探、躁动、激惹等现象,说明手术定位的准确性。对帕金森病大鼠黑质区、纹状体区进行酪氨酸羟化酶免疫组织化学染色,发现损毁侧酪氨酸羟化酶阳性细胞较对侧显著减少( $P<0.05$ )。同时模型鼠的脑内的多巴胺含量也明显减少,从检测模型鼠行为及病理3方面改变说明帕金森病大鼠模型制作成功。帕金森病大鼠模型的稳定建立也为后期进一步研究干预治疗帕金森病提供基础平台。

**作者贡献:** 设计、实施、评估为第本文作者,均受过专业培训。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组

织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**学术术语:** 酪氨酸羟化酶或酪氨酸3-单加氧酶-是负责催化氨基酸L-酪氨酸转变为二羟基苯丙氨酸(多巴)的酶。

**作者声明:** 文章为原创作品,数据准确,内容不涉及泄密,无一稿两投,无抄袭,无内容剽窃,无作者署名争议,无与他人课题以及专利技术的争执,内容真实,文责自负。

#### 4 参考文献 References

- [1] Lindvall O, Rehn Crona S, Gustavii B, et al. Fetal dopamine rich mesencephalic grafts in Parkinson's disease. *Lancet*. 1988; 2(8626-8627):1483-1484.
- [2] 李耀宇,舒斯云,包新民,等.大鼠纹状体边缘区与杏仁核和终纹核之间相互联系的免疫组织化学研究[J]. *神经解剖学杂志*, 2000,16(3):265-268.
- [3] 李泽鸿,陶英楠,刘继阳,等.6-羟基多巴胺致帕金森病大鼠模型的建立与评价[J]. *中国畜牧兽医*,2012,39(12):162-165.
- [4] 冯飞阳,陈施艳,张志坚,等. TNF- $\alpha$ 、IL-6在6-OHDA诱导帕金森病大鼠脑中的改变[J]. *福建医科大学学报*,2012,46(5):315-318.
- [5] 朱红艳,吴凌燕,裴斌,等.同步辐射显微红外光谱研究6-OHDA诱导帕金森病大鼠海马[J]. *光谱学与光谱分析*,2012,32(1):113-114.
- [6] 杨茂全,光奎,丁方香,等.帕金森病大鼠行为学模型实用性研究[J]. *山东医药*,2011,51(49):21-22.
- [7] 丁宏娟,何建成,王文武.左旋多巴对帕金森病大鼠神经行为学影响的动态研究[J]. *重庆医科大学学报*,2011,36(11):1281-1284.
- [8] 刘婷婷,孟涛,刘中海,等.帕金森病大鼠模型纹状体中谷氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸与多巴胺之间的关系[J]. *神经解剖学杂志*,2011, 27(3):307-310.
- [9] 常晓赞,葛顺楠,杨晨,等.6-OHDA帕金森病大鼠快动眼睡眠状态下皮层脑电及基底节场电位的异常变化[J]. *现代生物医学进展*,2011,11(10):1813-1816
- [10] 丁宏娟,何建成,王文武.不同剂量左旋多巴对帕金森病大鼠神经行为学的影响[J]. *西安交通大学学报:医学版*, 2011,32(1):93-96,106.
- [11] 朱红灿,李倩倩,赵静,等.左旋多巴对帕金森病大鼠结肠神经递质的影响[J]. *中国现代医学杂志*,2011, 21 (20):2365-2369.
- [12] 王爽,高捷,苏兴利,等.帕金森病模型大鼠中缝中核5-羟色胺神经元电活动增强[J]. *中国老年学杂志*,2011,31(5): 829-830
- [13] 王爽,高捷,苏兴利,等.帕金森病模型大鼠内侧前额叶皮层中间神经元电活动的增强[J]. *中国老年学杂志*,2011,31(11):2016-2018
- [14] 秦晓凌,黄文娟,陈国芳,等.单侧内侧前脑束注射6-羟基多巴胺建立帕金森病大鼠模型的实验研究[J]. *卒中与神经疾病*,2011, 18(1): 34-37.
- [15] 宋璐,马雅萍,巴茂文,等.不同剂量左旋多巴对帕金森病运动并发症大鼠模型行为学的影响[J]. *中国临床神经科学*,2011, 19(2):131-135.
- [16] 周丽娜,王世民.帕金森病模型大鼠丘脑底核神经电生理活动的研究[J]. *继续医学教育*,2011,25(6):67-71.
- [17] 王华,陈蕾.5-HT对帕金森病模型大鼠丘脑底核神经元放电影响[J]. *青岛大学医学院学报*,2011,47(1):8-10.

- [18] 盘晓荣,胡玉英,俸道荣,等. 单点注射6-羟基多巴胺成功建立帕金森病大鼠模型的实验研究[J]. 中国临床新医学,2010, 3(10): 933-937.
- [19] 王刚,郑静. 6-OHDA损毁帕金森大鼠模型和MPTP诱导帕金森小鼠模型比较(综述)[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2010,30(3):383.
- [20] 李敏,朱俊玲,石美祥,等. 6-OHDA帕金森病大鼠模型清醒静止状态下基底节-皮层环路振荡性电活动的特征[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2009,16(4):254-258.
- [21] 韩志桐. 纹状体内注射6-羟基多巴胺制备帕金森病大鼠模型的实验研究[J]. 内蒙古民族大学学报,2009,15(5):15-17.
- [22] 孙慧勤,陈先文,李芳,等. 左旋多巴诱发异动症大鼠模型的制作及其行为学研究[J]. 安徽医科大学学报,2009,44(3):355-358.
- [23] 张淑静,陈蕾. 苍白球微量注射5-HT对帕金森病模型大鼠旋转行为影响[J]. 青岛大学医学院学报,2009,45(4):319-321,324.
- [24] 王涛,纪超,黎青,等. 帕金森病模型大鼠纹状体内氧化应激与细胞凋亡蛋白的表达[J]. 中国康复理论与实践,2009,15(5): 431-433.
- [25] 梅加明,牛朝诗,韩暄,等. 单侧纹状体多靶点注射6-OHDA诱导帕金森病动物模型的实验研究[J]. 立体定向和功能神经外科杂志,2013,26(2):1.
- [26] 陈刚,徐国政,段秋红,等. 一种帕金森病大鼠模型的建立及评价[J]. 中国临床神经外科杂志,2009,14(8):488-490.
- [27] 贾丛康,杨新玲,姜涛,等. 6-羟基多巴胺所致帕金森病大鼠模型稳定性的研究[J]. 中国老年学杂志,2009,29(5):521-524
- [28] Litvan I, Halliday G, Hallett M, et al. The etiopathogenesis of Parkinson disease and suggestions for future research. *J Neuropathol Exp Neurol*.2007;66(4):251-257.
- [29] Przedborski S,Levivier M,Jiang H,et al.Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostratal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuroscience*. 1995;67:631-647.
- [30] Schwarting RK,Huston JP.The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol*. 1996;50(223):275 - 331.
- [31] 肖春苟,沈伟哉,郭国庆,等. 帕金森病模型大鼠中脑腹侧被盖区酪氨酸羟化酶免疫阳性神经元的改变[J]. 解剖学研究,2009,31(5): 321-329.
- [32] 孙玉娟,侯琳,程秦,等. 6-OHDA所致帕金森病模型大鼠黑质FP1基因表达及启动子甲基化状态变化[J]. 青岛大学医学院学报, 2012,48(3): 214-217.
- [33] 谭雪锋,金国华,刘娟,等. PD模型大鼠黑质中Nurr1和TH的表达变化及其意义[J]. 神经解剖学杂志,2009,25(1):16-20
- [34] 吕娥,付文玉,庄宝祥,等. 6-羟基多巴胺制备的帕金森病大鼠脑内神经递质的变化[J]. 解剖学杂志,2008,31(4):541-544.
- [35] Regládi D, Tamás A, Lengvári I, et al. Comparative Study of the Effects of PACAP in Young, Aging, and Castrated Males in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1070:518-524.
- [36] 陆建明,周厚广. 帕金森病大鼠模型的行为学及神经元形态学评价[J]. 中国临床康复,2004,16(8):3180-3182.
- [37] 邹志浩,张世忠,姜晓丹,等. 6-羟基多巴胺定向注射建立帕金森病大鼠模型的实验研究[J]. 中华神经医学杂志,2006,5(3):87-89.
- [38] Kirik D,Rosenblad C,Bjorklund A. Character of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat. *Exp Neurol*.1998;152(2):259 - 277.