

6-羟基多巴胺损毁单侧内侧前脑束与单侧纹状体大鼠模型的病变早期比较

孙 炜¹ 吴春明¹ 刘 张² 难波宏树³

摘要 目的 比较 6-羟基多巴胺(6-OHDA)损毁的单侧内侧前脑束(MFB)与单侧纹状体大鼠模型成模 4 周后多巴胺(DA)系统中神经递质功能变化。方法 选择 62 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠,随机分为 4 组:1 位点模型组($n=18$,1 个位点纹状体损毁)、4 位点模型组($n=18$,4 个位点纹状体损毁)、MFB 模型组($n=18$,MFB 损毁)和假手术对照组($n=8$)。运用免疫组织化学酪氨酸羟化酶(TH)染色方法统计阳性 DA 神经元脱失率,运用体外放射配体-受体结合实验、行为学实验和小动物正电子发射断层扫描(PET)检测四组模型 DA 转运蛋白(DAT)和 D2 受体的放射活性结合率的变化。结果 TH 免疫组化染色结果显示,1、4 位点模型组和 MFB 模型组病灶侧 TH 阳性细胞脱失率分别为 19.1%、84.7%、97.1%,提示模型制作成功。DAT 和 D2 受体检测结果显示:与假手术对照组相比,1、4 位点模型组及 MFB 模型组病灶侧 DAT 放射活性结合率均下降($P<0.05$ 、 $P<0.05$ 和 $P<0.01$),且 4 位点模型组的下降程度明显高于 1 位点模型组($P<0.05$),MFB 模型组的下降程度明显高于 1、4 位点模型组($P<0.01$);与假手术对照组相比,1、4 位点模型组病灶侧 D2 受体放射活性结合率均下降($P<0.05$),MFB 模型组病灶侧 D2 受体放射活性结合率升高($P<0.05$)而 1、4 位点模型组间的下降程度比较无统计学差异。DAT 和 D2 受体在假手术对照组大鼠病灶侧与健侧的分布无差异。甲基苯丙胺可诱导 3 个模型组产生朝向病灶同侧的旋转,但 3 个模型组之间的旋转差异无统计学意义;溴隐亭可诱发 1、4 位点模型组产生朝向病灶同侧的旋转,但引发 MFB 模型组朝向病灶对侧的旋转,1、4 位点模型组之间的旋转差异无统计学意义;步行实验结果显示,3 个模型组病侧肢体运动启动时间明显长于健侧、步长长度明显短于健侧、步伐调整数明显少于健侧($P<0.001$),但 3 个模型组间病侧的启动时间、步长长度和步伐调整数比较后差异无统计学意义。结论 纹状体和 MFB 两种单侧损毁模型 DA 神经递质功能及行

为学方面表现出不同的病理生理过程。MFB 损毁模型类似于人类原发性帕金森病,而纹状体损毁模型则类似于某些帕金森综合征。

关键词 帕金森病;多巴胺转运蛋白;多巴胺 D2 受体;6-羟基多巴胺;正电子发射断层扫描;大鼠模型

中图分类号 R 363.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0554-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.006

目前,利用 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)的神经毒性作用,将其注射入大鼠脑部内侧前脑束(medial forebrain bundle, MFB)、纹状体、黑质(substantia nigra, SN)等部位的方法,已经被广泛应用于大鼠帕金森病(Parkinson disease, PD)模型的制备^[1-2]。通过注射不同剂量 6-OHDA 到大鼠纹状体的不同位点可以产生不同程度多巴胺(dopamine, DA)神经元的损伤,而将 6-OHDA 输注到 MFB 则可以制备成 DA 神经元完全性损伤模型^[3-4]。

既往研究^[5-7]采用大鼠纹状体损毁模型对丘脑底核(subthalamic nucleus, STN)深脑电刺激术(deep brain stimulation, DBS)治疗效果进行了研究。研究表明:几种不同损伤程度的模型产生了相近程度的运动障碍症状,STN-DBS 对这些模型的疗效也无明显差别,这一结果与通常的临床经验相矛盾。本研究通过放射性配体-受体结合实验和正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)显像对多巴胺转运蛋白(dopamine transporter, DAT)和 D2 受体功能进行测定;同时,通过对大鼠模型注射甲基苯丙胺(DAT 激动剂)和溴隐亭(D2 受体激动剂)后的行为学分析,评估 DAT 和 D2 受体功能情况,进一步明确 6-OHDA 在不同模型中对多巴胺能系统的影响,以为选择合适的大鼠模型用于不同类型或分期的帕金森病研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型建立 主要实验在日本滨松医科大学完成。选择 62 只成年雄性 Sprague-Dawley

2023-02-27 接收

基金项目:辽宁省自然科学基金(编号:2019-ZD-0639);大连市科技创新基金(编号:2019J13SN104)

作者单位:大连医科大学附属第一医院¹ 神经外科、² 儿科,大连 116011

³ 日本滨松医科大学附属医院神经外科,滨松 431-3192

作者简介:孙 炜,男,博士,副教授;

刘 张,女,博士,副主任医师,责任作者, E-mail: liuzhang060312@163.com

大鼠(滨松医科大学动物实验中心提供), 体质量 270 ~ 290 g, 根据随机数字表分为 4 组: 1 位点模型组($n = 18$, 1 个位点纹状体损毁)、4 位点模型组($n = 18$, 4 个位点纹状体损毁)、MFB 模型组($n = 18$, MFB 损毁)和假手术对照组($n = 8$)。研究所有大鼠在建模成功 4 周后的行为学变化。

首先在大鼠腹腔内注射水合氯醛戊巴比妥钠(0.3 ml/100 g; 购于日本共立制药株式会社)充分麻醉后, 大鼠接受单侧脑内立体定向手术: 将 6-OH-DA(购于美国西格玛奥德里奇公司)按下述坐标位置注射到纹状体(1 个位点、4 个位点)或 MFB 中。将 7 mg 6-OHDA 溶解在 7 ml 0.9% 氯化钠溶液中, 形成 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 浓度的溶液。使用微量注射器以 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的速度向坐标位置内注射 6-OHDA, 每个位置注射 7 min(7 μg)。

对于 1 位点模型 6-OHDA 注射的三维坐标为: 前囟前向(AP) = 1.0 mm, 中线旁侧(L) = 3.0 mm, 腹侧距硬脑膜表面深度(V) = 5.0 mm, 齿杆(TB) = 0 mm(水平)。4 位点模型的坐标为: ① AP = 1.3 mm, L = 2.6 mm, V = 5.0 mm, TB = 0.0 mm; ② AP = 0.4 mm, L = 3.0 mm, V = 5.0 mm, TB = 0 mm; ③ AP = -0.4 mm, L = 4.2 mm, V = 5.0 mm, TB = 0 mm; ④ AP = -1.3 mm, L = 4.5 mm, V = 5.0 mm, TB = 0 mm。MFB 模型坐标为: ① AP = -4.4 mm, L = 1.2 mm, V = 7.8 mm, TB = 2.4 mm(高于地平线); ② AP = -4.0 mm, L = 0.8 mm, V = 8.0 mm, TB = -3.4 mm(低于地平线)。假手术对照组按照 4 位点模型三维坐标位置单侧脑内注射无菌 0.9% 氯化钠溶液, 以排除外科手术因素对实验结果的影响。

1.2 行为学实验 在模型制备成功 4 周后, 依次进行甲基苯丙胺诱导的旋转实验、溴隐亭诱导的旋转实验和步行实验^[7]。在腹腔内注射甲基苯丙胺(3 mg/kg)后, 监测模型的旋转运动, 时间不少于 1 h。在腹腔内注射溴隐亭(5 mg/kg)后监测模型的旋转运动, 监测时间至少 2 h, 然后统计净旋转数。

1.3 配体-受体结合分析实验 日本滨松光子学公司回旋加速器实验室负责合成示踪剂用于配体-受体结合分析实验和功能影像学测试。选用两种示踪剂: DAT 配体 ^{11}C -CFT^[8-9] 和 D2 受体配体 ^{11}C -Raclopride^[10-11]。在模型制备成功 4 周后进行结合分析实验, 对不同组大鼠模型尾静脉注射 ^{11}C -CFT 和 ^{11}C -raclopride 后, 分别测定了大鼠脑内不同区域的放射活性, 分组情况如下: 4 位点模型 7 只、MFB 模型 7 只、假手术对照组 3 只, 注射放射活性为

(11.1 ± 0.5) MBq ^{11}C -CFT; 4 位点模型 7 只、MFB 模型 7 只、假手术对照组 3 只, 注射放射活性为 (10.9 ± 0.4) MBq ^{11}C -raclopride。大鼠在麻醉状态下完成尾静脉注射 30 min 后, 大鼠脑组织被取出后迅速在低温操作台上分离出双侧纹状体和小脑并称量。应用自动伽马闪烁计量仪(美国珀金埃尔默公司产品)测定脑组织的放射活性。纹状体相对放射活度值 = (纹状体放射活度值/纹状体质量) / (小脑放射活度值/小脑质量)。大鼠模型纹状体病侧 DAT 和 D2 受体结合率 = (病侧相对放射活度值 - 健侧相对放射活度值) / 健侧相对放射活度值。如果病侧相对放射活度大于健侧相对放射活度, 结果为正值, 代表病侧结合率增高; 如果结果为负值, 代表病侧结合率降低; 如果接近或等于零, 代表病侧与健侧结合率无明显差别。

1.4 功能影像学测试 在模型制备成功 4 周后, 运用小动物 PET(小动物 PET/SPECT/CT 系统, 美国珀金埃尔默公司)对 6 只模型大鼠(1 位点模型、4 位点模型、MFB 模型各 2 只)和 2 只假手术对照组大鼠进行功能影像学测试。大鼠麻醉后固定, 尾静脉注射 ^{11}C -放射性示踪剂, 剂量分别为: ^{11}C -CFT (10.9 ± 0.4) MBq, ^{11}C -raclopride (11.5 ± 0.4) MBq。采集容积活度放射数据 30 min 后, 以 60 s/帧将容积活度数列为柱状图, 应用 FLEX Triumph™ Platform (FLEX™ X-PET 图像重建软件)对 PET 成像数据进行分析。

1.5 脑黑质中多巴胺能细胞数量计算 使用无偏体视学方法估计大鼠脑黑质中多巴胺能细胞的数量。所有大鼠均用水合氯醛(30 mg/100 g, 购于美国迈兰制药公司)腹腔注射深度麻醉, 并取出大脑组织切片后进行酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)免疫组化染色, 计数各组大鼠模型脑切片黑质致密部 TH 阳性神经元, 并计算脱失率。

1.6 统计学处理 使用统计学软件 SPSS 17.0 进行统计分析。所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组之间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SN TH 免疫组化染色结果 在大鼠模型制备成功 4 周后, 脑组织 SN 致密部切片免疫组化染色显示: 1、4 位点模型和 MFB 模型 TH 染色阳性细胞呈现不同程度的脱失损伤(图 1A ~ D)。对每组切片病侧 TH 阳性神经元总数进行统计, 通过与假手

术对照组病侧的 TH 阳性神经元总数 (251.2 ± 13.3) 个对比, 计算病灶侧 TH 阳性细胞脱失率。结果显示, 1 位点模型 TH 阳性细胞数 (203.2 ± 5.1) 个, 脱失率为 19.1%; 4 位点模型 TH 阳性细胞数 (38.4 ± 10.2) 个, 脱失率为 84.7%; MFB 模型 TH 阳性细胞数 (7.3 ± 1.1) 个, 脱失率为 97.1%; 假手术对照组病侧与健侧 TH 阳性神经元数基本一致, 差异无统计学意义, 脱失率为 0%。见图 1E。

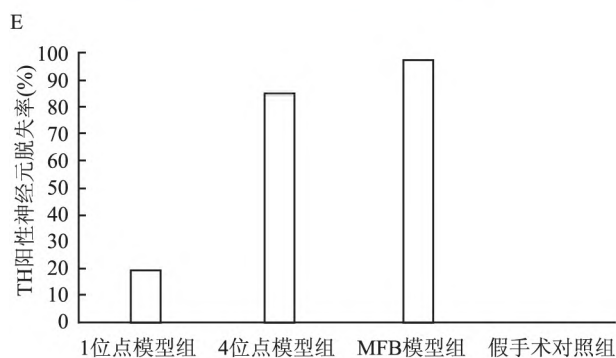
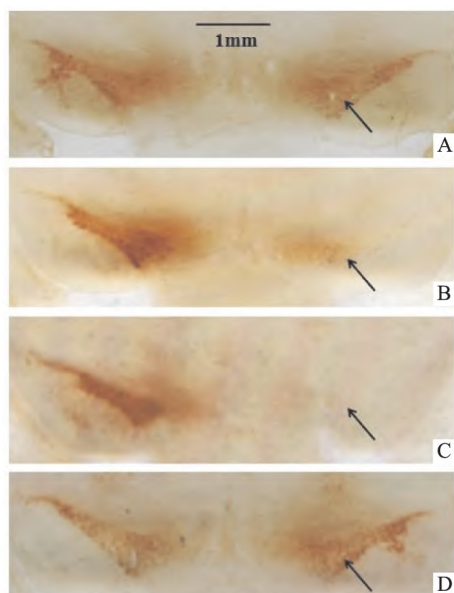


图1 鼠脑冠状切片 SN TH 免疫组化染色图片及

TH 阳性神经元脱失率统计图 $\times 10$

A: 1 位点模型组; B: 4 位点模型组; C: MFB 模型组; D: 假手术对照组; 箭头: 指示病侧 TH 阳性细胞脱失部位; E: TH 阳性神经元脱失率统计图

2.2 行为学实验结果 纹状体 (1、4 位点) 损毁模型、MFB 损毁模型注射甲基苯丙胺后, 均引起大鼠朝向病灶同侧的旋转。虽然不同模型黑质 TH 阳性细胞有不同的脱失率, 但 3 个模型组的甲基苯丙胺诱导的旋转数, 两两比较组间差异无统计学意义。见图 2。假手术对照组大鼠注射甲基苯丙胺后未引起旋转。

与甲基苯丙胺诱发模型的旋转结果不同, 注射溴隐亭后, 引起 MFB 模型大鼠朝向病灶对侧的旋转, 而引起 1、4 位点模型朝向病灶同侧的旋转。假手术对照组大鼠注射溴隐亭后未引起旋转。见图 2。以上结果表明, MFB 与纹状体损毁模型的突触后 D2 受体功能呈现出相反的表现。

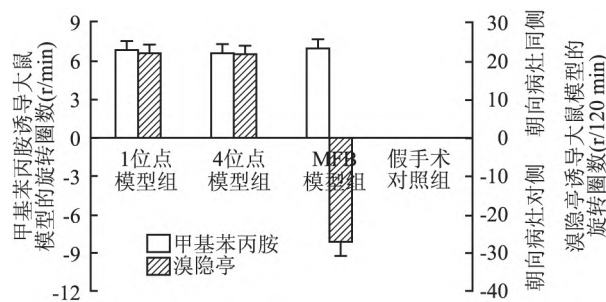


图2 甲基苯丙胺及溴隐亭诱导的旋转运动结果

步行实验中 3 个模型组大鼠病侧肢体从静止到开始运动的启动时间相比于健侧肢体延长 ($P < 0.001$)。3 个模型组大鼠的病侧步长长度明显短于健侧 ($P < 0.001$)。3 个模型组大鼠病侧步伐调整数明显少于健侧 ($P < 0.001$)。但 3 个模型组分别进行两两比较后显示, 病侧间、健侧间肢体启动时间、步长长度和步伐调整数差异无统计学意义。假手术对照组大鼠病侧和健侧进行步行实验比较差异无统计学意义 (图 3)。

2.3 多巴胺转运蛋白及 D2 受体实验结果 与假手术对照组病侧纹状体 ^{11}C -CFT (DAT 配体) 的放射性结合率 (0.0 ± 0.9) % 相比, 1、4 位点模型组与 MFB 模型组均下降 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 分别为 (-9.7 ± 1.7) %、(-23.7 ± 1.8) % 和 (-62.9 ± 1.9) %; 将 1、4 位点模型组与 MFB 模型组三者间 ^{11}C -CFT 的放射性结合率进行两两对比, MFB 模型组的下降程度高于前两组模型 ($P < 0.01$)。4 位点模型组的下降程度高于 1 位点模型组 ($P < 0.05$)。与假手术对照组病侧纹状体 ^{11}C -raclopride (D2 受体配体) 放射性结合率 (0.0 ± 1.1) % 相比, 1、4 位点模型组病侧纹状体放射性结合率均下降 ($P < 0.05$), 分别为 (-18.0 ± 2.4) % 和 (-18.5 ± 2.7) %, 且两模型组间比较差异无统计学意义, 而 MFB 模型组病侧 ^{11}C -raclopride 放射性结合率达 (35.1 ± 2.2) %, 相比假手术对照组明显升高 ($P < 0.05$)。对两种示踪剂在假手术对照组大鼠病侧与健侧纹状体中的分布情况进行比较, 差异无统计学意义。见图 4。

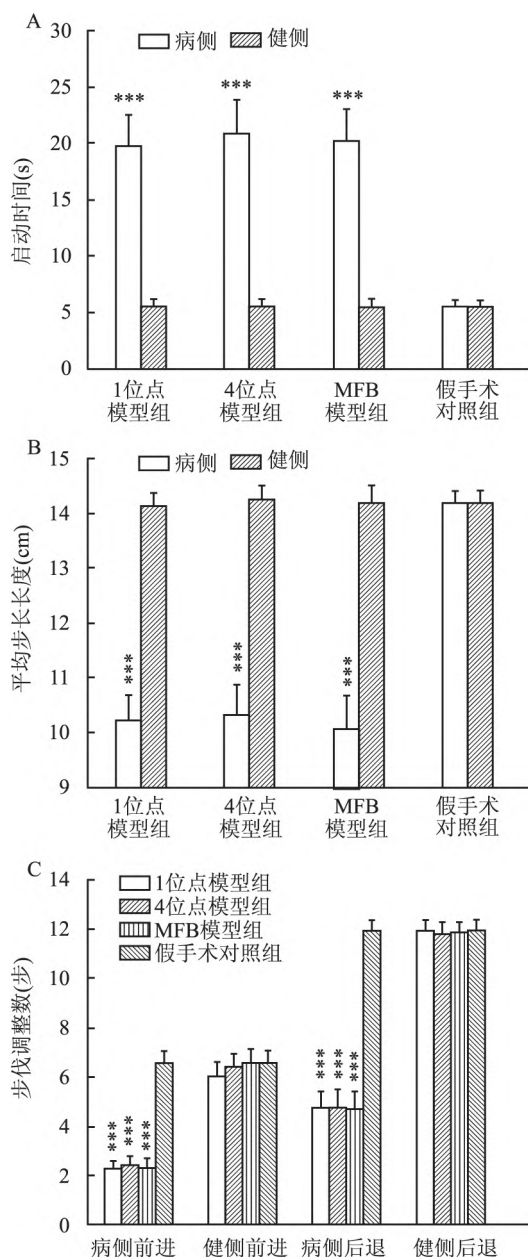


图3 步行实验结果

A: 启动时间; B: 步长长度; C: 前后运动步伐调整数; 与健侧比

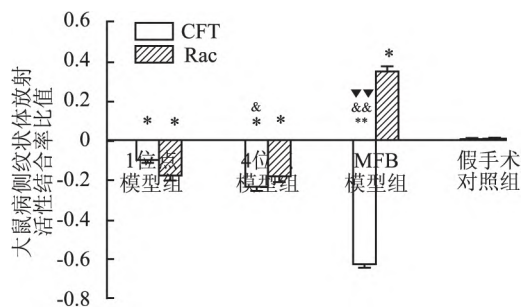
较: *** $P < 0.001$ 

图4 体外放射配体-受体结合实验结果

与假手术对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与1位点模型组比较: & $P < 0.05$, && $P < 0.01$; 与4位点模型组比较: ▼▼ $P < 0.01$

使用 ^{11}C -CFT对DAT在3个模型组脑内的分布情况进行小动物PET功能影像学实验,结果显示,与健侧相比,3个模型组的病侧纹状体放射活性结合率均下降,以MFB模型组下降最明显。使用 ^{11}C -raclopride对D2受体在3个模型组脑内的分布情况进行检测后显示,1、4位点模型病侧纹状体的放射活性结合率相比于健侧下降,而MFB模型呈现出升高的表现。在假手术对照组,两种示踪剂在大鼠病侧与健侧纹状体中的分布无显著差异。见图5。

3 讨论

本次实验中,大鼠纹状体损毁模型与MFB损毁模型在甲基苯丙胺诱导的旋转实验、步行实验及DAT功能实验中均呈现出类似的病理表现。然而,两种模型在溴隐亭诱导的旋转实验和多巴胺D2受体功能实验中却呈现出完全相反的结果。

本研究中3个模型组病侧不同的DA阳性神经元脱失率表明,向大鼠脑内不同位点注射不同剂量的6-OHDA可以制备不同损伤程度的PD模型。体外放射结合实验结果同样印证了这一点:反映DAT水平的 ^{11}C -CFT放射活性结合率在3个模型组中病侧均有不同程度下降,这些减少的DAT活性估计是SN致密部DA细胞损伤导致的结果。

然而,在行为学实验中,即使MFB损毁模型DAT的放射活性结合率远低于纹状体损毁模型,甲基苯丙胺在3个模型组中诱导的旋转结果却并无显著性差异。鉴于DAT是甲基苯丙胺的主要结合位点,这些结果表明,纹状体DAT结合强度的高低并不能显著影响甲基苯丙胺诱导的旋转实验结果。用步行实验来评估PD大鼠肌强直和运动迟缓方面的症状,结果显示3个模型组病侧与健侧有明显的差异,但3个模型组间比较并无显著性差别。这些结果提示,行为学实验数据在评估PD模型DA神经元损伤程度方面不够敏感。

另一方面,本实验中MFB损毁模型病侧D2受体功能明显上升,纹状体损毁模型则显著下降。而D2受体激动剂溴隐亭诱导两种模型产生了完全相反方向的旋转,这一结果恰是两种模型D2受体不同变化的反映。既往文献报道,甲基苯丙胺诱导单侧PD大鼠模型产生朝向病变侧的旋转是由于脑内DA能系统失衡导致的^[12]。据此推断:本实验中两种模型均产生朝向病变侧的旋转是由于病变侧DA神经元受损引起的DA释放不足导致的。通常情况下,PD大鼠模型注射DA受体激动剂后会产生

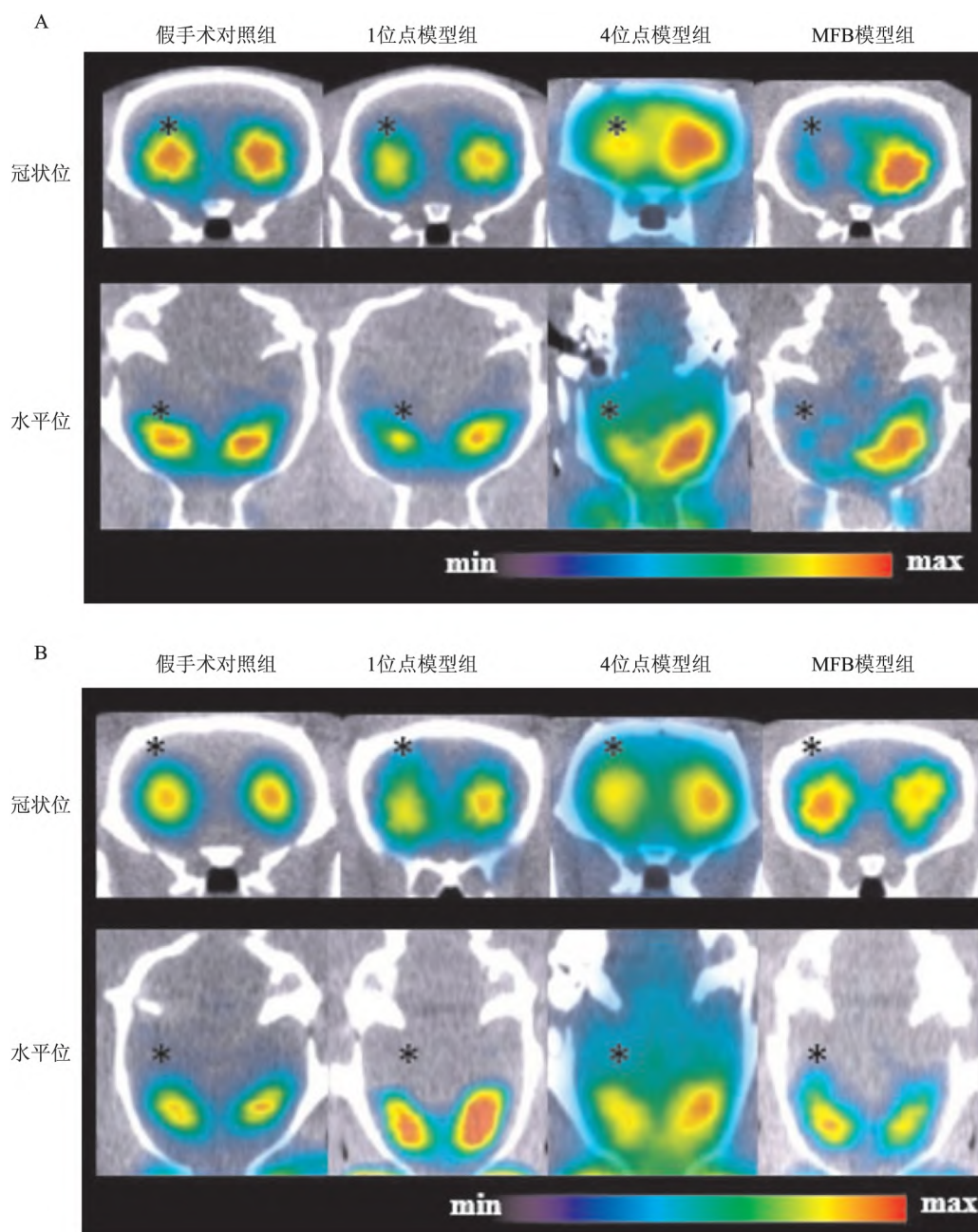


图5 小动物 PET 成像结果

A: 注射 ^{11}C -CFT 后显像结果; B: 注射 ^{11}C -raclopride 后显像结果; *: 提示病侧

朝向 DA 受体功能劣势侧的旋转。本研究中, 溴隐亭诱导的旋转实验结果反映出 MFB 损毁模型病侧 D2 受体功能的优势地位(上调)以及纹状体损毁模型病侧 D2 受体功能的劣势地位(下调)。

借助小动物 PET 进行成像实验, 可以实现对活体动物的实时可视化研究。目前, 对 PET 数据有几种量化分析的方法, 但相比于配体-受体结合分析法, 这些方法在准确性上仍有不足。另外, 由于本研究中进行 PET 实验的动物样本有限, 因此未进行 PET 数据的量化分析, 但 PET 成像直观地反映出了

实验结果: ^{11}C -CFT PET 成像清晰的展示出 1、4 位点模型与 MFB 模型中由于黑质 DA 神经元脱失导致病变侧纹状体区域 DAT 功能的明显下降。 ^{11}C -raclopride PET 成像数据也展现出两种模型 D2 受体功能完全相反的变化结果: 在 MFB 损毁模型中上升而在纹状体损毁模型中下降。以前多项研究^[13-14]报道了在大鼠脑内不同部位注射不同剂量 6-OHDA 后引发 D2 受体功能上调的情况, 本研究结果与上述报道存在区别, 这可能是由于模型制备方法的差异以及不同数据采集时间点等因素造成的。

伴随 DA 神经元进行性脱失而产生的 D2 受体功能变化的调控机制目前仍然不清。对于本研究中 D2 受体在 MFB 损毁模型与纹状体损毁模型中表现出的完全相反的变化结果,笔者推测是由于 6-OH-DA 在两种模型中对 DA 神经元不同的损伤方式导致的。MFB 是 DA 神经元轴突的主要通路,因此注射到 MFB 部位的 6-OHDA 会被逆行性转运到 DA 神经元胞体中,从而损伤 SN 致密部大量 DA 神经元。这种对突触前 DA 神经元激烈的损伤模式导致突触后 D2 受体的快速代偿性增加,这种模式也常见于早期 PD 患者以及使用 MPTP 制备的猴子 PD 模型。而注射到纹状体中的 6-OHDA 对突触前及突触后 DA 神经元均有破坏,并且这种破坏方式是缓慢而渐进性的,这种方式往往不会引发 D2 受体的急性代偿性反应,反而会由于突触后 DA 神经元的损伤引发纹状体 D2 受体功能下调。

在本研究中,仅分析了 6-OHDA 注射 4 周后 D2 受体功能的变化,在后续研究中计划对 MFB 与纹状体损毁模型 D2 受体功能变化进行动态观察,这种观察应持续到模型的病程晚期(注射 6-OHDA 半年以上)。以前的研究显示 D2 受体功能在晚期 PD 病人中呈下降趋势^[15]。这种趋势在 MPTP 制备的猴子 PD 模型中同样可以观察到^[16]。为了阐明 DA 系统中包括 DAT 和 DA 受体等因素的作用机理,必须建立起能够与临床 PD 病人的发病机制相近并能够良好模拟 PD 病人运动障碍症状的动物模型。

综上所述,大鼠 MFB 损毁模型和纹状体损毁模型表现出完全不同的病理学和病理生理学致病过程。在模型的早期阶段,MFB 损毁模型是一种与人类原发性 PD 类似的动物模型,而纹状体损毁模型更接近某些 PD 综合征,比如血管性帕金森综合征、多系统萎缩等。预期本研究能为选取合适的啮齿类动物模型用于 PD 研究提供支持。

参考文献

- [1] Truong L, Allbutt H, Kassiou M, et al. Developing a preclinical model of Parkinson's disease: a study of behaviour in rats with graded 6-OHDA lesions[J]. *Behav Brain Res* 2006, 169(1): 1-9.
- [2] Yuan H, Sarre S, Ebinger G, et al. Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease[J]. *J Neurosci Methods* 2005, 144(1): 35-45.
- [3] Przedborski S. The two-century journey of Parkinson disease research[J]. *Nat Rev Neurosci* 2017, 18(4): 251-9.
- [4] Kupsch A, Schmidt W, Gizatullina Z, et al. 6-Hydroxydopamine impairs mitochondrial function in the rat model of Parkinson's disease: respirometric, histological, and behavioral analyses[J]. *J Neural Transm (Vienna)* 2014, 121(10): 1245-57.
- [5] Faust K, Vajkoczy P, Xi B, et al. The effects of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus on vascular endothelial growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of Parkinson's disease[J]. *Stereotact Funct Neurosurg* 2021, 99(3): 256-66.
- [6] Campos A C P, Kikuchi D S, Paschoa A F N, et al. Unraveling the role of astrocytes in subthalamic nucleus deep brain stimulation in a Parkinson's disease rat model[J]. *Cell Mol Neurobiol* 2020, 40(6): 939-54.
- [7] Fang X, Sugiyama K, Akamine S, et al. The different performance among motor tasks during the increasing current intensity of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats with different degrees of the unilateral striatal lesion[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 480(1): 64-8.
- [8] Han L, Lu J, Tang Y, et al. Dopaminergic and metabolic correlations with cognitive domains in non-demented Parkinson's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 627356.
- [9] Jiang L, Wang X, Li P, et al. Efficacy of ¹¹C-2beta-carbomethoxy-3beta-(4-fluorophenyl) tropane positron emission tomography combined with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the diagnosis of early Parkinson disease: a protocol for systematic review and meta analysis[J]. *Medicine (Baltimore)* 2020, 99(51): e23395.
- [10] Martins R, Oliveira F, Moreira F, et al. Automatic classification of idiopathic Parkinson's disease and atypical Parkinsonian syndromes combining [(11)C]raclopride PET uptake and MRI grey matter morphometry[J]. *J Neural Eng*, 2021, 18(4): 046037 (13pp).
- [11] Steeves T D, Miyasaki J, Zurowski M, et al. Increased striatal dopamine release in Parkinsonian patients with pathological gambling: a [(11)C] raclopride PET study[J]. *Brain*, 2009, 132(Pt5): 1376-85.
- [12] Baldwin H A, Koivula P P, Necarsulmer J C, et al. Step sequence is a critical gait parameter of unilateral 6-OHDA Parkinson's rat models[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(4): 659-67.
- [13] Pellegrino D, Cicchetti F, Wang X, et al. Modulation of dopaminergic and glutamatergic brain function: PET studies on parkinsonian rats[J]. *J Nucl Med*, 2007, 48(7): 1147-53.
- [14] Nikolaus S, Larisch R, Beu M, et al. Bilateral increase in striatal dopamine D2 receptor density in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat: a serial *in vivo* investigation with small animal PET[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003, 30(3): 390-5.
- [15] Thobois S, Vingerhoets F, Fraix V, et al. Role of dopaminergic treatment in dopamine receptor down-regulation in advanced Parkinson disease: a positron emission tomographic study[J]. *Arch Neurol* 2004, 61(11): 1705-9.
- [16] Doudet D J, Holden J E, Jivan S, et al. *In vivo* PET studies of the dopamine D2 receptors in rhesus monkeys with long-term MPTP-induced parkinsonism[J]. *Synapse* 2000, 38(2): 105-13.

Comparison of unilateral medial forebrain bundle and unilateral striatum lesioned by 6-hydroxydopamine at early lesioned stage in rat model

Sun Wei¹, Wu Chunming¹, Liu Zhang², Namba Hiroki³

(¹Dept of Neurosurgery, ²Dept of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011; ³Dept of Neurosurgery, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan 431-3192)

Abstract **Objective** To compare the functional changes of neurotransmitters in the dopamine (DA) system of rats lesioned by 6-hydroxydopamine in unilateral medial forebrain bundle (MFB) and unilateral striatum after 4 weeks of modeling. **Methods** Adult male Sprague-Dawley rats ($n=62$) were divided randomly into four groups: single-site model (one site striatal lesion model, $n=18$), four-site model (four sites striatal lesion model, $n=18$), MFB model (MFB lesion model, $n=18$) and a sham operated control group ($n=8$). Immunohistochemical tyrosine hydroxylase (TH) staining was used to calculate the loss rate of positive DA neurons. The functional changes of dopamine transporters (DAT) and D2 receptors in rat models of four groups were detected by radioligand-receptor binding assay *in vitro*, behavioral test and small-animal PET. **Results** Immunohistochemical staining results of TH at 1-lesion, 4-lesion and MFB model showed that the TH-positive cell loss rates of the lesion side in three models were 19.1%, 84.7% and 97.1%, respectively, indicating that the model was successfully constructed. The results of DAT/D2 receptor functions in the three models showed that, compared with the sham operated control group, the DAT binding ratio of radioactivity on the lesion side of 1-lesion, 4-lesion and MFB model significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.05$ and $P<0.01$). The DAT binding ratio of radioactivity on the lesion side was compared among 1, 4 lesion and MFB model. It was found that the decrease degree of MFB model was significantly higher than that of the previous two models ($P<0.01$), and the decrease degree of 4-lesion model was significantly higher than that of 1-lesion model ($P<0.05$). Compared with the sham operated control group, the D2 receptor binding ratio of radioactivity on the lesion side of 1-lesion and 4-lesion model significantly decreased ($P<0.05$), and there was no significant difference in the degree of decrease between the two models, but the D2 receptor binding ratio of radioactivity on the lesion side of MFB model significantly increased ($P<0.05$). There was no difference in the distribution of DAT/D2 receptor on the lesion side and the normal side of the sham operated control group. Methamphetamine caused ipsilateral rotations to the lesion side in all models. There were no significant differences in methamphetamine-induced rotation among 1-lesion, 4-lesion and MFB models. Bromocriptine caused ipsilateral rotations to the lesion side in 1-lesion and 4-lesion models but contralateral rotations in MFB model. There were no significant differences in bromocriptine-induced rotation between 1-lesion and 4-lesion models. The results of stepping test showed the motion initiation time of the lesion side was significantly longer than that of the normal side, the stepping length of the lesion side was significantly shorter than that of the normal side, and the adjusting steps of the lesion side was significantly less than that of the normal side ($P<0.001$), but there was no significant difference of the lesion side in the initiation time, stepping length, and adjusting steps among the three groups of models. **Conclusion** The striatal lesion and MFB lesion models showed different pathophysiological processes in terms of DA neurotransmitter functions and behavior. The MFB lesion model can mimic primary Parkinson's disease, while the striatal lesion model is similar to some Parkinson syndromes.

Key words Parkinson's disease; dopamine transporter; dopamine D2 receptor; 6-hydroxydopamine; positron emission tomography; rat model