

王孟迪,张秋梅,范蓓,等. 基于文献数据库的 6-OHDA 帕金森病大鼠模型特点分析及在中药研究中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(1): 93-102.

Wang MD, Zhang QM, Fan B, et al. Analysis on the characteristics of 6-OHDA induced rat model of Parkinson's disease based on literature data base and the application in the study of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(1): 93-102. doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.01.012

基于文献数据库的 6-OHDA 帕金森病大鼠模型特点分析及在中药研究中的应用

王孟迪^{1,2}, 张秋梅^{1,2}, 范 蓓¹, Alberto Carlos Pires Dias³, 王凤忠^{1*}, 王 琼^{1,2*}

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193; 2. 西南医科大学附属中医医院中葡中医药国际合作中心, 四川 泸州 646000; 3. 葡萄牙米尼奥大学生物系, 分子和环境生物学中心, 中葡药食植物资源研究中心, 葡萄牙 布拉加 4710-057)

【摘要】 目的 分析 6-OHDA 诱导的大鼠 PD 模型的品系选择、性别、造模要素、模型评价方法以及在抗 PD 中药研究中的应用情况, 以为 6-OHDA 模型在帕金森研究中的应用提供参考。**方法** 查阅近 20 年来中国知网 (CNKI) 和 PubMed 中应用 6-OHDA 建立 PD 大鼠模型的相关文献, 分析 6-OHDA 诱导的大鼠 PD 模型的品系选择、性别、体重、造模要素、模型评价方法以及在抗 PD 中药研究中的应用情况。**结果** 6-OHDA 诱导的大鼠 PD 模型多选用雄性 SD 或 Wistar 大鼠, 造模时注射部位多为单侧黑质、内侧前脑束或纹状体, 多在造模 4 周后检测阿扑吗啡诱导旋转实验、脑组织形态学、分子生物学、生化指标以判断模型成功率及防治 PD 药物的有效性。**结论** 本文通过对 6-OHDA 诱导的大鼠 PD 模型的品系选择、性别、体重、造模要素、模型评价方法以及在抗 PD 中药研究中的应用情况进行分析, 为 PD 模型的造模和应用提供参考。

【关键词】 帕金森病; 大鼠; 6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OHDA); 中药

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 01-0093-10

Analysis on the characteristics of 6-OHDA induced rat model of Parkinson's disease based on literature data base and the application in the study of traditional Chinese medicine

WANG Mengdi^{1,2}, ZHANG Qiumei^{1,2}, FAN Bei¹, Alberto Carlos Pires Dias³, WANG Fengzhong^{1*}, WANG Qiong^{1,2*}

(1. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China.

2. Sino-Portugal TCM International Cooperation Center, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000. 3. Sino-PT Research Center for Medicinal and Food Plant Resources, Centre of Molecular and Environmental Biology (CBMA), Department of Biology, University of Minho, Braga 4710-057, Portugal)

【Abstract】 Objective To analyze the strain selection, sex, modeling key points, evaluation method of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced Parkinson's disease (PD) model in rats and its application on the screening of

【基金项目】 国家高端外国专家引进计划 (G2022051012L); (泸州-医科大) 应用基础研究项目 (2018LZXNYD-ZK32); 四川省国际科技创新合作/港澳台科技创新合作项目 (2019YFH0023)。

【作者简介】 王孟迪 (1994—), 女, 硕士, 研究方向: 中药神经药理与航天医学。E-mail: 18383067491@163.com

【通信作者】 王琼 (1975—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药神经药理与航天医学。E-mail: luyiwangqiong@163.com, wqimplad@126.com

王凤忠 (1972—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 食品营养与功能性食品研究。E-mail: wangfengzhong@caas.cn

* 共同通信作者

traditional Chinese medicine in the treatment of Parkinson's disease. **Methods** Recent literatures related to 6-OHDA models in the CNKI and PubMed databases in 20 years were collected. The strains of rats, the weight, sex, modeling key points, evaluation method were analyzed, along with the application of 6-OHDA model in anti-PD traditional Chinese medicine screening. **Results** Male SD or Wistar rats are mostly selected as PD models in rats induced by 6-OHDA. The injection site is usually unilateral substantia nigra, medial forebrain bundle or striatum. Apomorphine induced rotation experiment, brain histomorphology, molecular biology and biochemical indicators are usually detected 4 weeks after modeling to determine the success rate of the model and the effectiveness of drugs for prevention and treatment of PD. **Conclusions** This study provides a useful reference for the use of 6-OHDA induced PD model regarding the strain selection, sex, modeling key points, evaluation method and the application on the screening of traditional Chinese medicine in the treatment of PD.

【Keywords】 Parkinson's disease; rat; 6-hydroxydopamine(6-OHDA); traditional Chinese medicine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种由遗传和环境因素相互作用引起的老年性神经退行性疾病,临床表现为动作缓慢,肌体僵硬和静止性震颤。其典型的病理特征是中脑黑质纹状体多巴胺能神经元(dopaminergic neuron, DN)的丢失,导致多巴胺(dopamine, DA)分泌减少,并产生路易小体(Lewy bodies, LB)^[1]。PD好发于中老年人群,其发病机制目前尚不清楚^[2],为进一步探究PD的病因及诊疗方案,需要建立能很好模拟PD患者临床和病理表现的动物模型,神经毒素模型是最经典和历史最悠久的一类PD模型,通过使用神经毒素药物诱导啮齿类动物或灵长类动物脑中黑质纹状体神经元选择性退化,产生与临床患者相似的病理和行为变化^[3]。这类神经毒素可以全身给药或局部给药,取决于所用药物的类型和所涉及的种属。多年来,包括6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)、1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)、百草枯(paraquat, PQ)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、和鱼藤酮(rotenone)在内的许多药物都被成功应用于构建PD模型^[4]。6-OHDA模型是史上第一个PD动物模型,也是目前应用最广泛药物模型之一^[5]。6-OHDA作为DA的羟基化衍生物,可在多巴胺能神经元内运输毒素,竞争性抑制DA^[6]。该模型在病理、生化方面的表现与人类PD患者相似,如黑质DA能神经元变性坏死,黑质和纹状体TH活性及DA含量降低^[7]等。

为进一步明确6-OHDA模型的造模方法和特点,本文采用文献分析的方法对近20年国内外有关6-OHDA诱导大鼠PD模型的有效文献进行统计分析,对造模要素和模型鉴定方法进行归纳总结,并对近年来6-OHDA大鼠模型在抗PD中药研究中的

应用情况进行收集,为PD的机制研究及抗PD中药的非临床研究提供模型参考。

1 实验方法

1.1 6-OHDA模型在PD研究中的应用分析

使用CNKI和PubMed两大常用数据库进行文献检索。利用CNKI的中国学术文献网络总库进行文献检索。点击“高级搜索”,在主题搜索中同时,应用“并含”输入“大鼠”,时间设定为2001年1月1日至2021年7月30日,检索有关大鼠在6-OHDA方面的中文文献,用PubMed分别以“6-OHDA”和“rat”为关键词进行文献检索,检索同时段的相关的英文文献。

当文献符合以下标准时被纳入研究:(1)在正式期刊中发表的研究性文章(综述、学位论文、会议文章剔除);(2)实验中至少设计有对照组(或假手术组)和模型组;(3)所使用动物的品系、性别、体重信息描述清楚,造模要素描述完整;(4)6-OHDA被用于建立帕金森病模型;(5)使用了至少一种行为学检测,并有行为学检测结果。获得6-OHDA相关中英文文献共312条,其中中文文献162条,有效文献105条;英文150条,有效文献73条,最终得到有效文献共计178条。

1.2 模型动物及相关检测指标的分析

采用Excel软件建立数据库,对筛选后的178篇文献中的信息进行汇总。录入实验动物品系、性别、体重、造模方法、检测指标等信息,对6-OHDA所致的PD模型动物及相关测试指标进行分析,所有图形采用GraphPad Prism 6.02软件制作。

1.3 统计学方法

通过统计相关的文献数量并计算占比,文中图形由Graphpad Software提供。

2 结果

2.1 6-OHDA 模型实验动物的选择

经统计,6-OHDA 大鼠注射模型的使用品系主要是 SD 和 Wistar(图 1A),此外还有研究使用 Long Evans 大鼠^[8]和 Simonsen 大鼠^[9]。关于动物性别的选择,多数研究选择了雄性动物,少数选择了雌性动物(图 1B)。在造模动物的体重选择方面,大部分的研究选择了 180~250 g 的体重区间(49.25%)(图 1C)。

6-OHDA 模型的造模方法采用将药物直接注入脑区造成损伤的方式进行,没有全身吸收的过程,因此不同动物之间的差异小,可广泛用于灵长类、啮齿类动物等。虽然灵长类动物更能模拟人类疾病的症状,但费用昂贵,不利于初期药效筛选;小鼠等小型动物脑部体积较小,难以针对特定的脑区进行注射,且术后死亡率高,造模难度较大,因此最常选择的实验动物的是大鼠。与小鼠相比,大鼠脑部体积大,手术视野宽阔,术后存活率更高。有研究指出,SD 大鼠和 Wistar 大鼠的脑部结构不完全一致,因此在选择定位坐标时需要参考以相应品系为标本编写的脑立体图谱,以提高定位的准确度^[10]。

此外,有研究表明绝经后的女性 PD 患者的运动功能异常可通过雌激素缓解,说明雌激素对 PD 具有改善作用^[11]。在动物性别的选择方面,雄鼠的造模成功率显著高于雌鼠,且切除双侧卵巢的雌鼠造模成功率显著高于保留卵巢的雌鼠^[12]。或许是考虑到激素周期干扰的原因,大部分的研究选择了使用雄性大鼠建立 PD 模型。

2.2 6-OHDA 模型的造模要素

6-OHDA 整体给药无法透过血脑屏障,因此,只

能通过脑立体定位仪注射的方式将药物注入特定的靶点。据文献报道,在黑质纹状体多巴胺系统的不同部位注射不同剂量的 6-OHDA 可建立不同损伤程度和损伤类型的 PD 模型^[13]。

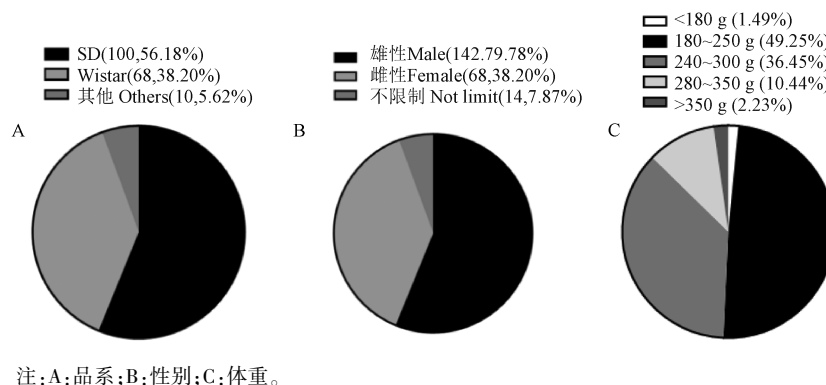
2.2.1 部位

6-OHDA 注射模型所选择的注射部位主要有黑质(substantia, SN),纹状体(corpus striatum, CPu),内侧前脑束(medial forebrain bundle, MFB),中脑腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)。据文献分析,其中 28.98%的研究选择了 CPu 注射,27.27%的研究选择了 SN 注射,28.98%的研究选择了 MFB 注射,VTA 通常与其他部位复合注射,单独不作使用;在选择单侧和双侧注射的问题上,大部分研究选择了单侧注射(98.01%),单侧造模减少了手术损伤,操作更易、死亡率更低,同时可对正常侧和手术侧进行对比。在单侧注射模型中,70.86%的文献选择了单侧单点注射,23.17%的文献选择了单侧双点注射,3.97%的文献选择单侧多点(3 点及以上)注射。采用双侧造模的文献仅有 2.58%,因其损伤程度大,致死率高,故不做常规选择^[14]。

复合注射模型常见的有 SN+VTA(14,7.95%)、SN+MFB(5,2.84%)、MFB+VTA(3,1.70%)和 SN+CPu(2,1.14%),见表 1。

(1) 黑质(substantia, SN)

SN 主要的注射部位为黑质致密部(SNc),是黑质纹状体通路的起源部位,此处有丰富的 DA 能神经元,在该处造模可直接损毁 DN 胞体,引起手术侧纹状体内 DA 水平降低,DA 受体数量呈代偿性增加。6-OHDA 注射到黑质,12 h 内即开始发生 DA 神经元变性^[15],因此是常用的注射部位。SN 体积小,形状呈扁柱状,难以精准定位,单点注射模型



注:A:品系;B:性别;C:体重。

图 1 6-OHDA 模型动物品系与性别使用情况

Note. A, Strain. B, Sex. C, Body weight.

Figure 1 Animal strain and sex usage of 6-OHDA model

的成功率较低,双侧造模易出现吞咽困难、渴感缺乏和运动障碍,甚至死亡,通常选择单侧注射与其他位点联合注射,如李进等^[16]采用 SN+VTA 联合造模,以阿扑吗啡(apomorphine, APO)旋转实验作为模型鉴定标准,在 4 周时成功率达 60%,高于单一黑质组(30%);范凯等^[17]采用单侧 SN+MFB 联合造模,模型成功率 67.7%,术后死亡率仅 2.9%。

(2) 内侧前脑束(Medial forebrain bundle, MFB)

MFB 是一个神经传导束,起始于中脑 DA 能神经元,部分纤维终止于纹状体,邻近黑质纹状体 DA 能神经通路,该通路由位于黑质致密部(SNC)的 A9 细胞群组成,沿 MFB 发出纤维投射到纹状体的尾壳核,6-OHDA 单侧注射到 MFB 中可导致 A9 和 A10 细胞群的完全破坏^[18]。此位点注射模型对苯丙胺和 APO 都有能产生旋转行为,在 APO 旋转实验中出现阳性的大鼠 CPu 中 DA 组织含量减少 99.8%,SN 中 DA 组织含量减少 85%^[18]。该模型能使 DN 在较短时间内快速死亡,不易模拟早期 PD 的病理表现,但能产生肌肉震颤行为,可模拟晚期患者的临床特征,通常用于中晚期 PD 模型的研究^[19]。由于 MFB 解剖面积较小,定位相对困难,通常采用单侧多点或与其他部位联合造模,罗蔚锋等^[20]采用单侧双位点注射,术后 4~6 周成功率达 77%;秦晓凌等^[21]采用单侧单点注射,术后 2 周成功率可达 46.94%,3 周成功率可达 34.69%,且可维持至术后第 10 周。

(3) 纹状体(Corpus striatum, CPu)

CPu 位于黑质纹状体通路的末端,有文献报道单侧 CPu 注射 6-OHDA,可使部分 DA 耗竭,CPu 中 DA 水平降低 60%~80%,适用于构建早中期 PD 模型^[22]。与 MFB 注射相比,该模型导致的 SNpc 损伤程度不太明显,对 DN 是一种缓慢作用过程,将在 4~6 周逐渐演变。因此该模型引发的病理变化更接近临床患者 DN 进行性退变的过程^[23],有文献指

出 6-OHDA 直接注入 SNc 会造成过度的氧化应激反应,注入 CPu 部位可以一定程度避免^[24]。CPu 区域较大,注射操作的准确程度更高,目前纹状体注射 6-OHDA 通常采用单点、两点或多点注射法^[13]。王晓晓等^[25]采用单侧双靶点法分别在尾壳核内和苍白球内进行注射,2 周即诱导出 APO 旋转行为,4 周后造模成功率为 88.6%;Kirik 等^[13]采用单侧四点注射后模型的毁损侧纹状体 TH 免疫阳性纤维缺失 80%~95%,而损伤侧 SN 部的 DN 缺失达 75%;黄世明等^[26]采用单侧 CPu 四点注射大鼠 PD 模型,术后第 2 周成功率为 86.1%。

(4) 中脑腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)

大鼠中脑多巴胺的主要来源是腹侧被盖区(VTA)的 A10 细胞,它是多巴胺能中脑边缘通路的起源^[27-28]。VTA 处进行 6-OHDA 注射可以使黑质 DN 胞体发生逆行性变性,还能造成纹状体 DN 神经末梢发生顺行性变性。有文献报道,VTA 与躯体运动密切相关,在该点注射造模能增加大鼠旋转圈数^[29]。虽然 VTA 易于操作,但与人类 PD 病理特征不符^[30],因此有关单一 VTA 部位注射造模的报道较少,通常与 SNc 或 MFB 联合注射。

2.2.2 剂量

6-OHDA 注射剂量、浓度及部位的选择都会影响 PD 模型的最终表现^[31],通过文献发现,6-OHDA 注射剂量从 4~30 μg 不等,与注射部位和点位密切相关。黄世明等^[26]采用 CPu 四点注射法,每点注射 2 μL ,共 8 μL ,术后第 2 周 TH 免疫荧光染色示右侧 SN 无明显 TH 阳性的 DN 细胞带,阳性细胞数减少且分布不均;杜越群等^[32]采用单侧 SNc+MFB 造模,两点各注射 12 $\mu\text{g}/4 \mu\text{L}$,术后 2、4 和 6 周 PD 大鼠毁损侧纹状体 DAT 相对放射计数较健侧分别降低了 16.8%、35.9%和 50.1%,且毁损侧 TH 阳性细胞数较健侧分别减少 75.22%、81.22%和 87.44%。

表 1 6-OHDA 模型的造模部位
Table 1 The molding site of the 6-OHDA model

注射部位 Injection site	单侧注射 Unilateral injection			双侧注射 Bilateral injection	总计 Total
	单点 Single point	双点 Two points	多点 Multiple points		
黑质 SN	36 (75.00%)	10 (20.83%)	1 (2.08%)	1 (2.08%)	48 (27.27%)
内侧前脑束 MFB	46 (86.79%)	6 (11.32%)	0 (0.00%)	1 (1.89%)	53 (30.11%)
纹状体 CPu	25 (49.02%)	19 (37.25%)	5 (9.80%)	2 (3.92%)	51 (28.98%)
复合部位 Multiple injection sites					24 (13.64%)

2.2.3 模型检测时间与持续时间

在应用 6-OHDA 模型的研究中,首次检测时间是一个关键的时间节点,根据大量研究发现,首次检测时间通常在造模 1 周以后,最广泛使用的时间是 1~3 周。在具体的实验操作中,模型动物首次旋转行为出现的时间与诸多造模因素密切相关,因此本文所综述内容仅供参考。李泽鸿等^[33]在术后第 1、2、3 周分别进行 APO 旋转实验,模型组在术后 1 周即可诱发旋转行为且次数随时间增加而升高;贾丛康等^[34]在术后 2、4、8、12 周分别对各组大鼠的行为进行检测,其中有 3 只大鼠于术后 2 周即诱发出了旋转行为,4 周后有 40% 的动物可诱发旋转行为,12 周时旋转圈数较 2、4、8 周组明显减少但仍符合模型成功的纳入标准,这提示造模 4 周时结果最为稳定,12 周以后模型具有自我恢复的倾向。此外,刘毅等^[35]在术后 4 周进行检测,造模成功率达 55.8%,且持续观察至术后 10 个月,模型大鼠仍可诱发出旋转行为,说明 6-OHDA 造成的模型损伤较为稳定,且持续时间长。

2.2.4 操作注意事项

关于药物的配置,要注意 6-OHDA 极易发生氧化反应,当溶液由透明变色至淡粉色或橘粉色时,说明药液已经氧化,应当弃用。因此在配置时要严格避光、低温操作,文献中往往以含 0.02%~0.2% 抗坏血酸的生理盐水溶液配置,完成后快速分装冻存,需要时取用。在进行注射操作时,进样针也应当采用锡纸包裹避光,尽量维持药物的效力。进针时应保持匀速缓慢,通常选择 0.5~1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$,留针时间选择 5~15 min,以使药液更好地扩散和吸收,退针时应同样注意匀速缓慢退出,防止药液溢出。此外,许多研究者采用预先腹腔注射地昔帕明(25 mg/kg)和帕吉林(5 mg/kg)来促进 6-OHDA 的吸收,其中地昔帕明可减少 6-OHDA 引起的去肾上腺素和 5-羟色胺减少,帕吉林可减少 6-OHDA 分解,因此常在注射造模前使用,提高 6-OHDA 的药效^[36-37]。术后通过连续 1 周腹腔注射青霉素,或者手术处涂抹红霉素软膏^[38]的方法来预防伤口感染。关于立体定位操作,要注意齿杆与耳杆的位置关系,牛朝诗等^[10]提出当门齿杆比耳杆低约 2.4 mm 时,可使 250 g 左右的 SD 大鼠前囟与后囟保持在一个平面。造模时,应当注意以上细节,以提高模型的成功率,减少动物的死亡率。

2.3 检测指标

通过观察动物的行为学、组织形态学、分子生

物学等变化,可以判断 6-OHDA 模型建立是否成功,并以此探讨该方法制备大鼠 PD 动物模型的可行性和成功率。

2.3.1 行为学检测指标

经统计,6-OHDA 模型常用的行为学检测方法包括阿扑吗啡诱导旋转实验(Apomorphine-induced rotation test)、苯丙胺诱导旋转实验(D-Amphetamine-induced rotation test)、圆筒实验(the cylinder test)、空场实验(the open field test)、转棒实验(the rotarod test)等。其中 46.63% 的研究选择了阿扑吗啡旋转实验,17.42% 的研究选择了苯丙胺旋转实验。旋转实验可用于评估动物的最大损伤程度,也是判断 6-OHDA 诱导的 PD 模型成功与否的金标准。据文献显示,在大部分研究中研究者通常采用旋转实验来鉴定模型的是否成功,另择 1~3 种行为学方法评估模型的其他行为学改变。详见表 2。

2.3.2 组织形态学检测

组织形态的改变通常选择尼氏染色法(Nissl's staining)和苏木精-伊红染色法(HE staining)。观察 6-OHDA 模型大鼠术后 48 h 的 SNc 部位,HE 染色可见神经细胞胞体肿胀、胞核变大、核呈空泡状,且部分出现核裂解以及部分胞体溶解等,术后 4 周和 8 周可见神经细胞凝固性坏死,伴有大量胶质细胞弥漫性或局限性增生^[38]。SN 区域可见神经元胞体形态不规则、结构模糊、数量减少^[48];尼氏染色中出现 SNc 及 VTN 区神经元数目显著减少,尼氏体模糊,着色较浅,有大量胶质细胞浸润^[49]。

2.3.3 分子生物学检测

为检测 6-OHDA 诱导的 PD 模型引起的一系列的分子生物学的改变,最常用的检测方法有免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)、免疫荧光法(immunofluorescent staining, IF)、蛋白免疫印迹法(Western blot)、实时荧光定量聚合酶链式反应法(RT-PCR)等。文献表明,TH 是 DN 特有的多巴胺合成限速酶,黑质 TH 阳性神经元数量与 DA 的含量呈相同趋势,因此可作为 DN 的特异性标记物,通过 IHC 法对脑组织中的 TH 进行标记能很好地反映脑内 DN 数量的变化^[48]。临床患者和 PD 动物模型的相同特点之一就是脑组织中的 TH 合成减少,因此, IHC 法检测 TH 能很好地反映黑质多 DN 变化,是鉴定 6-OHDA 模型的重要方法。详见表 3。

2.3.4 生化指标检测

针对 6-OHDA 诱导的 PD 模型常引起一系列的

神经递质、激素、代谢产物的变化,最常用的检测方法有酶联免疫吸附测定法(ELISA)、高效液相色谱法(HPLC)与分光光度计法(UV spectrophotometry)等。DA 是 PD 疾病发生发展过程中最重要的神经递质,HVA 和 DOPAC 是 DA 代谢产物,可以反映 DA 水平^[50]。通过文献可发现,ELISA 和 HPLC 检

测 DA 及其代谢产物的水平变化,是 6-OHDA 模型的一项重要检测指标。详见表 4。

2.4 6-OHDA 模型在中药药效研究中的应用

目前,6-OHDA 大鼠模型已广泛应用于抗 PD 中药药效研究中,本文收集近年来 6-OHDA 大鼠模型在单味药及复方研究中的应用情况。

表 2 6-OHDA 模型的常用行为学检测方法
Table 2 Common behavioral tests of the 6-OHDA model

实验名称 Name	实验原理 Theory	实验方法 Method	行为学表现 Expression
阿扑吗啡诱导旋转实验(83,46.63%) ^[39] Apomorphine induced rotations test (83,46.63%)	手术侧的纹状体内 DA 受体处于超敏状态,经过 DA 受体突触后膜激动剂刺激会使其发出的传出信号明显强于正常侧,使大鼠向正常侧旋转	腹腔注射 0.5 mg/kg 剂量的 APO,大鼠向健侧旋转数大于每分钟 7 圈定为成功,记录 30 min 动物的旋转圈数,平均旋转速度 ≥ 7 r/min 的为成功模型。	首尾相接、身体环曲,伴有觅食样嗅探行为。 向损伤对侧发生旋转
苯丙胺诱导旋转实验(31,17.42%) ^[40] D-Amphetamine-induced rotations (31,17.42%)	手术侧神经末梢可释放的 DA 含量比正常侧低,当给与促 DA 释放制剂时,正常侧 DA 效应占优势,使大鼠向手术侧发生旋转行为	腹腔注射单剂量苯丙胺(2.5 mg/kg),记录 2 h 的同侧旋转。	首尾相接、身体环曲,伴有觅食样嗅探行为。 向损伤同侧发生旋转
转棒实验(11,6.18%) ^[41] Rotarod test (11,6.18%)	大鼠在转棒上为不掉落,需向转棒反方向奔跑,通过分析动物运动路程、速度、跌落时间等指标,评价大鼠四肢协调性和运动能力	大鼠每天在转棒仪上训练 2 次,连续 3 d。试验时,将大鼠放置在转棒上,转棒在 20 s 内从 5 r/min 加速到 20 r/min,或在 200 s 内也以 5 r/min 加速到 45 r/min,自动记录衰减延迟和运动距离。	速度↓、持续时间↓、总路程↓
圆筒实验(16,8.99%) ^[36] Cylinder test (16,8.99%)	评估大鼠在垂直探索活动(直立)中前肢使用的不对称性	将动物放入一个透明的圆柱体中。每只大鼠记录 5 min。分别统计大鼠左、右及双上肢触壁次数。结果计算如下:右 upper 肢使用率 = $(右 + 0.5 \times 双) / (左 + 右 + 双) \times 100\%$ 。	损伤同侧上肢使用率↑
空场实验(7,3.93%) ^[41-43] Open field test (7,3.93%)	观察记录大鼠在自主活动箱中的行为,反映 PD 大鼠的自主活动、精神状态和探索行为	将动物从检测箱中心放入,适应 1 min 后记录 5 min 的活动。记录运动路程、运动速度、运动时间、跨格次数、直立次数等。	中央区的僵滞时间↑ 理毛次数↓ 跨格次数↓、跨格次数↓、直立次数↓
爬杆实验(2,1.12%) ^[44] Pole test (2,1.12%)	通过记录大鼠在爬杆上爬行的时间评估其四肢协调能力	将大鼠置于爬杆使其自然爬下,双前肢接触爬杆底部平台为完成,记录爬杆时间,每只大鼠重复 3 次,取均值计算。	爬杆时间↑
悬挂实验(2,1.12%) ^[45] Traction test (2,1.12%)	通过记录大鼠在挂绳上悬挂的时间指标评估其四肢协调能力	将大鼠两前爪抓住水平悬挂绳使其并处于悬挂状态,记录保持时间并评分。	悬挂评分↓
跑步机测试(1,0.56%) ^[46] Treadmill test (1,0.56%)	通过训练后的测试衡量动物的学习记忆能力	测试前进行训练。将被测试大鼠放在跑步机转轴上,当大鼠不能与转轴一同旋转时,则会落在踏板上,此时计时结束。	跑步时间↓
糖水偏爱测试(1,0.56%) ^[47] Sucrose preference test (1,0.56%)	统计大鼠对糖水和非糖水的饮水量,通过反映动物快感缺失的情况来评价动物是否产生抑郁情绪	在 24 h 训练阶段,为每只大鼠提供两瓶水。训练结束后,将其中一个瓶子换成含有 3% 蔗糖溶液的瓶子,24 h 后将瓶子交换。根据公式计算蔗糖消耗百分比($\%糖水偏爱 = 糖水摄入量 / 总摄入量$)。	糖水偏爱指数↓

表 3 6-OHDA 模型的常用分子生物学检测方法及其指标

Table 3 Common molecular biological detection methods and indicators of the 6-OHDA model

实验名称 Name	检测指标 Test indicators
免疫组化 (43, 24. 16%) Immunohistochemistry (43, 24. 16%)	黑质酪氨酸羟化酶 TH 的表达 ↓、小胶质细胞 CD11b ↑、星形胶质细胞 GFAP ↑
蛋白免疫印迹法 Western blot (10, 5. 62%)	脑组织中 TH 蛋白 ↓、ND1、ND4 蛋白 ↓、中脑组织中 Beclin-1 蛋白 ↑、HSP70、HSC70、MEF2D 蛋白 ↓、海马 α-Synuclein 蛋白 ↑、环氧化酶-2 (COX-2) ↑、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) ↑、IL-1β ↑、Caspase-3 ↑、Caspase-9 ↑、细胞色素 c ↑、Bcl-2 ↓、Bax ↑、BDNF ↓、TrkB ↓、磷酸肌醇-3-激酶 PI3K ↓、海马脑源性神经营养因子 (BDNF)、TrkB、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 蛋白 ↓
免疫荧光法 (3. 37%) Immunofluorescent staining (3. 37%)	黑质酪氨酸羟化酶 (TH) 的表达 ↓、小胶质细胞 (IBA-1) ↑
实时荧光定量聚合酶链式反应 法 (6, 3. 37%) RT-PCR (6, 3. 37%)	黑质 TH mRNA ↓、编码线粒体呼吸链酶复合物 I 的 ND1、ND4 mRNA ↓、下丘脑组织中 Beclin-1 mRNA ↑、HSP70、HSC70、MEF2D mRNA ↓、黑质及纹状体中 Dnmt1、Dnmt3a、Dnmt3b 蛋白 ↑
MTT 比色法 (2, 1. 12%) MTT assay (2, 1. 12%)	脑线粒体呼吸链酶复合物 I、II、III 和 IV 的活性 ↓、线粒体活性 ↓

表 4 6-OHDA 模型的常用生化检测方法及其指标

Table 4 Common biochemical detection methods and index of 6-OHDA model

实验名称 Name	检测指标 Test indicators
酶联免疫吸附测定法 (11, 6. 18%) ELISA (11, 6. 18%)	5-羟色胺 (5-HT)、DOPAC 和 HVA 的表达 ↓、MAO-B ↑、中脑中 α-syn ↑、TH ↓、LAMP-2A ↓、HSP70 ↓、MEF2D ↓、脑组织中超氧化物歧化酶 (SOD) ↓、GSH ↓、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) ↓、一氧化氮合酶 (NOS) 水平 ↓、黑质及纹状体中 DNA 总体甲基化水平 ↓、纹状体 TNF-α、IL-1β、IFN-γ、IL-4 的含量 ↑、中脑黑质中 TNF-α、IL-6 ↑、纹状体 DA 含量 ↓、Ach 含量 ↑、NO ↑、ROS ↑、MDA ↑
高效液相色谱 (11, 7. 30%) HPLC (11, 7. 30%)	黑质及纹状体组织胞嘧啶 ↑、5-甲基胞嘧啶 ↓、纹状体 DA 含量 ↓、纹状体 Glu、GABA 的浓度 ↓、去甲肾上腺素 (NE) ↓、海马中多巴胺 (DA)、去甲肾上腺素 (NE) ↓
分光光度计法 (1, 0. 56%) Spectrophotometer (1, 0. 56%)	SOD ↓、GSH-Px ↓、NOS ↓、丙二醛 (MDA) ↑
高效液相色谱-荧光检测法 (1, 0. 56%) HPLC-fluorescence analysis (1, 0. 56%)	脑组织中 5-HT 水平 ↓
高压液相色谱法 (1, 0. 56%) HPLC (1, 0. 56%)	DA、3,4-二羟基苯甲酸 (DOPAC)、高香草酸 (HVA)、5-羟色胺 (5-HT) ↓
反相色谱柱法 (1, 0. 56%) RPC (1, 0. 56%)	DA 水平 ↓

2. 4. 1 6-OHDA 模型在单味中药提取物及有效组分对 PD 防治作用研究中的应用

崔爽等^[44]采用右侧黑质单点注射 6-OHDA 建立模型,造模成功后予以杜仲醇提取物联合左旋多巴治疗,在给药 7 d 后发现联合治疗显著改善了模型大鼠运动功能的损伤,提高了黑质 TH 蛋白表达和 DA 水平,并恢复 SOD、GSH-Px 及 NOS 水平,降低了 MDA 水平;陈子方等^[51]采用 SN+VTA 注射 6-OHDA 建立模型,持续 21 d 灌胃天麻提取物,发现

天麻提取物低中高剂量组均有降低阿扑吗啡导致的 PD 大鼠旋转圈数的趋势,其中高剂量还可以显著增加水迷宫实验中平台象限距离百分比 (PT%) 和停留时间百分比 (T%),证明了天麻提取物能显著改善 PD 大鼠的运动障碍和学习记忆能力;文晓东等^[52]采用单侧 CPu 注射,对各组大鼠脑组织中线粒体呼吸链酶复合物 I、II、III、IV 的活性进行了检测,发现乌梅总黄酮高剂量组可恢复 PD 模型脑组织中线粒体呼吸链酶复合物活性的下降,可能通过

调节线粒体功能障碍等途径来保护 PD 大鼠的 DN 神经元;池彬彬等^[53]采用单侧 MFB 损伤 14 d 后造成 PD 模型,研究发现人参皂苷 Rb 与左旋多巴联用可预防 PD 异动症的发生,且 Rb 能显著改善大鼠纹状体内 mGluR1 和 PV 表达水平的下降;尹帅领等^[54]将 6-OHDA 注入右侧 CPu 建立模型,予以造模成功大鼠肉苁蓉多糖灌胃治疗,持续 10 d,结果显示肉苁蓉多糖可显著恢复模型动物游泳不动时间缩短,自主活动站立次数下降的现象,增加 Wnt1、 β -catenin 蛋白水平,降低 GSK-3 β mRNA 水平;没食子酸是茯苓的主要活性成分提取物之一,秦劭晨等^[55]通过右侧 VTA 注射制备 PD 模型,发现没食子酸可显著减少 PD 大鼠的旋转圈数,增加转棒停留时间,并可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路来降低 PD 大鼠的氧化应激损伤。

2.4.2 6-OHDA 模型在中药复方对 PD 防治作用研究中的应用

王伟为等^[50]采用单侧 SNc+VTA 注射建立 6-OHDA 模型探究补肾止颤方(熟地、山茱萸、山药、肉苁蓉)的抗 PD 作用,在给药 10 d 和 20 d 后分别进行行为学检测,发现补肾止颤方可以在损伤早期降低 PD 大鼠阿扑吗啡诱导的转圈次数,增加 PD 大鼠 DN 的表达,降低神经损伤;李晓明等^[56]采用 6-OHDA 单侧损毁 SN 联合附子汤灌胃建立肝阳上亢型 PD 模型,探究镇肝熄风汤(怀牛膝、代赭石、生牡蛎、生龙骨、生龟板、生白芍、元参、天冬、生麦芽、川楝子、茵陈、甘草)的抗 PD 作用机制,结果表明镇肝熄风汤可以显著降低 PD 大鼠中脑 MDA 含量,上调 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达;常学辉等^[57]采用单侧 SNc 注射造模,予以龟龄帕安丸(由龟板、羚羊角、全蝎、威灵仙、厚朴等药物组成郑卫制剂 Z04010162)持续 30 d 灌胃治疗,结果显示龟龄帕安丸可有效提高 PD 大鼠中脑黑质 Beclin1 和 LC3 II 蛋白表达,降低 P62 的表达,提高细胞自噬活性;邵跃斌^[58]采用单侧两点 SN 注射,模型成功后给与杞菊地黄丸 2 g/kg(枸杞子、菊花、熟地黄、酒萸肉、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻)灌胃联合针刺阳陵泉穴治疗,连续治疗 4 周后,联合治疗组大鼠的 GSH、SOD 含量,BDNF 表达量均显著升高;霍绮雯等^[59]利用 CPu 两点注射 6-OHDA 模型探究《证治准绳·类方》中经典方剂定振丸(天麻、秦艽、全蝎、生地、熟地、当归、川穹、白芍、防风、白术、黄芪、石决明、生牡蛎、钩藤)对 PD 的改善作用,结果显示,定振丸能显著增高

PD 大鼠 DA、DOPAC、HVA、5-HT、SOD、GSH-Px 水平,具有改善儿茶酚胺类神经递质及黑质 DN 氧化应激的作用,下调 Bax、Caspase-3 蛋白表达,上调 Bcl-2 蛋白表达,具有抑制 DN 凋亡的作用;滕龙等^[60]采用单侧 SN 两点注射,腹腔注射左旋多巴+苄丝肼建立阴虚动风证异动症模型,予以中药复方地黄方(熟地黄、钩藤、珍珠、白芍、丹参、石菖蒲、全蝎、绿茶),发现中药复方地黄方可降低 AIM 评分,改善左旋多巴诱发的异动症现象。

3 小结

PD 是以震颤、肌强直、运动迟缓为主要临床表现的神经退行性疾病,为了进一步探究其病因及治疗,研究者们根据 PD 的临床和病理表现建立不同的动物模型,本综述总结了 6-OHDA 模型的特点,为选择 6-OHDA 模型的研究者提供一些参考:(1)6-OHDA 模型最常用的品系是 SD 或 Wistar 大鼠,为避免雌性大鼠激素周期等对行为学实验的干扰,若无特殊研究需求,可选雄性大鼠;(2)造模大鼠的品系及体重应当与注射位点坐标所参考的脑立体定向图谱基本一致,尽量避免因种属和重量带来的造模不稳定性,提高成功率。(3)双侧损伤创伤较大,死亡率高,推荐使用单侧损伤。(4)6-OHDA 注射部位、剂量的不同,可诱导不同的损伤类型,SN 和 MFB 部位注射所导致的 DA 能神经元损伤较大,通常用于制备晚期 PD 模型;CPu 注射部位造成的 DN 损伤较低,可用于制作早中期 PD 模型;VTA 部位通常与 SNc 或 MFB 联合注射,增加模型的成功率。(5)6-OHDA 注射后导致 DN 发生渐进性损伤,腹腔或皮下注射 DA 受体激动剂 APO 或释放剂 D-amp 会诱导动物产生向健侧或患侧旋转的行为,通常以旋转实验中的评价转圈次数(r/min)指标来作为模型是否成功的标准。(6)6-OHDA 操作简单、动物成本低、行为学变化持续时间长,不易自行恢复,但无法模拟 PD 患者产生 LB 的病理特征,因此在选择该模型时需要注意,若要探究 LB 的相关成因和机制,不宜选择 6-OHDA 模型。(7)抗 PD 中药研究的应用中,通常采用灌胃给药的干预方式,少数采取腹腔注射的干预方式。部分研究选择造模完成后,先通过旋转实验将造模成功的动物纳入,再行分组干预,也有部分研究选择在造模前提前干预,以探究药物的预防作用,但不管选种方式,应注意 6-OHDA 造成的模型损伤较大,因此干预周期不可太短。

综上所述,通过分析 6-OHDA 大鼠模型的动物品系、性别、体重、造模部位和检测方法,以期抗 PD 中药的药效研究提供模型方案参考。

参考文献:

- [1] Blesa J, Przedborski S. Parkinson's disease; animal models and dopaminergic cell vulnerability [J]. *Front Neuroanat*, 2014, 8: 155.
- [2] Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease [J]. *Lancet*, 2015, 386(9996): 896-912.
- [3] Blandini F, Armentero MT. Animal models of Parkinson's disease [J]. *FEBS J*, 2012, 279(7): 1156-1166.
- [4] Jagmag SA, Tripathi N, Shukla SD, et al. Evaluation of models of Parkinson's disease [J]. *Front Neurosci*, 2016, 92: 503.
- [5] Ungerstedt U, Ljungberg T, Steg G. Behavioral, physiological, and neurochemical changes after 6-hydroxydopamine-induced degeneration of the nigro-striatal dopamine neurons [J]. *Adv Neurol*, 1974, 5: 421-426.
- [6] Litvan I, Halliday G, Hallett M, et al. The etiopathogenesis of Parkinson disease and suggestions for future research [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2007, 66(4): 251-257.
- [7] Rodríguez M, Barroso-Chinea P, Abdala P, et al. Dopamine cell degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in the rat: similarities with cell loss in Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2001, 169: 163-181.
- [8] Fine JM, Forsberg AC, Renner DB, et al. Intranasally-administered deferoxamine mitigates toxicity of 6-OHDA in a rat model of Parkinson's disease [J]. *Brain Res*, 2014, 1574: 96-104.
- [9] Olds ME, Jacques DB, Kopyov O. Behavioral and subthalamic effects of combining a fetal ventral mesencephalic transplant in striatum with an electrolytic lesion of the entopeduncular nucleus in the rat with a unilateral 6-OHDA lesion of substantia nigra [J]. *Synapse*, 2003, 48: 90-99.
- [10] 牛朝诗, 杨艳艳. 双靶点注射 6-OHDA 建立帕金森病大鼠模型并提高成功率 [J]. *立体定向和功能神经外科杂志*, 2008, 21(5): 257-262.
- [11] Tsang KL, Ho SL, Lo SK. Estrogen improves motor disability in Parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations [J]. *Neurology*, 2000, 54(2): 2292-2298.
- [12] 杨黎江, 孔淑贞, 马元怡, 等. 帕金森氏病发病率的性别差异及机制的动物实验研究 [J]. *昆明医学院学报*, 2009, 30(11): 23-27.
- [13] Kirik D, Rosenblad C, Bjorklund A. Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastratial 6-hydroxydopamine in the rat [J]. *Exp Neurol*, 1998, 152(2): 259-277.
- [14] Cenci MA, Whishaw IQ, Schallert T. Animal models of neurological deficits; how relevant is the rat [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(7): 574-579.
- [15] Wang JY, Yang JY, Wang F, et al. Neuroprotective effect of pseudoginsenoside-f11 on a rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 152798.
- [16] 李进, 孙杰, 赵楠, 等. 3 种不同脑区定点注射 6-OHDA 单侧损伤大鼠帕金森病模型的比较研究 [J]. *河北医科大学学报*, 2016, 37(6): 667-671.
- [17] 范凯, 马坚妹, 马晓凯, 等. 6-羟多巴胺脑内注射制备帕金森病大鼠模型的研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2005, 13(1): 20-22.
- [18] Deumens Ronald, Blokland Arjan, Prickaerts Jos. Modeling Parkinson's disease in rats; an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway [J]. *Exp Neurol*, 2002, 175: 303-17.
- [19] Seeger-Armbruster S, von Ameln-Mayerhofer A. Short- and long-term unilateral 6-hydroxydopamine lesions in rats show different changes in characteristics of spontaneous firing of substantia nigra pars reticulata neurons [J]. *Exp Brain Res*, 2013, 224(1): 15-24.
- [20] 罗蔚锋, 包仕尧, 刘春风, 等. 内侧前脑束不同部位注射 6-羟多巴胺建立帕金森病大鼠模型的对比性研究 [J]. *苏州大学学报(医学版)*, 2007, 27(1): 66-68, 88.
- [21] 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.
- [22] Lee CS, Sauer H, Bjorklund A. Dopaminergic neuronal degeneration and motor impairments following axon terminal lesion by intrastratial 6-hydroxydopamine in the rat [J]. *Neuroscience*, 1996, 72: 641-653.
- [23] Blandini F, Levandis G, Bazzini E, et al. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastratial injection of 6-hydroxydopamine in the rat; new clues from an old model [J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 25: 397-405.
- [24] 韩飞, 李成朋, 魏操, 等. 改良 6-OHDA 注射法建立早期帕金森病大鼠模型 [J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(3): 258-262.
- [25] 王晓晓, 付文玉, 庄文欣, 等. 改良纹状体内两点注射 6-OHDA 法制备大鼠帕金森病模型 [J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(2): 187-192.
- [26] 黄世明, 张锦明, 陈薇, 等. 大鼠单侧纹状体内四点注射 6-羟基多巴胺建立帕金森模型 [J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2017, 26(4): 290-293, 297.
- [27] Kelly PH, Seviour PW, Iversen SD. Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus and corpus striatum [J]. *Brain Res*, 1975, 94: 507-522.
- [28] German DC, Manaye KF. Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): three-dimensional reconstruction in the rat [J]. *Comp Neurol*, 1993, 331(3): 297-309.
- [29] Iancu K, Mohapel P, Brundin P, et al. Behavioral characterization of unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 162

- (1): 1-10.
- [30] 宣吉浩, 董丽华. 帕金森病大鼠模型制备方法的改良 [J]. 中国实用医药, 2008, 2(5): 9-11.
- [31] 孙雪, 梁建庆, 何建成, 等. 神经毒素诱导帕金森病动物模型的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2020, 49(12): 21-24.
- [32] 杜越群, 陈文新, 林志毅, 等. 不同病程帕金森病大鼠纹状体多巴胺转运蛋白的动态变化 [J]. 神经解剖学杂志, 2015, 31(4): 399-402.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] 刘毅, 杨明会, 窦永起, 等. 6-羟基多巴胺诱发帕金森病大鼠模型的制作和评价 [J]. 解放军医学杂志, 2007, 32(11): 1160-1162.
- [36] 韩飞, 夏克明, 杨斌, 等. 蛋白激酶 C δ 在 6-OHDA 诱导大鼠多巴胺能神经元损伤过程中的作用 [J]. 神经解剖学杂志, 2021, 37(3): 323-328.
- [37] Chen JR, Yang ZQ, Hu TJ, et al. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *potentilla anserina* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(8): 1117-1124.
- [38] 孙玉芝, 赵贝贝, 雒晓东. 6-OHDA 诱导帕金森病大鼠模型行为学及脑内神经递质的动态变化 [J]. 新中医, 2016, 48(9): 225-230.
- [39] Pallavi S, Kumar V, Rizwana T, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24: 680-687.
- [40] Oscar S, Daniel LI, Jorge F, et al. Alterations in dendritic morphology of the prefrontal cortical and striatum neurons in the unilateral 6-OHDA-rat model of Parkinson's disease [J]. *Synapse*, 2007, 61: 450-458.
- [41] Jalewa J, Sharma MK, Gengler S, et al. A novel GLP-1/GIP dual receptor agonist protects from 6-OHDA lesion in a rat model of Parkinson's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 117: 238-248.
- [42] de Araújo DP, De Sousa CN, Araújo PV, et al. Behavioral and neurochemical effects of alpha-lipoic acid in the model of Parkinson's disease induced by unilateral stereotaxic injection of 6-ohda in rat [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 571378.
- [43] 吕颖, 张念平, 徐丽萍, 等. 环孢菌素 A 结合神经干细胞移植对 6-OHDA 大鼠 PD 模型的作用 [J]. 神经解剖学杂志, 2017, 33(6): 723-730.
- [44] 崔爽, 陈岩岩, 周淑娟, 等. 杜仲乙醇提取物联合左旋多巴对 6-OHDA 诱导帕金森模型大鼠的抗氧化作用 [J]. 中医学报, 2020, 35(12): 2636-2641.
- [45] Metz GA, Tse A, Ballermann M, et al. The unilateral 6-OHDA rat model of Parkinson's disease revisited: an electromyographic and behavioural analysis [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22: 735-744.
- [46] 王月平, 王举磊, 高国栋. 帕金森病大鼠丘脑底核的时间相关性放电模式分析 [J]. 神经解剖学杂志, 2007, 23(5): 485-488.
- [47] Kinga K, Tomasz L, Jolanta K, et al. Depressive-like neurochemical and behavioral markers of Parkinson's disease after 6-OHDA administered unilaterally to the rat medial forebrain bundle [J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69: 985-994.
- [48] Minaei A, Sarookhani MR, Haghdoust YH, et al. Hydrogen sulfide attenuates induction and prevents progress of the 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rat through activation of ATP-sensitive potassium channels and suppression of ER stress [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 15(423): 115558.
- [49] 尹丰, 田增民, 赵全军, 等. 6-羟基多巴胺内注射建立帕金森病大鼠模型的实验研究 [J]. 海军总医院学报, 2007, 6(2): 75-79.
- [50] 王伟, 高晗, 李文涛. 补肾止颤方对 6-OHDA 诱导的帕金森病模型大鼠神经保护作用的研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(9): 3270-3276.
- [51] 陈子方, 沈凡艺, 李江蕊, 等. 天麻提取物抗帕金森病作用的实验研究 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(22): 20-23, 27.
- [52] 文晓东, 罗宁, 王春玲, 等. 乌梅总黄酮对帕金森病大鼠脑线粒体呼吸链酶复合物影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(10): 27-31.
- [53] 池彬彬, 连晓媛. 人参皂苷组联合左旋多巴治疗 6-OHDA 诱导帕金森模型及其潜在机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(9): 702.
- [54] 尹帅领, 王海波, 杨硕. 肉苁蓉多糖通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路对 6-OHDA 致帕金森病大鼠的神经保护作用 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(8): 1227-1230.
- [55] 秦昶晨, 王爱梅, 万晓波. 没食子酸对 6-羟基多巴胺诱导帕金森模型大鼠的抗氧化作用机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(6): 86-90.
- [56] 李晓明, 张红宇, 綦艳秋, 等. 镇肝熄风汤对帕金森病肝阳上亢证大鼠脑组织氧化应激的影响 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2588-2590.
- [57] 常学辉, 张良芝, 李天佛. 龟龄帕安丸对帕金森病大鼠中脑黑质病, Beclin1, P62 及 LC3 II 影响的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(1): 5-7, 261-264.
- [58] 邵跃斌. 杞菊地黄丸配合针刺阳陵泉对帕金森大鼠神经保护机制研究 [J]. 数理医药学杂志, 2020, 33(11): 1668-1670.
- [59] 霍绮雯, 谭峰, 林东雄, 等. 定振丸对帕金森病大鼠神经递质及黑质多巴胺能神经元氧化应激的改善作用 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 604-610.
- [60] 滕龙, 洪芳, 何建成. 中药复方地黄方对帕金森病异动症模型大鼠神经行为学动态变化的研究 [J]. 浙江中医杂志, 2016, 51(6): 411-413.