Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۶/هفته اول مهر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۵

القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش صحرایی

آرمان رحیمی[۱]، دکتر فرنوش خسروبخش[۲]، دکتر اسماعیل ایزدپناه[۳]، دکتر کامبیز حسن‌زاده[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: از دیرباز محققین برای شناخت بهتر بیماری پارکینسون و یافتن راهکارهای درمانی، اقدام به ایجاد مدل‌های حیوانی نموده‌اند و از آن جایی که به طور کلی تکرار پذیری آزمایش‌ها در حیوانات آزمایشگاهی همیشه با مشکلاتی همراه است، با آزمایش‌های رفتاری صحت مدل را تأیید می‌کنند. از این رو، هدف از پژوهش حاضر ایجاد یک مدل حیوانی صحیح و با قابلیت تکرار از بیماری پارکینسون می‌باشد.

روش‌ها: موش‌های صحرایی نر با وزن ۵۰ g ± ۴۰۰ و سن ۱۲-۱۰ ماه، دوزهای مختلف روتنون (۳ mg/kg، ۲ و ۱) یا حامل آن را به صورت زیرجلدی هر ۴۸ ساعت یک بار دریافت نمودند. به منظور بررسی ایجاد مدل سه آزمایش رفتاری روتاورد، ریرینگ و بار انجام شد.

یافته‌ها: دادن سم روتنون (۲ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت، روشی کارآمد با میزان مرگ و میر پایین بود؛ به طوری که در این روش، القای مدت زمان حفظ تعادل در آزمایش روتاورد و مهارت‌های حرکتی در آزمایش ریرینگ به طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵۰$) کاهش یافت. از طرفی، میزان جمود عضلانی در آزمایش بار در حیوانات دریافت کننده‌ی روتنون در مقایسه با گروه دریافت کننده‌ی حامل به طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵۰$) افزایش نشان داد. به علاوه، میزان همبستگی بین آزمایش‌های رفتاری، از لحاظ آماری مؤید ایجاد علایم رفتاری مدل بود.

نتیجه‌گیری: در میان دوزهای به کار رفته جهت القای پارکینسون، سم روتنون (۲ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت بهترین روش با قابلیت تکرار بود.

واژگان کلیدی: بیماری پارکینسون، روتنون، روتاورد، آزمایش

ارجاع: رحیمی آرمان، خسروبخش فرنوش، ایزدپناه اسماعیل، حسن‌زاده کامبیز. **القای مدل بیماری پارکینسون توسط روتنون در موش صحرایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۶): ؟؟

مقدمه

بیماری پارکینسون یکی از رایج‌ترین اختلالات مربوط به تخریب سیستم اعصاب مرکزی و دومین بیماری رایج در دسته‌ی بیماری‌های تحلیل برنده‌ی اعصاب می‌باشد که در ۱ درصد افراد بالای ۶۰ سال و ۴ درصد افراد بالای ۸۰ سال رخ می‌دهد (۱). این بیماری به صورت کلاسیک با از دست رفتن نورون‌های دوپامینرژیکی مشخص می‌شود که در مغز میانی از ناحیه‌ی توده‌ی سیاه به جسم مخطط امتداد می‌یابند و آن را عصب‌دهی می‌کنند. در خلال بیماری پارکینسون، این سلول‌ها دچار مرگ سلولی و آپوپتوز می‌شوند (۲). نشانه‌های حرکتی بیماری پارکینسون نیز ناشی از مرگ همین سلول‌های تولید کننده‌ی دوپامین در ناحیه‌ی توده‌ی سیاه است که از جمله‌ی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
۲- استادیار، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴- استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر کامبیز حسن‌زاده
Email: kambizhassanzadeh@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌ها می‌توان به رعشه، سفتی عضلات، کندی و دشواری حرکت و گام برداشتن اشاره کرد (۳).

در مراحل بعدی و با پیشرفت بیماری، مشکلات شناختی و رفتاری و حتی زوال عقل نیز ممکن است بروز یابد (۳). پارکینسون بیماری مزمنی است که ممکن است پس از تشخیص، ۲۰-۱۰ سال به طول بینجامد و به تدریج پیشرفت کند و در نهایت، موجب مرگ بیمار شود (۳). با توجه به شیوع رو به گسترش این بیماری، یافتن راهکارهای درمانی مناسب جهت کنترل این بیماری از اهمیت به سزایی برخوردار است.

به منظور مطالعه‌ی بیماری پارکینسون و مکانیسم‌های مولکولی آن و نیز تغییرات رفتاری و پاتولوژیک در این بیماری، در دست داشتن مدل های حیوانی این بیماری ضروری است. از این رو، محققین اقدام به ایجاد مدل بیماری پارکینسون در حیوانات آزمایشگاهی نموده‌اند. روش‌های ایجاد مدل پارکینسونی به سه گروه اصلی مدل‌های ژنتیکی (۴)، مدل‌های ویروسی (۷-۵) و مدل‌های القا شده با سموم عصبی (۸) تقسیم‌بندی می‌شود.

روش اخیر نسبت به دو روش دیگر ارزان‌تر و ساده‌تر است و به همین دلیل، کاربرد بیشتری در بین محققین دارد. مهم‌ترین سموم این گروه عبارت از MPTP (۱-methyl-۴-phenyl-۱,۲,۳,۶-tetrahydropyridine)، ۶- هیدروکسی دوپامین (۶-OHDA یا ۶-hydroxydopamine)، پاراکوآت (Paraquate) و روتنون هستند. بر اساس مطالعات پیشین، استفاده از مدل‌های پاراکوآت و روتنون به علت نزدیک‌تر بودن به شرایط واقعی گسترش یافته است (۱۰-۹).

نکته‌ی حایز اهمیت در ایجاد مدل، تکرار پذیری و میزان موفقیت آن است و محقق باید شرایط ایجاد مدل را تا حد امکان بهینه نماید. در رابطه با مدل‌های القا شونده با سموم عصبی، این بهینه سازی باید در مواردی همچون دوز تزریق، تعداد تزریق‌ها، فواصل بین تزریق‌ها، طول دوره‌ی تزریق و سن حیوانات انجام شود. از این رو، محقق برای این که بداند در مسیر درستی حرکت می‌کند، باید به منظور تأیید مدل، آزمایش های رفتاری اختصاصی را بر روی حیوانات انجام دهد. در میان مدل های حیوانی، مدل سیستمیک سم روتنون علایم رفتاری و فیزیوپاتولوژی بیماری پارکینسون را به طور نسبی شبیه‌سازی می‌کند (۱۲-۱۱). اما از آن جایی که به کارگیری این سم در مطالعات مختلف به روش های متفاوتی است و از یک پروتکل منسجم و استاندارد پیروی نمی‌کند، هدف از مطالعه‌ی حاضر ایجاد یک مدل حیوانی از بیماری پارکینسون توسط روتنون با اعتبار و تکرار پذیری بالا بود.

روش‌ها

حیوانات: در این آزمایش، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۵۰ g ± ۴۰۰ و سن ۱۲-۱۰ ماه به صورت تصادفی انتخاب شدند. حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس (۲ موش در هر قفس) و در سیکل شبانه‌روزی طبیعی نگهداری می‌شدند. غذای استاندارد و آب به مقدار کافی در دسترس حیوانات قرار داشت و دمای محیط ۲۳ ± ۲ °C بود.

گروه‌بندی حیوانات: گروه‌های مورد شامل گروه دریافت کننده‌ی روتنون با دوز mg/kg/۴۸h ۱، گروه دریافت کننده ی روتنون با دوز mg/kg/۴۸h ۲، گروه دریافت کننده‌ی روتنون با دوز mg/kg/۴۸h ۳ و

www.SID.ir

Archive of SID

گروه دریافت کننده‌ی حامل روتنون با دوز ۱ ml/kg/۴۸h (گروه شاهد) بودند. در تمامی گروه‌ها، تزریقات به صورت زیرجلدی انجام شد و در هر گروه، ۸ سر موش قرار داشت.

مواد شیمیایی: جهت القای مدل پارکینسون از روتنون، روغن آفتابگردان و دی‌متیل سولفوکساید (شرکت سیگما، آمریکا) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا روتنون در دی‌متیل سولفوکساید حل گردید و سپس در روغن آفتابگردان رقیق شد تا با دوزهای (۳، ۲ و ۱ mg/kg) قابل تزریق باشد.

روش کار: به منظور القای بیماری پارکینسون، حیوانات سم روتنون را به صورت زیرجلدی با دوزهای (۳، ۲ و ۱ mg/kg) با فواصل زمانی ۴۸ ساعت به مدت ۱۹ روز دریافت نمودند (۱۱). گروه شاهد نیز تنها حامل روتنون (ترکیب دی متیل سولفوکساید و روغن آفتابگردان) را با دوز ۱ ml/kg/۴۸h دریافت نمود.

روش انجام آزمایش‌های رفتاری

آزمایش روتارود: این آزمایش، یک آزمایش معتبر جهت ارزیابی آسیب های عصبی در جوندگان است و می تواند بارها برای یک حیوان تکرار شود تا قدرت عضلانی، هماهنگی اندام های قدامی و خلفی و تعادلش را سنجش نماید. در این مطالعه، تمامی موش ها قبل از شروع مطالعه تحت یک برنامه‌ی آموزشی ۵ روزه قرار گرفتند تا به یک عملکرد ثابت برسند. به این ترتیب که در هر روز، ۴ نوبت و هر نوبت به مدت ۳۰۰ ثانیه بر روی دستگاه در حال چرخش قرار می گرفتند. سرعت چرخش محور دستگاه در روز اول آموزش، ۱۱ دور در دقیقه بود که در آخرین روز، آموزش به ۱۵ دور در دقیقه رسید. آزمایش روتارود پیش از انجام تزریقات در روز اول و هر ۴۸ ساعت یک بار از روز پنجم به بعد اجرا شد (۱۳).

آزمایش ریرینگ: این آزمایش به منظور سنجش مهارت های حرکتی در موش ها اجرا شد. به طور طبیعی هنگامی که موش در یک محیط جدید و بسته قرار می گیرد، بر اساس رفتار جستجوگرانه‌ای که دارد، روی دو پا بلند می‌شود و با اندام‌های جلویی دیوارهای محیط را لمس می‌کند. عملکرد موش‌های مبتلا به پارکینسون در این آزمایش دچار افت می شود. برای انجام این آزمایش هر یک از موش ها جداگانه به مدت ۵ دقیقه در یک استوانه‌ی شیشه‌ای شفاف (۲۰ cm قطر و ۴۰ cm ارتفاع) قرار گرفتند و برای هر موش، تعداد دفعاتی را که روی دو پا بلند شد و یک یا هر دو دست را بالاتر از سطح شانه‌هایش قرار داد و دیواره‌ها را لمس نمود، شمارش شد. عملکرد موش ها در زیر نور قرمز و یک محیط آرام، با یک دوربین ویدیویی فیلم برداری شد و بررسی و امتیازدهی آن توسط شخصی که نسبت به گروه‌های آزمایشی بی‌اطلاع بود، به انجام رسید (۱۱).

آزمایش بار: این آزمایش نیز به منظور سنجش جمود عضلانی در موش ها به انجام رسید. برای انجام آن، دو اندام جلویی حیوان بر روی میله‌ای به ارتفاع ۱۰ cm قرار داده شد (به عبارت دیگر، نصف ارتفاعی که حیوان در موقعیت ریرینگ دارد) و زمان تا هنگامی که حیوان یک یا هر دو دستش را از روی میله بر می‌داشت، نگه داشته می‌شد. نهایت زمانی که برای انجام این آزمایش در نظر گرفته شد (Cut-off time) ۱۸۰ ثانیه بود (۱۴).

مقادیر یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار تعریف شده‌اند. با توجه به این که توزیع داده‌ها طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

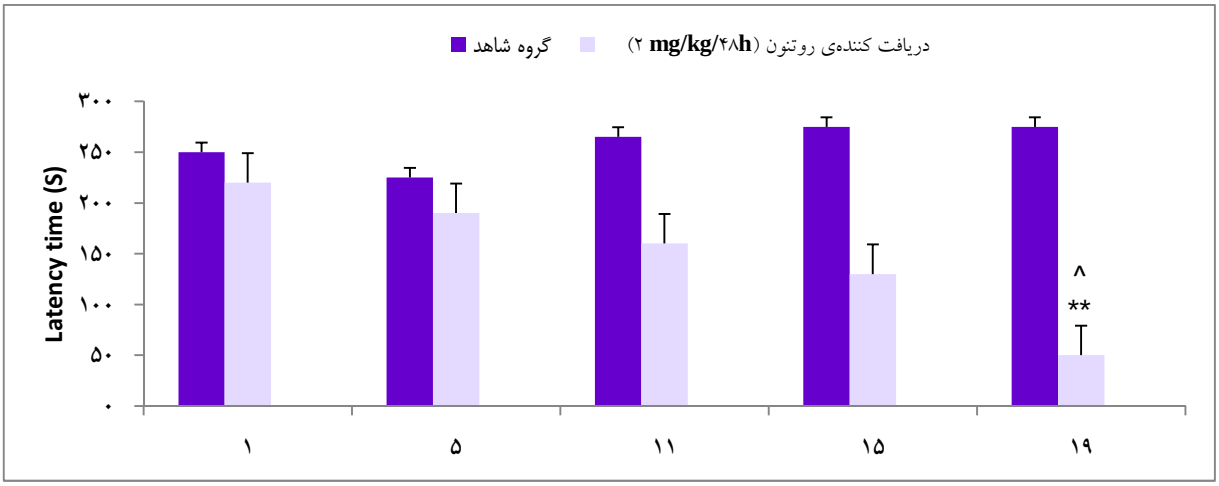
بود (نتایج آزمون Kolmogorov-Smirnov)، جهت آنالیز آماری نتایج گروه روتنون در هر روز با روز اول توسط آزمون t زوجی مقایسه شد. روزی که در آن تفاوت معنی‌دار با روز اول مشاهده شد، به عنوان زمان ایجاد مدل تلقی گردید و در این روز، نتایج با گروه حامل روتنون از طریق آزمون t مستقل مورد مقایسه قرار گرفت. به علاوه، میزان همبستگی آزمایش های رفتاری با استفاده از آزمون Spearman مورد بررسی قرار گرفت. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. تنها داده های مربوط به حیواناتی که تا پایان دوره زنده ماندند، در محاسبات لحاظ شدند.

یافته‌ها

همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نتایج حاکی از افت عملکرد گروه دریافت کننده ی روتنون در آزمایش روتارود در مقایسه با گروه شاهد بود؛ که به نوبه‌ی خود نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار قدرت عضلانی و تعادل می‌باشد ($P < ۰/۰۵۰$).

همچنین بر اساس شکل ۲، نتایج گویای افت معنی‌دار عملکرد در دو آزمایش ریرینگ ($P < ۰/۰۱۰$**) و بار ($P < ۰/۰۰۱$***) بود، که به ترتیب نشان دهنده ی کاهش مهارت های حرکتی و افزایش معنی دار جمود عضلانی در گروه دریافت کننده‌ی روتنون در مقایسه با گروه شاهد است.

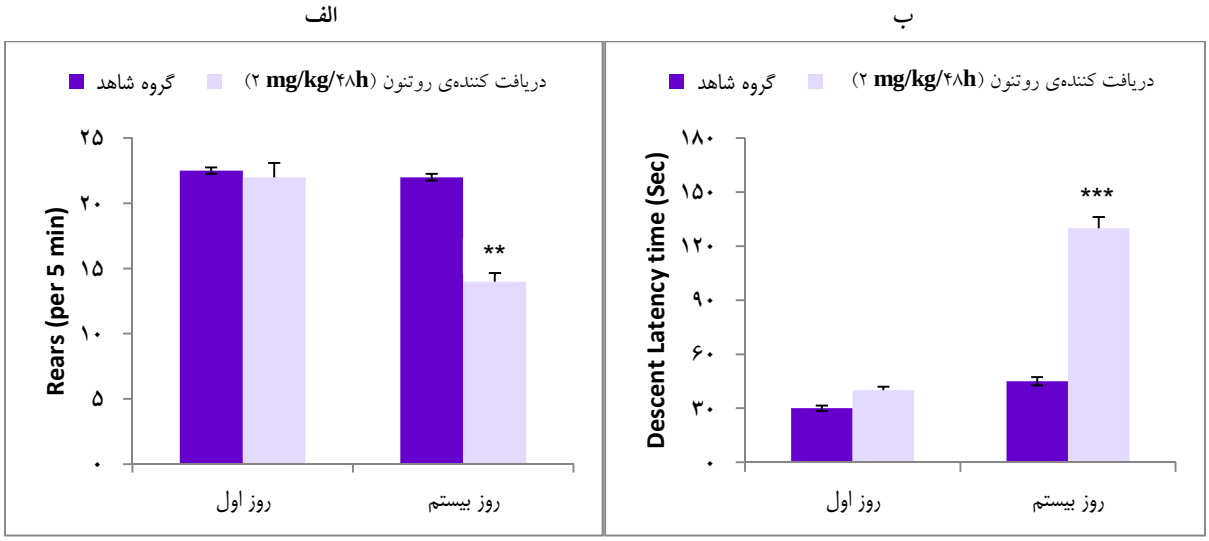
به علاوه، بررسی همبستگی بین دو این آزمایش رفتاری با آزمایش روتارود، در آزمون Spearman نشان داد که نتایج حاصل از آزمایش های رفتاری در این مدل با هم هماهنگ و مؤید همدیگر می‌باشند (شکل ۳- الف و ب)؛ به طوری که مشاهده می شود، با کاهش میزان تعادل و قدرت عضلانی در آزمایش روتارود، میزان مهارت‌های حرکتی نیز کاهش می یابد (شکل ۳- الف) و به موازات آن، میزان جمود عضلانی در آزمایش بار افزایش می‌یابد (شکل ۳- ب). همچنین بین سطح مهارت‌های حرکتی در آزمایش ریرینگ و جمود عضلانی در آزمایش بار، رابطه ی معکوسی وجود دارد؛ به این ترتیب که با کاهش مهارت های حرکتی میزان جمود عضلانی افزایش می‌یابد و بالعکس (شکل ۳- ج).



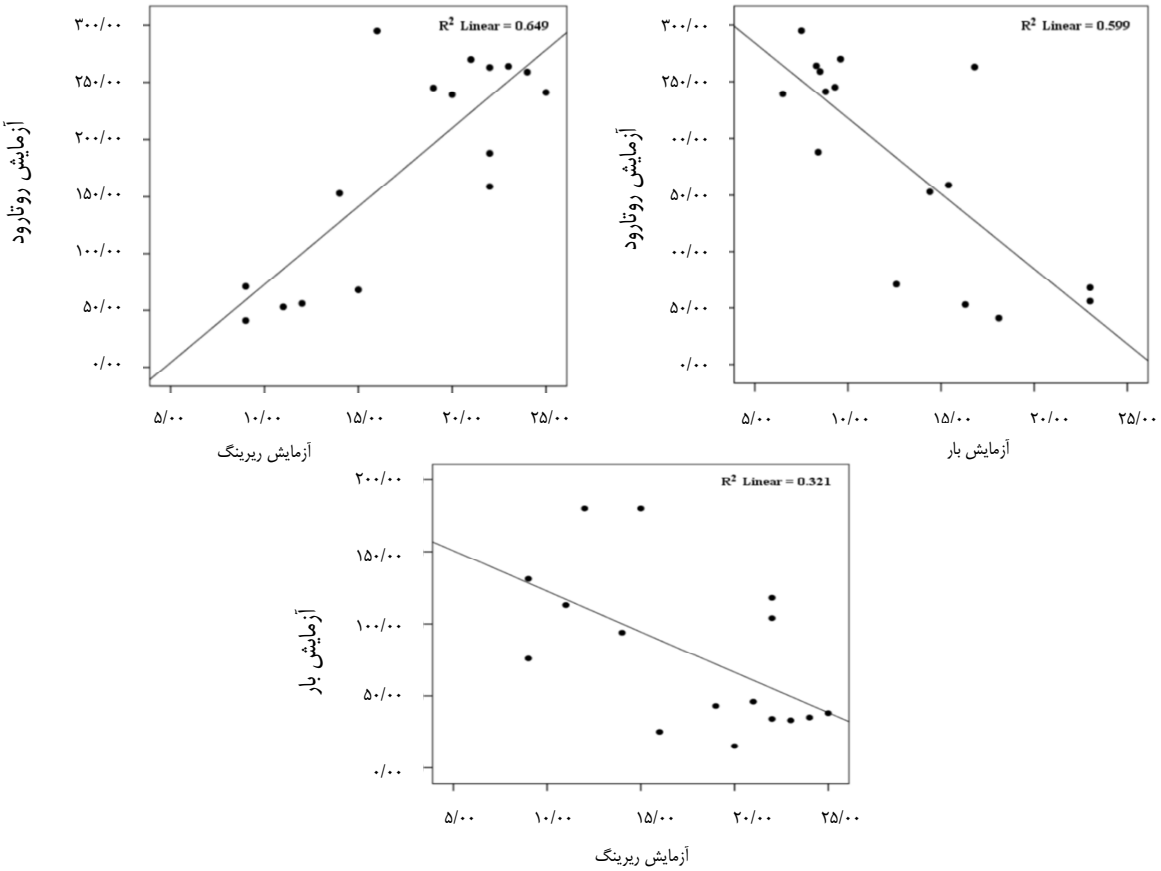
شکل ۱. مقایسه‌ی عملکرد دو گروه شاهد و دریافت کننده‌ی روتنون با دوز mg/kg/۴۸h ۲ در آزمایش روتارود. $P < ۰/۰۱۰$ نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار گروه دریافت کننده‌ی روتنون در آن روز با روز اول در همان گروه می‌باشد. $P < ۰/۰۰۱$ نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد (دریافت کننده‌ی حامل روتنون) می‌باشد.**

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. مقایسه‌ی عملکرد دو گروه شاهد و د ریافت کننده‌ی روتنون با دوز mg/kg/۴۸h ۲، الف) آزمایش ریرینگ ب) آزمایش بار. عملکرد دو گروه در روزهای ۱ و ۲۰ با همدیگر مقایسه شد. ۰/۰۱۰ > P و ۰/۰۰۱ > P*** نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار گروه دریافت کننده‌ی روتنون با گروه شاهد (دریافت کننده حامل روتنون) است**



شکل ۳. نمودار پراکندگی نشان دهنده‌ی میزان همبستگی بین آزمایش‌های رفتاری: الف) روتارود- ریرینگ ب) روتارود- بار ج) ریرینگ- بار که همبستگی آن‌ها به ترتیب در سطح معنی‌داری ۰/۰۱۰ > P، ۰/۰۱۰ > P** و ۰/۰۵۰ > P* مثبت بود**

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج مربوط به دوزهای دیگر

با تزریق زیرجلدی روتنون (۱ mg/kg/۴۸h) و با گذشت زمانی ۲ برابر زمانی که مدل با دوز ۲ mg/kg/۴۸h ایجاد شد، هنوز هیچ‌گونه افت معنی‌داری در عملکرد حیوانات در آزمایش‌های رفتاری نسبت به روز اول خودشان و نیز گروه شاهد نشان نداد و از سویی، نتایج آزمایش‌های رفتاری بسیار متغیر و غیر قابل اعتماد بود و از این رو، از ادامه‌ی آن صرف نظر شد. با تزریق زیرجلدی روتنون (۳ mg/kg/۴۸h) نیز میزان مرگ و میر به قدری بود که در همان هفته‌ی نخست، بیش از ۶۰ درصد حیوانات تلف شدند و علاوه بر افت شدید و ناگهانی عملکرد در آزمایش های رفتاری -که ناشی از اثرات غیر اختصاصی و محیطی سم روتنون بر دیگر اندام‌ها و دستگاه های بدن حیوانات بود و نتایج را نامعتبر می‌ساخت-، به علت پایین آمدن جامعه‌ی آماری و مسایل اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی، از ادامه‌ی تزریقات با این دوز مذکور خودداری گردید.

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر به طور کلی نشان داد که روتنون با دوز (۲ mg/kg/۴۸h) سبب بروز اختلال حرکتی مشابه پارکینسون در حیوانات می‌شود. نتایج آزمایش های رفتاری حاکی از آن بود که تفاوت معنی داری بین گروه شاهد و گروه دریافت کننده ی روتنون (۲ mg/kg/48h) در روزهای ۱۹ و ۲۰ وجود داشت. همچنین بین داده‌های به دست آمده از آزمایش روتارود در گروه شاهد در روز ۱۹ با داده‌های پایه (Baseline) در نخستین روز انجام آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود داشت که در مجموع، نشان می دهد که مدل پارکینسونی با موفقیت ایجاد شده است.

در مطالعه‌ی حاضر، از تزریق زیرجلدی و دراز مدت روتنون استفاده شد؛ چرا که این رویکرد، علاوه بر کاهش مرگ و میر در مقایسه با دیگر روش های سیستمیک، سبب بروز تدریجی علایم حرکتی بیماری پارکینسون و به حداقل رساندن تأثیرات غیر اختصاصی روتنون می‌شود (۱۵). به علاوه، در این بررسی موش‌های با سن بالا به کار برده شدند؛ چرا که نسبت به سم روتنون حساس تر بودند و مدل آن ها شباهت بیشتری با روند ایجاد بیماری در انسان داشت (۱۶).

مدل های حیوانی زیادی برای بیماری پارکینسون وجود دارد که هر کدام مزایا و معایبی دارند؛ اما مدل ایده‌آلی که بتواند تمامی ویژگی‌های کلینیکی و پاتولوژیک بیماری را شبیه سازی کند و به درستی تأثیر داروها و عوامل نوروپروتکتیو را پیش بینی کند، هنوز گزارش نشده است. از میان مدل های موجود، مدل روتنونی از مزایای خاصی برخوردار است؛ از جمله این که با تخریب اختصاصی نورون‌های دوپامینژیک مسیر نیگرو- استریاتال، ویژگی های پاتولوژیک کلیدی پارکینسون را شبیه‌سازی می‌نماید (۱۱).

به علاوه، در مدل روتنونی بسیاری از مسیرهای مولکولی شناخته شده در بیماری پارکینسون مانند استرس اکسیداتیو، آگرگاسیون پروتئینی و نارسایی سیستم پروتئازومی فعال هستند (۱۷). از دیگر مزایای مدل سیستمیک روتنونی، سهولت اجرا، تکرار پذیری و موفقیت بالا بدون عمل جراحی، تدریجی بودن روند و قابلیت سنجش داروهای نوروپروتکتیو می‌باشد (۱۸، ۱۴). تنها محدودیت اصلی مدل

www.SID.ir

Archive of SID

روتنونی متغیر بودن آن در دو مورد «درصد حیواناتی که مدل در آن‌ها ایجاد می‌شود» و «شدت مدل بیماری» است.

در مطالعه‌ی حاضر که از تزریق زیرجلدی و مزمن روتنون (۲ mg/kg/48h) استفاده شد، مدل به طور تقریبی در تمامی حیوانات ایجاد شد و نیز اختلاف کمی میان عملکرد حیوانات در گروه دریافت کننده ی روتنون وجود داشت که حاکی از تکرار پذیری، ثبات و موفقیت مدل است و آن را برای مطالعات نوروپروتکتیو مناسب می‌سازد (۱۱).

آزمایش روتارود یک آزمایش معتبر برای ارزیابی آسیب‌های عصبی در جوندگان است و می‌تواند به طور مکرر برای سنجش تعادل و هماهنگی میان اندام‌های قدامی و خلفی مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). همچنین مطالعات پیشین ثابت می‌کنند زمانی که موش‌ها قادرند بر روی دستگاه روتارود در حال چرخش تعادل خود را حفظ کنند، با از دست رفتن نورون‌های دوپامینرژیک، این وضعیت معکوس می‌شود و این توانایی از دست می‌رود (۱۹). از این رو، این آزمایش مبنای اصلی برای تشخیص زمان ایجاد مدل قرار گرفت. دو آزمایش ریرینگ و بار نیز از جمله آزمایش‌های رفتاری معتبر برای سنجش علایم حرکتی در مدل‌های پارکینسونی هستند (۱۴، ۱۱). اما تا کنون از این سه آزمایش به صورت همزمان در یک مطالعه استفاده نشده بود. در مطالعه ی حاضر با استفاده ی همزمان از این سه آزمایش، علاوه بر این که ثابت گردید مدل ایجاد شده جنبه‌های حرکتی مختلف بیماری پارکینسون را شبیه سازی نموده است، وجود همبستگی بین آن‌ها با استفاده از آزمون Spearman نشان داده شد، که این خود اثباتی برای راهبردی بودن و هماهنگی بین این سه آزمایش در مدل ایجاد شده است و به نوبه‌ی خود، صحت ایجاد مدل را با اطمینان بیشتر تأیید می‌نماید.

نتایج مطالعه‌ی حاضر در مجموع نشان داد که به کارگیری روتنون با دوز ۲ mg/kg/48h، سبب بروز اختلال حرکتی و ایجاد مدل پارکینسونی گردید. هر چند از میان دوزهای به کار رفته در مطالعه‌ی حاضر، این دوز مناسب‌تر از بقیه بود؛ اما به نظر می‌رسد در تأیید این مدل، انجام مطالعات بافت‌شناسی و بررسی مسیرهای مولکولی به تأیید آن به عنوان یک مدل استاندارد کمک شایانی می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاس خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان به دلیل حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند.

References

1. de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. Lancet Neurol 2006; 5(6): 525-35.
2. Choi WS, Palmiter RD, Xia Z. Loss of mitochondrial complex I activity potentiates dopamine neuron death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. J Cell Biol 2011; 192(5): 873-82.
3. Thomas B, Beal MF. Molecular insights into Parkinson's disease. F1000 Med Rep 2011; 3: 7.
4. Potashkin JA, Blume SR, Runkle NK. Limitations of animal models of Parkinson's disease. Parkinsons Dis 2010; 2011: 658083.
5. Ogata A, Tashiro K, Nukuzuma S, Nagashima K, Hall WW. A rat model of Parkinson's disease induced by Japanese encephalitis virus. J Neurovirol 1997; 3(2): 141-7.
6. Fishman PS, Gass JS, Swoveland PT, Lavi E,

www.SID.ir

Archive of SID

Highkin MK, Weiss SR. Infection of the basal ganglia by a murine coronavirus. Science 1985; 229(4716): 877-9.
7. Takahashi M, Yamada T, Nakajima S, Nakajima K, Yamamoto T, Okada H. The substantia nigra is a major target for neurovirulent influenza A virus. J Exp Med 1995; 181(6): 2161-9.
8. Bove J, Prou D, Perier C, Przedborski S. Toxin-induced models of Parkinson's disease. NeuroRx 2005; 2(3): 484-94.
9. Shen WB, McDowell KA, Siebert AA, Clark SM, Dugger NV, Valentino KM, et al. Environmental neurotoxin-induced progressive model of parkinsonism in rats. Ann Neurol 2010; 68(1): 70-80.
10. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. Neuron 2003; 39(6): 889-909.
11. Cannon JR, Tapias V, Na HM, Honick AS, Drolet RE, Greenamyre JT. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. Neurobiol Dis 2009; 34(2): 279-90.
12. Newhouse K, Hsuan SL, Chang SH, Cai B, Wang Y, Xia Z. Rotenone-induced apoptosis is mediated by p38 and JNK MAP kinases in human dopaminergic SH-SY5Y cells. Toxicol Sci 2004; 79(1): 137-46.
13. Urbach YK, Bode FJ, Nguyen HP, Riess O, von HS. Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. Methods Mol Biol 2010; 597: 333-56.
14. Xiong N, Xiong J, Khare G, Chen C, Huang J, Zhao Y, et al. Edaravone guards dopamine neurons in a rotenone model for Parkinson's disease. PLoS One 2011; 6(6): e20677.
15. Fleming SM, Zhu C, Fernagut PO, Mehta A, DiCarlo CD, Seaman RL, et al. Behavioral and immunohistochemical effects of chronic intravenous and subcutaneous infusions of varying doses of rotenone. Exp Neurol 2004; 187(2): 418-29.
16. Phinney AL, Andringa G, Bol JG, Wolters EC, van Muiswinkel FL, van Dam AM, et al. Enhanced sensitivity of dopaminergic neurons to rotenone-induced toxicity with aging. Parkinsonism Relat Disord 2006; 12(4): 228-38.
17. Betarbet R, Canet-Aviles RM, Sherer TB, Mastroberardino PG, McLendon C, Kim JH, et al. Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. Neurobiol Dis 2006; 22(2): 404-20.
18. Sherer TB, Betarbet R, Testa CM, Seo BB, Richardson JR, Kim JH, et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. J Neurosci 2003; 23(34): 10756-64.
19. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. Behav Brain Res 2005; 162(1): 1-10.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Isfahan Medical School Received: 19.07.2014

Vol. 32, No. 296, 1st Week, October 2014 Accepted: 16.09.2014

Induction of Parkinson's Disease Model in Rat by Rotenone

Arman Rahimmi[1], Farnoosh Khosrobakhsh PhD[2], Esmael Izadpanah PhD[3], Kambiz Hassanzadeh PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Many efforts have been made to find a proper animal model for Parkinson's disease, in order to improve our knowledge about this disorder and find therapeutic approaches. Generally the reproducibility of experiments in laboratory animals is accompanied by some troubles. Therefore the validity of model is certified by certain behavioral tests. Thus the present study was aimed to find an accurate and reproducible rat model of Parkinson's disease by rotenone.

Methods: Male Wistar rats weighting 400±50 g (10-12 months) received several doses of rotenone (1,2,3 mg/kg) or its vehicle subcutaneously every 48 hours. Three behavioral tests (rotarod, rearing and bar) were run in order to check the development of model.

Findings: Results indicated that rotenone (2 mg/kg/48h) was an efficient dose beside its low mortality. It was found that the latency time of rotarod test and movement skills in rearing test decreased significantly in rotenone (2 mg/kg/48h) treated animals ($p<0.05$). In addition, the results of bar test showed the augmentation of catalepsy in rotenone group compared to vehicle treated animals ($p<0.05$). In addition the statistical correlation between behavioral tests justified the development of movement disorders in the model

Conclusion: According to the results, it was concluded that rotenone (2 mg/kg/48h) was the best approach with reproducible capacity for induction of Parkinson's disease model.

Keywords: Parkinson's disease, Rotenone, Rotarod test

Citation: Rahimmi A, Khosrobakhsh F, Izadpanah E, Hassanzadeh K. **Induction of Parkinson's Disease Model in Rat by Rotenone.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(296): ??.

1- MSc Student, Department of Biological Science and Biotechnology, School of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biological Science and Biotechnology, School of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
4- Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
Corresponding Author: Kambiz Hassanzadeh, Email: kambizhassanzadeh@gmail.com

www.SID.ir