

EVALUAREA DURERII LA UN MODEL ANIMAL DE BOALĂ PARKINSON INDUS CU 6-HIDROXIDOPAMINĂ

PAIN IN A PARKINSON'S DISEASE RODENT ANIMAL MODEL INDUCED WITH 6-HYDROXYDOPAMINE

Iulia Antioch^{*1}, A. Ciobica^{1,2,3}, Daniela Carmen Ababei^{4*}, Radu Lefter⁴,
Oana Dana Arcan⁴, Veronica Bild^{4,2}, Sorin Beschea Chiriac⁵

¹ Department of Research, Faculty of Biology, `Alexandru Ioan Cuza` University, Blvd. Carol I, no. 11, Iasi, Romania

² Center of Biomedical Research of the Romanian Academy, Iasi Branch, Romania

³ The Academy of the Romanian Scientists, Iași, Romania

⁴ Gr.T. Popa` University of Medicine and Pharmacy, str. Universitatii, no. 15, Iasi, Romania

⁵ Department of Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, USAMV Iași

Cuvinte cheie: durerea, boala Parkinson, model animal, 6-OHDA.

Key words: *pain, Parkinson`s disease, animal model, 6-OHDA.*

Abstract

Pain phenomenon, the unpleasant sensory and emotional event, appears to evidently intrude in Parkinson disease (PD), a disease formally considered to be restricted only to motor deficits. Although over a half of persons with PD suffer from pain manifestations, there are very few reports targeting this issue. Considering the cases when motor symptoms of PD are eclipsed by severe pain disclosure, there is an obvious need of clarifying the intricate implications of pain in PD context. Because there are few studies researching the link between pain and PD in clinical context, but as well in animal models we chose to explore the effects of pain stimuli on a rodent model of PD. **Materials and methods:** We experimentally induced a PD model in Wistar rats (n=12) by injecting in the substantia nigra, a brain area known to be involved in PD occurrence, one dose of a 6-hydroxidopamine (6-OHDA) solution (8µm 6-OHDA base and 4µm physiological saline), utilizing neurosurgery, while their control peers received same dose of saline solution. Two weeks after the intervention the animals were subjected to the hot-plate test, a behavioral task for acquiring pain sensitivity. **Results:** There was noticed a statistical significant ($F(1,10) = 5.67, p=0.038$) sensibility of the 6-OHDA rats to thermal pain stimuli (8.2 s ± 0.8 s in 6-OHDA group) as compared to their peers (13.8 s ± 1.6 s in controls). **Conclusions:** The involvement of pain in PD animal models is demonstrated raising questions of how it influences PD evolution. Moreover, this result increases awareness of deficient diagnostic methods of pain in PD and as a consequence, poor treatment of pain manifestations.

Rezumat

Durerea este un fenomen senzorial și emoțional neplăcut ce pare să facă parte din simptomatologia bolii Parkinson (PD), o afecțiune considerată anterior a fi caracterizată doar de deficitul motor specific. Deși mai mult de jumătate din persoanele diagnosticate cu boala Parkinson suferă din cauza durerii, doar foarte puține studii menționează acest aspect. Având în vedere cazurile în care s-au raportat mascarea simptomatologiei motorii de către manifestările dureroase severe prezente în acest context patologic, rezidă necesitatea evidentă de clarificare a acestor situații. Considerând numărul redus al studiilor care cercetează legătura dintre durere și PD atât în context clinic cât și în cazul modelelor animale, am optat pentru explorarea efectelor stimulilor dureroși asupra unui model animal de PD întrebuițând rozătoare. **Materiale și metodă:** Am indus experimental un model animal de PD la șobolani din rasa Wistar (n=12) prin injectarea acestora într-o regiune specifică a creierului cunoscută pentru implicațiile în patologia parkinsoniană, substantia nigra, a unei doze de soluție de 6-hidroxidopamină (6-OHDA; 8µm 6-OHDA bază și 4µm ser fiziologic) întrebuițând neurochirurgia, cât timp

lotului de control i-a fost administrată soluție salină. La două săptămâni după intervenție animalele au fost testate cu ajutorul testului plăcii încinse, o metodă comportamentală de evaluare a percepției durerii. Rezultate: În urma testelor comportamentale pentru durere s-au notat diferențe statistice semnificative între lotul de control ($13.8 \text{ s} \pm 1.6 \text{ s}$ controli) și lotul cu animale de testat ($8.2 \text{ s} \pm 0.8 \text{ s}$ grupul cu 6-OHDA), observându-se o sensibilitate crescută față de durerea termică la șobolanii injectați cu 6-OHDA. Concluzii: Prezența durerii la animalele cu PD indus ridică semne de întrebare cu privire la modul în care acest simptom influențează evoluția afecțiunii în sine. În plus, acest rezultat ar trebui să intensifice conștientizarea lipsei metodelor de diagnosticare a durerii în PD care în consecință conduc către un tratament necorespunzător al durerii.

1. Introducere

Boala Parkinson (PD) este cunoscută mai ales prin disfuncțiile motorii care apar în urma distrugerii bilaterale a neuronilor dopaminergici localizați în substanția nigra din mezencefal (Vlamings et al., 2007). Aceste grave deficiențe motorii, care includ tremor, rigiditate, instabilitate posturală sau bradikinezie (Blaszczyk, 1998), sunt simptome definitorii ale PD, însă cercetările actuale evidențiază o serie de alte aspecte ale acestei boli, care au fost omise în trecut. Astfel, deficiențele cognitive începând de la tulburările ușoare de memorie și până la afecțiuni severe ale intelectului și chiar demență au fost raportate în multiple studii (Avila et al, 2009;. Georgiev et al, 2010;. Kramberger și colab, 2010;. Possin, Filoteo, Song, & Salmon, 2008). Alte aspecte ale bolii descoperite ca făcând parte din simptomatologia PD includ perturbările funcționale intestinale, ale vezicii urinare și durerea (Boivie, 2009).

Este interesant că, deși Parkinson însuși a descris durerea ca o trăsătură specifică a PD (Parkinson, 2002), mecanismele de durere au rămas încă neelucidate, din această cauză durerea fiind subdiagnosticată și ca urmare tratată necorespunzător. Volumul redus de studii din literatura de specialitate care au urmărit durerea în contextul PD, estimează că un procent de 40% dintre pacienții diagnosticați cu PD suferă de durere (Ford, 2010), iar un studiu mai recent efectuat pe un grup mare de pacienți (179 pacienți cu PD) a declarat că peste 83% dintre pacienții prezentau simptomatologie dureroasă (Beiske, Loge, Ronningen, & Svensson, 2009).

Ceea ce este și mai surprinzător este faptul că durerea nu se corelează cu vârsta, severitatea sau durata bolii (Beiske et al., 2009),

transformând astfel problema apariției durerii Parkinsoniene într-o enigmă veritabilă. La fel de interesante sunt rapoartele care afirmă că manifestările de durere din PD pot atinge un grad de severitate ce poate depăși deficitele motorii ale acestei tulburări (Ford, 2010).

În aceste condiții, durerea se prezintă ca un fenomen în contextul PD, lucrarea de față fiind concentrată pe studierea sa. În încercarea de a reproduce condițiile similare bolii umane, un model animal de PD, foarte utilizat la ora actuală, a fost generat prin injectarea 6-hydroxidopaminei (6-OHDA) chiar în zona cerebrală cheie unde degenerarea neuronală este determinantă (substanția nigra). Substanța chimică injectată determină neurodegenerarea într-o manieră selectivă care vizează doar terminalele nervoase ale dopaminei (Berretta et al, 2005; Da Conceicao, Ngo-Abdalla, Houzel, & Rehen, 2010; Iancu, Mohapel, Brundin, & Paul, 2005). În etapa ulterioară a studiului, utilizarea acestui model de rozătoare cu 6-OHDA alături de un grup de control, a permis studiul reacțiilor comportamentale la stimuli algici induși termic în cadrul testului hot-plate.

2. Materiale și Metode

Animalele

Un număr de 12 șobolani Wistar naivi experimental, de sex masculin, cu greutate cuprinse între 200 g și 250 g au fost utilizate în cadrul experimentului. Animalele au fost ținute într-o cameră cu temperatură controlată ($22 \text{ }^\circ\text{C}$), și un ciclu lumină-întuneric precis (ciclu de 12h, care începe la 8: 00h) și adăpostite în grupuri de două sau trei animale per cușcă, cu acces nelimitat la hrană și apă. Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică locală și gestionat în

conformitate cu Declarația de la Helsinki. De asemenea, toate animalele au fost tratate în conformitate cu principiile de bioetică animală din Legea privind Experimentele și sănătatea și bunăstarea animalelor din România, toate procedurile efectuate respectând Directiva Consiliului European din 24 noiembrie 1986 (86/609 / CEE).

Procedurile de neurochirurgie

Toate procedurile chirurgicale efectuate au fost realizate sub anestezie și în condiții aseptice. Șobolanii au fost fixați în dispozitivul steriotaxic cu nasul aliniat 11° sub planul orizontal. Pentru a preveni eventualele rezultate debilitante ale lezărilor bilaterale, au fost efectuate doar lezări unilaterale dreapta. Lezarea neuronilor dopaminergici localizați în substantia nigra au fost indusă utilizând 6-OHDA (Sigma), după cum urmează: bază liberă 6-OHDA ($8 \mu\text{g}$) dizolvată în $4 \mu\text{l}$ ser fiziologic care încorporează acid ascorbic 0,1%. Această soluție a fost administrată prin seringă Hamilton timp de 4,50 min. seringă fiind lăsată în locul respectiv încă 5 minute după injectare, apoi îndepărtată încet. Grupul de control a fost, de asemenea, supus intervenției chirurgicale și injectat cu ser fiziologic, în aceeași zonă a creierului. Coordonatele au fost următoarele: 5,5 mm posterior bregma; 2,0 mm lateral de linia mediană; 7,4 mm ventral la suprafața cortexului (Paxinos, 2006). Testarea durerii a început în a cincisprezecea zi după intervenția chirurgicală și a inclus testul comportamental al plăcii încinse (hot-plate test).

Testul Hot-plate

Acest instrument de investigare a stimulilor algici constă dintr-un dispozitiv proiectat de Ugo Basile, prin care poate fi cuantificată sensibilitatea la durere. Suprafața încălzită a aparatului, menținută la o temperatură de 55°C cu ajutorul unui termostat, este delimitată de un cilindru de plastic care împiedică evadarea șobolanului. Timpul necesar de reacție la stimuli, în acest caz stimuli termici, definește timpul de latență. În experimentul actual a fost monitorizat timpul de latență până la apariția a două manifestări de

comportamente: linsul labei și săritură (Arcan et al, 2013.).

Comportamentul de rotație contralateral

Pentru a verifica dacă leziunile induse în substantia nigra cu 6-OHDA au fost eficiente, a fost utilizat testul comportamentului de rotație, un test caracteristic pentru evaluarea denervării neuronilor dopaminergici (Hudson și colab., 1993). Testul constă în administrarea la șobolani cu leziuni unilaterale substanțe care stimulează producerea de dopamină în partea neafectată, cauzând rotirea șobolanului spre această parte. În experimentul actual a fost administrată pergolida ($0,3 \text{ mg / kg}$) (Herrera-Marschitz, Arbuthnott, & Ungerstedt, 2010), un agonist semisintetic dopaminergic pentru D1 și D2, derivat din ergolină. În urma tesării, rezultatele au confirmat după cum era de așteptat că rozătoare fără leziuni induse de 6-OHDA au prezentat o rotație contralaterală redusă, în timp ce cele supuse tratamentului cu 6-OHDA au prezentat rotație contralaterală mult crescută.

Analizele histologice

La sfârșitul experimentelor, toate animalele testate au fost sacrificate prin decapitare sub anestezie ușoară cu eter. Ulterior, creierul lor au fost îndepărtate și introduse într-o soluție de sucroză/formalină de concentrație 30% fiind apoi congelate și tăiate în secțiuni coronale ($50 \mu\text{m}$), cu ajutorul unui microtom de secționare, colorate cu violet cresyl pentru a verifica punctul de injectare al acului seringii. Din datele experimentale culese, numai informațiile referitoare la leziunile localizate cu acuratețe în substantia nigra au fost introduse în analiza statistică.

Analiza statistică

Comportamentul animalelor înregistrat în cadrul testului hot-plate fost analizat statistic utilizând analiza unidirecțională a varianței (ANOVA). Valoarea F a fost considerată ca având semnificație statistică dacă $p < 0,005$. Toate rezultatele obținute au fost exprimate ca medie \pm SEM.

3. Rezultate

În urma analizei datelor, rezultatele obținute indică faptul că modelul de șobolan obținut prin injectarea de 6-OHDA în substantia nigra înregistrează o scădere semnificativă a valorilor timpului de latență, sugerând o sensibilitate crescută la durere la a șobolanii tratați cu 6-OHDA ($F(1,10) = 5,67$, $P = 0,038$; * $P < 0,05$) comparativ cu lotul de control (Figura 1).

După cum s-a explicat mai sus, timpul de latență reprezintă timpul de reacție măsurat în secunde de la plasarea animalului în dispozitivul hot-plate până la apariția evenimentelor comportamentale specifice ($13,8 \text{ s} \pm 1,6 \text{ s}$ la grupul control vs. $8,2 \text{ s} \pm 0,8 \text{ s}$ la grupul 6-OHDA).

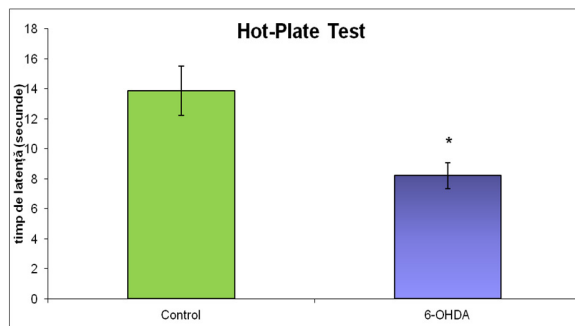


Figura 1. Timpul de latență înregistrat în testul hot-plate, exprimat în secunde. Mediile sunt \pm SEM ($n=7$ grupul control; $n=5$ grupul 6-OHDA). * $p=0.038$ vs. grupul control

4. Discuții

Acest studiu a investigat influența PD asupra percepției durerii la modele animale de rozătoare generate prin administrarea de 6-OHDA. Referitor la protocolul de lucru, la paisprezece zile după efectuarea procedurii chirurgicale de inoculare intranigrală a 6-OHDA, procesul de distrugere a neuronilor dopaminergici este considerat finalizat (Ferro et al., 2005), și având ca efect instalarea deficiențelor cognitive caracteristice pentru modelarea PD. Ulterior, prin expunerea la stimuli termici dureroși a șobolanilor, măsurătorile timpului de latență au indicat o scădere accentuată a rezistenței la durere. Rezultatele obținute sugerează că administrarea în substantia nigra de 6-OHDA

induce sensibilizarea la durere. Aceste constatări sunt în conformitate cu datele anterioare în ceea ce privește manifestările dureroase în contextul PD, subliniind necesitatea de a cuantifica durerea la pacienții diagnosticați cu PD (Ababei, 2015; Beiske et al, 2009; Ford, 2010).

În timp ce problemele motorii ale PD sunt bine cunoscute (tremor, rigiditate, instabilitate posturală, încetinirea mișcărilor), durerea este o altă manifestare a bolii mai puțin explorată. Deși Parkinson însuși a subliniat durerea ca fiind un simptom care însoțește PD, puține studii au urmărit influența sa și intensitatea acesteia în contextul PD. Printre aceste studii, datele colectate indică faptul că aproximativ 40% până la 80% dintre pacienții cu PD se confruntă cu episoade dureroase (Beiske et al, 2009; Ford., 2010).

În cadrul cercetărilor asupra factorilor implicați în cauzalitatea durerii și ocurența PD, o serie de studii indică stresul oxidativ ca fiind un factor comun în ambele condiții. În acest sens, studii recente sugerează radicalii liberi ca fiind importanți factori etiologici implicați în patogeneza și/sau progresia PD, generând tulburări de natură oxidativă ale neuronilor dopaminergici din *substantia nigra* (Bisaglia, Soriano, Arduini, Mämmi, & Bubacco, 2010; Chalimoniuk, Stepien, & Strosznajder, 2004; Ciobîcă, Hritcu, Artenie, & Pădurariu, 2008; Wypijewska et al, 2010). De asemenea, la ora actuală este acceptat faptul că stresul oxidativ ar putea avea o contribuție esențială la durerea persistentă (Khalil, Liu, & Helme, 1999; Kim și colab, 2004; Schwartz, Lee, Chung, & Chung, 2008).

Laboratorul nostru are o istorie bogată în ceea ce privește cercetarea în domeniul PD. Astfel, datele din studiile noastre anterioare, în care a fost folosit, de asemenea, modelul de rozătoare de PD prin administrarea unilaterală de 6-OHDA în *substantia nigra* și în zona ventrală tegmentală, au demonstrat repercusiunile negative ale 6-OHDA asupra capacității de memorie, însoțite de creșterea stresului oxidativ,

ambele fenomene fiind relevante în contextul PD (Hritcu, Ciobîcă, & Artenie, 2008).

Ulterior, după evaluarea performanței acestui model, am încercat testarea de diferite substanțe care ar putea îmbunătăți șansele de recuperare sau cel puțin stopa progresia simptomatologiei PD induse. Astfel, pe aceste linii a fost testată influența administrării nicotinei în doze mici pe parcursul unei perioade scurte de timp pe un model animal de șobolan 6-OHDA, observându-se apoi rezultate benefice asupra proceselor de memorie precum și în reducerea nivelului stresului oxidativ cerebral (Ciobîcă, Pădurariu, & Hrițcu, 2012).

Legătura dintre nicotină și durere ar putea fi foarte puternică, mai multe rapoarte științifice detaliind acțiunile antinociceptive ale nicotinei. Într-o lucrare despre istoria nicotinei ca agent terapeutic este bine specificată funcția acesteia în afecțiunile cu manifestări algice (Powledge, 2004). Lucrarea citează un studiu clinic în care proprietățile analgezice postoperatorii ale nicotinei au fost testate pe 20 de femei supuse intervențiilor ginecologice, cu mențiunea că atât grupul de control cât și cel tratat cu nicotină au avut acces liber la morfina. Rezultatele au indicat un foarte semnificativ potențial analgezic al nicotinei, comparativ cu grupul de control, care a fost supus unui protocol placebo (Powledge, 2004).

Un alt studiu în care a fost urmărită influența administrării nicotinei în diferite subtipuri de durere care apar după leziuni ale coloanei vertebrale, la pacienții fumători și non-fumători, a demonstrat existența unei relații complexe între acești factori. În acest caz pacienții nefumători acuzând simptome neuropatice și musculo-scheletice au raportat reducerea durerii după expunerea la nicotină, în timp ce, dimpotrivă, utilizatorii de tutun cu același tip de durere au acuzat o creștere a severității durerii (Richardson, Ness, Redden, Stewart, & Richards, 2012).

Rezultatele acestor cercetări fac din extinderea studiilor în direcția interacțiunilor dintre nicotină și durere să fie unul din obiectivele esențiale de urmărit în viitorul apropiat. Datorită faptului că agoniștii dopaminei reprezintă una din

opțiunile terapeutice în PD utilizate în practica clinică (Brusa et al., 2005), o altă direcție de cercetare a grupului nostru a fost investigarea efectelor pergolid mesilatului. Așa cum s-a menționat mai sus, acesta este un produs semisintetic ergolinic cu proprietăți dopaminergice agonistice atât pentru atât D1 cât și pentru D2, suspectat însă de a avea și funcții neuroprotective, acesta fiind motivul pentru care ne-am propus explorarea proprietăților sale. În urma testării sale pe același model animal de PD indus cu 6-OHDA, rezultatele noastre au arătat că pergolidul îmbunătățește memoria spațială precum și echilibrul oxidativ la nivel cerebral (Ciobîcă, Olteanu, Pădurariu, & Hritcu, 2012).

Interesul nostru față de acțiunea pergolidului în contextul PD și a diferitelor efecte exercitate la diferite niveluri ale simptomatologiei PD, s-a extins ulterior și asupra modului în care pergolidul influențează sensibilitatea algică, un subiect care în literatura actuală este puțin investigat. Puținele studii referitoare la acest subiect sugerează că acest agonist al dopaminei ar avea un rol potențiator în terapia antinociceptivă utilizând stimulare transcraniană catodică directă prin curent continuu (Terney et al., 2008). Astfel, s-a observat că, pe lângă reducerea semnificativă a durerii experimentale induse prin stimulare catodică transcraniană directă prin curent continuu a cortexului primar, pergolidul a sporit și efectul antinociceptiv contribuind la decrementarea senzației de durere și prelungirea rezultatului analgezic (Terney et al., 2008).

Având în vedere acest potențialul acestor rezultate pozitive asupra durerii în urma administrării pergolidului, grupul nostru de cercetare este interesat în testarea acțiunilor sale în domeniul manifestărilor algice care apar în PD.

Luând în considerare beneficiile pe care nicotina și pergolidul le aduc echilibrului oxidativ precum și efectul lor ameliorativ asupra memoriei la modelele animale de PD generate, putem aprecia că acești compuși ar putea aduce o contribuție importantă în lupta împotriva manifestărilor dureroase (considerate în ultima perioadă ca parte componentă a

simptomatologiei PD), datorită faptului că, așa cum este subliniat mai sus, durerea este asociată cu stresul oxidativ. Strânsa legătură dintre durere și PD precum și existența unui posibil factor care explică, într-o anumită măsură, co-ocurența lor, fac necesară studierea mai profundă a implicațiilor acestor fenomene, având în vedere necesitatea de a diagnostica și trata durerea, un eveniment neplăcut și foarte real care interferează cu PD.

5. Concluzii

Rezultatele obținute în prezentul studiu, indicând o sensibilizare crescută la durere la un model de șobolan, generat prin administrarea de 6-OHDA, reprezentativ pentru boala Parkinson, sunt în opinia noastră, un argument în plus pentru a atrage atenția asupra durerii ca simptom insuficient explorat în cadrul tulburării și instigă la continuarea cercetărilor în acest domeniu de interes, ridicând semne de întrebare în ceea ce privește managementul actual al terapiei pacienților cu boala Parkinson.

Mulțumiri

Iulia Antioch, Alin Ciobîcă și Daniela Carmen Ababei au fost susținuți de grantul PN-II-RU-TE-2014-4-1886 „Un studiu complex în ceea ce privește relevanța administrării oxitocinei în unele modele animale de tulburări neuropsihiatrice”, numărul 120 din 01/10/2015. Radu Lefter a beneficiat de grant intern GI- 2015-13 prin intermediul Universității “Alexandru Ioan Cuza”, Iasi.

Bibliografie

1. **Ababei DC, Lefter R, Bild V, Antioch I, Balmus I, Ciobica A, Timofte, D.** (2015). Preliminary data regarding some pain manifestations in a MPTP- induced rat model of Parkinson's disease. *Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug*, 9, 59-62.
2. **Arcan O, Ciobica A, Bild W, Stoica B, Hritcu L, Cojocaru D.** (2013). The Effects of Central Angiotensin II and Its Specific Blockers on Nociception. Possible Interactions with Oxidative Stress Status *Journal of Medical Biochemistry*, 32(1), 52. doi:10.2478/v10011-012-0018-x
3. **Avila I, Reilly MP, Sanabria F, Posadas-Sanchez D, Chavez CL, Banerjee N, Castaneda E** (2009). Modeling operant behavior in the Parkinsonian rat. *Behav Brain Res*, 198(2), 298-305. doi:10.1016/j.bbr.2008.11.033
4. **Beiske AG, Loge JH, Ronningen A, Svensson E.** (2009). Pain in Parkinson's disease: Prevalence and characteristics. *Pain*, 141(1-2), 173-177. doi:10.1016/j.pain.2008.12.004
5. **Berretta N, Freestone PS, Guatteo E, DeCastro D, Geracitano R, Bernardi G, Lipski J** (2005).. Acute effects of 6-hydroxydopamine on dopaminergic neurons of the rat substantia nigra pars compacta in vitro. *Neurotoxicology*, 26(5), 869-881. doi:10.1016/j.neuro.2005.01.04
6. **Bisaglia M, Soriano ME, Arduini I, Mammi S, Bubacco L.** (2010). Molecular characterization of dopamine-derived quinones reactivity toward NADH and glutathione: implications for mitochondrial dysfunction in Parkinson disease. *Biochim Biophys Acta*, 1802(9), 699-706. doi:10.1016/j.bbadis.2010.06.00
7. **Blaszczyk, JW** (1998). Motor deficiency in Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 58(1), 79-93.
8. **Boivie J.** (2009). Pain in Parkinson's disease (PD). *Pain*, 141, 2-3
9. **Brusa L, Tiraboschi P, Koch G, Peppe A, Pierantozzi M, Ruggieri S, Stanzione P.** (2005). Pergolide effect on cognitive functions in early-mild Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*, 112(2), 231-237. doi:10.1007/s00702-004-0193-0
10. **Chalimoniuk M, Stepien A, Strosznajder JB** (2004). Pergolide mesylate, a dopaminergic receptor agonist, applied with L-DOPA enhances serum antioxidant enzyme activity in Parkinson disease. *Clin Neuropharmacol*, 27(5), 223-229.
11. **Ciobica A, Hritcu L, Artenie V, Padurariu M.** (2008). Some aspects of oxidative stress in a rat model of Parkinson's disease. *Int J Neuropsychopharmacol*, 11, 228-229.
12. **Ciobica A, Olteanu Z, Padurariu M, Hritcu L.** (2012). The effects of pergolide on memory and oxidative stress in a rat model of Parkinson's disease. *J Physiol Biochem*, 68(1), 59-69. doi:10.1007/s13105-011-0119-x
13. **Ciobica A, Padurariu, M, Hritcu L.** (2012). The effects of short-term nicotine administration on behavioral and oxidative stress deficiencies induced in a rat model of Parkinson's disease. *Psychiatr Danub*, 24(2), 194-205.
14. **Da Conceicao FS, Ngo-Abdalla S, Houzel JC, Rehen SK.** (2010). Murine model for Parkinson's disease: from 6-OH dopamine lesion to behavioral test. *J Vis Exp* (35). doi:10.3791/1376
15. **Ferro MM, Bellissimo MI, Anselmo-Franci JA, Angellucci M.E, Canteras NS, DaCunha C**

- (2005). Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: histological, neurochemical, motor and memory alterations. *J Neurosci Methods*, 148(1), 78-87. doi:10.1016/j.jneumeth.2005.04.005
- 16. Ford B.** (2010). Pain in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 25 Suppl 1, S98-103. doi:10.1002/mds.22716
- 17. Georgiev D, Danieli A, Oceppek L, Novak D, Zupancic-Kriznar N, Trost M, Pirtosek Z.** (2010). Othello syndrome in patients with Parkinson's disease. *Psychiatr Danub*, 22(1), 94-98.
- 18. Herrera-Marschitz M, Arbuthnott G, Ungerstedt U.** (2010). The rotational model and microdialysis: Significance for dopamine signalling, clinical studies, and beyond. *Prog Neurobiol*, 90(2), 176-189. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.01.005
- 19. Hritcu L, Ciobica A, Artenie V** (2008). Effects of right-unilateral 6-hydroxydopamine infusion-induced memory impairment and oxidative stress: relevance for Parkinson's disease. *Central European Journal of Biology*, 3(3), 250-257. doi:10.2478/s11535-008-0023-8
- 20. Hudson JL, Van Horne CG, Stromberg I, Brock S, Clayton J, Masserano J, Gerhardt GA** (1993). Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res*, 626(1-2), 167-174
- 21. Iancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G.** (2005). Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res*, 162(1), 1-10. doi:10.1016/j.bbr.2005.02.023
- 22. Khalil Z, Liu T, Helme RD** (1999). Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury. *Pain*, 79(1), 31-37.
- 23. Kim HK, Park SK, Zhou JL, Tagliatela G, Chung K, Coggeshall RE, Chung JM.** (2004). Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 111(1-2), 116-124. doi:10.1016/j.pain.2004.06.00
- 24. Kramberger MG, Stukovnik V, Cus A, Repovs G, Tomse P, Meglic NP, Pirtosek Z.** (2010). Parkinson's disease dementia: clinical correlates of brain spect perfusion and treatment. *Psychiatr Danub*, 22(3), 446-449.
- 25. Parkinson J** (2002). An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 14(2), 223-236; discussion 222. doi:10.1176/jnp.14.2.223
- 26. Paxinos G, Watson C.** (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates*, (Vol. 6th edn. Academic). San Diego
- 27. Possin KL, Filoteo JV, Song DD, Salmon DP.** (2008). Spatial and Object Working Memory Deficits in Parkinson's Disease are Due to Impairment in Different Underlying Processes. *Neuropsychology*, 22(5), 585-595. doi:10.1037/a0012613
- 28. Powledge TM** (2004). Nicotine as Therapy. *PLoS Biology*, 2(11), e404. doi:10.1371/journal.pbio.0020404
- 29. Richardson EJ, Ness TJ, Redden DT, Stewart CC, Richards JS.** (2012). Effects of nicotine on spinal cord injury pain vary among subtypes of pain and smoking status: results from a randomized, controlled experiment. *J Pain*, 13(12), 1206-1214. doi:10.1016/j.jpain.2012.09.005
- 30. Schwartz ES, Lee I, Chung K, Chung JM.** (2008). Oxidative stress in the spinal cord is an important contributor in capsaicin-induced mechanical secondary hyperalgesia in mice. *Pain*, 138(3), 514-524. doi:10.1016/j.pain.2008.01.029
- 31. Terney D, Bergmann I, Poreisz C, Chaieb L, Boros K, Nitsche MA, Antal A.** (2008). Pergolide increases the efficacy of cathodal direct current stimulation to reduce the amplitude of laser-evoked potentials in humans. *J Pain Symptom Manage*, 36(1), 79-91. doi:10.1016/j.jpainsymman.2007.08.014
- 32. Vlamings R, Visser-Vandewalle V, Koopmans G, Joosten EA, Kozan R, Kaplan S, Temel Y.** (2007). High frequency stimulation of the subthalamic nucleus improves speed of locomotion but impairs forelimb movement in Parkinsonian rats. *Neuroscience*, 148(3), 815-823. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.06.043
- 33. Wypijewska A, Galazka-Friedman J, Bauminger ER, Wszolek ZK, Schweitzer KJ, Dickson DW, Friedman A.** (2010). Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra. *Parkinsonism Relat Disord*, 16(5), 329-333. doi:10.1016/j.parkreldis.2010.02.007