



# Parkinson hastalığının hayvan modelleri ve kök hücre temelli deneysel çalışmalar

## *Animal models of Parkinson's disease and stem cell- based experimental studies*

Gülseli Berivan Sezen<sup>1</sup>\*, Erdiñ Civelek<sup>1</sup>\*, Serdar Kabataş<sup>1</sup>\*, Furkan Diren<sup>1</sup>\*, Tunç Akkoç<sup>2</sup>\*

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gaziosmanpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroşirurji Kliniği, İstanbul.  
<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pediatrik Alerji-İmmünoloji, İstanbul.

**Atıf/Cite as:** Berivan Sezen G, Civelek E, Kabataş S, Diren F, Akkoç T. Parkinson hastalığının hayvan modelleri ve kök hücre temelli deneysel çalışmalar. J Nervous Sys Surgery 2021;7(2):56-66.

**Geliş tarihi/Received:** 07.05.2021 **Kabul tarihi/Accepted:** 16.10.2021 **Yayın tarihi/Publication date:** 30.10.2021

### ÖZ

Parkinson hastalığı (PH) ikinci en yaygın ilerleyici nörodejeneratif olup, genetik vakalar azınlıkta olup, altta yatan etyopatofizyoloji hala bilinmemektedir. Halen, kanıtlanmış ve kesin bir tedavi mevcut değildir. Yeni terapötik stratejilerin taranması ve test edilmesi için kullanılacak güvenilir hayvan modelleri geliştirmek çok önemlidir, mesela, sadece semptomatik tedaviler geliştirmek yerine gerçek patojenik süreci hedefleyen kök hücre tedavileri gibi. Burada, PH'nin güncellenmiş in vivo ve in vitro modellerini özetledik ve bu modelleri kullanarak kök hücre temelli deneysel çalışmalarını gözden geçirdik.

**Anahtar Kelimeler:** Hayvan modeli, Parkinson hastalığı, kök hücre nakli

### ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most common progressive neurodegenerative, besides a minority of genetic cases, underlying etiopathophysiology is still unknown. Currently, no proven and exact treatment has existed. It is crucially important to develop reliable animal models that might be used for the screening and testing of new therapeutic strategies e.g., stem cell transplantation targeting the actual pathogenic process as opposed to merely developing symptomatic therapies. Here, we summarized the updated in vivo and in vitro models of PD and reviewed the stem cell-based experimental studies by using these models.

**Keywords:** Animal model, Parkinson's disease, stem cell transplantation

**Sorumlu yazar/Corresponding author:** Furkan Diren, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gaziosmanpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroşirurji Kliniği, İstanbul.  
furkandiren@yahoo.com / 0000-0001-6169-9722

### ORCID:

**G. Berivan Sezen** 0000-0001-9129-5470, **E. Civelek** 0000-0002-3988-4064, **S. Kabataş** 0000-0003-2691-6861, **T. Akkoç** 0000-0001-9179-2805

## GİRİŞ

Parkinson Hastalığı Alzheimer'dan sonra görülen en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır. Diğer nörodejeneratif hastalıklardan farklı olarak Lewy cisimcikleri ve Lewy nöriti Parkinson hastalığı için ayırt edici spesifik özelliklerdir. A-sinüklein (SNCA), ubikitin, synbphilin-1, sinaptik ilişkili proteinler eozinofilik sitoplazmik inklüzyon cisimleri olup oksidatif stres için belirteçler olarak ortaya çıkmaktadır.

PH, temel olarak substantia nigra'daki dopaminerjik nöronların kaybı ile ortaya çıkmaktadır. Striatum'da dopamin ve dopamin metabolitleri olan homovanilik asit 3,4-dihidroksifenilasetat reseptör kaybı söz konudur<sup>(36,45)</sup>. Bu hastalığın kesin etiolojisi hala bilinmemektedir. PH'da ince motor becerilerin kontrolünde görevli olan nigrostriatal yolda hasar mevcuttur. Bununla birlikte, genetik ve çevresel etkileşim PH'nın pato-mekanizmasında rol oynar. 7 ailesel gen PH'dan sorumlu tutulmuştur. PH'da incelenen genetik çalışmalarda otozomal dominant geçişli a-sinüklein ve ubikitin karboksi-terminal hidrokstile L1'i kodlayan genlerde mutasyon ve otozomal resesif geçişli parkin mutasyonları Parkinsonizm tablosu ortaya çıkardığı gösterilmiştir<sup>(35)</sup>. Ailesel PH keşfinden bu yana genetik PH modelleri geliştirilmiştir. Ek olarak epidemiyolojik çalışmalarda pestisit maruziyeti spordik PH gelişiminde rol oynadığı ileri sürülmüştür<sup>(22,44)</sup>. Ayrıca nörotoksin maruz kalan olgularda yeni PH modelleri bildirilmiştir<sup>(26)</sup>.

Hernesebeple olursa olsun dopaminerjik nöronların zamanla kaybolması bireylerde akinezi, rijidite, postural ve yürümede anomalilikler ve dopamin seviyesi %20 eşik değerinin altına düştüğünde PH klasik belirtisi olan istirahat tremoru ortaya çıkmaktadır. Günümüzde hastalığı durdurmak veya ilerlemesini yavaşlatmak amacıyla aktif bir

tedavi bulunamamıştır. Dopamin takviyesi şu an için PH'da substantia nigranın pars kompakta bölgesinde azalan dopaminerjik uyarının yerini alması amacıyla sadece motor disfonksiyon üzerine etkili olmakla birlikte hastalığın ilerleyen dönemlerinde belirgin fayda sağlamamaktadır. Redmon DE, dopamin konsantrasyonunun normalin %15'inden %25'ine artırılması durumunda ki değişikliğin Parkinsonizmin ağır semptomlarından hastayı asemptomatik hale getirebileceği sonucuna varmıştır<sup>(53)</sup>.

1979'da Bjorklund, Stenevi, Perlow ve ark. farelerde dopamin eksikliği modeli yaratarak fetal hücre replasmanı ile tedavi edilebileceği gösterip, PH olan hastalarda benzer uygulama ile tedavi edilebileceğine dair umut verdiler<sup>(6,52)</sup>. Hayvan modelleri yalnızca semptomatik tedaviler geliştirmek yerine gerçek patojenik süreci hedefleyen yeni terapötik tedavilerin (nöral kök hücre (NKH) transplantasyonu dahil) taranması ve test edilmesi için kullanılabilir uygun hayvan modellerinin geliştirilmesi de çok önemlidir. Bu nedenle, ideal bir PH modelinin ileri özelliklere sahip olması gerekir<sup>(26)</sup>: kolayca saptanabilen parkinson motor defisitleri<sup>(60)</sup> yaşla birlikte gelişen PH nöronlarının seçici ve kademeli olarak kaybı<sup>(23)</sup>; ve Lewy cisimciği benzeri sitoplazmik inklüzyonların üretimi gibi<sup>(62)</sup>. Bu derlemede, PH'nın in vivo ve in vitro modellerini özetledik ve kök hücre temelli deneysel çalışmaları inceledik.

## Nörotoksin ile İndüklenmiş Hayvan Modelleri

### İn vivo nörotoksin modelleri

6-hidroksidopamin (6-OHDA) veya 1-etil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) gibi nörotoksinler ve tarımsal kimyasallar (örneğin rotenon) sistemik olarak canlı organizmaya uygulandığında PH'nın spesifik özelliklerini canlıda görülmesine sebep olur. İn vivo sıçan beyinlerindeki bu nörotoksisitenin mekanizması

tam olarak anlaşılammıştır. Bu bileşiklerin olası mekanizmasından biri, kimyasalların kompleks I' i inhibe ederek nigral nöronların mitokondrilerini etkilemektir. Mitokondriyal disfonksiyon ve protein yıkım sisteminin bozulması, kimyasal bileşikler kullanan hayvan modellemelerini oluşturmak için kullanılan yaygın yöntemlerdir. Yalnızca MPTP belirgin olarak insanlarda görülen Parkinsonizm ile bağlantılıdır bu sebeple en yaygın olarak modelleme amacıyla kullanılmaktadır. Bu nörotoksinlerin intranigral enjeksiyonlarının in vivo olarak kullanıldığında sıçanlarda farklı derecelerde dopaminerjik nörotoksisite oluşturduğu ve 6-OHDA'nın sıçanlarda in vivo hemiparkinson modeli oluşturmak için en etkili materyal olabileceği sonucuna varılmıştır <sup>(60, 23)</sup>.

### MPTP

Oldukça lipofilik ve kan beyin bariyerini kolaylıkla geçer. Sistemik MPTP intoksikasyonlu hayvan modeli akut gelişir ve ilerleyici değildir. MPTP, sporadik PH'ninkilerden ayırt edilemeyen geri dönüşsüz ve ağır parkinson hastalığı semptomlarına neden olur. Nigral dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna bağlı a-sinüklein agregasyonları (ancak tipik Lewy cisimciği şeklinde değil) mikro eozinofilik inklüzyonlar elektromikroskopik olarak halo şeklinde yayılan filamentler şeklinde gözükmemektedir <sup>(26, 62)</sup>. MPTP verilen primatlar, L-3,4-dihidroksifenilalanin (L\_DOPA) ve dopamin reseptör antagonistlerine iyi yanıt verirler <sup>(34, 25)</sup>. Bununla birlikte PH modelinde MPTP toksisitesinin temel zorluğu mevcut modelin gelişimde akut ve subakut bir süreç oluşturması oysa PH yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Hayvan modellerinde düşük dozlarda MPTP'nin kronik uygulanması insanlarda gözlemlenen PH'nın tüm klinik semptomlarının görülmesini sağlar. Bu nedenle MPTP primat modellemeleri nöro-fonksiyonel cerrahi veya tıbbi tedavilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Glia'da monoamin oksidaz B (MAO-B) MPTP'yi dopamin transporter yoluyla alarak 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP) 'a dönüştürerek dopaminerjik nöronda birikimine yol açar. Absorbe edilmiş MPP elektron taşıma kompleksi I' i inhibe ettiği için mitokondride birikmeye başlar. Azalmış olan ATP üretimi ve reaktif oksijen ürünleri (ROS)'nin üretimi dopaminerjik nöronların apoptozuna neden olur <sup>(32, 64)</sup>. Substantia nigra'da hayatta kalan dopaminerjik nöronların MPTP'ye maruz kaldıktan sonra küçülür ve işlev kapasitesinde azalma gözlemlenir.

Sıçanlar ve fare gibi kemirgenler MPTP'nin nörotoksisitesine primatlardan daha az duyarlıdır. MPTP'nin neden olduğu dopamin eksikliği için daha yüksek bir doz gereklidir ve Parkinsonizmin kalıcı davranışsal semptomları nadiren ortaya çıkar. Kemirgenlerde Parkinson tablosunun ortaya çıkması için dopamin uyarımının dopamin D2-reseptör antagonistleri tarafından tamamen bloke edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle sporadik PH modeli oluşturmak için MPTP'nin maymunlar üzerinde kullanılması daha uygundur <sup>(34, 38)</sup>. Bununla birlikte C57BL/6 suşlu fareler Lewy cisimcik oluşum eksikliği açısından MPTP'ye en duyarlı kemirgenlerdir <sup>(33, 55, 61, 62)</sup>.

### OHDA

PH'lı bir hayvan modeli oluşturmak için kullanılan ilk ajandır. 2 kemirgen modeli üzerinden tanımlanmıştır. En yaygın olanı akut MPTP modeline benzer bir zaman sürecinde hızlı hücre apoptozuna yol açan ve substantia nigra veya medial ön beyin bölümüne tek taraflı yapılan enjeksiyonu ile ortaya çıkmaktadır. Diğer 6-OHDA ile elde edilen modelde ise substantia nigradaki nöronların retrograd dejenerasyonuna neden olmak için toksini doğrudan striatuma enjekte edilmesiyle meydana gelmektedir. Bu 4 hafta boyunca enjekte edildiği bölgedeki nöronların yavaş ve kısmi lezyonuna neden olur ve PH'nın yavaş ilerleyişini taklit etmesi

amacıyla kullanılmıştır<sup>(4, 13)</sup>. Temel olarak 6-OHDA sıçanlarda, farelerde, kedilerde ve primatlarda etkili bir toksin olup ağırlıklı olarak tek taraflı lezyon oluşturulmak için uygulanmıştır. Sıçanlarda dopamin tükenmesinin boyutu daha sonra amfetamin ve apomorfine karşı verdiği yanıtla ilgili olarak değerlendirilebilir. Ancak bu lezyonlar substantia nigra'da Lewy cisimciği oluşumuna neden olmaz ve diğer nöronlarda spesifik olmayan hasara neden olabilir. Bununla birlikte, bu modelin önemli bir avantajı motor defisit ölçülebilir olması ve bu nedenle dopamin ve reseptörleri üzerinde etkili olan ajanların farmakolojik olarak taranmasında yararlı olduğu kanıtlanmış olmasıdır<sup>(4, 13, 62, 67)</sup>.

## ROTENON

Rotenon bir pestisit ve mitokondriyal kompleks I'ın yüksek afiniteli spesifik bir inhibitörü olduğu bilinmektedir. Sıçanın jugular veninden kanülasyon yolu ile rotenon uygulanarak kronik sistemik maruziyetin nigrostriatal dopaminerjik dejenerasyonu ve buna bağlı PH'nın bir çok semptomunu hayvan modeli üzerinde oluşturduğu, nigral dopaminin nöronlarda sitoplazmik inklüzyonlar oluşturduğu gösterilmiştir<sup>(5)</sup>. Rotenon modelinin ilerleyici seyrinde ubiquitin ve a-sinüklein için immünreaktif inklüzyonlar oluşturur. Bu modelde klinik PH'ındaki semptomlara çok benzerdir. Sıçanlar, bradikinezi, postüral dengesizlik, tremor gibi belirtiler göstermektedir ancak bu semptomlar dopamin reseptör agonisti apomorfine ile tedavi sonrası düzeldiği gözlemlenmiştir. Ancak bu model yüksek mortalite oranı nedeniyle patogenezi için uygun değildir<sup>(5, 26)</sup>.

## İn vitro nörotoksin modelleri

MPP ve 6-OHDA kan beyin bariyerini geçemez. Bu nedenle in vitro nöronal kültürlerinde kullanımları uygundur. Özellikle glutamata bağlı nörotoksisite endojen oksidatif stres için popüler farmakolojik modeldir. Çünkü nitrik oksit gibi ROS

üretimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu tür in vitro kültürler kullanılarak dopamin nöronlarının non-dopamin nöronlara kıyasla nitrik okside nispeten dirençli olduğu gösterilmiştir<sup>(57, 62)</sup>. Dopamin nöronlarının oksidatif strese karşı dayanıksızlığı endojen veya eksojen nörotoksik ajanların (örneğin MPP) neden olabileceği mitokondriyal kompleks I inhibisyonu ile bağlantılıdır. Epidemiyolojik çalışmalarda PH prevalansı erkeklerde kadınlara göre daha fazla görüldüğü gösterilmiştir<sup>(3, 41)</sup>. Bu cinsiyete göre farklılığın sebebi net bilinmemekle birlikte östrojen seviyesi veya östrojen reseptörlerinin ekspresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Östrojenin dopamin nöronlarından oluşan kültürde anti-apoptotik etkisi<sup>(59)</sup> olduğu gözlemlenmiş olup bunda östrojen reseptörünün yeni bir alt tipi etkili<sup>(58)</sup> olduğu görülmüştür.

Özetle PH semptomatolojisini azaltmak için klinikte kullanılan dopamin reseptör agonistinin etkinliğinin gösterilmesi amacıyla MPTP, 6-OHDA ve rotenon modelleri kullanılmıştır. Ek olarak akut in-vivo PH modelleri (örneğin MPTP ve nigral 6-OHDA modelleri) ve in vitro modeller nikotin, östrojen, NO sentaz inhibitörleri ve antioksidanlar gibi nöroprotektif maddeleri incelemek amacıyla başarıyla kullanılmıştır.

## Parkinson Hastalığı için Genetik Hayvan Modelleri

PH vakalarının çoğu sporadik olsa da ailesel PH formlarına neden olan genlerdeki spesifik mutasyonların keşfi PH çalışmalarında yeni bir yaklaşımın önünü açmıştır. A-sinüklein, parkin, DJ1, UCHL1, Pink1 ve son zamanlarda LRRK2 gibi çeşitli genlerin ailesel PH'da rol oynadığı ortaya çıkmıştır<sup>(71, 72)</sup>.

## Park 1 (SNCA)

SNCA, otozomal dominant geçişli PH yapan bir gen olarak tanımlanmıştır. A30P, E46K

ve A53T gibi genlerde missens mutasyonlar bildirilmiştir. Bu tip mutasyonların sıklığı çok nadirdir. Bununla beraber SNCA geni Lewy cisimciklerinin ana bileşenlerinden biri olarak kabul edilmiştir. İnsanlarda görülen SNCA'nın (wild tip, A30P, A53T veya A30P+A53T) baskılanması veya aşırı ekspresyonu dahil olmak üzere bir çok transgenik formasyonlar oluşturulmuştur. Bu modellerden sadece ikisinde dopaminerjik sistemde striatal tirozin hidroksilaz immünoreaktivite veya dopamin seviyelerinde düşüşler gösterilmektedir. Bununla birlikte PH oluşturulmuş fare modellerinde hiçbir nöron kaybı gözlemlenmemiştir. SNCA baskılı farelerde mevcut azalmış olan dopamin üretim aktivitesi striatumda belirgin azalmış dopamin içeriğini ve hipokampustaki vezikül içinde rezerv dopaminin azaldığını gösterir. A ve B sinüklein ile baskılandığında dopaminde benzer bir azalma gözlemlenmektedir. SNCA aşırı eksprese eden farelerin omurilik ve nöromusküler kavşakta patoloji saptanırken nigrostriatal yolda patoloji saptanmaz <sup>(21, 69)</sup>. SNCA eksprese eden bir çok fareden sadece birkaçında nigrostriatal dopamin sisteminde değişiklik gözlemlenir. Bu fareler, baskılanmış lokomotor aktivite ve yaşa bağlı artan motor bozukluklar saptanmıştır <sup>(54)</sup>. Ek olarak dopaminerjik agonistler, apomorfın ve amfetamine karşı da azalmış yanıt gösterirler <sup>(54, 65)</sup>.

Thy 1 promotörü insan vahşi tip (human wild type) SNCA'yı aşırı ekprese eden farelerde substantia nigra, subtoksik MPTP dozlarına karşı savunmasızdır ve azalmış spontan aktivite duyuşal uyarılara yanıt ve ince motor becerilerdeki bozulmalar dahil olmak üzere çok çeşitli provizyon gösteren sensöromotor bozukluklar ortaya çıkarmaktadır. Bu bozukluklar yaşla birlikte giderek kötüleşir ve 2 ay gibi erken bir zamanda tespit edilebilir. Nörostriatal dopamin nöronlarında büyük bir kayıp olmasına rağmen, nigrostriatal sistemde SNC aşırı eksprese edilmiş

fareler PH için uygun farelerdir. Çünkü bu farelerde ailesel PH ile benzer PH mutasyonları mevcuttur. Fare modellerinin aksine insan wild veya mutant tip SNCA'yı aşırı eksprese eden drosophilia da dopaminerjik nöronların alt tiplerinde yaşa bağlı nöron kaybı ortaya çıkmaktadır. Drosophila modeli, yaygın bir PH formunun patogenezinin anlaşılmasında belirgin bir yol sağlayabilir <sup>(63)</sup>.

### PH'nın resesif formu (PARK 2)

Parkin otozomal resesif geçişli juvenil Parkinsonizm (OR-JP) ile ilişkili gendir. OR-JP'nin nedeni ve altında yatan mekanizma net bir şekilde tanımlanamamıştır. Çünkü şu ana kadar bildirilen parkin ile ilişkili substratların çoğu parkinden bağımsız olarak değişmeden kalmaktadır <sup>(19, 51)</sup>. Parkin genindeki mutasyona bağlı olarak parkin substratlarında anormal birikime neden olduğu ortaya konmuştur. Bu substratlar hastalığın gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Parkin-null farelerde dopamin metabolizmasındaki patoloji haricinde fenotipik açıdan bir patoloji ortaya çıkmaz. Parkin-null farelerde striatumdaki D1 ve D2 dopamin reseptörlerine karşı afinitede önemli artış gözlemlenir. Farelerde parkin geninin aşağı regüle edilmesi parkin genindeki ekzon 3 <sup>(20, 29)</sup>, ekzon 7 <sup>(70)</sup>, ekzon 2 <sup>(50)</sup> alanlarının delesyonu görülmektedir. PH'nın etyolojisi ve erken aşamalarında tanı konmasında, hastalıkla bağlantılı çevresel ve genetik faktörlerin incelenmesinde hem ekzon 3 delesyonu ve hem de ekzon 7 delesyonu olan parkin aşağı regüle fareler kullanılması yararlı olacaktır. Buna ek olarak, ekzon 3 delesyonu olan parkin aşağı regüle farelerin, hücre dışı striatal dopamin düzeyi artmış, striatal orta dikenli nöronlarda sinaptik uyarılabilirliği azalmıştır, bunun sonucunda progresif sensorimotor bozukluklar, kilo alımında azalma, mitokondriyal solunumda azalma, antioksidan kapasitesi azalma ve ventral orta beyinde oksidatif hasarın arttığı gözlemlenmiştir



(20, 29). Parkin geninin ekzon 7'deki hedeflenen delesyona bağlı hasarı parkinin işlevinin kaybına neden olur (70). Ekzon 3 delesyonlu fareler gibi nigrostriatal dopamin nöronlarında kayıp yoktur, bununla birlikte, daha önce bahsedilen parkin işlev dışı bırakılmış farelerden farklı olarak, ekzon 2 delesyonlu farelerde, locus coeruleus'ta hiçbir nöron kaybı, katekolamin seviyelerinde hiçbir değişiklik ve saptanabilir davranış bozukluğu görülmez (16, 50).

### **DJ-1 devre dışı fareler**

DJ-1'deki delesyon (ekson 1-5) veya nokta mutasyonu, son zamanlarda iki ailede OR erken başlangıçlı parkinsonizm ile ilişkilendirilmiştir (16) ve DJ-1 (Park 7) genindeki diğer mutasyonlar birkaç vakada erken başlangıçlı parkinsonizm olarak tanımlanmıştır (1, 27). Bununla birlikte, DJ-1 mutasyonları parkin mutasyonlarından daha az sıklıkta görülmektedir. DJ-1'de Lewy cisimcikleri nadiren tespit edilir (2). PH'nın patofizyolojisinde oksidatif stres rol oynayabilir. A-sinüklein ve parkin baskılanmış farelerine benzer şekilde, DJ-1 devre dışı farelerde nigrostriatal dopamin nöronlarını kaybetmez. SNCA aşırı ekspresyonu ve parkin baskılanmış farelerinde de benzer şekilde, DJ-1 baskılanmış farelerinde de iyi yapıya sahiptir. Bu model, DJ-1'in in vivo işlevini ve sporadik PD ile potansiyel ilişkisini keşfetmek için ilgi çekici olmaktadır (16).

### **NURR1 ve PITX3-APHKIA fareleri**

Nurr1, nigrostriatal dopamin nöronlarının farklılaşmasında ve gelişiminde rol oynar. Nurr1'deki mutasyonlar, tirozin hidroksilazı kodlayan genin transkripsiyonunu ve dopamin taşıyıcısının transkripsiyonunu değiştirir ve Nurr1'deki değişiklikler, PH'na duyarlılığı artırabilecek kronik dopaminerjik değişikliklere neden olabilir (30, 39, 56). Homozigot Nurr1 baskılanmış farelerde substantia nigra dopamin nöronları gelişmez ve doğumdan sonra fareler

ölürler. Heterozigot Nurr1 baskılanmış fareler hayatta kalır ve normal seviyelerde nigrostriatal dopamin nöronlar üretilir, ancak MPTP gibi nörotoksinlere karşı bir hassasiyet gösterirler. Pitx3, nigrostriatal dopamin nöronlarının moleküler gelişiminde rol oynar (46). Bu modeller sınırlıdır çünkü PH'da görülen geniş patolojiyi ortaya çıkaramaz sadece nigrostriatal yolda patoloji gösterirler. Nurr1 ve Pitx3-afakia fareleri, hastalığın ilerleyen aşamalarını ve PH için daha iyi semptomatik tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olacak dopamin nöron kaybını incelemek için iyi modeller sağlarlar.

### **TARTIŞMA**

Fonksiyonel transplantasyon çalışmalarının çoğu, medial ön beyin demetine tek taraflı olarak enjekte edilen nörotoksin 6-OHDA kullanılarak yapılmıştır, dopamin eksikliği ve postsinaptik duyarlılık değişiklikleri meydana gelir, ancak parkinsonizmin karakteristik veya spesifik belirtileri yoktur (66). Buna karşılık, insanlarda ve maymunlarda neredeyse aynı parkinsonizme neden olan MPTP nörotoksini, kemirgenlerde dopaminde azalma veya parkinson belirtileri oluşmasına sebebiyet vermez. Beyin biyokimyasında, farmakolojisinde, gelişiminde, boyutunda, organizasyonunda, karmaşıklığında ve davranışsal işlevinde, primatların beyinleri, kemirgenlerden çok insan beyin yapısına benzemektedir. Kök hücre temelli deneysel çalışmalarda, kemirgenlerin daha sınırlı yaşam süreleri nedeniyle, uzun (+25 yıl) yaşam süresine sahip maymunların kullanımı uygundur. Bu sebeple daha uzun süreli deneyler kemirgenlerde gerçekleştirilemez (53). 6-OHDA ve MPTP "modelleri", idiyopatik parkinson hastalığının etyolojisinin araştırılması açısından uygun modeller olmadığı görülmüştür. Bu bağlamda, mutant SNCA'ya dayalı yeni modeller, gelecekteki çalışmalar için daha öngörülebilir modeller sağlayabilir.

Transplante edilen dopamin nöronlarının çoğunun (~% 90-95) greftlemeden hemen sonra ölmüş olması, parkinson hastalığı için nöral transplantasyon tedavisinin başarısını belirgin olarak sınırlandırmıştır. Yetişkin beyindeki büyüme faktörlerinin yetersizliği, erken hücre ölümünün ve matür striatuma yerleştirilen fetal greftlerin sınırlı büyümesinin başlıca nedeni olabilir. Glia kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF), dopamin nöronlarının gelişimi, hayatta kalması ve büyümesi için çok önemli olan güçlü bir nörotrofik faktördür ve bu nedenle aşılınmış fetal dopamin nöronlarını korumak için iyi bir adaydır. NCS'ler, fetal santral sinir sisteminin pluripotent hücrelerdir. In vitro olarak NSC, glia ve nöronlara farklılaşma potansiyeline sahiptir. In vivo çalışmalar, implante edilmiş NSC'nin yerel beyin dokusuna bağlı olarak migrasyon, farklılaşma ve diğer işlevsel özelliklere yanıt verdiği gözlemlenmiştir. Bu hipotezi desteklemek için, farklılaşmamış NSC'nin, dopaminerjik nöronların hayatta kalması ve idamesi için önemli bir faktör olan GDNF2'yi yüksek seviyelerde ürettiği keşfedilmiştir (42, 48).

Bjugstad ve arkadaşları, insan nöral kök hücresinin (hNSC) neredeyse tamamının (~% 80) parkinson maymunlarına transplantasyondan 4-7 ay sonra nigrostriatal yol boyunca ve substantia nigra içerisine rastgele dağıldığı tespit etmişlerdir. hNSC'ler substantia nigraya tek taraflı olarak implante edilmiş olsalar da, 4 veya 7 ay sonra, SN'da iki taraflı olarak hNSC'ler bulunmuştur. Bu veriler ışığında, hNSC'nin maymunda MPTP uygulamasından sonra tercihen hücresel kayıp veya dejenerasyon olan bölgelerine göç ettiğini göstermektedir (8). Literatür, en migretuar (ve potansiyel olarak terapötik açıdan etkili) hücrelerin, transplantasyon sırasında en az farklılaşan hücreler olduğunu desteklemektedir. Putamen, kaudat nukleusa kıyasla önemli ölçüde daha az tirozin hidroksilaz (TH +) üreten hücreye sahipti ve substantia nigraya

yakınlığı ile putamen veya dopamin yolları ile, MPTP'den daha uzaktaki kaudat nukleusa göre daha az etkilenebilir. Bjugstad, NSC'nin primat beyinde 7 aya kadar hayatta kaldığı ve muhtemelen implante edilmemiş NSC'nin substantia nigrada varlığı ile aslında mevcut NSC'nin substantia nigraya göç ettiği sonucuna vardı. Bu da NSC'nin kaudat nukleusta endojen tirozin hidroksilaz üreten hücrelerine etki ettiğine dair bir kanıt oluşturmaktadır (51). Merkezi sinir sistemindeki lezyonlar veya dejenerasyondan sonra hasar gören beyin fonksiyonlarının eski haline getirmek için nöral greftlerin kullanımı rapor edilmiştir. Son yirmi yılda, fetal nöral greftlerin transplantasyonu deneyimlendi (7, 42, 48). Etik tartışmalar, bağışıklık reddi, zayıf doku sağ kalımı ve fetal donör eksikliği başlıca problemlerdi.

Embriyonik ve fetal kök hücreler tartışmalıdır, çünkü olgunlaştıklarında reddedilme olasılıkları daha yüksektir ve implantasyondan sonra çok sayıda dopamin nöronu üretmede başarısız olurlar. Tümör oluşumu riski söz konusu olabilir. Sınırlı bir proliferasyon yeteneğine sahip olduğu gösterilen yetişkin beyin hücrelerinin ototransplantasyonu, bu potansiyel sorunların çoğunu atlamak ve nöral onarım mekanizmalarını aydınlatmak için ilginç bir alternatiftir. Ototransplante edilmiş hücrelerin, donör farelerin korteksine yeniden implante edildikten sonra zamanla hayatta kalabileceği, göç edebileceği ve olgun nöronal özellikler edinebildiği gösterilmiştir. Geçtiğimiz birkaç yıl içinde uzun vadeli yetişkin insan beyin hücrelerinin primer kültürleri epilepsi veya travma sonrası nöroşirurjikal girişimler sırasında toplanan taze veya dondurulmuş dokulardan elde edilerek çalışıldı (9). Yapılan bir çalışmada, bu hücrelerin in vivo en az 4 ay yaşayabildiği gösterildi. Şimdiye kadar genetik PH modelleri ve nörotoksin modelleri geliştirildi. PH modelleri, insan parkinson hastalarının kesin klinik özelliklerini göstermese de, bize monojenik

olarak indüklenen patogenez ve yaygın PH formu hakkında güçlü bilgiler sağlamaktadır. PH patogenezinin anlaşılmasında iki keşif önemlidir. İlk olarak MPTP kaynaklı PH'nın keşfi ve MPTP'nin neden olduğu nörodejenerasyonun moleküler temelini araştırılması sonrası araştırmalarda mitokondrial fonksiyon, oksidatif stres ve nörodejenerasyon arasındaki bağlantıların saptanması, ikincisi, PH'nın genetik nedenlerinin keşfi ve bu genlerdeki disfonksiyonun muhtemel sporadik PH'da bir rol oynadığının gösterilmesi, nörodejenerasyonda temel olarak proteinin yanlış katlanmasına bağlı toksisitenin öneminin vurgulanmasıdır. Dauer ve arkadaşları bu modellerin hiçbirinin göreceli olarak seçici dopaminerjik nöron dejenerasyonu sağlamadığı sonucuna varmıştır <sup>(12)</sup>. Bu, dopaminerjik nöronların benzersiz özelliklerini anlamada ve yeni ilaçları keşfetmede önemli bir sınırlamadır. Son gen teknolojisi birkaç parkinson modelinin geliştirilmesine yol açsa da, kemirgenlerin yaşam süresi insanlardan çok daha kısadır. Bu nedenle, yaşa bağlı bozukluklar için model olarak kullanımları açısından sınırlıdır.

PH araştırmaları için yeni hayvan modelleri bulmak önemli olacaktır bu sebeple yeni modeller geliştirmek için araştırmalar devam etmektedir. Son zamanlarda PH araştırmalarında yeni teknikler kullanılmaya başlandı. PINK1 mutasyonunun fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için maymunlara CRISPER/CAS9 tekniği uygulandı. Halorhodopsin, PH'nın çeşitli aşamalarını taklit etmek amacıyla sıçanların substantia nigrasına enjekte edildi. Bu çalışmalar, gelecekte, özellikle kök hücre temelli çalışmalarla iki veya daha fazla hayvan modelinin kombinasyonu ile parkinson hastalığının etyopatogenezi ve tedavi yöntemlerinin derinlemesine anlaşılmasına yardımcı olabilir <sup>(31)</sup>. Bununla birlikte, kolayca tespit edilebilen parkinsonian motor defisitleri, yaşlanmayla birlikte PH nöronlarının selektif ve kademeli kaybını ve Lewy-cisimcikleri benzeri

sitoplazmik inklüzyonları gösteren optimal PH modelini yapmak için daha ileri araştırmalar gereklidir. Çok sayıda çalışma, özellikle parkinson hastalığının hayvan modellerinde, nöral transplantasyonu takiben belirgin fonksiyonel iyileşme göstermiştir. Bilimsel ve etik tartışmalar, öncelikle nakil için hücre kaynağına ve bunların nasıl elde edildiğine odaklanmaya devam ediyor. Günümüzde, hücre kültürü, izolasyon, farklılaşma süreci ve daha verimli hücresel transplantasyon protokollerindeki gelişmeler, bu terapötik yaklaşımdan elde edilen faydaların iyileştirilmesine katkıda bulunmuş, üstün motor yanıtı hayvan modellerinde ve PH hastalarında çok çeşitli yararlı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, uzun vadeli hücre transplantasyonu, Parkinson hastalarının ve PH hayvan modellerinin motor fonksiyonlarında başarılı sonuçları teşvik etmektedir. Ancak yetişkin dokusundan izole edilen kök hücrelerden transplante edilecek hücrelerin türü, hücre sayısı, kullanılan doku kaynağı, aşılama işlemlerinin etkinliği ve donörlerin yaşı gibi faktörler; bu terapinin başarısında etkilidir <sup>(28)</sup>.

Bu nedenle, farklı hayvan modellerinde nörotransplantasyon çalışmalarının ve sonuçlarının karşılaştırılması, kök hücre temelli deneysel tedavi çalışmalarının etkinliğinin anlaşılmasında daha yararlı olacaktır.

Sonuç olarak, PH, çeşitli moleküler ve hücresel patogenez mekanizmalarıyla ilişkili, az sayıda genetik olgunun yanı sıra karmaşık bir progresif nörodejeneratif sendromdur.

**Çıkar çatışması:** Çalışmamızda herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Finansal destek:** Çalışmamızda finansal destek alınmamıştır.

**Conflict of interest:** There is no conflict of interest in our study.



**Funding:** No financial support was received in our study.

## KAYNAKÇA

1. Abou-Sleiman PM, Healy DG, Quinn N, Lees AJ, Wood NW. The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54: 283-286. <https://doi.org/10.1002/ana.10675>
2. Bandopadhyay R, Kingsbury AE, Cookson MR, Reid AR, Evans IM, Hope AD, et al. The expression of DJ-1 (PARK7) in normal human CNS and idiopathic Parkinson's disease. *Brain* 2004; 127: 420-430. <https://doi.org/10.1093/brain/awh054>
3. Bauer RB, Stevens C, Reveno WS, Rosenbaum H. L-dopa treatment of Parkinson's disease: a ten-year follow up study. *J Am Geriatr Soc* 1982; 30(5): 322-325. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1982.tb05621.x>
4. Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 325-332. <https://doi.org/10.1038/35072550>
5. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2000; 3: 1301-1306. <https://doi.org/10.1038/81834>
6. Bjorklund A, Stenevi U. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res* 1979; 177(3): 555-60. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90472-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90472-4)
7. Bjugstad KB, Redmond DE Jr., Teng YD, Elsworth JD, Roth RH, Blanchard BC, et al. Neural Stem Cells Implanted Into MPTP-Treated Monkeys Increase the Size of Endogenous Tyrosine Hydroxylase-Positive Cells Found in the Striatum: A Return to Control Measures. *Cell Transplantation* 2005; 14: 183-192. <https://doi.org/10.3727/000000005783983098>
8. Bjugstad KB, Teng YD, Redmond DE, Elsworth JD, Roth RH, Cornelius SK, et al. Human neural stem cells migrate along the Nigrostriatal pathway in a primate model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2008; 211(2): 362-369. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.01.025>
9. Brunet JF, Rouiller E, Wannier T, Villemure JG, Bloch J. Primate adult brain cell autotransplantation, a new tool for brain repair? *Exp. Neurol* 2005; 196(1): 195-198. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.04.005>
10. Cabin DE, Shimazu K, Murphy D, Cole NB, Gottschalk W, McIlwain KL, et al. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking  $\alpha$ -synuclein. *J Neurosci* 2002; 22: 8797- 8807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-20-08797.2002>
11. Chandra S, Fornai F, Kwon HB, Yazdani U, Atasoy D, Liu X, et al. Double-knockout mice for  $\alpha$ - and  $\beta$ -synucleins: effect on synaptic functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 14966 -14971. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406283101>
12. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: Mechanisms and Models. *Neuron* 2003; 39: 889-909. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00568-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00568-3)
13. Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol*. 2002; 175(2): 303-317. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7891>
14. Dunnett SB, Bjorklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 1999; 399(supple): 32-39. <https://doi.org/10.1038/399a032>
15. Feany MB, Bender WW. A Drosophila model of Parkinson's disease. *Nature* 2000; 404: 394-398. <https://doi.org/10.1038/35006074>
16. Fleming SM, Fernagut PO, Chesselet MF. Genetic Mouse Models of Parkinsonism: Strengths and Limitations. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 2005; 2: 495-503. <https://doi.org/10.1602/neurorx.2.3.495>
17. Fukuda H, Takahashi J, Watanabe K, Hayashi H, Morizane A, Koyanagi M, et al. Fluorescence-activated cell sorting-based purification of embryonic stem cell-derived neural precursors averts tumor formation after transplantation. *Stem Cells* 2006; 24(3): 763-771. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0137>
18. Giasson BI, Duda JE, Quinn SM, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VM. Neuronal  $\alpha$ -synucleinopathy with severe movement disorder in mice expressing A53T human  $\alpha$ -synuclein. *Neuron* 2002; 34: 521-533. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00682-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00682-7)
19. Goldberg MS, Fleming SM, Palacino JJ, Cepeda C, Lam HA, Bhatnagar A, et al. Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *J Biol Chem* 2003; 278: 43628-43635. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308947200>
20. Goldberg MS, Fleming SM, Palacino JJ, Cepeda C, Lam HA, Bhatnagar A, et al. Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *J Biol Chem* 2003; 278: 43628-43635. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308947200>
21. Gomez-Isla T, Irizarry MC, Mariash A, Cheung B, Soto O, Schrupp S, et al. Motor dysfunction and gliosis with preserved dopaminergic markers in human  $\alpha$ -synuclein A30P transgenic mice. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 245-258. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00091-X](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00091-X)
22. Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, Peterson EL, Richardson RJ. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology* 1998; 50(5): 1346-1350. <https://doi.org/10.1212/WNL.50.5.1346>
23. Greenamyre JT, Sherer TB, Betarbet R, Panov AV. Complex I and Parkinson's disease. *IUBMB Life* 2001; 52: 135-141. <https://doi.org/10.1080/15216540152845939>
24. Hague S, Rogaeva E, Hernandez D, Gulick C, Singleton A, Hanson M, et al. Early-onset Parkinson's disease caused by a compound heterozygous DJ-1 mutation. *Ann Neurol* 2003; 54: 271-274. <https://doi.org/10.1002/ana.10663>

25. Hashimoto M, Masliah E. Alpha-synuclein in lewy body disease and Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 1999; 9: 707-720. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00552.x>
26. Hattori N, Sato S. Animal models of Parkinson's disease: similarities and differences between the disease and models. *Neuropathology* 2007; 27(5): 479-83. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2007.00842.x>
27. Hedrich K, Djarmati A, Schafer N, Hering R, Wellenbrock C, Weiss PH, et al. DJ-1 (PARK7) mutations are less frequent than Parkin (PARK2) mutations in early-onset Parkinson disease. *Neurology* 2004; 62: 389 -394. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000113022.51739.88>
28. Hurtado JDC, Sánchez JPB, Nunes RB, de Oliveira AA. Stem Cell Transplantation and Physical Exercise in Parkinson's Disease, a Literature Review of Human and Animal Studies. *Stem Cell Rev Rep* 2018; 14(2): 166-176. <https://doi.org/10.1007/s12015-017-9798-1>
29. Itier JM, Ibanez P, Mena MA, Abbas N, Cohen-Salmon C, Bohme GA, et al. Parkin gene inactivation alters behaviour and dopamine neurotransmission in the mouse. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 2277-2291. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg239>
30. Iwawaki T, Kohno K, Kobayashi K. Identification of a potential nurr1 response element that activates the tyrosine hydroxylase gene promoter in cultured cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274: 590 -595. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3204>
31. Kin K, Yasuhara T, Kameda M, Date I. Animal Models for Parkinson's Disease Research: Trends in the 2000s. Review. *Int J Mol Sci* 2019; 20(21): 5402. <https://doi.org/10.3390/ijms20215402>
32. Kitamura Y, Shimohama S, Akaike A, Taniguchi T. The parkinsonian models: invertebrates to mammals. *Jpn J Pharmacol* 2000; 84(3): 237-243. <https://doi.org/10.1254/jjp.84.237>
33. Kitamura Y, Taniguchi T, Shimohama S, Akaike A, Nomura Y. Neuroprotective mechanisms of antiparkinsonian dopamine D2-receptor subfamily agonists. *Neurochem Res* 2003; 28(7): 1035-1040. <https://doi.org/10.1023/A:1023207222944>
34. Kopin IJ, Markey SP. MPTP toxicity: implications for research in Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* 1988; 11: 81-96. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.11.030188.000501>
35. Krüger R, Eberhardt O, Riess O, Schulz JB. Parkinson's disease: one biochemical pathway to fit all genes? *Trends Mol Med* 2002; 8(5): 236-240. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(02\)02333-X](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(02)02333-X)
36. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med* 1998; 339(15): 1044-1053. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810083391506>
37. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. Second of two parts. *N Engl J Med* 1998; 339(16): 1130-1143. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810153391607>
38. Langston JW, Irwin I. MPTP: current concepts and controversies. *Clin Neuropharmacol* 1986; 9(6): 485-507. <https://doi.org/10.1097/00002826-198612000-00001>
39. Law SW, Conneely OM, DeMayo FJ, O'Malley BW. Identification of a new brain-specific transcription factor, NURR1. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 2129 -2135. <https://doi.org/10.1210/mend.6.12.1491694>
40. Lee MK, Stirling W, Xu Y, Xu X, Qui D, Mandir AS, et al. Human  $\alpha$ -synuclein harboring familial Parkinson's disease-linked Ala-53 -Thr mutation causes neurodegenerative disease with  $\alpha$ -synuclein aggregation in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8968-8973. <https://doi.org/10.1073/pnas.132197599>
41. Li SC, Schoenberg BS, Wang CC, Cheng XM, Rui DY, Bolis CL, et al. A prevalence survey of Parkinson's disease and other movement disorders in the People's Republic of China. *Arch Neurol* 1985; 42(7): 655-657. <https://doi.org/10.1001/archneur.1985.04060070045013>
42. Liker MA, Petzinger GM, Nixon K, McNeill T, Jakowec MW. Human neural stem cell transplantation in the MPTP-lesioned mouse. *Brain Res* 2003; 971(2): 168-177. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02337-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02337-0)
43. Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, et al. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alphasynuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science* 2000; 287: 1265-1269. <https://doi.org/10.1126/science.287.5456.1265>
44. Menegon A, Board PG, Blackburn AC, Mellick GD, Le Couteur DG. Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms. *Lancet*. 1998; 352(9137): 1344-1346. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)03453-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)03453-9)
45. Mizuno Y, Hattori N, Mori H. Genetics of Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother* 1999; 53(3): 109-116. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(99\)80075-4](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(99)80075-4)
46. Nunes I, Tovmasian LT, Silva RM, Burke RE, Goff SP. Pitx3 is required for development of substantia nigra dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 4245- 4250. <https://doi.org/10.1073/pnas.0230529100>
47. Olanow CW, Tatton WG. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* 1999; 22: 123-144. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.22.1.123>
48. Ourednik J, Ourednik V, Lynch WP, Schachner M, Snyder EY. Neural stem cells display an inherent mechanism for rescuing dysfunctional neurons. *Nat Biotechnol* 2002; 20(11): 1103-1110. <https://doi.org/10.1038/nbt750>
49. Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans EW, Gilks WP, Simon J, van der Brug M, et al. Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron* 2004; 44: 595- 600. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.10.023>
50. Perez FA, Palmiter RD. Parkin-deficient mice are not a robust model of parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 2174 -2179. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409598102>
51. Periquet M, Corti O, Jacquier S, Brice A. Proteomic analysis of parkin knockout mice: alterations in energy metabolism, protein handling and synaptic function. *J Neurochem* 2005; 95: 1259-1276. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03442.x>

52. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger A, Olson L, Wyatt RJ. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 1979; 204: 643-53. <https://doi.org/10.1126/science.571147>
53. Redmond DE. Cellular Replacement Therapy for Parkinson's Disease-Where We Are Today? *Neuroscientist* 2002; 8(5): 457-488. <https://doi.org/10.1177/107385802237703>
54. Richfield EK, Thiruchelvam MJ, Cory-Slechta DA et al. Behavioral and neurochemical effects of wildtype and mutated human alpha-synuclein in transgenic mice. *Exp Neurol* 2002; 175: 35-48. <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.7882>
55. Przedborski S, Jackson-Lewis V, Naini AB, Jakowec M, Petzinger G, Miller R, et al. The parkinsonian toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP): a technical review of its utility and safety. *J Neurochem* 2001; 76(5): 1265-1274. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00183.x>
56. Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ. Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 2001; 76:1565-1572. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00181.x>
57. Sawada H, Kawamura T, Shimohama S, Akaike A, Kimura J. Different mechanisms of glutamate-induced neuronal death between dopaminergic and non-dopaminergic neurons in rat mesencephalic culture. *J Neurosci Res*. 1996; 43(4): 503-510. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19960215\)43:4<503::AID-JNR12>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19960215)43:4<503::AID-JNR12>3.0.CO;2-2)
58. Sawada H, Ibi M, Kihara T, Urushitani M, Honda K, Nakanishi M, et al. Mechanisms of antiapoptotic effects of estrogens in nigral dopaminergic neurons. *FASEB J* 2000; 14(9): 1202-1214. <https://doi.org/10.1096/fasebj.14.9.1202>
59. Sawada H, Ibi M, Kihara T, Honda K, Nakamizo T, Kanki R, et al. Estradiol protects dopaminergic neurons in a MPP+Parkinson's disease model. *Neuropharmacology* 2002; 42(8): 1056-1064. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(02\)00049-7](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(02)00049-7)
60. Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Res* 2004; 318: 215-224. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0938-y>
61. Sedelis M, Schwarting RK, Huston JP. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2001; 125(1-2): 109-125. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00309-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00309-6)
62. Shimohama S, Sawada H, Kitamura Y, Taniguchi T. Disease Model: Parkinson's disease. *Trends in molecular medicine* 2003; 9: 360-365. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914\(03\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S1471-4914(03)00117-5)
63. Song DD, Shults CW, Sisk A, Rockenstein E, Masliah E. Enhanced substantia nigra mitochondrial pathology in human alpha-synuclein transgenic mice after treatment with MPTP. *Exp Neurol* 2004; 186:158-172. [https://doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00342-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00342-X)
64. Speciale SG. MPTP: insights into parkinsonian neurodegeneration. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24: 607-620. [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(02\)00222-2](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(02)00222-2)
65. Thiruchelvam MJ, Powers JM, Cory-Slechta DA, Richfield EK. Risk factors for dopaminergic neuron loss in human alpha-synuclein transgenic mice. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 845-854. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03139.x>
66. Ungerstedt U, Arbuthnott GW. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 1970; 24(3): 485-93. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(70\)90187-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(70)90187-3)
67. Ungerstedt U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Acta Physiol Scand* 1971; 367 (Suppl): 69-93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.1971.tb11000.x>
68. Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MM, Harvey K, Gispert S, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 2004; 304: 1158-1160. <https://doi.org/10.1126/science.1096284>
69. Van der Putten H, Wiederhold KH, Probst A, Barbieri S, Mistl C, Danner S, et al. Neuropathology in mice expressing human alpha-synuclein. *J Neurosci* 2000; 20: 6021-6029. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-16-06021.2000>
70. Von Coelln R, Thomas B, Savitt JM, Lim KL, Sasaki M, Hess EJ, et al. Loss of locus coeruleus neurons and reduced startle in parkin null mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10744-10749. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401297101>
71. Zimprich A, Muller-Myhsok B, Farrer M, Leitner P, Sharma M, Hulihan M, et al. The PARK8 locus in autosomal dominant parkinsonism: confirmation of linkage and further delineation of the disease-containing interval. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 11-19. <https://doi.org/10.1086/380647>
72. Wintermeyer P, Kruger R, Kuhn W, Muller T, Voitalla D, Berg D, et al. Mutation analysis and association studies of the UCHL1 gene in German Parkinson's disease patients. *Neuroreport* 2000; 11: 2079-2082. <https://doi.org/10.1097/00001756-200007140-00004>