

## PRACA ORYGINALNA

## Zawartość 5-hydroksytryptaminy w mózgu szczurów z równoczesną lezją ośrodkowego układu dopaminergicznego i noradrenergicznego

5-Hydroxytryptamine level in the brain of rats after simultaneous lesion of the central dopaminergic and noradrenergic system

Przemysław Nowak, Janusz Niwiński, Eva Kőrössi, Jacek Drab, Izabela Walawender, Kamila Bojanek, Ryszard Szkilnik, Ryszard Brus

## STRESZCZENIE

**WSTĘP**

6-OHDA, neurotoksyna ośrodkowego układu dopaminergicznego podana szczurzym noworodkom wywołuje trwałe uszkodzenie powyższego układu utrzymujące się przez całe życie zwierzęcia, które uznawane jest za zwierzęcy model choroby Parkinsona. Towarzyszy temu wzrost aktywności ośrodkowego układu serotonergicznego. Celem niniejszych badań była ocena zmian układu serotonergicznego u szczurów z równoczesną lezją ośrodkowego układu dopaminergicznego (podaniem 6-OHDA) oraz noradrenergicznego podaniem DSP-4 (neurotoksyny układu noradrenergicznego).

**MATERIAŁ I METODY**

Szczurzym noworodkom samcom szczepu Wistar podano 1-go i 3-go dnia życia DSP-4 50.0 mg/kg SC oraz 3-go dnia życia 6-OHDA 134 µg ICV oddzielnie lub łącznie. U dorosłych zwierząt oznaczono zawartość amin biogennych w mózgu metodą HPLC/ED.

**WYNIKI**

Wykazano i potwierdzono, że u dorosłych szczurów z lezją ośrodkowego układu dopaminergicznego wykonaną w okresie noworodkowym dochodzi do wzrostu zawartości 5-HT i 5-HIAA w mózgu dorosłych szczurów. Równoczesna lezja ośrodkowego układu noradrenergicznego wykonana podaniem noworodkom DSP-4 powoduje dalszy wzrost zawartości badanych amin indolowych w mózgu dorosłych szczurów.

Katedra i Zakład Farmakologii  
w Zabrze SUM w Katowicach

**ADRES****DO KORESPONDENCJI:**

Prof. dr hab. n. med. Przemysław Nowak  
Katedra i Zakład Farmakologii SUM  
41-808 Zabrze, ul. H. Jordana 38  
tel./fax 32 2722683  
e-mail: pnowak@sum.edu.pl

Ann.Acad.Med.Siles. 2009, 63, 4, 39-45  
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
ISSN 0208-5607

**WNIOSKI:**

Łączne podanie 6-OHDA i DSP-4 (neurotoksyny układu dopaminergicznego i noradrenergicznego) noworodkom powoduje nasilenie aktywności ośrodkowego układu serotonergicznego u dorosłych szczurów, który wydaje się zastępować niedoczynny układ dopaminergiczny.

**SŁOWA KLUCZOWE**

6-OHDA, DSP-4, szczury, mózg, aminy biogenne

**A B S T R A C T****BACKGROUND**

Rats lesioned shortly after birth with 6-OHDA (neurotoxin for the central dopaminergic system) have been proposed to be a near-ideal model of severe Parkinson's disease, because of non-lethality of the procedure, near-total destruction of nigrostriatal dopaminergic fibres and near-total dopamine (DA) denervation of striatum. In such rodent model of Parkinson's disease increase of serotonergic system in the brain of adult rats was observed. The aim of presented study was to examine the central serotonergic system in adult rats simultaneously lesioned with central dopaminergic (using 6-OHDA) and noradrenergic system (using DSP-4).

**MATERIAL AND METHODS**

Newborn male Wistar rats were injected on the day 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> of life with DSP-4 (neurotoxin for noradrenergic system) 50.0 mg/kg SC, and on the day 3<sup>rd</sup> with 6-OHDA 134 µg ICV. Separately and concomitantly. In adult animals the level of biogenic amines in the brain was estimated by HPLC/ED technique.

**RESULTS**

It was shown that in rats lesioned as neonates with 6-OHDA increase of 5-HT and its metabolite 5-HIAA was observed in the brain of adult rats. Simultaneous lesion of the central dopaminergic and noradrenergic system induce further increase in the level of indole amines in the brain of adult rats.

**CONCLUSIONS**

Simultaneous lesion of the central dopaminergic and noradrenergic system of rats as neonates increased activity of the central serotonergic system which seems to be a substitute of the dopaminergic one.

**KEY WORDS**

6-OHDA, DSP-4, rats, brain, biogenic amines

**WSTĘP**

6-hydroksydopamina (6-OHDA) jest neurotoksyną, którą podana bezpośrednio do ośrodkowego układu nerwowego (OUN), tj. do bocznych komór mózgu (ICV) jest wychwytywana do neuronów układu dopaminergicznego po-

wodując ich zniszczenie [1]. 6-OHDA podana szczurzym noworodkom 3-go dnia życia w dawce 134 µg ICV (po połowie dawki do lewej i prawej komory bocznej mózgu) powoduje trwałe, utrzymujące się przez całe życie zwierzęcia znaczne obniżenie zawartości dopaminy (DA) w mózgu (o ok. 98%), któremu towarzyszy zniszczenie neuronów dopamino-

wych w prążkowie [2]. Tak uzyskane uszkodzenie ośrodkowego układu dopaminergicznego u szczurów zostało uznane za zwierzęcy model choroby Parkinsona [3]. Model ten służy do badania interakcji z innymi ośrodkowymi układami neuroprzekąźnikowymi w mózgu ssaków. I tak wykazano, że u dorosłych szczurów ze zwierzęcym modelem choroby Parkinsona dochodzi do wzrostu unerwienia serotonergicznego w prążkowie [4-7]. Co więcej, rozrastający się w prążkowie szczurów ze zniszczonym układem dopaminergicznym układ serotonergiczny wydaje się zastępować ten ostatni. Inną neurotoksyną będącą w centrum zainteresowania niniejszych badań jest DSP-4 (N-(2-chlorethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamina) związek trwale zaburzający procesy magazynowania noradrenaliny (NA) w ośrodkowym układzie noradrenergicznym ssaków [8, 9]. Uprzednio opracowaliśmy własny model uszkodzenia (lezji) ośrodkowego układu noradrenergicznego u szczurów podając DSP-4 50.0 mg/kg SC noworodkom 1-go i 3-go dnia życia [10]. W wyniku powyższego zawartość NA w mózgu dorosłych szczurów (hipokamp, kora czołowa) obniża się do ok. 4-5% wartości kontrolnej [10]. Model ten posłużył także do badań interakcji z ośrodkowym układem dopaminergicznym u szczurów [11]. Celem niniejszej pracy było zbadanie jak równoczesna lezja ośrodkowego układu dopaminergicznego i noradrenergicznego wywołana podaniem noworodkom 6-OHDA i DSP-4 wpływa na zawartość 5-hydroksytryptaminy (5-HT) w OUN dorosłych szczurów.

#### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie wykonano na nowo narodzonych szczurach szczepu Wistar płci męskiej oraz u zwierząt po osiągnięciu dojrzałości. Szczury przez cały okres doświadczenia przebywały w pomieszczeniu o stałej temperaturze  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  i oświetleniu 12:12 h (dzień – noc) z nieograniczonym dostępem do wody i standardowej diety. Badania wykonano po uzyskaniu zgody przez Lokalną Komisję Etyczną Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (zezwolenie nr 16/2007 z dnia 21.02.2007).

Szczurze noworodki podzielono na cztery grupy jak następuje:

1. Grupa kontrolna. Zwierzęta otrzymały 1-go i 3-go dnia życia 0.9% roztwór NaCl
2. Grupa z lezją ośrodkowego układu noradrenergicznego. Zwierzęta otrzymały 1-go i 3-go dnia życia DSP-4 50.0 mg/kg SC (w objętości 1.0 ml/kg SC) rano między godziną 9.00 i 10.00. Ponadto zwierzęta 3-go dnia życia otrzymały 0.9% roztwór NaCl z dodatkiem 0.1% kwasu askorbinowego po 5  $\mu\text{l}$  do każdej bocznej komory mózgu (ICV) w godzinach popołudniowych między 14.00-15.00.
3. Grupa z lezją ośrodkowego układu dopaminergicznego. Zwierzęta otrzymały 1-go i 3-go dnia życia 0.9% roztwór NaCl 1.0 ml/kg SC rano między godziną 9.00-10.00. Ponadto zwierzęta 3-go dnia życia otrzymały 6-OHDA 134  $\mu\text{g}$  ICV (po 67  $\mu\text{g}$  do każdej bocznej komory mózgu w 0.9% roztworze NaCl z dodatkiem 0.1% kwasu askorbinowego w objętości 5  $\mu\text{l}$ ) w godzinach popołudniowych między 14.00-15.00.
4. Grupa z równoczesną lezją ośrodkowego układu noradrenergicznego i dopaminergicznego. Zwierzęta otrzymały 1-go i 3-go dnia życia DSP-4 50.0 mg/kg SC rano między godziną 9.00 i 10.00. Ponadto 3-go dnia życia szczury otrzymały 6-OHDA w godzinach popołudniowych między 14.00-15.00 (jak to opisano w punkcie 3).

Zwierzęta pozostawały z matkami do 21 dnia życia, po czym były oddzielane i umieszczane w oddzielnych klatkach. Po osiągnięciu 2-go miesiąca życia szczury były uśmiercone przez zgilotynowanie. Następnie po otwarciu czaszki wyjmowano mózg, z którego preparowano prążkowie, hipokamp i korę czołową. Tkaniki natychmiast zamrażano na zestalonym  $\text{CO}_2$  (tzw. „suchym lodzie”) ważono i przechowywano do oznaczeń biochemicznych w temperaturze  $-70^\circ\text{C}$ . W powyższych fragmentach mózgu oznaczono zawartość NA, DA i jej metabolitu DOPAC (kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy), 5-HT oraz jej metabolitu 5-HIAA (kwas 5-hydroksyindoloctowy) metodą HPLC/EC [12]. Wyniki wyrażano

w ng/g świeżej tkanki. Różnice między grupami poddano analizie statystycznej testem ANOVA oraz postANOVA testem Neumana-Kuelsa. Za miarę istotności przyjęto wartość p mniejszą od 0.05.

pie, która otrzymała 6-OHDA była wyższa niż w grupie kontrolnej. U zwierząt z równoczesną leżą ośrodkowego układu dopaminergicznego i noradrenergicznego zawartości 5-HT, 5-HIAA uległy dalszemu zwiększeniu.

WYNIKI I DYSKUSJA

PRĄŻKOWIE (TABELA 1)

W badanej strukturze zawartość NA było na granicy oznaczalności (wyniku nie podano). DSP-4 nie zmieniało zawartości DA i 5-HT ani ich metabolitów w porównaniu z grupą kontrolną (wartości wynosiły ok. 9000 i 500 ng/g świeżej tkanki). 6-OHDA podana noworodkom oddzielnie lub łącznie z DSP-4 obniżała znacznie zawartość DA i jej metabolitu DOPAC w mózgu w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast zawartość 5-HT i 5-HIAA w gru-

KORA CZOŁOWA (TABELA 1)

W badanej strukturze zawartość NA w grupie kontrolnej wynosiła ok. 500 ng/g świeżej tkanki. Podana noworodkom neurotoksyna DSP-4 oddzielnie lub łącznie z 6-OHDA obniżała zawartość NA odpowiednio do ok. 8 i 6% wartości kontrolnych. Z kolei zawartość DA w badanej strukturze w grupie kontrolnej wynosiła ok. 280 ng/g świeżej tkanki. DSP-4 zmieniała zawartość DA i jej metabolitu DOPAC. Natomiast 6-OHDA podana oddzielnie lub łącznie z DSP-4 obniżała zawartość NA w badanej strukturze odpowiednio o ok. 31 i 33% wartości kontrolnej. U dorosłych szczurów kon-

Tabela 1. Zawartość amin biogennych w mózgu dorosłych szczurów z równoczesną leżą ośrodkowego układu dopaminergicznego i noradrenergicznego wykonaną w okresie noworodkowym.

Table 1. Biogenic amines level in the brain of adult rats with simultaneously lesioned of the central dopaminergic and noradrenergic system as neonates.

CZĘŚĆ MÓZGU PART OF THE BRAIN	BADANE AMINY EXAMINED AMINES	ZAWARTOŚĆ AMIN BIOGENNYCH ng/g świeżej tkanki; x ± SEM; n=6			
		BIOGENIC AMINE CONTENT ng/g of wet tissue; x ± SEM; n=6			
		GRUPA – GROUP			
		kontrola control	6-ohda	dsp-4	6-ohda dsp-4
PRĄŻKOWIE	DA	8798 ± 68	272 ± 22*	8533 ± 56	328 ± 21*
	DOPAC	635 ± 20	89 ± 12*	649 ± 28	91 ± 15*
	NA	-	-	-	-
STRIATUM	5-HT	472 ± 31	836 ± 43*	490 ± 25	1789 ± 48*+
	5-HIAA	438 ± 42	411 ± 36	796 ± 39	1025 ± 44
KORA CZOŁOWA	DA	283 ± 66	92 ± 13*	238 ± 41	78 ± 14*+
	DOPAC	68 ± 18	39 ± 12	79 ± 18	34 ± 10
	NA	476 ± 25	455 ± 21	38 ± 11*	32 ± 8*+
FRONTAL CORTEX	5-HT	305 ± 29	529 ± 33*	279 ± 32	678 ± 33*+
	5-HIAA	172 ± 31	156 ± 23	159 ± 24	202 ± 56
HIPOKAMP	DA	-	-	-	-
	DOPAC	-	-	-	-
	NA	448 ± 33	472 ± 39	32 ± 11*	34 ± 13*+
HIPOCAMPUS	5-HT	338 ± 31	412 ± 35	315 ± 29	497 ± 38*
	5-HIAA	127 ± 16	226 ± 27*	133 ± 15	316 ± 25*+

Objaśnienia: \* p < 0.05 w porównaniu do Kontroli  
+ p < 0.05 w porównaniu do 6-OHDA  
Explanations: \* p < 0.05 versus Control  
+ p < 0.05 versus 6-OHDA

trolnych zawartość 5-HT w badanej strukturze wynosiła ok. 300 ng/g świeżej tkanki. DSP-4 nie zmieniała zawartości badanej aminy natomiast 6-OHDA podwyższała poziom 5-HT o ok. 73% w porównaniu z kontrolą. Z kolei u dorosłych zwierząt po łącznym podaniu noworodkom DSP-4 i 6-OHDA spowodowało dalszy znamienity wzrost zawartości 5-HT odpowiednio 122% w porównaniu z grupą, która otrzymała tylko 6-OHDA.

#### ZAKRĘT HIPOKAMPA (TABELA 1)

Zawartość DA i jej metabolitu DOPAC w badanej strukturze była na granicy oznaczalności (wyników nie podano). Zawartość NA w grupie kontrolnej wynosiła ok. 450 ng/g świeżej tkanki. DSP-4 podany oddzielnie lub łącznie z 6-OHDA obniżał zawartość NA do wartości ok. 8% wartości kontrolnej. Zawartość 5-HT w badanej strukturze grupy kontrolnej wynosiła ok. 340 ng/g świeżej tkanki i wzrastała w grupie zwierząt, które otrzymały obie neurotoksyny łącznie (w porównaniu do kontroli). Z kolei zawartość 5-HIAA w grupie kontrolnej wynosiła ok. 130 ng/g świeżej tkanki i wzrastała o ok. 77% w grupie, która otrzymała 6-OHDA i ok. 120% w grupie, które otrzymały obie neurotoksyny łącznie w porównaniu z grupą kontrolną.

#### DYSKUSJA

W niniejszych badaniach potwierdzono poprzednie spostrzeżenia dokonane w Zespole Katedry Farmakologii w Zabrze, a także przez innych, że u zwierząt ze zniszczonym ośrodkowym układem dopaminergicznym podaniem noworodkom 6-OHDA dochodzi do wzrostu zawartości 5-HT w prążkowie i innych strukturach mózgu. Upřednio wykazaliśmy również, że biochemicznym zmianom o których mowa wyżej, towarzyszy również wzrost reaktywności ośrodkowych receptorów serotoninowych 5-HT<sub>2C</sub> na podanie swoistego antagonisty mCPP (1-(3-chlorfenylo)piperazyna) [4-7, 13-16]. Pierwszymi, którzy stwierdzili wzrost zawartości 5-HT w prążkowie szczurów z lezją ośrodkowego układu dopaminergicznego wywołaną podaniem noworodkom 6-OHDA byli Stachowiak i współprac. [17, 18] oraz Mailman i współprac. [19]. Wykazali oni, że po lezji układu dopaminergicznego dochodzi do rozrostu zakończeń neuronów układu serotonergicznego.

Zjawisko to występuje tylko wówczas, gdy poziom DA obniża się poniżej 20% wartości kontrolnych [20]. Staje się ono zauważalne ok. 10-go dnia po lezji układu dopaminergicznego wykonanej u noworodków i jest trwałe, tj. na całe życie zwierzęcia [21]. Wzrost aktywności układu serotonergicznego w prążkowie po lezji układu dopaminergicznego potwierdzili także inni [22, 23]. Co więcej, okazało się, że po lezji ośrodkowego układu dopaminergicznego może dochodzić do syntezy DA w ośrodkowym układzie serotonergicznym [23, 24]. Wzrost aktywności ośrodkowego układu serotonergicznego różnymi metodami potwierdzono również u chorych z chorobą Parkinsona [25-28]. Powyższe dane jak też przedstawione w niniejszym doświadczeniu wyniki potwierdzają i wskazują, że w zwierzęcym modelu choroby Parkinsona wywołanym podaniem noworodkom 6-OHDA dochodzi do wzrostu aktywności ośrodkowego układu serotonergicznego. Co więcej, dodatkowa lezja ośrodkowego układu noradrenergicznego wywołana podaniem noworodkom DSP-4 nasila aktywność układu serotonergicznego co manifestuje się dalszym wzrostem zawartości 5-HT i jej metabolitu 5-HIAA w mózgu doświadczalnych szczurów. Pośrednim dowodem na powyższe mogą też być badania wskazujące, że leki i substancje oddziałujące na ośrodkowy układ noradrenergiczny (w tym DSP-4) łagodzą niektóre patologiczne objawy w doświadczalnych modelach choroby Parkinsona [29-31]. Warto również dodać, że pomimo, iż główne zmiany patologiczne w chorobie Parkinsona dotyczą układu nigrostriatalnego (czarnoprążkowiego), to inne struktury mózgu jak chociażby kora mózgowa, hipokamp czy jądro Meynerta wydają się być wciągnięte w proces neurodegeneracyjny [32]. Chorzy oprócz zaburzeń motorycznych częściej niż inni cierpią na depresję, upośledzenie funkcji poznawczych i inne [33]. Powyższe, przynajmniej częściowo wydaje się być zbieżne z naszymi obserwacjami (w modelu zwierzęcym), ponieważ zmiany zawartości amin nie ograniczyły się jedynie do prążkowie ale również wystąpiły w innych badanych strukturach mózgu.

#### WNIOSKI

1. Potwierdzono, że neurotoksyny DSP-4 i 6-OHDA podane szczurzym noworodkom

oddzielnie wywierają charakterystyczne zmiany zawartości amin biogennych w mózgu dorosłych szczurów.

2. Łączne podanie noworodkom DSP-4 i 6-OHDA nasila funkcję ośrodkowego układu serotonergicznego u dorosłych szczurów manifestujące się dalszym wzrostem zawartości 5-HT i jej metabolitu 5-HIAA w porównaniu do odpowiednich kontroli.

#### PODZIĘKOWANIA:

Niniejsze badania finansował Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach: NN-1-001/06 (badania statutowe).

Część badań przedstawiono podczas "3rd Neurotoxicity Society Meeting", Chile, Pucon, 23-25 marca, 2007. Abstract Book, 58 (RB).

#### PIŚMIENNICTWO:

1. Kostrzewa R.M. Mechanism of action of 6-hydroxydopamine, a dopaminergic neurotoxin. W: Mechanisms of degeneration and protection of the dopaminergic system. Segura-Aguilar J. (red.). Graham Publishing Co. Johnson City TN. 2001; 89-104.
2. Kostrzewa R.M., Reader T.A., Descarries L. Serotonin neural adaptations to ontogenetic loss of dopamine neurons in rat brain. *J. Neurochem.* 1998; 70: 889-898.
3. Kostrzewa R.M., Kostrzewa J.P., Brus R., Kostrzewa R.A., Nowak P. Proposed animal model of severe Parkinson's disease: neonatal 6-hydroxydopamine lesion of dopaminergic innervation of striatum. *J. Neural. Transm.* 2006; 70 (Suppl.): 277-279.
4. Berger T.W., Kaul S., Stricker E.M., Zigmond M.J. Hyperinnervation of the striatum by dorsal raphe afferents after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats. *Brain Res.* 1985; 336: 354-358.
5. Snyder A.M., Zigmond M.J., Lund R.D. Sprouting of serotonergic afferents into striatum after dopamine-depleting lesions in infant rats: a retrograde transport and immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 1986; 245: 274-281.
6. Kostrzewa R.M., Gong L., Brus R. Serotonin (5-HT) system mediate dopamine (DA) receptor supersensitivity. *Acta Neurobiol. Exp.* 1992; 53: 31-41.
7. Brus R., Kostrzewa R.M., Perry K.W., Fuller R.W. Supersensitization of the oral response to SKF 38393 in neonatal 6-hydroxydopamine-lesioned rats is eliminated by neonatal 5,7-dihydroxytryptamine treatment. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 1994; 260: 231-237.
8. Jaim-Etcheverry G., Zeicher I.M. DSP-4 a novel compound with neurotoxic effects on noradrenergic neurons of adults and developing rats. *Brain Res.* 1980; 188: 513-523.
9. Jaim-Etcheverry G., Zeicher I.M. 2-Chlorethylamines: Neurochemical tools for the study of the noradrenergic neurons. *TIPS* 1984; 4: 473-475.
10. Nowak P., Bortel A., Labus Ł., Drosik M., Joško J., Gorzałek J., Kwieciński A., Kostrzewa R.M., Brus R. Neonatal lesion of the central noradrenergic neurons by DSP-4; a model for the study of interaction with other neurotransmitter system in the brain of adult rats. *Neurotox. Res.* 2008 (w druku).
11. Nowak P., Labus Ł., Kostrzewa R.M., Brus R. DSP-4 prevents dopamine receptor priming by quinpirole. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2006; 84: 3-7.
12. Magnusson O., Nilsson L.B., Westerlund D. Simultaneous determination of dopamine, DOPAC and homovanillic acid. Direct injection of supernatants from brain tissue homogenates in a liquid chromatography – electrochemical detection system. *J. Chromatogr.* 1980; 221: 237-247.
13. Kostrzewa R.M., Brus R., Perry K.W. Interactive modulation by dopamine and serotonin neurons of receptor sensitivity of alternate neurochemical system. *Pol. J. Pharmacol.* 1999; 51: 39-47.
14. Kostrzewa R.M., Huang N.Y., Kostrzewa J.P., Nowak P., Brus R. Model tardive dyskinesia: Predictive 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonist treatment. *Neurotox. Res.* 2007; 11: 41-50.
15. Iyer R.N., Bradberry C.W. Serotonin-mediated increase in prefrontal cortex dopamine release: pharmacological characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996; 277: 40-47.
16. Bolcioglu A., Zhang K., Tarazi F.I. Dopamine depletion abolish apomorphine- and amphetamine-induced increases in extracellular serotonin levels in the striatum of conscious rats: a microdialysis study. *Neurosci.* 2003; 119: 1045-1053.
17. Stachowiak M.K., Bruno J.P., Snyder A.M., MacKenzie R.G., Zigmond M.J. Sprouting of striatal serotonin neurons following neonatal 6-hydroxydopamine. *Soc. Neurosci.* 1982; 8: 304.
18. Stachowiak M.K., Bruno J.P., Snyder A.M., Stricker E.M., Zigmond M.J. Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats. *Brain Res.* 1984; 291: 164-167.
19. Mailman R.B., Towle A., Schulz D.W., Lewis M.H., Breese G.R., DeHaven D.L., Krigman M.R. Neonatal 6-OHDA treatment of rats: changes in dopamine (DA) receptors, striatal neurochemistry and anatomy. *Soc. Neurosci.* 1983; 9: 932-935.
20. Towle A.G., Crimell H.E., Maynard E.D., Lander J.M., Joh T.H., Mueller R.A., Breese G.R. Serotonergic innervation of the rat candidate following a neonatal 6-hydroxydopamine lesion: an anatomical, biochemical and pharmacological study. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989; 34: 367-374.
21. Kostrzewa R.M., Brus R., Perry K.W., Fuller R.W. Age-dependence after 6-hydroxydopamine lesion on SKF-38393- and m-chlorphenylpiperazine-induced oral activity response of rats. *Devel. Brain Res.* 1993; 76: 87-93.
22. Carlson B.B., Wisniecki A., Salamone J.D. Local injection of the 5-hydroxytryptamine antagonist mianserin into substantia nigra part reticulate block tremulous jaw movements in rats: studies on putative model of Parkinsonian. *Psychopharmacol.* (Berlin) 2003; 165: 229-237.
23. Tannaka H., Kannari K., Maeda T., Tomiyama M., Suda T., Marsunaga M. Role of serotonergic neurons in L-DOPA-derived extracellular dopamine in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. *Neuroreport* 1999; 10: 131-134.
24. Arai R., Karosawa N., Gettard M., Nagatsu I. L-DOPA is converted to dopamine in serotonergic fibres of the striatum of the rat: a double-labeling immunofluorescence study. *Neurosci. Lett.* 1995; 195: 195-198.
25. Togi H., Abe T., Takahashi S., Takahashi J., Homota H., Alterations in the concentration of serotonergic and dopaminergic substances in the cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease, and their changes after L-dopa. *Neurosci. Lett.* 1993; 159: 135-138.
26. Mayeux R. The "serotonin hypothesis" for depression in Parkinson's disease. *Adv. Neural.* 1990; 53: 163-166.
27. Johnston T.H., Brotchie J.M. Drugs in development for Parkinson's disease. *Curr. Opin. Invest. Drugs* 2004; 5: 720-726.
28. Nicholson S.L., Brotchie J.M. 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) and Parkinson's disease-opportunities for novel therapeutics to reduce the problems of Levodopa therapy. *Eur. J. Neurol.* 2002; 9 (Suppl. 3): 1-6.
29. Srinivasan J., Schmidt W.J. Behavioral and neurochemical effects of noradrenergic depletion with N-(2-chorethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine in 6-hydroxydopamine-induced rat model of Parkinson disease. *Behav. Brain Res.* 2004; 151: 191-199.

30. Srinivasan J., Schmidt W.J. Treatment with alfa 2-adrenoreceptor agonist, 2-methoxydazoxan, protect 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonian symptoms in rats: neurochemical and behavioral evidence. *Behav. Brain Res.* 2004; 154: 353-356.
31. Srinivasan J., Schmidt W.J. Functional recovery of locus coeruleus noradrenergic neurons after DSP-4 lesion: effects on dopamine levels and neuroleptics induced-parkinsonian symptoms in rats. *J. Neural. Transm.* 2004; 111: 13-26.
32. Jokinen P., Brück A., Aalto S., Forsback S., Parkkola R., Rinne J.O. Impaired cognitive performance in Parkinson's disease is related to caudate dopaminergic hypofunction and hippocampal atrophy. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2009; 15: 88-93.
33. Kalitziakis M.E., Christian L.M., Moran L.B., Graeber M.B., Pearce R.K., Gentleman S.M. Dementia and visual hallucinations associated with limbic pathology in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2009; 15: 196-204.