

PEMANFAATAN HEWAN COBA PADA PENELITIAN NEURODEGENERATIF

David Pakaya^{1*}, Rina Susilowati²

¹Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako

²Departemen Histologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM

*Email: davidpakaya@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit neurodegeneratif berhubungan dengan kerusakan bahkan kematian sel-sel saraf progresif. Untuk mempelajarinya diperlukan suatu kondisi serupa dari penyakit manusia pada hewan coba. Famili *muridae* merupakan hewan coba yang paling sering digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui berbagai metode pengkondisian hewan coba telah dikembangkan dan digunakan dalam penelitian penyakit neurodegeneratif. Dilakukan penelusuran literatur secara *on-line* dengan menggunakan *search engine PubMed* dengan kata kunci "*animal model*" AND "*neurodegenerative*". Berbagai metode pengkondisian hewan coba tersebut dapat dilakukan dengan cara merekayasa genetika, model cedera ataupun induksi bahan kimia dengan berbagai metode.

Kata kunci: hewan coba, *muridae*, neurodegeneratif

ABSTRACT

Neurodegenerative diseases are associated with damage and progressive apoptosis or necrosis of nerve cells. To study about neurodegenerative diseases we were need a condition similar to human disease in experimental animals. The muridae family is the most commonly used experimental animal. This research aims to find out various methods of conditioning experimental animals that have been developed and used in research into neurodegenerative diseases. Online literature search was performed using the PubMed search engine with the keyword "animal model" AND "neurodegenerative". Various methods of conditioning experimental animals can be done by genetic manipulation, injury models or chemical induction.

Keywords: *animal model, muridae, neurodegenerative*

PENDAHULUAN

Penyakit neurodegeneratif adalah penyakit dari sistem saraf yang berhubungan dengan kerusakan bahkan kematian sel-sel saraf yang bersifat progresif¹. Munculnya penyakit ini akan merubah fungsi fisiologis tubuh, seperti pengolahan informasi sensorik dan motorik maupun fungsi luhur. Beberapa contoh gangguan yang muncul sebagai akibat kerusakan atau kematian sel saraf (neurodegenerasi) adalah *Amyotrophic Lateral sclerosis* (ALS), Alzheimer, Parkinson, *multiple sclerosis*, Stroke, *Spinal Cord Injury* (SCI) dan lain-lain^{1,2}.

Untuk mencari jalan keluar dari permasalahan akibat penyakit neurodegeneratif maka perlu dilakukan berbagai penelitian. Penelitian yang dilakukan mulai dari penelitian dasar, penelitian terapan maupun uji-klinis termasuk upaya preventif². Penelitian ini harus menggunakan subyek hewan dan bukan manusia, sehingga diperlukan suatu kondisi serupa dari penyakit manusia pada hewan coba. Penyakit tertentu menyebabkan perubahan pada organ tertentu secara spesifik^{1,2}. Berbagai metode telah dikembangkan untuk mendapatkan kondisi serupa tersebut. Metode pengkondisian hewan coba ini bergantung pada penyakitnya. Seluruh efek dan gejala yang muncul akibat pengkondisian pada hewan coba harus diamati secara detail. Penelitian penyakit neurodegeneratif menggunakan hewan coba saat ini telah berkontribusi menjelaskan konsep biologis, sampai terapi dan prognosis. Famili *muridae* termasuk mencit dan tikus merupakan hewan coba yang paling sering digunakan dalam penelitian laboratorium^{1,3}.

Artikel ini akan membicarakan berbagai metode pengkondisian hewan coba yang telah dikembangkan dan digunakan dalam penelitian penyakit neurodegeneratif.

METODE

Prosedur pencarian literatur dilakukan dengan penelusuran pustaka secara *on-line* dengan menggunakan *search engine PubMed* yang dilakukan pada 16 Juni 2015. Kata kunci yang digunakan adalah: "*animal model*" AND "*neurodegenerative*". Literatur yang digunakan merupakan publikasi *free full text* berbahasa Inggris, rentang waktu 5 tahun 2010-2015. Pada penelusuran ini didapatkan 196 artikel. Kriteria inklusi dipersempit dengan jenis publikasi hasil penelitian dengan menggunakan subyek hewan coba dari famili *muridae* yang dilakukan pengkondisian penyakit neurodegeneratif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk dipakai sebagai hewan model suatu kondisi dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris. Dalam menggunakan hewan coba harus mempertimbangkan banyak hal. Dimulai dengan melihat kesesuaian atau kesamaan dengan manusia, kepraktisan dari sisi analisis dan ekonomis, dan pertimbangan lainnya. Penggunaan hewan coba juga harus memenuhi segala kebutuhan fisiologis hewan coba dan etik^{2,3}.

Pemilihan famili *muridae* sebagai hewan coba karena mempunyai banyak keunggulan, antara lain banyak gennya relatif mirip dengan manusia, kemampuan berkembangbiak tinggi, cocok untuk digunakan dalam eksperimen massal, bentuk badan kecil dan mudah dipelihara serta berharga murah. Famili *muridae* juga dapat membuat penelitian lebih efisien karena anatomi, fisiologi dan gennya telah diketahui³.

Hewan coba sebagai pendukung penelitian neurodegeneratif

Jalur patologis seluler dan molekuler merupakan dasar dari penyakit-penyakit

neurodegeneratif⁴. Jalur ini menjadi dasar dalam penelitian baik untuk diagnosis sampai target terapi. Diperlukan kondisi yang serupa dengan keadaan patologis pada manusia untuk penelitian pada hewan coba. Untuk itu telah dikembangkan berbagai metode pembuatan hewan model yang mendukung upaya tersebut. Dalam mempelajari fungsi gen pada hewan coba/model secara langsung dikenal dengan 2 cara, yaitu transgenik dan penginaktifan gen (*gene disruption/gene knock out*) serta model traumatik^{1,3}.

Hewan model transgenik dan *knockout gene/gene disruption* neurodegeneratif

Hewan transgenik merupakan hewan model yang memiliki genom/susunan gen yang telah dimodifikasi dengan rekayasa genetik dan dapat diturunkan⁵. Pada organisme transgenik, gen atau fragmen DNA yang dimasukkan bisa merupakan gen atau fragmen DNA yang ditemukan pada organisme tersebut (endogen) dengan tujuan untuk mendapatkan ekspresi yang lebih kuat (overekspresi gen), maupun gen atau fragmen DNA yang tidak ditemukan pada organisme tersebut (eksogen). Secara umum hewan transgenik digunakan untuk mempelajari regulasi gen-gen yang terkait dengan regulasi biologi maupun gen-gen yang spesifik pada jaringan atau kondisi tertentu dan untuk mempelajari fenotip dari gen pada jaringan^{5,6}.

Pada tabel 1, memperlihatkan berbagai model hewan dari famili *muridae* yang digunakan dalam penelitian neurodegeneratif. Beberapa model penyakit telah dihasilkan dengan metode transgenik. Satu hewan model dapat dikembangkan menjadi berbagai kondisi penyakit neurodegeneratif, dan untuk 1 kondisi penyakit dapat dibentuk dengan beberapa metode yang berbeda. Seperti Alzheimer Sejumlah mutasi genetik telah

dikaitkan dengan perubahan patologis yang terjadi di otak pada kasus ini. Dengan menggunakan model hewan transgenik Alzheimer berperan dalam menjelaskan regulasi biologi yang terjadi, misalnya pada tikus APP transgenik, patologis dan perubahan fungsional terjadi sebelum munculnya plak amiloid^{7,8,9}. Pada model penyakit Huntington dibentuk dengan penyisipan dan/atau perluasan Polyglutamine yang terulang pada posisi N-terminal dari protein huntingtin padaseluruh fragmen DNANYa^{10,11}. Teknik molekuler untuk model ALS yang paling relevan secara klinis ini adalah tikus transgenik yang mengekspresikan mutasi gen SOD1^{12,13,14}.

Untuk menghasilkan hewan model transgenik, metode yang pertama adalah mikroinjeksi. Proses transgenik diawali dengan memasukan/injeksi pronuklear fragmen DNA atau gen asing⁵. Fragmen DNA atau gen ini harus mengandung promoter, *complete protein coding region* dan *polyadenylation site*^{5,6,11,15}. Proses mikroinjeksi ini dilakukan dengan jarum halus ke dalam telur (pronukleus) hewan model yang telah dibuahi. Transgen yang didapatkan selanjutnya di amplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Hasil PCR ini yang selanjutnya ditanam pada *cloning site* dari plasmid vektor menggunakan ligase. Vektor ini ditransfersikan ke dalam bakteri khusus melalui teknik *heat shock*. Selanjutnya bakteri dibiakan pada media agar. Plasmid yang telah mengandung transgen ini selanjutnya diisolasi dari bakteri, dan fragmen transgen ini diisolasi dengan enzim restriksi. Terakhir adalah proses pemurnian pada gel agarose^{5,16,17,18}.

Tabel 1. Hewan model dengan metode transgenik

Hewan Model	Mutasi gen	Metode	Model Penyakit	Referensi
Mencit C57BL/6	c.307insC Gen CLN6	Retrovirus-mediated gene transfer	NCL	15
Tikus FVB	498InsTC	Mikroinjeksi	Neuroferritinopathy	19
Mencit Tg2576	Gen FAD K670N, M671L	Mikroinjeksi	Alzheimer's Disease	3, 20
Tikus Sprague Dawley	SOD1-G93A		ALS	21
Tikus BACHD		full-length gene Human Htt CAG 97	HD	10
Tikus tgHD51		Fragment Transgenic CAG 51	HD	11
Mencit B6SJL/C57BL/6	SOD1-G93A		ALS	12,13,14,17,18, 22,23,24,25,26, 27,28,29,30
Mencit R26CT		Cre-Lox	Alzheimer's Disease	16
Mencit APP/PS1-21	L166P		Alzheimer's Disease	8, 9
mencit C57BL/KsJ-db/db	gen reseptor leptin		Diabetic Retinal Neurodegeneration	31
Mencit rTgTauEC	FVBTg(tetO-TauP301L)		Alzheimer's Disease	32
Tikus SCA17	TBPQ64	Mikroinjeksi	Spinocerebellar ataxia	33
Mencit R6/2		Repeat CAG	HD	34
Mencit HuAPP695swe	PSEN1dE9		Alzheimer's Disease	35
Mencit IL-1 β XAT B/b		Microinjeksi	Neuroinflammation	36
Mencit 3xTg-AD	APP K670N, M671L; PSEN1 M146V; tau P301L		Alzheimer's Disease	37
Mencit B6C3F1/J	A53T mutant α -syn.		Parkinson	38
Mencit PEX13flox/flox	Nestin-Cre	Cre-Lox	ZS	39
Mencit C57BL/6	Blocking ADAM10709-729		Alzheimer's Disease	40

NCL: *Neuronal ceroid lipofuscinosis*

ALS: *Amyotrophic Lateral Sclerosis*

HD: *Huntington's Disease*

ZS: *Zellweger syndrome*

Metode kedua adalah transfer fragmen DNA atau gen dengan media retrovirus. Fragmen DNA atau Gen ditransferkan pada media retrovirus sebagai vektor, kemudian hasil transfer tersebut diinjeksikan ke dalam sel inang. DNA dari retrovirus berintegrasi ke dalam gen untuk bekerja. Masuknya retrovirus akan menginfeksi inang, namun retrovirus

bekerja memproduksi *copy* DNA dari genom mRNA menggunakan enzim *reverse transcriptase*^{6,15}. Metode yang dijelaskan di atas untuk mentransfer gen asing mengandalkan integrasi. Adapula DNA yang dimasukkan ke dalam genom inang. Secara teoritis, dengan menggunakan vektor episom mampu melakukan *autoreplicating* di sel inang dan mentransfer DNA untuk sel anakan⁶.

Metode ketiga adalah teknologi sel punca embrionik, Teknologi ini dilakukan

dengan mengenalkan DNA ke dalam sel punca embrional yang bersifat pluripotensi. Sel punca embrional didapatkan dari embrio preimplantasi (morula dan blastosis) yang dikultur, dengan manipulasi *in vitro*. Selanjutnya sel tersebut diinjeksi langsung

pada blastosit *host* atau diinkubasikan dengan morula. Embrio *host* kemudian ditransfer pada *host intermediate* atau betina pengganti untuk kelanjutan perkembangan. Untuk alasan yang tidak diketahui, metode ini hanya digunakan sampai turunan kedua^{5,6}.

Tabel 2. Hewan model dengan metode *Knockout*

Hewan Model	Perlakuan/Mutasi	Metode	Model Penyakit	Referensi
Mencit C57BL/6	Delesi exon 3 (parkin-/-)	Cre-Lox Deletion	Parkinson	41
Mencit S100A9	K670N/M671L		AD	42
Mencit C57BL/6	IDS-ko		Hunter Syndrome	43
Aicda deficient mice	Induksi MOG125	Cre-Lox Insertion	MS	44
Tikus Trembler-J	MAG-/-			
Mencit C57BL/6	Aldh1a1	Cre-Lox Deletion	Parkinson	45
Mencit C57BL/6	IFNAR-/-, IL10 KO	Cre-Lox Deletion	MS	46
Mencit C57BL/6	FGF-2)/)		MS	47
C57BL/6J	Olig1-/-	Cre-Lox Deletion	MS	48
Tikus	CGG Knock-In (CGG repeat)	Homolog Rekombinan	Ataxia	49

Knockout gene merupakan metode menonaktifkan suatu gen tertentu dengan cara membuat gen tersebut menjadi mutan. Tujuannya untuk mempelajari fungsi gen dan regulasi biologinya. Perkembangan teknologi DNA *sequencing* sangat membantu dalam membuat hewan model *knockout*⁶.

Pada tabel 2, memperlihatkan berbagai model hewan yang di *knockout* untuk menghasilkan kondisi penyakit. Pada multiple sclerosis beberapa gen yang mengekspresikan berbagai molekul imunologis dihilangkan^{46,50} maupun diinsersikan⁴⁴ untuk menghasilkan kondisi autoimun. Pada penyakit Parkinson's sel dilakukan dengan system cre-lox deletion dengan menghilangkan gen-gen yang berkaitan dengan terjadinya penyakit ini seperti gen parkin^{41,45}.

Salah satu teknik untuk membuat *knockout* gen adalah dengan menggunakan transposons. Transposon adalah suatu urutan DNA yang dapat bergerak atau berpindah posisinya dalam suatu genom (transposisi). Dalam proses transposisi ini, dapat menyebabkan mutasi dan perubahan pada

DNA dalam suatu genom. Terdapat teknik lain juga untuk membuat *knockout* gen, yaitu dengan menggunakan metode homolog rekombinan, yaitu dengan cara mengubah urutan gen. Pada homolog rekombinan, terjadi pertukaran gen pada suatu lokus, yang terjadi oleh karena pengenalan daerah atau urutan gen yang serupa^{6,51,52}.

Metode Cre LoxP adalah jenis rekombinasi DNA yang disebut sebagai *site-specific recombination*. Cre-Lox recombination adalah jenis rekombinasi yang memiliki target pada untai DNA spesifik kemudian memotongnya dengan bantuan enzim yang disebut sebagai *Cre recombinase*. Cre- sebagai suatu protein enzim spesifik pada DNA. Enzim ini mengkatalisis rekomendasi DNA di antara dua lokasi yang spesifik sepanjang molekul DNA. Cre- dapat mengenali LoxP. LoxP merupakan untaian asam nukleat yang terdapat di dalam DNA. Saat sel memiliki LoxP pada untaian gen-nya juga mengekspresikan Cre, maka dapat dilakukan rekombinasi di antara kedua lokasi LoxP⁵. Metode ini dapat dibuat dengan cara

mendelesi area atau target yang dikenalnya^{41,46} atau dengan cara insersi pada target⁵⁰. Beberapa model penyakit menuntut untuk dilakukan kombinasi dari beberapa metode transgenik. Karena banyak penyakit terjadi akibat efek gabungan dari beberapa mutasi.

Hewan model cedera neurodegeneratif

Hewan model digunakan untuk mensimulasikan cedera, dengan tujuan mempelajari patomekanisme cedera, diagnosis dan terapi⁴. Model hewan yang sering dibuat adalah untuk suatu model penyakit, sehingga untuk menghasilkan hewan model cedera harus dilakukan manipulasi traumatik eksperimental sesuai standar. Untuk menjadi model cedera, hewan harus mirip secara etiologi dan fungsinya dengan manusia. Secara umum, model eksperimental bisa terjadi secara alami misalnya hewan yang kecelakaan, penyakit bawaan, atau diinduksi (bedah,

genetik rekayasa) yang mirip dengan kondisi manusia^{2,3}.

Untuk membuat hewan model cedera paling mungkin adalah menggunakan metode bedah³, berikut adalah beberapa metode pembuatan hewan model cedera. Kompresi, dilakukan dengan penekanan atau penjempitan menggunakan alat berupa *impactor* ataupun klem dengan menyesuaikan kekuatan tekanannya. Hasilnya ditandai dengan adanya memar, hemoragik nekrosis, iskemia, peradangan, dan kavitasi. Transeksi, yang digunakan pada hewan model SCI, merupakan kerusakan segmen tulang belakang. Transeksi medula spinalis dilakukan setelah Laminektomi dengan gunting bedah, dan disesuaikan dengan target kerusakannya. Model Iskemik, metode ini menggunakan sternotomi anterior dengan oklusi aorta. Metode kombinasi, untuk beberapa tujuan tertentu, menggunakan kombinasi dari berbagai metode lainnya³.

Tabel 3. Hewan model dengan metode cedera dan induksi

Hewan Model	Perlakuan/prinsip injuri	Model Penyakit	Referensi
Mencit C57BL/6J	controlled cortical impact (CCI)	mTBI	53
Mencit C57BL/6J	controlled cortical impact (CCI)/ Chronic Traumatic Encephalopathy	mTBI	54
Mencit BALB/c	Cecal Ligation & Puncture	Sepsis	55
Tikus Wistar	ICV-STZ	Alzheimer's Disease	56
Tikus Lewis	induksi EAE	MS	57, 58, 59
Mencit C57BL/6	induksi EAE	MS	60, 61, 62
Mencit C57BL/6	Injeksi MOG35–55	MS	63, 64, 65
mencit hTau dan Tau–/–	Injeksi MOG35–55	MS	66
Tikus Sprague-Dawley dan Mencit C57BL/6	injeksi MPTP	Parkinson's	67
Tikus Wistar	Injeksi 6-OHDA pada SNC	Parkinson's	68
Mencit TWEAK–/–, Fn14–/– and TNFα–/–	MCAO	Iskemia Serebral	69
Mencit SJL/L	induksi EAE	MS	70
Mencit CD-1	Inhalasi Mn2+/Mn3+	Parkinson's	71

mTBI: *mild traumatic brain injury*

ICV-STZ: *intracerebroventricular injection of streptozotocin*

MS: *Multiple sclerosis*

MCAO: *Middle cerebral artery Occlusion*

Bivalent and Trivalent Managanese (Mn2+/Mn3+)

Pada Tabel 3, memperlihatkan berbagai hewan model yang trauma maupun penyakit neurodegenerative menggunakan metode induksi bukan rekayasa genetika. *Traumatic brain injury* (TBI) adalah penyebab utama mortalitas dan morbiditas³. Penderitanya akan mengalami kognisi jangka panjang, perubahan fungsi sensorimotor dan kepribadian. Salah satu cara untuk mempelajari mekanisme patologisnya dengan hewan coba yang dibuat model cedera dengan metode. *Controlled cortical impact injury* (CCI), pembuatan hewan model ini menggunakan dampak pneumatik atau elektromagnetik dari suatu perangkat untuk menekan area tertentu dari otak yang akan dicerderai, tujuannya menekan dura dan meniru kehilangan jaringan kortikal, subdural akut hematoma, cedera aksonal maupun gegar otak^{53,54}.

Selain itu, beberapa model penyakit neurodegeneratif, dapat dibentuk dengan menggunakan induksi bahan tertentu yang akan mengganggu keadaan neurofisiologi. Cara yang digunakan, paling mudah adalah secara subkutan^{64,57}, injeksi intraperitoneal MPTP dalam menyebabkan parkinsons⁶⁷ inhalasi, keuntungannya meminimalisir efek traumatik⁷¹.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dalam mempelajari penyakit neurodegeneratif baik secara preklinis maupun klinis, harus menggunakan hewan coba. Hewan coba yang dibuat harus dikondisikan dengan keadaan patologis dan etiologinya. Etiologi dan patogenezisnya akan menentukan metode yang akan digunakan. Hewan model neurodegenerative dapat dibuat dengan rekayasa genetika ataupun model cedera dan induksi berbagai bahan kimiawi dengan berbagai metode.

DAFTAR PUSTAKA

1. Narayanan R. Neurodegenerative Diseases: Phenome to Genome Analysis. *MOJ Proteomics Bioinforma.* 2014;2(1):00033. doi:10.15406/mojpb.2015.02.00033
2. Poindron P, Callizot N, Piguët P. New Animal Models of Human Neurological Diseases. In: *BioValley Monogr. Basel, Karger.* ; 2008:1-10. doi:10.1159/000117719
3. Sharif-Alhoseini M, Rahimi-Movaghar V. Animal Models in Traumatic Spinal Cord Injury. In: Quevado A, ed. *Brain Damage - Bridging Between Basic Research and Clinics.* InTech; 2012. doi:10.5772/57189
4. Kim Y, Kim Y, Hwang O, Jin D. Pathology of Neurodegenerative Diseases. In: Quevado A, ed. *Brain Damage - Bridging Between Basic Research and Clinics.* InTech; 2012. doi:10.5772/38028
5. Miao X. Recent Advances and Applications of Transgenic Animal Technology. In: Rodriguez PH, ed. *Polymerase Chain Reaction.* InTech; 2012:255-282. doi:10.5772/38040
6. Houdebine L. Methods to Generate Transgenic Animals. In: Engelhard M, Hagen K, Boysen M, eds. *Genetic Engineering in Livestock: New Applications and Interdisciplinary Perspectives.* Springer; 2009:143.
7. Gierut JJ, Jacks TE, Haigis KM. Strategies to achieve conditional gene mutation in mice. *Cold Spring Harb Protoc.* 2014;2014(4):339-349. doi:10.1101/pdb.top069807
8. Zhang ZY, Li C, Zug C, Schluesener HJ. Icarin ameliorates neuropathological changes, TGF- β 1 accumulation and behavioral deficits in a mouse model of cerebral amyloidosis. *PLoS One.* 2014;9(8). doi:10.1371/journal.pone.0104616
9. Zhang ZY, Daniels R, Schluesener HJ. Oridonin ameliorates neuropathological changes and behavioural deficits in a mouse model of cerebral amyloidosis. *J Cell Mol Med.* 2013;17(12):1566-1576. doi:10.1111/jcmm.12124
10. Jansson EKH, Clemens LE, Riess O, Nguyen HP. Reduced motivation in the BACHD rat model of huntington disease is dependent on the choice of food deprivation strategy. *PLoS One.* 2014;9(8).

- doi:10.1371/journal.pone.0105662
11. Y M, M A, I N, A B. Transgenic Rat Model of Huntington's Disease: A Histopathological Study and Correlations With Neurodegenerative Process in the Brain of HD Patients. *Biomed Res Int*. 2014. doi:10.1155/2014/291531
 12. Nascimento F, Pousinha PA, Correia AM, Gomes R, Sebastião AM, Ribeiro JA. Adenosine A2A receptors activation facilitates neuromuscular transmission in the pre-symptomatic phase of the SOD1(G93A) ALS mice, but Not in the symptomatic phase. *PLoS One*. 2014;9(8). doi:10.1371/journal.pone.0104081
 13. Lee S-H, Choi S-M, Yang EJ. Melittin Ameliorates the Inflammation of Organs in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Animal Model. *Exp Neurobiol*. 2014;23(1):86-92. doi:10.5607/en.2014.23.1.86
 14. Kong Q, Chang LC, Takahashi K, et al. Small-molecule activator of glutamate transporter EAAT2 translation provides neuroprotection. *J Clin Invest*. 2014;124(3):1255-1267. doi:10.1172/JCI66163
 15. Jankowiak W, Kruszewski K, Flachsbarth K, et al. Sustained neural stem cell-based intraocular delivery of CNTF attenuates photoreceptor loss in the nclf mouse model of neuronal ceroid lipofuscinosis. *PLoS One*. 2015;10(5). doi:10.1371/journal.pone.0127204
 16. Furgerson M, Clark JK, Crystal JD, Wagner JJ, Fechheimer M, Furukawa R. Hirano body expression impairs spatial working memory in a novel mouse model. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2(1). doi:10.1186/s40478-014-0131-9
 17. Zhang X, Chen S, Song L, et al. MTOR-independent, autophagic enhancer trehalose prolongs motor neuron survival and ameliorates the autophagic flux defect in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Autophagy*. 2014;10(4):588-602. doi:10.4161/auto.27710
 18. Gerber YN, Privat A, Perrin FE. Gacyclidine improves the survival and reduces motor deficits in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Front Cell Neurosci*. 2013;7(DEC). doi:10.3389/fncel.2013.00280
 19. Capoccia S, Maccarinelli F, Buffoli B, et al. Behavioral characterization of mouse models of neuroferritinopathy. *PLoS One*. 2015;10(2). doi:10.1371/journal.pone.0118990
 20. AbdAlla S, Langer A, Fu X, Quitterer U. ACE inhibition with captopril retards the development of signs of neurodegeneration in an animal model of Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2013;14(8):16917-16942. doi:10.3390/ijms140816917
 21. Thomsen GM, Gowing G, Latter J, et al. Delayed disease onset and extended survival in the SOD1G93A rat model of amyotrophic lateral sclerosis after suppression of mutant SOD1 in the motor cortex. *J Neurosci*. 2014;34(47):15587-15600. doi:10.1523/JNEUROSCI.2037-14.2014
 22. de Oliveira GP, Alves CJ, Chadi G. Early gene expression changes in spinal cord from SOD1G93A amyotrophic lateral sclerosis animal model. *Front Cell Neurosci*. 2013;6(NOV). doi:10.3389/fncel.2013.00216
 23. Milanese M, Giribaldi F, Melone M, et al. Knocking down metabotropic glutamate receptor 1 improves survival and disease progression in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*. 2014;64:48-59. doi:10.1016/j.nbd.2013.11.006
 24. Yang EJ, Choi S-M. α -Synuclein Modification in an ALS Animal Model. Kohlmeier M, ed. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2013;2013:259381. doi:10.1155/2013/259381
 25. Lilo E, Wald-Altman S, Solmesky LJ, et al. Characterization of human sporadic ALS biomarkers in the familial ALS transgenic mSOD1G93A mouse model. *Hum Mol Genet*. 2013;22(23):4720-4725. doi:10.1093/hmg/ddt325
 26. Eschbach J, Schwalenstöcker B, Soyak SM, et al. PGC-1 α is a male-specific disease modifier of human and experimental amyotrophic lateral

- sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2013;22(17):3477-3484. doi:10.1093/hmg/ddt202
27. Gerber YN, Sabourin J-C, Rabano M, Vivanco M d M, Perrin FE. Early Functional Deficit and Microglial Disturbances in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Cai H, ed. *PLoS One.* 2012;7(4):e36000. doi:10.1371/journal.pone.0036000
 28. Finkelstein A, Kunis G, Seksenyan A, et al. Abnormal Changes in NKT Cells, the IGF-1 Axis, and Liver Pathology in an Animal Model of ALS. Zimmer J, ed. *PLoS One.* 2011;6(8):e22374. doi:10.1371/journal.pone.0022374
 29. Henriques A, Pitzer C, Dittgen T, Klugmann M, Dupuis L, Schneider A. CNS-targeted viral delivery of G-CSF in an animal model for ALS: improved efficacy and preservation of the neuromuscular unit. *Mol Ther.* 2011;19(2):284—292. doi:10.1038/mt.2010.271
 30. Zhou JY, Afjehi-Sadat L, Asress S, et al. Galectin-3 is a candidate biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: Discovery by a proteomics approach. *J Proteome Res.* 2010;9(10):5133-5141. doi:10.1021/pr100409r
 31. Bogdanov P, Corraliza L, Villena JA, et al. The db/db mouse: A useful model for the study of diabetic retinal neurodegeneration. *PLoS One.* 2014;9(5). doi:10.1371/journal.pone.0097302
 32. Polydoro M, de Calignon A, Suárez-Calvet M, et al. Reversal of neurofibrillary tangles and tau-associated phenotype in the rTgTauEC model of early Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2013;33(33):13300-13311. doi:10.1523/JNEUROSCI.0881-13.2013
 33. Kelp A, Koeppen AH, Petrasch-Parwez E, et al. A novel transgenic rat model for spinocerebellar ataxia type 17 recapitulates neuropathological changes and supplies in vivo imaging biomarkers. *J Neurosci.* 2013;33(21):9068-9081. doi:10.1523/JNEUROSCI.5622-12.2013
 34. Im W, Ban J, Lim J, et al. Extracts of Adipose Derived Stem Cells Slows Progression in the R6/2 Model of Huntington's Disease. *PLoS One.* 2013;8(4). doi:10.1371/journal.pone.0059438
 35. Furman JL, Sama DM, Gant JC, et al. Targeting astrocytes Ameliorates neurologic changes in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2012;32(46):16129-16140. doi:10.1523/JNEUROSCI.2323-12.2012
 36. Hein AM, Zarcone TJ, Parfitt DB, et al. Behavioral, structural and molecular changes following long-term hippocampal IL-1 β overexpression in transgenic mice. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2012;7(1):145-155. doi:10.1007/s11481-011-9294-3
 37. Caccamo A, Maldonado MA, Majumder S, et al. Naturally secreted amyloid- β increases mammalian target of rapamycin (mTOR) activity via a PRAS40-mediated mechanism. *J Biol Chem.* 2011;286(11):8924-8932. doi:10.1074/jbc.M110.180638
 38. Gao HM, Zhang F, Zhou H, Kam W, Wilson B, Hong JS. Neuroinflammation and α -synuclein dysfunction potentiate each other, driving chronic progression of neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Environ Health Perspect.* 2011;119(6):807-814. doi:10.1289/ehp.1003013
 39. Müller CC, Nguyen TH, Ahlemeyer B, et al. PEX13 deficiency in mouse brain as a model of Zellweger syndrome: Abnormal cerebellum formation, reactive gliosis and oxidative stress. *DMM Dis Model Mech.* 2011;4(1):104-119. doi:10.1242/dmm.004622
 40. Epis R, Marcello E, Gardoni F, et al. Blocking ADAM10 synaptic trafficking generates a model of sporadic Alzheimer's disease. *Brain.* 2010;133(11):3323-3335. doi:10.1093/brain/awq217
 41. Rial D, Castro AA, Machado N, et al. Behavioral phenotyping of Parkinson-deficient mice: Looking for early preclinical features of Parkinson's disease. *PLoS One.* 2014;9(12). doi:10.1371/journal.pone.0114216
 42. Kim HJ, Chang KA, Ha TY, et al. S100A9 knockout decreases the memory

- impairment and neuropathology in crossbreed mice of Tg2576 and S100A9 knockout mice model. *PLoS One*. 2014;9(2). doi:10.1371/journal.pone.0088924
43. Fusar Poli E, Zalfa C, D'Avanzo F, et al. Murine neural stem cells model Hunter disease in vitro: Glial cell-mediated neurodegeneration as a possible mechanism involved. *Cell Death Dis*. 2013;4(11). doi:10.1038/cddis.2013.430
44. Sun Y, Peng I, Senger K, et al. Critical role of activation induced cytidine deaminase in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Autoimmunity*. 2013;46(2):157-167. doi:10.3109/08916934.2012.750301
45. Wey MCY, Fernandez E, Martinez PA, Sullivan P, Goldstein DS, Strong R. Neurodegeneration and motor dysfunction in mice lacking cytosolic and mitochondrial aldehyde dehydrogenases: Implications for parkinson's disease. *PLoS One*. 2012;7(2). doi:10.1371/journal.pone.0031522
46. Zhang L, Yuan S, Cheng G, Guo B. Type I IFN promotes IL-10 production from T cells to suppress Th17 cells and Th17-associated autoimmune inflammation. *PLoS One*. 2011;6(12). doi:10.1371/journal.pone.0028432
47. Rottlaender A, Villwock H, Addicks K, Kuerten S. Neuroprotective role of fibroblast growth factor-2 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunology*. 2011;133(3):370-378. doi:10.1111/j.1365-2567.2011.03450.x
48. Guo X, Harada C, Namekata K, et al. Delayed onset of experimental autoimmune encephalomyelitis in olig1 deficient mice. *PLoS One*. 2010;5(9). doi:10.1371/journal.pone.0013083
49. Hunsaker MR, Arque G, Berman RF, Willemsen R, Hukema RK. Mouse models of the fragile X premutation and the fragile X associated tremor/ataxia syndrome. *Results Probl Cell Differ*. 2012;54:255-269. doi:10.1007/978-3-642-21649-7_14
50. Guo X, Harada C, Namekata K, et al. Delayed onset of experimental autoimmune encephalomyelitis in olig1 deficient mice. *PLoS One*. 2010;5(9). doi:10.1371/journal.pone.0013083
51. Austin CP, Battey JF, Bradley A, et al. The Knockout Mouse Project. *Nat Genet*. 2004;36(9):921-924. doi:10.1038/ng0904-921
52. Berman RF, Buijsen RAM, Usdin K, et al. Mouse models of the fragile X premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *J Neurodev Disord*. 2014;6(1). doi:10.1186/1866-1955-6-25
53. Petraglia A, Plog B, Dayawansa S, et al. The pathophysiology underlying repetitive mild traumatic brain injury in a novel mouse model of chronic traumatic encephalopathy. *Surg Neurol Int*. 2014;5(1). doi:10.4103/2152-7806.147566
54. Petraglia AL, Plog BA, Dayawansa S, et al. The spectrum of neurobehavioral sequelae after repetitive mild traumatic brain injury: A novel mouse model of chronic traumatic encephalopathy. *J Neurotrauma*. 2014;31(13):1211-1224. doi:10.1089/neu.2013.3255
55. Reisi P, Arabpoor Z, Rashidi B, et al. Erythropoietin improves neuronal proliferation in dentate gyrus of hippocampal formation in an animal model of Alzheimer's disease. *Adv Biomed Res*. 2012;1(1):50. doi:10.4103/2277-9175.100157
56. Santos T de O, Mazucanti CHY, Xavier GF, da Silva Torrão A. Early and late neurodegeneration and memory disruption after intracerebroventricular streptozotocin. *Physiol Behav*. 2012;107(3):401-413. doi:10.1016/j.physbeh.2012.06.019
57. Das A, Guyton MK, Smith A, et al. Calpain inhibitor attenuated optic nerve damage in acute optic neuritis in rats. *J Neurochem*. 2013;124(1):133-146. doi:10.1111/jnc.12064
58. Paintlia AS, Paintlia MK, Hollis BW, Singh AK, Singh I. Interference with RhoA/ROCK signaling mechanism in autoreactive CD4 + T cells enhances the bioavailability of 1,25-dihydroxyvitamin

- D 3 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am J Pathol.* 2012;181(3):993-1006. doi:10.1016/j.ajpath.2012.05.028
59. Guyton MK, Das A, Samantaray S, et al. Calpeptin attenuated inflammation, cell death, and axonal damage in animal model of multiple sclerosis. *J Neurosci Res.* 2010;88(11):2398-2408. doi:10.1002/jnr.22408
 60. Grasselli G, Rossi S, Musella A, et al. Abnormal NMDA receptor function exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Br J Pharmacol.* 2013;168(2):502-517. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02178.x
 61. Quinn TA, Dutt M, Shindler KS. Optic neuritis and retinal ganglion cell loss in a chronic murine model of multiple sclerosis. *Front Neurol.* 2011;AUG. doi:10.3389/fneur.2011.00050
 62. Leung G, Sun W, Brookes S, Smith D, Shi R. Potassium channel blocker, 4-aminopyridine-3-methanol, restores axonal conduction in spinal cord of an animal model of multiple sclerosis. *Exp Neurol.* 2011;227(1):232-235. doi:10.1016/j.expneurol.2010.11.004
 63. Naddafi F, Reza Haidari M, Azizi G, Sedaghat R, Mirshafiey A. Novel therapeutic approach by nicotine in experimental model of multiple sclerosis. *Innov Clin Neurosci.* 2013;10(4):20-25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23696955>.
 64. Mannara F, Valente T, Saura J, Graus F, Saiz A, Moreno B. Passive Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 with MOG: Evidence of Involvement of B Cells. *PLoS One.* 2012;7(12). doi:10.1371/journal.pone.0052361
 65. Fissolo N, Costa C, Nurtdinov RN, et al. Treatment with MOG-DNA vaccines induces CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells and up-regulates genes with neuroprotective functions in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation.* 2012;9. doi:10.1186/1742-2094-9-139
 66. Weinger JG, Davies P, Acker CM, et al. Mice devoid of tau have increased susceptibility to neuronal damage in myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2012;71(5):422-433. doi:10.1097/NEN.0b013e3182540d2e
 67. Yi-Ching Lo 1, Yu-Tzu Shih, Yu-Ting Tseng H-TH. Neuroprotective Effects of San-Huang-Xie-Xin-Tang in the MPP+/MPTP Models of Parkinson's Disease In Vitro and In Vivo. 2012. doi:10.1155/2012/501032
 68. Eshraghi-Jazi F, Alaei H, Azizi-Malekabadi H, Gharavi-Naini M, Pilehvarian A, Ciahmard Z. The effect of red grape juice and exercise, and their combination on parkinson's disease in rats. *Avicenna J phytomedicine.* 2012;2(2):90-96. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25050236>.
 69. Echeverry R, Wu F, Haile WB, Wu J, Yepes M. The cytokine tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor-inducible 14 have a neuroprotective effect in the central nervous system. *J Neuroinflammation.* 2012;9. doi:10.1186/1742-2094-9-45
 70. Herges K, Millward JM, Hentschel N, Infante-Duarte C, Aktas O, Zipp F. Neuroprotective Effect of Combination Therapy of Glatiramer Acetate and Epigallocatechin-3-Gallate in Neuroinflammation. Zimmer J, ed. *PLoS One.* 2011;6(10):e25456. doi:10.1371/journal.pone.0025456
 71. Luis Ordoñez-Librado J, Ver´ V, Anaya-Martínez V, et al. Manganese Inhalation as a Parkinson Disease Model. SAGE-Hindawi Access to Research Parkinson's Disease model. *SAGE-Hindawi Access to Res Park Dis.* 2011;2011. doi:10.4061/2011/612989