

JACQUES-ANDRÉ ST-PIERRE

**EFFET POTENTIALISATEUR DE L'ADJONCTION DE
L'ANTAGONISTE NMDA MK-801 A LA DOPAMINE
INTRASTRIATALE CHEZ UN MODÈLE ANIMAL DE LA
MALADIE DE PARKINSON.**

Mémoire présenté à la
Faculté des Études Supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention du
grade de maître ès sciences (M.Sc.)

PHARMACOLOGIE
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL

NOVEMBRE 1996

© Jacques-André St-Pierre, 1996



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-25361-9

Canada

PRÉFACE

L'insuffisance en dopamine dans la maladie de Parkinson occasionne des troubles moteurs invalidants affectant 1 personne sur 1000. Le traitement palliatif conventionnel pour soulager les patients Parkinsoniens consiste en la prise d'agents mimant l'action de la dopamine en attendant d'enrayer la maladie à la source. Ce traitement, malheureusement, ne réussit à maîtriser que peu de symptômes de la maladie. Une nouvelle approche est apparue avec la découverte de l'implication des acides aminés excitateurs dans la genèse des troubles moteurs dans les années 1980-90. Il pourrait donc être bénéfique de moduler l'activité excitatrice du neurotransmetteur glutamate avec des substances s'opposant à son action. Les antagonistes aux récepteurs à glutamate se présentent comme de bons candidats à l'étude. Ainsi, j'étudierai le site d'action et le mécanisme par lequel ces antagonistes agissent et ce, à l'aide d'un modèle animal de la maladie de Parkinson. Suite à la destruction préférentielle des cellules dopaminergiques dans un seul hémisphère cérébral, la voie dopaminergique de l'autre hémisphère sera davantage active produisant par conséquent une asymétrie comportementale caractérisée par un comportement de rotation. Ce modèle animal me permettra donc de vérifier si le système dopaminergique doit être activé en parallèle à l'utilisation des antagonistes aux récepteurs à glutamate.

Auteur du mémoire

Directeur de recherche

Je dédie ce mémoire à mon père et ma mère qui m'ont continuellement encouragé à réaliser mes études en m'inculquant les notions de persévérance et de tenacité.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement le Dr. Paul Bédard pour m'avoir guidé dans l'élaboration et la réalisation de mon projet de recherche, et par la suite lors de la rédaction de ce mémoire. Une appréciation toute spéciale pour m'avoir inculqué le goût de la recherche active dans le domaine excitant des Neurosciences. Débutant d'abord comme étudiant d'été avec l'assistance précieuse de Laurent Grégoire et François Tardif, je me suis enrichi de plusieurs techniques et méthodes de travail efficaces. Par la suite, j'ai débuté mes études graduées dans un encadrement académique de qualité supérieure qu'est le Centre de Recherche de Neurobiologie de l'Hôpital de l'Enfant Jésus où j'y ai reçu d'excellents cours spécialisés.

Je remercie également Daniel Gaudin et Baltazar Gomez-Mancilla, étudiants au doctorat à ce moment, pour m'avoir fourni de judicieux conseils. Ma gratitude à Monique Baron pour son aide dans la transcription du manuscrit et de mes articles scientifiques. Je garde un excellent souvenir de tous les gens qui travaillent au Centre de Recherche de Neurobiologie où j'y ai passé un séjour des plus enrichissant.

Enfin, je veux souligner d'une façon toute spéciale l'encouragement de ma chère amie et épouse, Michèle, qui m'a soutenu avec intérêt et enthousiasme tout au long de mes études.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
PRÉFACE.....	i
REMERCIEMENTS	iii
TABLE DES MATIÈRES	iv
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	ix
1.0 INTRODUCTION	1
1.1 Les noyaux gris centraux.....	1
1.1.1 Généralités.....	1
1.1.2 Connexions anatomiques	2
1.1.3 Physiologie	3
1.2 Maladie de Parkinson	6
1.2.1 Pathologie.....	6
1.2.2 Biochimie	6
1.2.3 Traitements classiques	7
1.2.4 Changements physiologiques	8
1.3 Excitotoxicité glutamatergique	8
1.4 Nouvelles approches thérapeutiques.....	10
1.4.1 Neuroprotection.....	10
1.4.2 Inactivation du noyau sous-thalamique	11

1.5	Effets comportementaux.....	12
1.5.1	Modèles animaux Parkinsoniens.....	12
1.5.1.1	Souris.....	12
1.5.1.2	Rat.....	12
1.5.1.3	Singe.....	13
1.5.2	Antagonistes des récepteurs NMDA.....	15
1.5.2.1	Effet potentialisateur.....	16
1.5.2.2	Mécanisme d'action.....	17
1.6	Présentation du travail.....	19
2.0	RESULTATS.....	21
2.1	Résumé 1.....	21
2.2	Article 1 publié:	
	“INTRANIGRAL BUT NOT INTRASTRIATAL MICRO- INJECTION OF THE NMDA ANTAGONIST MK-801 INDUCES CONTRALATERAL CIRCLING IN THE 6-OHDA RAT MODEL.” <i>Brain Research</i> 660 : 255-260 (1994).....	22
2.3	Résumé 2.....	29
2.4	Article 2 publié:	
	“SYSTEMIC ADMINISTRATION ON THE NMDA RECEPTOR ANTAGONIST MK-801 POTENTIATES CIRCLING INDUCED BY INTRASTRIATAL MICROINJECTION OF DOPAMINE.” <i>European Journal of Pharmacology</i> 272 : 123-129 (1995).....	30

3.0 DISCUSSION	38
3.1 Effet de l'administration systémique de MK-801.....	38
3.2 Effet de l'injection intracérébrale de MK-801	38
3.3 Effet de l'injection combinée de MK-801 et de dopamine.....	40
4.0 CONCLUSION	42
5.0 BIBLIOGRAPHIE	43

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Diagramme des voies neuronales et des neurotransmetteurs des noyaux gris centraux et de la boucle thalamo-corticale.....	5
Figure 2	Représentation schématique des modifications biochimiques au niveau des récepteurs dopaminergiques ainsi que leur réponse pharmacologique	14
Figure 3	Représentation schématique de la cascade biochimique montrant la relation cellulaire des récepteurs muscariniques et NMDA sur la réponse dopaminergique.....	18
Figure 1	<i>article #1</i> Compte total de la réponse rotatoire induite par l'injection intracérébrale de MK-801 dans la SNr (5 µg/ 0.5 µl) ou dans le striatum (5 µg/ 1.0 µl) chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA	25 (257)
Tableau 1	<i>article #1</i> Effet de l'administration systémique de MK-801 sur la réponse rotatoire chez des rats normaux et lésés unilatéralement à la 6-OHDA.....	25 (257)
Figure 2	<i>article #1</i> Photographie montrant les trajectoires laissées par les extrémités des canules guidées implantées dans le striatum (A) ou la SNr (B).....	26 (258)

Figure 1

article #2 Décours temporel de l'action du MK-801 (100 µg/kg) administré intrapéritonéalement chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA.....33 (12)

Figure 2

article #2 Décours temporel de l'action de la dopamine appliquée intrastriatalement dans le côté lésé aux doses de (A) 1, (B) 5, (C) 25 et (D) 50 µg/1.0 µl suivi de l'administration intrapéritonéale du véhicule ou de MK-801 (100 µg/kg) chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA.....33 (12)

Figure 3

article #2 Comptes totaux (A) et la fréquence maximale (B) de la réponse rotatoire induite par l'application intrastriatale de dopamine (1, 5, 25 et 50 µg/1.0 µl) dans le côté lésé suivi de l'administration intrapéritonéale du véhicule ou de MK-801 (100 µg/kg) chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA.....34 (12)

Figure 4

article #2 Photographie montrant les trajectoires laissées par les extrémités des canules guides implantées dans le striatum.....35 (12)

LISTE DES ABRÉVIATIONS

6-OHDA	6-hydroxydopamine
AAE	Acide aminé excitateur
alpha-MT	Alpha-méthyl- <i>p</i> -tyrosine
AMPA	Alpha amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxalone propionate
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AP5	Acide D-amino-5-phosphonopentanoïque
CS	Collicule supérieur
CM-pf	Noyau centro-médian parafasciculaire
DARPP-32	“Dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein”
Enk	Enképhaline
GABA	Acide gamma-amino-butyrique
Glu	Glutamate
GPe	Segment externe du globus pallidus
GPi	Segment interne du globus pallidus
HVA	Acide homovanillique
KA	Kainate
M1	Récepteur cholinergique muscarinique de type 1
MD	Noyau mediodorsal du thalamus
MK-801	(+)-5-méthyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine
MPP ⁺	1-méthyl-4-phenylpyridinium
MPTP	1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
NGC	Noyaux gris centraux
NMDA	<i>N</i> -méthyl- <i>D</i> -aspartate
QA	Quisqualate
SNc, r	Substance noire partie compacte ou partie réticulée
STN	Noyau sous-thalamique
Subs P	Substance P
Thal	Thalamus
VA	Noyau antérieur ventral du thalamus
VL	Noyau latéral ventral du thalamus

1.0 INTRODUCTION

1.1 Les noyaux gris centraux

1.1.1 Généralités

Pour être précis et bien ordonnés, les mouvements volontaires requièrent une concertation des informations tactiles, visuelles et proprioceptives au sujet du mouvement en cours. Les mouvements volontaires dépendent alors de l'intégration des systèmes moteur et sensoriel. Le cervelet et les noyaux gris centraux (NGC) (ou ganglions de la base) jouent un rôle majeur dans l'intégration motrice; ils modulent le rythme et la précision du mouvement. Les commandes motrices individuelles sont alors enchaînées logiquement permettant une action régulière et coordonnée (pour revue, voir Albin et al., 1989a). Les NGC peuvent participer efficacement au contrôle moteur car ils reçoivent des afférences sensorielles. Contrairement aux autres composantes du système moteur, les NGC ne font pas de connections directes avec la moelle épinière. Les NGC font plutôt partie intégrante d'une boucle neuronale qui reçoit des informations corticales qui par la suite retourne à différentes régions du cortex prémoteur. Cette boucle cortico-corticale est rétroactive contrôlant ainsi les séquences motrices (pour revue, voir Albin et al., 1989a).

Les connaissances concernant l'implication des NGC dans le contrôle des mouvements émergent grâce aux observations cliniques. Les autopsies réalisées chez des patients atteints de la maladie de Parkinson, la chorée de Huntington et d'hémiballisme ont permis de révéler des changements pathologiques des NGC. Ainsi, ces maladies produisent trois types caractéristiques de dérèglements moteurs: 1) tremblements et autres mouvements involontaires, 2) changements dans la posture et le tonus musculaire et 3) pauvreté et ralentissement des mouvements toutefois, sans paralysie.

1.1.2 Connexions anatomiques

Les NGC comportent cinq noyaux sous-corticaux intimement interconnectés: le noyau caudé, le putamen, le globus pallidus, le noyau sous-thalamique et la substance noire (voir la figure 1). Le noyau caudé et le putamen communément appelé néostriatum (ou striatum), parce qu'ils ont la même origine embryonnaire et fusionnent ensemble antérieurement, ont le rôle de "porte d'entrée" des NGC. En effet, le striatum reçoit des afférences provenant de deux sources majeures situées à l'extérieur des NGC: le cortex cérébral et les noyaux intralaminaires du thalamus (pour revue, voir Albin et al., 1989a). L'entrée de cette boucle est formée par la projection corticostriatale excitatrice. Elle contient les fibres provenant du cortex cérébral en totalité incluant les régions motrices, sensorielles, associatives et limbiques. De plus, cette projection est organisée topographiquement; des régions spécifiques du cortex projettent à des parties différentes du striatum où il y a des fonctions comportementales spécifiques qui leur sont assignées. D'ailleurs, toutes les connections entre les NGC possèdent une organisation topographique (pour revue, voir Albin et al., 1989a).

Le striatum est la source des voies GABAergiques (inhibitrices) et peptidergiques qui projettent vers les noyaux de sortie des NGC, le segment interne du globus pallidus (GPi) et la substance noire partie réticulée (SNr) où une autre voie GABAergique quitte en direction du thalamus et du tronc cérébral (voir la figure 1). La voie directe du striatum vers les noyaux de sortie contient le neurotransmetteur GABA et la substance P. Une voie alternative origine du striatum et projète vers le GPe et le STN aboutissant aux noyaux de sortie, c'est la voie indirecte (pour revue, voir Albin et al., 1989a). L'afférence du GPe est reconnue comme étant GABAergique et enképhalinergique tandis que son efférence est GABAergique. D'autres part, les neurones du STN sont glutamatergiques (Smith and Parent, 1988 ; Albin et al., 1989b) et excitent le GPi et la SNr. Le STN lui-même reçoit une projection corticale supposément excitatrice (Rouzaire-Dubois and Scarnati, 1987). Celle-ci origine du cortex moteur et prémoteur offrant à ces derniers un autre moyen pour moduler la sortie des NGC.

L'afférence qui arrive au striatum en provenance des noyaux intralaminaires du thalamus est organisée aussi topographiquement. Une composante importante de cette voie origine spécialement du noyau centro-médian parafasciculaire (CM-pf) et se termine dans le putamen. Étant donné que le noyau CM-pf reçoit des afférences

du cortex moteur, cette projection thalamo-striatale est une voie additionnelle par laquelle le cortex moteur peut exercer une influence sur les NGC (pour revue, voir Albin et al., 1989a). Le striatum est composé aussi d'une faible quantité d'interneurones. La sous-population striatale d'interneurones la mieux connue est cholinergique et l'autre groupe contient les deux peptides: la somatostatine et le neuropeptide Y. Finalement, le striatum reçoit une importante projection dopaminergique qui prend sa source dans la SNc et une autre projection, sérotoninergique, en provenance du noyau raphé dorsal (pour revue, voir Albin et al., 1989a).

La voie de sortie majeure des NGC émane du GPi et de la SNr projetant vers trois noyaux dans le thalamus: le ventral antérieur, le ventral lateral (VA/VL) et le dorsomédian (MD). Les neurones qui projettent vers le VA/VL et le MD envoient également des collatérales vers le CM-pf du thalamus. Les régions du thalamus qui reçoivent des afférences provenant des NGC projettent au cortex préfrontal, prémoteur, à la région supplémentaire motrice et au cortex moteur (pour revue, voir Albin et al., 1989a). Les voies thalamo-corticales semblent être excitatrices (Araki and Endo, 1976). Par l'intermédiaire de ces projections, les NGC affectent d'autres systèmes descendants tels que les systèmes corticospinal et corticobulbaire. Influençant ainsi les mouvements du corps et des membres, les NGC influencent aussi les mouvements oculaires grâce à une projection supplémentaire originant de la SNr et qui projette au collicule supérieur (CS).

1.1.3 Physiologie

Grâce à leur haute fréquence de décharge les noyaux de sortie des NGC exercent une inhibition tonique sur les noyaux cibles du thalamus. Ce niveau d'inhibition semble être modulé différemment par la voie directe et indirecte qui réalisent un effet opposé (voir la figure 1 ; pour revue, voir Alexander and Crutcher, 1990).

Les neurones du GPe déchargent aussi à haute fréquence exerçant une influence inhibitrice sur le STN. L'activation des neurones striataux de la voie indirecte supprime l'activité du GPe et par conséquent désinhibe le STN. L'afférence du STN étant alors plus active, l'inhibition réalisée par le GPi et la SNr sur les cellules thalamiques sera d'autant plus grande. Par contre, l'activation de la

voie directe tend à désinhiber subséquentement les neurones du thalamus (pour revue, voir Alexander and Crutcher, 1990).

Plusieurs évidences montrent qu'une diminution de la fréquence de décharge du GPi/SNr contribue au contrôle moteur en désinhibant le thalamus ventrolatéral ce qui facilite l'initiation du mouvement. Une augmentation de la fréquence de décharge du GPi/SNr quant à elle, produit l'effet contraire (pour revue, voir Alexander and Crutcher, 1990). L'activation résultante des neurones de la voie thalamocorticale faciliterait probablement le mouvement en excitant le cortex prémoteur et l'aire motrice supplémentaire, stimulant ainsi leurs projections vers le cortex moteur, le pédoncule cérébelleux et la moelle épinière.

La projection dopaminergique de la SNc agit de deux façons sur les voies striatofuges directe et indirecte. La dopamine semble avoir un effet excitateur sur les neurones de projection qui expriment le GABA et la substance P (voie directe) et un effet inhibiteur sur ceux qui expriment le GABA et l'enképhaline (voie indirecte) (pour revue, voir DeLong, 1990). Donc, l'influence de la dopamine dans le striatum pourrait être de renforcer n'importe quelle activation amorcée dans le cortex pour un circuit NGC-thalamocortical particulier en facilitant la transmission de la voie directe et en bloquant la transmission de la voie indirecte. Puisque ces voies sont fonctionnellement interreliées, des perturbations de l'activité de certains noyaux pourraient engendrer un déséquilibre fonctionnel.

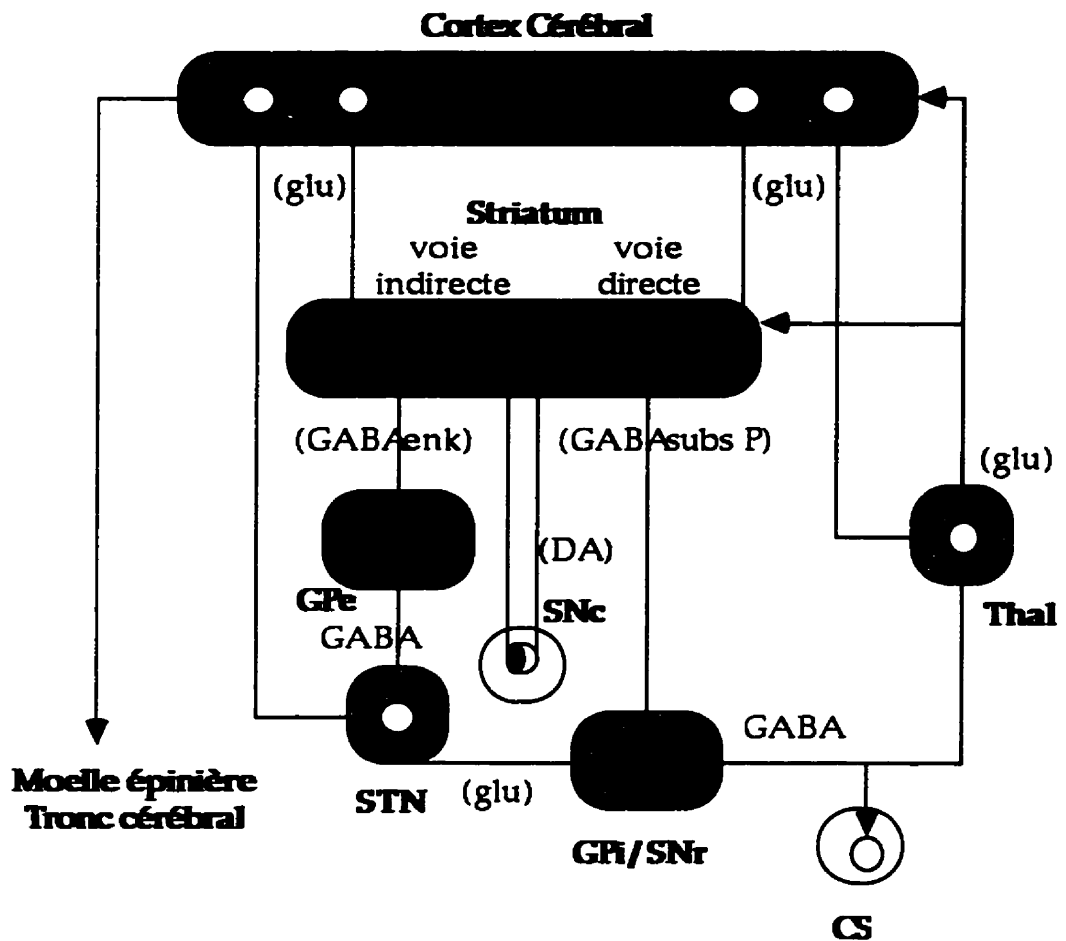


Figure 1. Diagramme des voies neuronales et des neurotransmetteurs des noyaux gris centraux et de la boucle thalamo-corticale. (Modification de: Delong M.R. (1990) "Primate models of movement disorders of basal ganglia origin." TINS 13: 281-285)

1.2 Maladie de Parkinson

1.2.1 Pathologie

La dégénérescence des cellules pigmentées de la SNc et du locus coeruleus a été associée à la maladie de Parkinson grâce aux corrélations anatomopathologiques réalisées par Trétiakof (1919) et Hassler (1955), un siècle après la première caractérisation de la maladie par James Parkinson en 1817. Plus tard, Hornykiewicz (1966) a rapporté que la disparition progressive des neurones dopaminergiques était accompagnée d'une baisse en dopamine dans le striatum. Ainsi, une insuffisance en dopamine occasionne une mauvaise régulation de l'activité motrice qui se manifeste en clinique par des tremblements, une incoordination des mouvements, de la bradykinésie (lenteur des mouvements) et de la rigidité. Cette maladie invalidante est probablement le trouble évolutif affectant le système moteur le plus couramment observé, avec une incidence de 1 personne sur 1000.

1.2.2 Biochimie

La dégénérescence des neurones de la voie dopaminergique nigro-striée est progressive. Les cellules restantes s'efforcent à produire davantage de dopamine en augmentant leur métabolisme afin de maintenir une transmission dopaminergique normale. Ainsi, une augmentation d'acide homovanillique (HVA) (produit de dégradation de la dopamine) peut-être mesurée dans le striatum de gens manifestant certains signes de la maladie (Barbeau, 1986). Les symptômes cliniques Parkinsoniens commencent à se manifester lorsqu'une diminution de 70 à 80% de la dopamine striatale est atteinte (Barbeau, 1986). De plus, conséquemment à la baisse de dopamine, des changements au niveau des récepteurs surviennent. Ainsi, il y a établissement d'une hypersensibilité des récepteurs dopaminergiques post-synaptiques (Creese et al. 1977 ; Lee et al., 1978).

1.2.3 Traitements classiques

La stratégie conventionnelle afin de soulager les symptômes cliniques consistait au développement de drogues. Un seul composé, de type anticholinergique, fut disponible pendant un siècle à titre de traitement pour la maladie de Parkinson. Toutefois, le mécanisme par lequel cette drogue produisait un effet bénéfique était inconnu (Comella and Tanner, 1990). Le premier traitement rationnel, la lévodopa, fut développé après la démonstration de l'existence d'une déficience sévère de dopamine dans la maladie de Parkinson (Hornykiewicz, O. (1966). La lévodopa, étant le précurseur immédiat de la dopamine, celle-ci est administrée dans le but de remplacer la dopamine emmagasinée dans les terminaisons des neurones nigro-striés. Hornykiewicz et Birkmayer espéraient ainsi normaliser la faible quantité de dopamine dans le cerveau. Les efforts subséquents se sont dirigés sur les agonistes des récepteurs dopaminergiques (Jankovic and Marsden, 1988). L'action de ces médicaments est post-synaptique; ils stimulent les récepteurs dopaminergiques qui interviennent dans l'exécution des mouvements. Toutefois, ces substances ont également des effets pré-synaptiques.

À cette époque, on souhaitait que la thérapie à la *L*-dopa puisse améliorer les symptômes de la maladie mais aussi freiner sa progression voire même renverser quelques changements dégénératifs observés dans la SN. Malheureusement, encore aujourd'hui la *L*-dopa réussit à contrôler plus ou moins parfaitement les symptômes sans toutefois altérer le cours de la maladie. De plus, de nombreux patients souffrent d'effets secondaires, entre autre les dyskinésies, suite au traitement à la *L*-dopa après plusieurs années d'ingestion du médicament.

Deux approches chirurgicales ont été tentées afin de contourner les limites du traitement à la *L*-dopa. Premièrement, les greffes de cellules foetales dans le striatum. L'utilisation clinique des transplantations demeure encore aujourd'hui un sujet de controverse. Plusieurs laboratoires dans le monde poursuivent leurs recherches afin d'améliorer les conditions des greffes ainsi que leurs effets bénéfiques. Quant à la thalamotomie, cette chirurgie qui consiste à léser certains noyaux du thalamus, celle-ci permet de réduire le tremblement et la rigidité chez des gens à un stade avancé de la maladie. Par ailleurs, la pallidotomie ventrale postérieure est aussi une nouvelle approche prometteuse (Ceballos-Baumann et al., 1994).

1.2.4 Changements physiologiques

La dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée occasionne une augmentation de l'activité des neurones striataux projetant vers le GPe et une diminution de l'activité des neurones striataux projetant vers le GPi et la SNr (Miller and DeLong, 1987 ; Pan and Walters, 1988 ; Filion et al., 1989). Ces efférences striatales GABAergiques sont inhibitrices. Ainsi l'activité de la projection du GPe vers le noyau sous-thalamique (STN) est réduite tandis que l'activité des voies passant par le GPi et la SNr vers le thalamus est augmentée (Albin et al., 1989a ; Klockgether and Turski, 1989). La réduction de l'activité de la voie GABAergique inhibitrice projetant vers le STN désinhibe les neurones STN par conséquent les rendant plus actifs. L'augmentation de l'activité de la voie excitatrice glutamatergique du STN projetant vers le GPi et la SNr produit alors un accroissement de l'activité GABAergique des neurones du GPi et du SNr (Albin et al., 1989a ; Klockgether and Turski, 1989). L'effet final se traduit par une augmentation de l'activité inhibitrice des noyaux de sortie des ganglions de la base et par conséquent une réduction de l'activité des neurones de la voie thalamocorticale. Il a déjà été suggéré que la diminution de l'activité de la projection thalamocorticale soustend l'apparition des symptômes Parkinsoniens (Miller and DeLong, 1987 ; Albin et al., 1989a ; Klockgether and Turski, 1989 ; Mitchell et al. 1989).

1.3 Excitotoxicité glutamatergique

Depuis les premières observations de Curtis et al. (1961) sur les neurones de la moelle épinière, on sait que le glutamate (Glu) a un effet dépolarisant. Cet effet, qui peut-être mimé par d'autres acides aminés (L-aspartate, L-homocystéate et L-cystéine sulphinat), est rapide, ce qui suggère que le Glu et ses agonistes évoquent une dépolarisation en activant des récepteurs-canaux. On distingue actuellement deux grands groupes de récepteurs-canaux activés par les acides aminés excitateurs. Cette distinction repose sur leur affinité pour les analogues structuraux sélectifs du Glu et notamment pour le *N*-méthyl-*D*-aspartate (NMDA). Ainsi, on distingue les récepteurs du Glu activés par le NMDA (récepteurs NMDA) et les récepteurs du Glu insensibles au NMDA mais activés par le quisqualate (QA) ou la kainate (KA) (récepteurs non-NMDA). Les récepteurs non-NMDA sont séparés en deux groupes: les canaux activés par le QA et l'AMPA et les canaux activés par le KA. Le

récepteur NMDA est un canal perméable aux cations monovalents (Na^+ et K^+) mais aussi aux ions Ca^{2+} . Il est bloqué par les ions Mg^{2+} aux potentiels de membrane proches du potentiel de repos, ce qui lui confère une forte sensibilité au voltage (Watkins and Evans, 1981). Alors, la présence du ligand endogène (le Glu et peut-être la glycine qui potentialise la réponse NMDA) et la dépolarisation de la membrane seraient deux conditions préalables à l'activation du récepteur NMDA.

Le Glu est le principal neurotransmetteur excitateur omniprésent dans le système nerveux central et il a été démontré, *in vitro*, qu'il favorise la croissance cellulaire. Toutefois, sous certaines conditions pathologiques, il s'avère être neurotoxique d'où le phénomène d'excitotoxicité. Dans une transmission synaptique normale, le niveau de Glu n'augmente dans la fente synaptique que transitoirement et ce uniquement au niveau de la fente synaptique. Par contre, une augmentation prolongée et diffuse de Glu tue les cellules. La mort cellulaire apparaît essentiellement à cause de l'action persistente du Glu sur le récepteur NMDA qui occasionne une entrée excessive de Ca^{2+} via des canaux calciques voltage-dépendants (Abele et al., 1990). Ainsi, un niveau élevé de Ca^{2+} intracellulaire active des protéines kinases dépendante du Ca^{2+} , des phospholipases A_2 , lesquels libèrent de l'acide arachidonique produisant la synthèse de substances inflammatoires et probablement des radicaux libres qui engendrent d'autres séquences destructrices (Choi, 1988).

L'excitotoxicité révélée par l'activation des récepteurs NMDA serait probablement impliquée dans la genèse de maladies neurodégénératives chroniques incluant la chorée d'Huntington (Beal et al., 1986 ; Young et al. 1988), la sclérose latérale amyotrophique (Playtakis, A. 1990), l'atrophie olivopontocérébelleuse (Playtakis et al., 1989), la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Greenamyre and Young, 1989 ; Greenamyre, 1991). Alors, s'il était possible d'empêcher le phénomène d'excitotoxicité par exemple en bloquant les récepteurs NMDA ou en modulant indirectement, par un autre mécanisme, l'action du Glu, nous pourrions espérer freiner ou du moins ralentir le cours de la maladie, entre autre celle de la maladie de Parkinson.

1.4 Nouvelles approches thérapeutiques

1.4.1 Neuroprotection

Il est vraisemblable de croire au potentiel des composés non-dopaminergiques suite aux progrès des connaissances anatomiques, biochimiques et pharmacologiques des neurotransmetteurs qui agissent sur d'autres voies neuronales. Bien que la cause première de la maladie de Parkinson demeure inconnue, une seconde stratégie pharmacologique d'intervention consiste à retarder le dommage et la mort cellulaire en utilisant des agents neuroprotecteurs. Le ralentissement de la vitesse de progression de la maladie permettrait d'espérer devancer voire même prévenir l'apparition des fluctuations motrices invalidantes. Cette stratégie est traduite par le projet intitulé DATATOP (Deprenyl and Tocopherol Antioxydative Therapy of Parkinsonism) par lequel on démontre un ralentissement apparent de l'évolution naturelle de la maladie de Parkinson chez les patients traités avec le déprényl (Parkinson Study Group, 1989). Ce composé est un inhibiteur de la monoamine oxydase B, l'enzyme de dégradation de la dopamine. Le déprényl pourrait avoir un effet protecteur sur les cellules dopaminergiques en freinant leur dégradation et la formation de dérivés toxiques (Weiner and Levitt, 1989).

Il a été également rapporté que les antagonistes des récepteurs glutamatergiques exercent un effet neuroprotecteur chez des modèles animaux de la maladie de Parkinson. Les antagonistes des récepteurs NMDA fourniraient une protection quasi-complète aux cellules dopaminergiques de la voie nigro-striée contre la toxicité induite par le metamphétamine chez le rat (Sonsalla et al., 1989). Plus récemment, une étude révéla que des antagonistes compétitifs et non-compétitifs des récepteurs NMDA auraient le potentiel de protéger les cellules contre la toxicité du MPP⁺ (Turski et al., 1990). Le MPP⁺ (1-méthyl-4-phenylpyridinium) est le métabolite actif du MPTP, une substance hautement toxique pour les cellules dopaminergiques de la SN jouant un rôle dans le développement de la maladie de Parkinson. Il semble qu'elle agirait spécifiquement au niveau du complexe I de la chaîne de transport des électrons des mitochondries (Kindt et al., 1986) créant ainsi une défaillance énergétique dans les cellules nigrales.

Alors, si des toxines environnementales ou des désordres énergétiques jouent un rôle dans la manifestation de la maladie de Parkinson, les antagonistes des récepteurs NMDA pourraient apporter un moyen pour retarder la progression de la maladie.

1.4.2 Inactivation du noyau sous-thalamique

Dans le modèle de fonctionnement des ganglions de la base, on propose que l'augmentation de l'activité de la projection du STN semble avoir un rôle essentiel dans la manifestation clinique de la maladie de Parkinson (Miller and DeLong, 1987 ; Albin et al., 1989a ; Klockgether and Turski, 1989 ; Mitchell et al. 1989). En effet, il a été rapporté que l'activité des neurones du STN est augmentée chez des singes traités au MPTP (Miller and DeLong, 1987 ; Mitchell et al., 1989).

L'inactivation du STN chez les animaux Parkinsoniens pourrait être envisagée afin de réduire l'activité du GPI et la SNr et ainsi augmenter celle de la voie thalamocorticale et, par conséquent, produire une amélioration clinique. Il semblerait que l'ablation du STN chez des singes MPTP produit une baisse remarquable des symptômes Parkinsoniens tels que l'akinésie, la rigidité et le tremblement (Bergman et al., 1990).

Puisque la projection STN est glutamatergique (Albin et al., 1989a ; Smith and Parent, 1988), l'inactivation pharmacologique de cette voie semble être possible à l'aide d'antagonistes aux récepteurs à glutamate. Le récepteur NMDA étant le mieux caractérisé, des antagonistes hautement spécifiques sont maintenant disponibles tel que le (+)-5-méthyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine (MK-801). Dans certains cas, les agonistes dopaminergiques et les antagonistes glutamatergiques ont des actions biochimiques et comportementales similaires. De plus, les effets bénéfiques des anticholinergiques et l'amantadine pourraient être dus en partie au blocage des récepteurs glutamatergiques.

1.5 Effets comportementaux

1.5.1 Modèles animaux Parkinsoniens

1.5.1.1 Souris

La souris (ou le rat) dépourvue en monoamines cérébrales est un out pharmacologique intéressant pour étudier la maladie de Parkinson. L'administratio de réserpine et d'alpha-méthyl-*p*-tyrosine (alpha-MT) produisent respectivemer l'épuisement de la réserve de monoamine et une inhibition de la synthèse d nouvelles molécules de dopamine. Cette perte importante de monoamine cérébrales endogènes induit l'apparition d'akinésie et de rigidité musculaire. C modèle permet alors d'observer et de quantifier les améliorations de l'activit locomotrice après l'injection de drogue.

1.5.1.2 Rat

La découverte d'un agent chimique capable de détruire sélectivement le neurones dopaminergiques a permis un nouvel essor dans le recherche sur la maladie de Parkinson. Ainsi, l'administration de la neurotoxine 6-hydroxy dopamine (6-OHDA) produit la destruction permanente des neurones nigro-strié causant par le fait même des altérations neurologiques similaires à certain symptômes de la maladie. Ces lésions bilatérales se répercutent chez le rat par d l'akinésie, de l'aphagie, de l'adipsie et une négligence sensorielle sévère (pour revue, voir Zigmond et al., 1990). Contrairement à l'humain, le rat manifeste qu peu de tremblement suite à la dénervation dopaminergique (pour revue, voi Zigmond et al., 1990). Puisque les animaux sont incapable de se nourrir et de boire seuls, l'utilisation de ce modèle de lésions bilatérales devient très difficile.

Ungerstedt (1968) rapporta les premières observations sur l'injection de la neurotoxine 6-OHDA dans une seule voie nigro-striée de rat. Ainsi, l'injection unilatérale de 6-OHDA produit une forte asymétrie motrice i.e. des mouvements rotatoires ("circling") spontanés dans la direction du côté lésé (côté ipsilatéral) Cette réponse motrice peut être mesurée quantitativement à l'aide d'un rotomètre (Ungerstedt et Arbuthnott, 1970). L'injection unilatérale de cette neurotoxine

occasionne la dégénérescence de la voie nigro-striée ipsilatérale et une importante perte de dopamine dans le striatum ipsilatéral. Les neurones striataux développent une hypersensibilité à la dopamine s'exprimant par une augmentation du nombre de récepteurs dopaminergiques post-synaptiques afin de compenser au manque de dopamine (voir la figure 2).

L'administration systémique d'un agoniste dopaminergique tel que l'apomorphine, jouant directement sur les récepteurs dopaminergiques postsynaptiques, va produire une stimulation importante du côté lésé puisque les récepteurs y sont en plus grand nombre. Le mouvement rotatoire ainsi provoqué sera dans la direction opposée à la lésion (direction contralatérale). Inversement l'injection d'amphétamine, qui favorise la libération de dopamine par les terminaisons nerveuses, produira une stimulation supérieure du côté intact où les cellules dopaminergiques sont présentes. Alors, les animaux tourneront dans une direction ipsilatérale c'est-à-dire vers la lésion (voir la figure 2).

Ces deux composés permettent d'évaluer la qualité de la lésion induite par la 6-OHDA grâce à des travaux qui ont corrélés le pourcentage de perte cellulaire avec le nombre de rotations réalisées sous l'effet de la drogue (Ungerstedt et Arbuthnot, 1970).

1.5.1.3 Singe

Dans les années 1980, un certain nombre de toxicomanes avaient développé les symptômes de la maladie de Parkinson: bradykinésie, tremblement, rigidité musculaire et troubles posturaux. Plus tard, il a été découvert que les dérivés synthétiques d'héroïne utilisés contenaient une substance toxique contaminante, le 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Injectée chez des animaux de laboratoire, cette substance induit l'apparition des symptômes Parkinsoniens. Le singe traité au MPTP est le seul modèle qui comporte des caractéristiques cliniques, biochimiques et pathologiques similaires à celles retrouvées chez les humains atteints de la maladie de Parkinson (pour revue, voir DeLong, 1990).

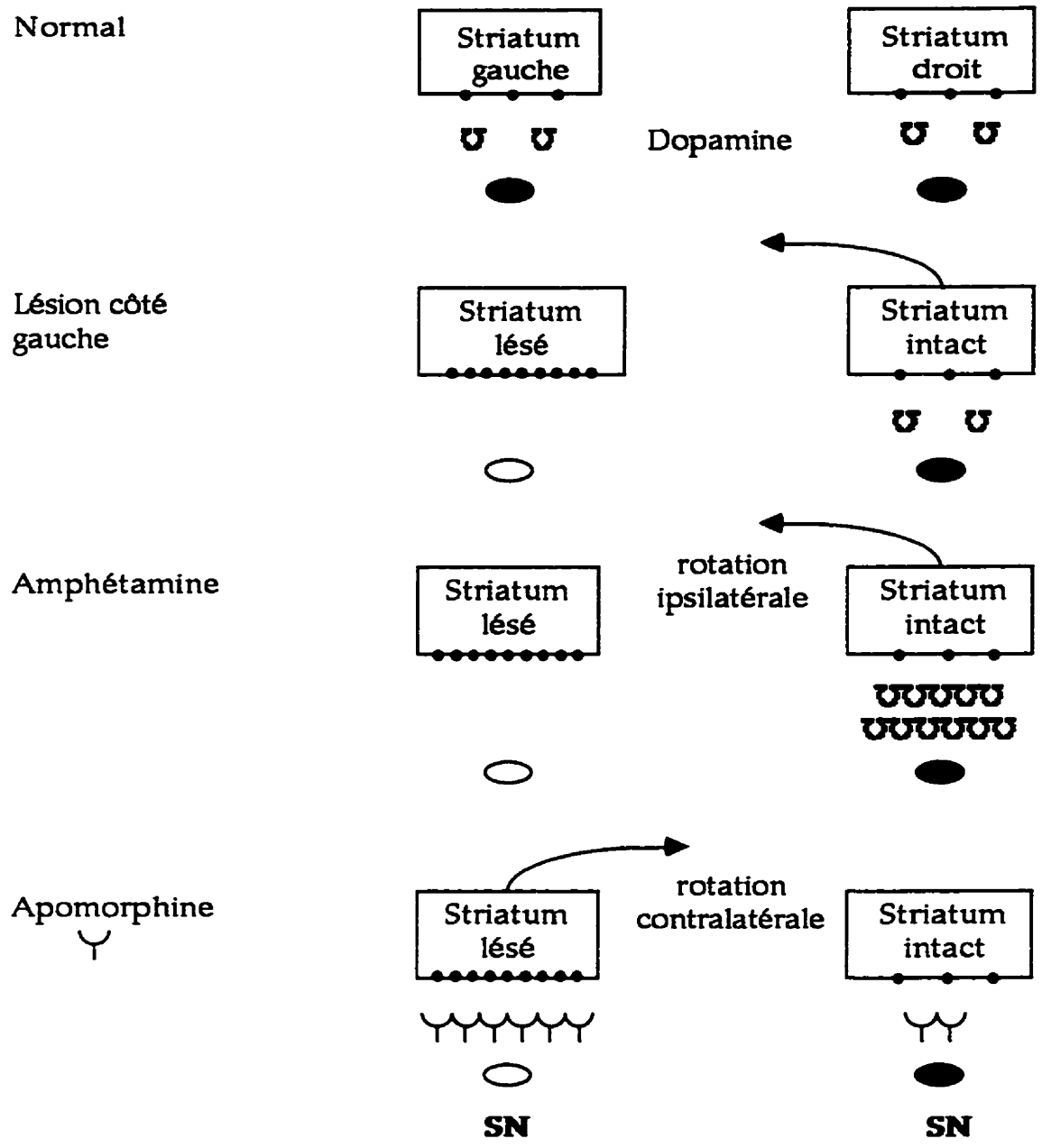


Figure 2. Représentation schématique des modifications biochimiques au niveau des récepteurs dopaminergiques ainsi que leur réponse pharmacologique.

1.5.2 Antagonistes des récepteurs NMDA

Récemment, l'étude autoradiographique de l'équipe d'Albin (1992), réalisée chez le rat, a démontrée qu'il y a une distribution hétérogène de tous les sous-types de récepteurs aux acides aminés excitateurs (AAE) dans les NGC. Le striatum, l'accumbens et le tubercule olfactif reçoivent probablement le plus grand nombre d'afférences excitatrices car ils ont une grande densité de sites de liaison aux AAEs. Quant à la substance noire, le globus pallidus, le noyau entopédonculaire, l'aire tegmentaire ventrale et le noyau sous-thalamique, ils ont une densité modérée de sites de liaison aux AAEs (Albin et al., 1992).

Ainsi, l'injection d'antagoniste NMDA directement dans le noyau entopédonculaire (analogue du GPi chez le rat) ou dans la SNr abolit l'akinésie et la rigidité chez des rats démunis en monoamine cérébrale (Klockgether and Turski, 1990). De plus, l'injection directe d'antagoniste NMDA dans le STN de rat renverse aussi l'akinésie et la rigidité associées à la perte en monoamine cérébrale (Klockgether and Turski, 1990). Vraisemblablement, l'activation des récepteurs NMDA du STN semble être complétée par l'afférence excitatrice en provenance du néocortex (Nakanishi et al., 1988).

La voie STN projetant vers le GPi et la SNr est la seule voie glutamatergique qui est réputée avoir une augmentation anormale de son activité dans la maladie de Parkinson (Miller and DeLong, 1987 ; Albin et al., 1989a ; Klockgether and Turski, 1989 ; Mitchell et al., 1989). Il est possible d'imaginer que de faibles doses d'antagonistes NMDA puissent supprimer sélectivement l'augmentation de l'activité des neurones du GPi et de la SNr sans toutefois produire des effets secondaires nuisibles par le blocage massif de tous les récepteurs NMDA dans le cerveau. Conformément avec cette hypothèse, il a été démontré que l'administration systémique de MK-801, un antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA, produit une grande stimulation motrice chez la souris et le rat démunis en monoamines cérébrales (Klockgether and Turski, 1990 ; Carlsson and Carlsson, 1989a). Par ailleurs, Clineschmidt en 1982 et St-Pierre en 1994 (travail décrit dans ce présent mémoire) ont observé qu'une injection similaire de MK-801 induit un mouvement rotatoire ("circling") ipsilatéral marqué chez des rats porteur d'une lésion 6-OHDA unilatérale de la voie dopaminergique nigro-striée.

1.5.2.1 Effet potentialisateur

Les effets antiparkinsoniens de certaines drogues peuvent être potentialisés par des antagonistes des récepteurs NMDA. Effectivement, des doses sous-seuil (ne produisant aucun effet moteur) de MK-801 administrées en combinaison avec l'agoniste alpha-2 adrénergique, clonidine, produit une stimulation locomotrice marquée chez des souris dépourvues en monoamines cérébrales (Carlsson and Carlsson, 1989b). D'une façon similaire, l'injection simultanée de MK-801 et d'une dose sous-seuil d'apomorphine ou de *L*-dopa provoque une réponse synergique caractérisée par une augmentation de l'activité motrice (Carlsson and Carlsson, 1989b ; Klockgether and Turski, 1990). Alors, une thérapie avec de faibles doses d'antagonistes NMDA permettrait probablement de réduire les autres médications ou tout simplement d'augmenter leur efficacité. De plus, si les oxydes de dopamine sont impliqués dans la mort des cellules nigrales (Olanow, 1990), de faibles doses d'antagonistes des récepteurs NMDA justifieraient une baisse de la lévodopa diminuant par le fait même la possibilité de dommages oxydatifs.

Par ailleurs, les antagonistes des récepteurs NMDA pourraient aussi prévenir ou minimiser les dyskinésies souvent invalidantes associées au traitement chronique d'agonistes dopaminergiques. Il a été supposé que la sensibilisation des récepteurs dopaminergiques serait impliquée dans la manifestation des mouvements hyperkinétiques qui débutent après un traitement de longue durée de la maladie de Parkinson (Cedarbaum, 1990 ; Mouradian and Chase, 1988). Le MK-801 prévient la sensibilisation des récepteurs qui apparaît suite au traitement à l'agoniste dopaminergique D1 chez des rats lésés à la 6-hydroxydopamine (Criswell et al., 1990 ; Morelli and Di Chiara, 1990). Alors, si la sensibilisation des récepteurs est impliquée dans les dyskinésies, les antagonistes des récepteurs NMDA pourraient être utiles comme adjuvant dans une thérapie dopaminergique.

De plus, il semblerait que l'activation des récepteurs NMDA par ses agonistes sélectifs produit une libération d'acétylcholine striatale tandis que ses antagonistes l'inhibent efficacement (Snell and Johnson, 1985 ; Lehmann and Scatton, 1982). La diminution de la libération d'acétylcholine striatale pourrait alors s'adjoindre et potentialiser les effets anticholinergiques des antagonistes muscariniques apportant un autre mécanisme par lequel les antagonistes NMDA pourraient apporter une aide thérapeutique.

1.5.2.2 Mécanisme d'action

La catalepsie (rigidité posturale) peut-être induite suite à l'administration de neuroleptiques (antagonistes dopaminergiques bloquant les récepteurs dopaminergiques et par le fait même l'action normale de la dopamine) chez le rat un autre modèle animale de la maladie de Parkinson. Cette catalepsie est renversée entre autres, par des agonistes dopaminergiques ou des antagonistes compétitifs et non-compétitifs des récepteurs NMDA (Schmidt and Bubser, 1989 ; Schmidt, et al., 1990). Le mécanisme par lequel les antagonistes des récepteurs NMDA produisent des effets comportementaux similaires à ceux induit par les agonistes dopaminergiques est inconnu. Cependant, il est possible qu'il soit apparenté aux cascades biochimiques intracellulaires comme celles empruntées par le DARPP-32 (voir la figure 3 ; Halpain et al., 1990 ; Girault et al., 1990).

On sait très bien que la stimulation des récepteurs dopaminergiques D1 active l'adénylate cyclase augmentant ainsi la quantité d'AMPc intracellulaire (Kebabian and Calne, 1979). À son tour l'AMPc active alors la protéine kinase dépendante d'AMPc. Un des substrats pour cette kinase c'est la DARPP-32 (dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein), une phosphoprotéine contenue dans les neurones striatonigraux. Une molécule de DARPP-32 phosphorylée devient un inhibiteur puissant de la protéine phosphatase-1 et il a été suggéré que sa fonction serait probablement de prévenir la déphosphorylation des autres substrats dans les neurones striatonigraux (Girault et al., 1990). Il a été démontré sur des tranches striatales de rat que l'activation des récepteurs NMDA occasionne la déphosphorylation de la DARPP-32 probablement par la calcineurine, elle-même activée par le Ca^{2+} (Halpain et al., 1990 ; Girault et al., 1990). Les antagonistes compétitifs et non-compétitifs des récepteurs NMDA AP5 (D-amino-5-phosphonopentanoic acid) et MK-801 préviennent la déphosphorylation de la DARPP-32 (Halpain et al., 1990 ; Girault et al., 1990).

Cette évidence moléculaire montre que l'activation des récepteurs NMDA stimule une cascade biochimique qui antagonise celle induite par la dopamine, particulièrement sur les récepteurs D1. Alors, il peut être espéré que le blocage des récepteurs NMDA facilite l'action dopaminergique en prévenant la déphosphorylation de la DARPP-32 par le glutamate.

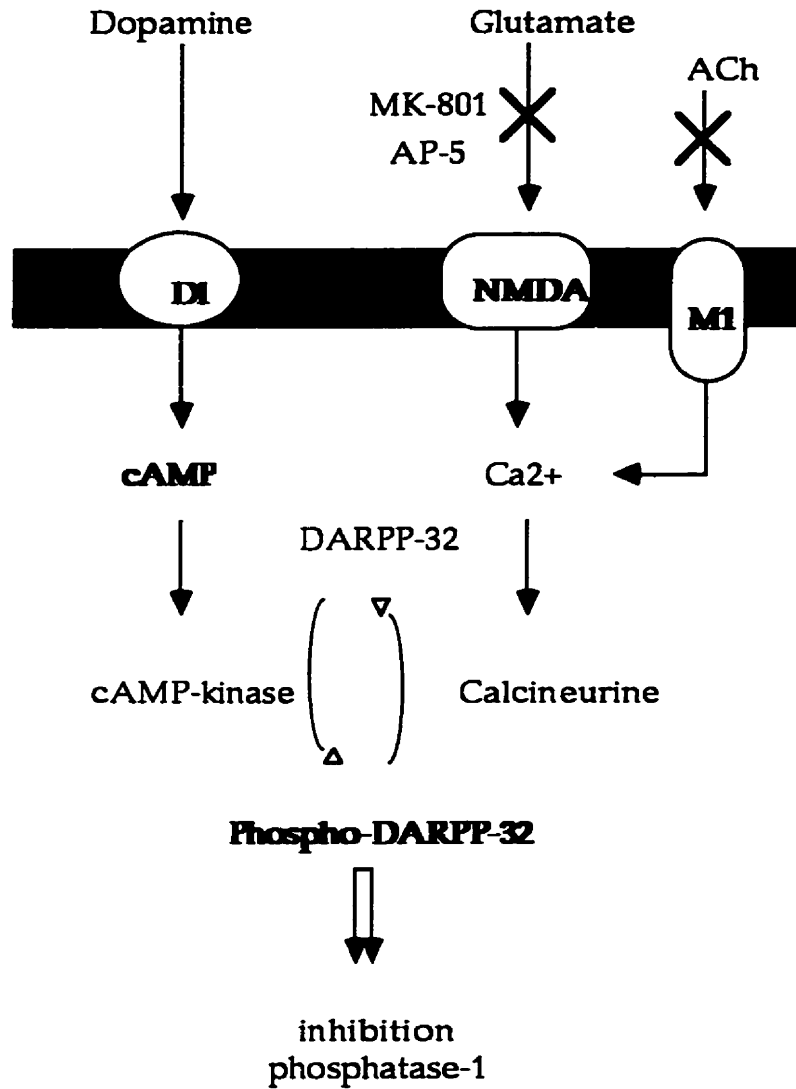


Figure 3. Représentation schématique de la cascade biochimique montrant la relation cellulaire des récepteurs muscariniques et NMDA sur la réponse dopaminergique.
 (Modification de: Girault, J.A. and Greengard, P. (1990) "Excitatory amino acid antagonists and Parkinson's disease." TINS 13: 325-326)

1.6 Présentation du travail

Les expériences réalisées avec des antagonistes NMDA ont permis de révéler des propriétés et des interactions pharmacologiques inattendues:

- Les antagonistes NMDA protègent les neurones nigrostriés de la mort chez les modèles de toxicité à la métamphétamine et au MPTP, deux modèles animaux de la maladie de Parkinson (Sonsalla et al., 1989).
- Le blocage des récepteurs NMDA semble contribuer à quelques-uns des effets antiparkinsoniens induits par l'amantadine et des anticholinergiques (Carlsson and Carlsson, 1989b).
- L'inactivation du STN par ablation chez des singes MPTP permet une diminution de l'activité électrique excitatrice et manifestement une réduction des symptômes parkinsoniens (Bergman et al., 1990).
- Des antagonistes NMDA renversent l'akinésie et la rigidité associées à la déplétion monoaminergique ou la catalepsie induite par les neuroleptiques (Klockgether and Turski, 1990).
- Des doses sous-seuils d'antagonistes NMDA produisent une synergie avec des agonistes dopaminergiques et anticholinergiques (Klockgether and Turski, 1990 ; Carlsson and Carlsson, 1989a).

Ces travaux ont donné à la communauté scientifique de précieuses indications quant à la propriété des antagonistes NMDA de réduire les symptômes invalidants de la maladie de Parkinson. Par leur distribution étendue dans le cerveau, les récepteurs au NMDA ou non-NMDA peuvent être alors bloqués par leurs antagonistes respectifs et par conséquent enclencher des réponses biologiques variées. Pour éviter les effets secondaires inhérents à l'action étendue et non-sélective des antagonistes NMDA lors d'absorption périphérique, il faudra d'abord déterminer le ou les site(s) d'action du composé afin de produire, si c'est possible, des effets sélectifs.

De plus, la synergie est un phénomène pharmacologique d'intérêt puisqu'elle permet d'administrer des doses sous-seuils (i.e. des doses inférieures aux doses minimales qui par elle-mêmes produisent une réponse biologique) d'un composé X jumelé à un composé Y afin d'obtenir une amélioration souvent plus grande des symptômes. Etant donné que les connaissances du mécanisme d'action de la synergie entre les antagonistes NMDA et les agonistes dopaminergiques demeurent imprécises, nous avons tenté de déterminer la dépendance de l'activation du système dopaminergique dans ce phénomène.

Une étude récente a démontrée que l'injection d'antagoniste NMDA seul produit une activation motrice chez des animaux déficients en dopamine tandis qu'une injection similaire induit une réponse rotatoire ipsilatérale, typique d'une stimulation dopaminergique, chez des rats porteurs d'une lésion unilatérale dans la voie dopaminergique (Carlsson and Carlsson, 1989a ; Klockgether and Turski, 1990). Ces deux observations suggèrent donc que l'effet moteur provoqué par le MK-801 peut-être dépendant ou non de la dopamine en fonction de la disponibilité du système dopaminergique. Alors, nous pouvons nous demander quelle est l'importance de la stimulation dopaminergique dans le comportement de rotation induit par le MK-801?

Avec le modèle de rat lésé unilatéralement à la 6-OHDA, où un seul côté demeure intact dans sa voie dopaminergique, nous avons tenté de découvrir le mécanisme par lequel le MK-801 induit un comportement de rotation ipsilatérale. Nous croyons que la présence de dopamine du côté intact facilite voire même potentialise l'effet provoqué par le MK-801. À l'aide de la technique d'injection intracérébrale, l'application locale de la dopamine dans le striatum du côté lésé devrait renverser la réponse induite par le MK-801 si notre hypothèse est exacte. Par la suite, nous essaierons d'identifier le site d'action dans les structures formant la voie dopaminergique nigro-striée, à savoir le striatum et la SN chez des rats lésés à la 6-OHDA.

Par souci d'ordre logique, je vous présente en premier lieu les résultats qui visent à situer le site d'action du MK-801 et en second lieu ceux de l'effet de l'injection combinée de MK-801 et de dopamine.

2.0 RESULTATS

2.1 Résumé 1

L'injection systémique de l'antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA MK-801 ((+)-5-méthyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine) produit une réponse rotatoire marquée en direction du côté lésé chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA. Par ailleurs, le même type d'injection administré chez des rats normaux (non-dénervés) occasionne une augmentation de l'activité motrice toutefois, sans prédominance de direction. Ces observations suggèrent que le MK-801 interagit avec la voie dopaminergique pour influencer la réponse motrice. Par contre, l'injection intracérébrale de MK-801, réalisée directement dans la SNr (5 µg/ 0.5µl) soit du côté lésé soit du côté intact, induit un comportement rotatoire significatif dans la direction opposée du site d'injection. Une injection similaire mais cette fois-ci administrée dans le striatum échoue à produire une réponse motrice rotatoire. Cette série d'expériences démontrent que l'antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA peut stimuler l'activité motrice lors de la présence ou l'absence de la voie dopaminergique et, qu'en cette dernière condition, son action est exercée de façon prédominante au niveau de la SNr, probablement sur la suppression de l'afférence sous-thalamique excitatrice.

2.2 Article 1

Publié dans la revue
Brain Research **660** (1994): 255-260.

**“INTRANIGRAL BUT NOT INTRASTRIATAL
MICROINJECTION OF THE NMDA ANTAGONIST
MK-801 INDUCES CONTRALATERAL CIRCLING IN
THE 6-OHDA RAT MODEL.”**

Intranigral but not intrastriatal microinjection of the NMDA antagonist MK-801 induces contralateral circling in the 6-OHDA rat model

J.A. St-Pierre^a, P.J. Bédard^{a,b,*}

Departments of ^a Pharmacology and ^b Neurological Sciences, Laval University and Centre de recherche en neurobiologie, Hôpital de l'Enfant-Jésus, 1401, 18^e rue, Québec, Qué. G1J 1Z4, Canada

Accepted 5 July 1994

Abstract

When systemically administered to unilaterally 6-OHDA lesioned rats, the non-competitive antagonist of *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors MK-801 ((+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine) produces a marked rotation response toward the lesioned side. In addition, the same type of injection in non-denervated rats increases locomotor activity without direction predominance. These findings suggest that MK-801 interacts with the dopaminergic pathway to induce motor activity. However, intracerebral injection of MK-801 (5 µg/0.5 µl) in the substantia nigra pars reticulata (SNr), either on the lesioned side or the intact side, induces a significant circling response, contraversive to the injection side. A similar injection of MK-801 (5 µg/1.0 µl) in the striatum causes no rotation response. These results show that the non-competitive NMDA antagonist can induce motor activity in the presence or in the absence of the dopaminergic pathway and that in the latter case the action is exerted predominantly at the level of the substantia nigra, perhaps through suppression of the excitatory subthalamic drive.

Keywords: Microinjection; MK-801; Circling; Striatum; Rat; 6-Hydroxydopamine; Substantia nigra pars reticulata

1. Introduction

Excitatory amino acids (EAAs), such as glutamate and aspartate, are major neurotransmitters in the mammalian CNS [10]. While these amino acids are responsible for normal excitatory transmission, they also represent a potential source of neurotoxicity. The current interest in EAA is based on the belief that EAAs are involved in neural cell injury in a variety of neurological disorders.

In Parkinson's disease, degeneration of the dopaminergic neurons in substantia nigra pars compacta (SNc) causes changes in the activity of striatal projection neuron subpopulations [2]. Striatal projections to the external segment of the globus pallidus (GPe) become more active, while striatal projections to the substantia

nigra pars reticulata (SNr) and the internal segment of the globus pallidus (GPi) become less active [2,16]. The loss of GABAergic striatal input and increased subthalamic nucleus (STN) excitatory input result in increased activity of GPi and SNr neurons and consequently inhibition of the thalamocortical projection neurons [2]. It has been suggested that the resulting reduced thalamocortical drive accounts for the appearance of akinesia and muscular rigidity in Parkinson's disease [2,11,20,23].

Thus, there is evidence that the overactivity of STN projection is partially responsible for the clinical manifestations of Parkinson's disease [2,12,16,17]. In fact, ablation of the STN in MPTP-treated monkeys markedly reduces parkinsonian signs of akinesia, rigidity and tremor [3]. Therefore, it would be expected that pharmacological inactivation of this pathway should lead to reduced activity of the GPi and the SNr and produce clinical improvement. Based on this, several recent studies proposed that antagonists of EAAs might be beneficial in the treatment of Parkinson's disease [6,12,18,25].

* Corresponding author. Address: Neurobiology Research Center, Hôpital de l'Enfant-Jésus, 1401, 18^e rue, Québec, Qué. G1J 1Z4, Canada. Fax: (1) (418) 649-5910.

In fact, antagonists of the NMDA receptors produce a well-defined state of motor activation in rodents which appears to be partly mediated by the release of vesicular dopamine and partly by a dopamine-independent mechanism. Previous studies have shown that systemic injection of MK-801 produces a pronounced locomotor stimulation in monoamine-depleted rats [13] and mice [5]. However, a similar injection induces a marked ipsilateral circling response in 6-hydroxydopamine (6-OHDA) unilaterally lesioned rats [8]. Considering the fact that EAAs have multiple sites of action, the exact mechanism of this action of MK-801 in the 6-OHDA model of Parkinson's disease is unknown.

Recent autoradiographic studies have shown that the striatum, nucleus accumbens and olfactory tubercle receive probably the most abundant EAAergic innervation. All EAA receptor subtypes in these nuclei are present [1]. The striatal nuclei also receive an EAAergic input from the STN but this projection is relatively modest in the rat. However, electrophysiological studies have shown that the STN exerts an excitatory action in the SNr and the entopeduncular nucleus (EP) [22]. The SNr also receives an excitatory input from the pedunculopontine nucleus (PPN) [23] and probably from the cortex.

Recent data concerning the pharmacological actions of MK-801 demonstrate that it is a selective [7] and a highly potent non-competitive antagonist at glutamate receptors of the NMDA subtype [28] and that it produces PCP-like behavioral effects [14]. The recognition site of the non-competitive NMDA antagonist is within the ionophore of the PCP receptor which is different from the recognition site of the competitive NMDA antagonists at the NMDA receptor/channel complex [15]. Indeed, MK-801 is considered to be a good tool to identify sites of EAA-mediated transmission [7].

The aim of the present study is to determine the site and mechanism of locomotor activation of the non-competitive NMDA antagonist MK-801 in unilaterally 6-OHDA lesioned rats. Microinjections were performed into the striatum, an area of high density of EAA binding sites, or into the output nucleus SNr, which is a relatively low density area of EAA binding sites. Both sites were chosen for their possible involvement in dopaminergic induced circling. A preliminary report of these results has been presented [26].

2. Materials and methods

The experiments were carried out on 26 female adult rats Sprague-Dawley (200–300 g at the beginning; Charles River, Canada). The animals were housed singly on a 12-h light/dark schedule with free access to food and water. Monitoring of circling activity took place between 09:00 and 18:00. The measurements began a few minutes after intracerebral application of drugs or

vehicle and were continued for a period of 180 min. Prior to drug administration, each rat was allowed 30 min for habituation.

2.1. 6-OHDA lesion

Unilateral lesions with 6-hydroxydopamine (6-OHDA; Sigma, Louis, MO) (8 $\mu\text{g}/2 \mu\text{l}$, ascorbate 0.1%, dissolved in NaCl 0.9% solution) were performed in the left medial forebrain bundle at the following stereotaxic coordinates B $-4.8 \text{ L} + 1.4 \text{ V} - 8.5$ [20]. A lesions were performed in ovariectomized rats under ketamine/xylazine (87 mg/kg 13 mg/kg i.m.) anaesthesia. The toxin 6-OHDA was delivered at a rate of 0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$ with a pump. The stainless-steel cannula (30 ga) was left in place an additional minute to allow diffusion of the neurotoxin.

2.2. Behavioral testing

15 days after the 6-OHDA lesion, all rats were tested with apomorphine (0.25 mg/kg of body weight s.c.; Merck Frosst Canada). After systemic administration, the animals were placed in circling activity cages (rotometers). The activity cages are made of a plexiglass cylinder 40 cm high and 30 cm wide. One by one, rats were fitted with a harness and attached to the activity monitoring system. Circling responses induced by the dopaminergic agonist apomorphine were monitored during 30 min. Animals which circled more than 5 turns/min were chosen for further study.

2.3. Guide cannulas implantation

The rats assigned to intracerebral microinjection experiments were anesthetized by i.m. administration of ketamine/xylazine (8 mg/kg 13 mg/kg). Four stainless-steel intracerebral guide cannulae (23 ga) were stereotaxically implanted into the striatum and into the substantia nigra pars reticulata (SNr) at the following stereotaxic coordinates: B $+0.25 \text{ L} \pm 2.7 \text{ V} - 5.6$ and I.A. $+3.70 \text{ L} \pm 2.0 \text{ V} + 2.1$, respectively, according to Paxinos and Watson 1986 [20]. The guide cannula was secured 2.0 mm above the injection site with dental cement and skull screws. Moreover, protection stylets (30 ga) were inserted into guide cannulae between injections. The experiments were performed after a recovery period of at least 3 days.

2.4. Systemic administration

For systemic administration, the NMDA receptor non-competitive antagonist MK-801 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight; RBI, Natick, MA) (solubilized in NaCl 0.9% solution) was administered i.p. in control and in lesioned rats. After the administration, each animal was placed in a circling activity cage.

2.5. Intracerebral microinjections

Prior to the intracerebral microinjection, the protection stylets were removed. A stainless-steel injection cannula (30 ga) of appropriate length was connected to a 10- μl Hamilton syringe by polyethylene tubing and carefully lowered through the guide cannula. Microinjections were made by a Harvard pump in conscious rats. The injected volume was 0.5 μl for the SNr and 1.0 μl for the striatum and the rate of microinjection was 1.0 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Intracerebral microinjections were performed on both sides (striatum and SNr) of the unilaterally 6-OHDA lesioned rats. MK-801 (5 μg ; solubilized in NaCl 0.9% solution) or a solution of NaCl 0.9% was delivered either into the SNr or into the striatum in a random order. Microinjection of MK-801 was performed only once in each injection site. The injection cannula was left in place an additional minute to allow diffusion of the solution. After the microinjection

each animal was placed in a circling activity cage and circling was recorded as described above until it stopped or at least during 180 min.

2.6. Histology

After completion of the experiments, the animals were perfused successively with 500 ml of NaCl (0.9% solution) and 500 ml of 10% formaline under ketamine/xylazine anesthesia. Then, the brain was excised carefully and frozen coronal tissue sections were prepared on a microtome. The sections were placed on chromalun microscope slides and stained with Cresyl violet for verification of injection sites (Fig. 2).

2.7. Statistical analysis

The circling data were expressed as the mean \pm S.E.M. For systemic administration, significant differences were evaluated using ANOVA followed by Scheffe's a posteriori test, and, for the intracerebral microinjections, the ANOVA was followed by Duncan's new multiple range a posteriori test, with a level of $P < 0.05$ being considered significant.

3. Results

3.1. Systemic administration

Systemic injection of MK-801 (100 μ g/kg i.p.) induced a remarkable rotation response in unilaterally 6-OHDA lesioned rats as reported by Clineschmidt et al. [8]. All rats turned in an ipsilateral (counterclockwise) direction, referred to the lesioned side ($P < 0.05$) (Table 1). However, we observed that higher doses of MK-801 (250 and 500 μ g/kg) produced catalepsy (data not shown). In addition, chronic administration of MK-801 seems to produce a reduction of the circling response (data not shown). Otherwise, the same type of injection in non-denervated rats increased locomotor activity without direction predominance (Table 1).

3.2. Intracerebral microinjections

Injection of MK-801 in the SNr induced a circling response whereas injection in the striatum failed to produce circling. As shown in Fig. 1, intranigral injection of MK-801 (5 μ g/0.5 μ l) induced a significant ($P < 0.05$) contralateral (referred to the injection site)

Table 1
Effect of systemic administration of MK-801 on circling behavior in normal and 6-OHDA lesioned rats

Circling	Normal rats <i>n</i> = 4	Lesioned rats <i>n</i> = 6
Clockwise	219 \pm 74	6 \pm 3
Counter clockwise	329 \pm 129	831 \pm 266 ^{ns}

Results are presented as mean \pm S.E.M. (^{ns} $P < 0.05$ vs. clockwise circling, Scheffe's a posteriori test).

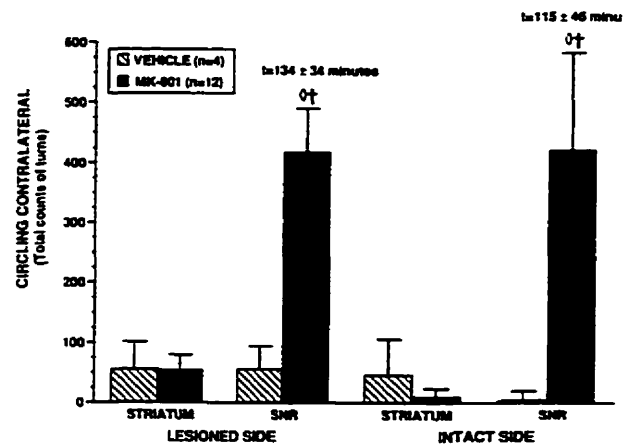


Fig. 1. Total counts of the circling response produced by intracerebral microinjection of MK-801 into the SNr, 5 μ g/0.5 μ l, or into the striatum, 5 μ g/1 μ l, in unilaterally lesioned rats. The number of animals is given in parentheses. Results are presented as mean \pm S.E.M. ($\diamond = P < 0.05$ vs. vehicle, $\dagger = P < 0.05$ vs. striatum site, Duncan new multiple range's a posteriori test). The total duration of the circling response is given in min \pm S.E.M. above the bar.

circling response as compared with the vehicle-treated controls. There was no difference between the total counts of circling of the intact side and the lesioned side. Injection of MK-801 in the SNr produced circling for 115 \pm 46 and 134 \pm 34 min when given into the intact side or the lesioned side, respectively.

4. Discussion

This study corroborates the fact that the non-competitive NMDA antagonist MK-801 systemically administered produces a marked ipsilateral circling response in unilaterally 6-OHDA lesioned rats. However, the same type of injection induced locomotor activity when given to normal rats. The difference between both groups is the presence of the nigrostriatal dopaminergic pathway in both sides for the normal rats and in one side for the lesioned rats. The results observed in lesioned rats, therefore, suggest that MK-801 may interact with the intact dopaminergic pathway to induce circling.

It is well known that unilateral injection of dopamine agonists into the striatum of various species induces turning and/or posturing away from the side of injection [19]. If MK-801 shares some dopaminergic properties with amphetamine [8] and produces motor stimulation via release of vesicular dopamine, how can we explain the ineffectiveness to produce circling when given into the intact side of the striatum? Probably MK-801 acts at several levels when given systemically to induce circling. The cortex also has been reported to have a high level of EAA receptors [9].

The present results show that intrastriatal microinjection of MK-801 on either side (intact or lesioned) caused practically no rotation activity in unilaterally 6-OHDA lesioned rats. On the other hand, a microinjection in the substantia nigra reticulata (SNr) induced a significant circling response to the side contralateral to the injection. Suppression of the excitatory drive projecting to the SNr, therefore, seems to be more important for the motor response to MK-801 than suppression of the excitatory drive projecting to the striatum. The direct excitatory input from the STN is believed to be responsible for maintaining the high level of spontaneous activity in the EP and SNr [22].

Recent interest has focused on the use of antagonists of the NMDA subtype of glutamate receptor in Parkinson's disease. Systemic administration of NMDA receptor antagonists seem to have clear motor effects in rodents. In fact, MK-801 causes a pronounced motor stimulation in mice and rats depleted of dopamine [5,13]. Moreover, a very low dose of MK-801 has been reported to potentiate the locomotor response induced by either a muscarinic cholinergic antagonist, a threshold dose of L-dopa, apomorphine, or SKF 38393 (a selective dopamine D1 agonist) [6,13].

We demonstrate for the first time that suppression

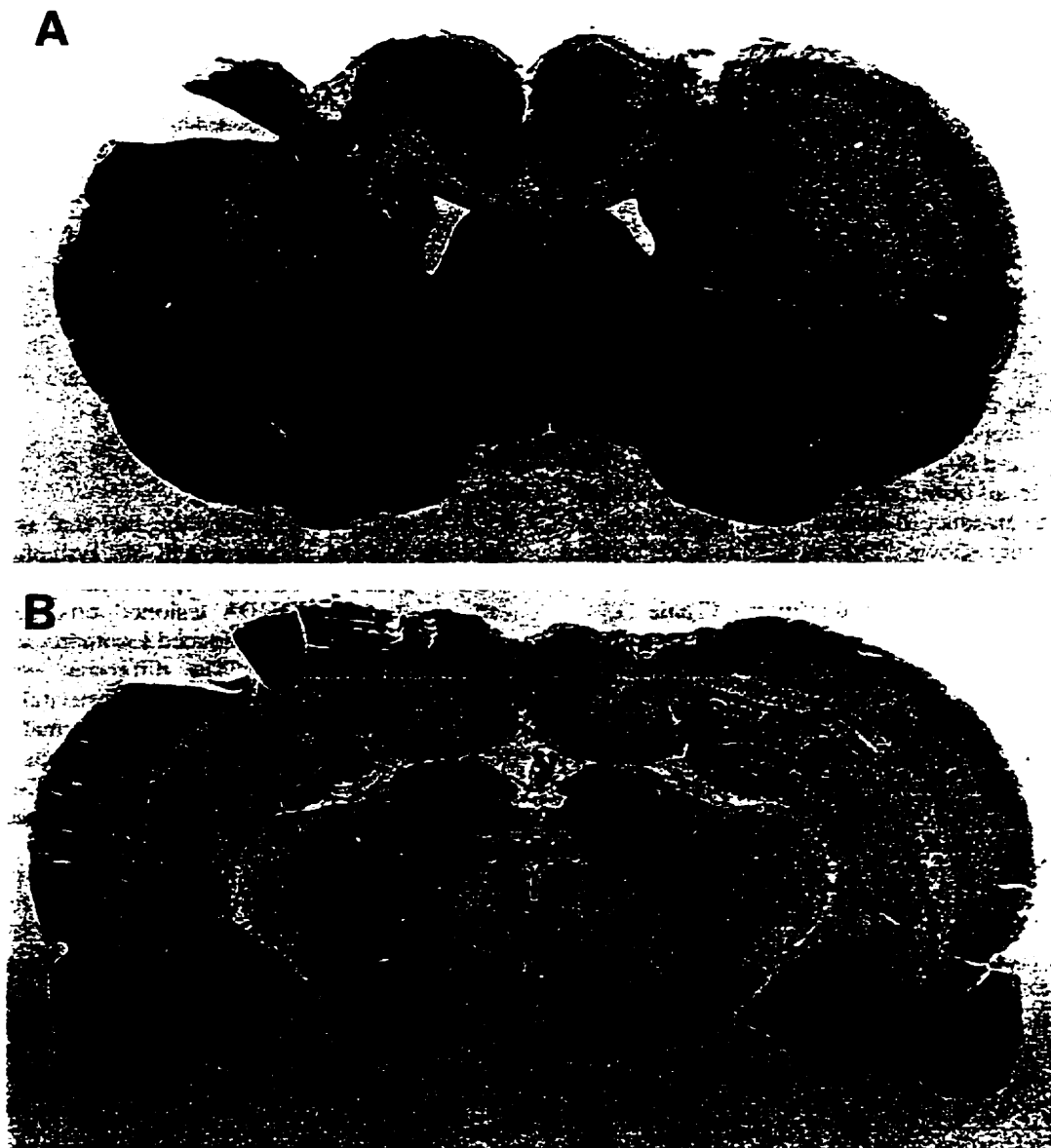


Fig. 2. Photomicrograph showing bilateral needle tracks with tips located in the striatum (A) and in the SNr (B).

of the excitatory drive into the SNr, an output nucleus, produces a circling response in 6-OHDA lesioned rats. Local blockade of EAA transmission with the broad spectrum competitive antagonist kynurenatate in the entopeduncular nucleus (EP) (GPI homologue in rodents) has been shown to reverse parkinsonism in akinetic rats and MPTP-treated monkeys [4]. Moreover, bilateral microinjections of a competitive NMDA antagonist CPP have been reported to stimulate locomotor activity when locally injected into the EP, STN or into the SNr of monoamine-depleted rats but not after injection into the striatum [13]. These observations obtained with intracerebral injections suggest that pharmacologically reducing the overactivity of STN, GPI and SNr caused by the degeneration of the dopaminergic neurons of the SNC, may produce behavioral improvement in Parkinson's disease.

In conclusion, systemically administered MK-801 may interact with the dopaminergic pathway on the intact side to induce circling. Our results with intracerebral microinjections indicates that NMDA receptors of the SNr, despite their apparently low density, may play a significant role to induce circling in 6-OHDA lesioned rat. It is, therefore, probable that antiparkinsonian effects of NMDA antagonist would be exerted at this level.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Medical Research Council (MRC) of Canada. The authors wish to thank Mrs. Laurent Grégoire and François Tardif for technical assistance and Miss Monique Baron who helped prepare the manuscript.

References

- [1] Albin, R.L., Makowiec, R.L., Hollingsworth, Z.R., Dure, IV, L.S., Penney, J.B. and Young, A.B., Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study, *Neuroscience*, 46 (1992) 35–48.
- [2] Albin, R.L., Young, A.B. and Penney, J.B., The functional anatomy of basal ganglia disorders, *Trends Neurosci.*, 12 (1989) 366–375.
- [3] Bergman, H., Wichmann, T. and DeLong, M.R., Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science*, 249 (1990) 1436–1438.
- [4] Brotchie, J.M., Mitchell, I.J., Sambrook, M.A. and Crossman, A.R., Alleviation of parkinsonism by antagonist of excitatory amino acid transmission in the medial segment of the globus pallidus in rat and primate, *Mov. Dis.*, 6 (1991) 133–138.
- [5] Carlsson, M. and Carlsson, A., The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice, *J. Neural Transm.*, 75 (1989) 221–226.
- [6] Carlsson, M. and Carlsson, A., Dramatic synergism between MK-801 and clonidine with respect to locomotor stimulatory effect in monoamine-depleted mice, *J. Neural Transm.*, 77 (1989) 65–71.
- [7] Childs, A.M., Evans, R.H. and Watkins, J.C., The pharmacological selectivity of three NMDA antagonists, *Eur. J. Pharmacol.* 145 (1988) 81–86.
- [8] Clineschmidt, B.V., Martin, G.E., Bunting, P.R. and Papp, N.I. Central sympathomimetic activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic, as apparent anxiolytic properties, *Drug Dev. Res.*, 2 (1982) 135–144.
- [9] Cotman, C.W., Bridges, R.J., Taube, J.S., Clark, A.S., Geddes, J.W. and Monaghan, D.T., The role of the NMDA receptor central nervous system plasticity and pathology, *J. NIH Res.*, (1989) 65–74.
- [10] Farooqui, A.A. and Horrocks, L.A., Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders, *Brain Res. Rev.*, 16 (1991) 171–191.
- [11] Klockgether, T. and Turski, L., Rigidity and catalepsy after injections of muscimol into the ventromedial thalamic nucleus: an electromyographic study in the rat, *Exp. Brain Res.*, 58 (1984) 559–569.
- [12] Klockgether, T. and Turski, L., Excitatory amino acids and the basal ganglia: implications for the therapy of Parkinson's disease, *Trends Neurosci.*, 12 (1989) 285–286.
- [13] Klockgether, T. and Turski, L., NMDA antagonists potentiate antiparkinsonian actions of L-dopa in monoamine-depleted rat, *Ann. Neurol.*, 28 (1990) 539–546.
- [14] Koek, W., Woods, J.H. and Winger, G.D., MK-801, a proposed noncompetitive antagonist of excitatory amino acid neurotransmission, produces phencyclidine-like behavioral effects in pigeons, rats and rhesus monkeys, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 244 (1988) 969–974.
- [15] McDonald, J.W. and Johnston, M.V., Physiological and pathological roles of excitatory amino acids during central nervous system development, *Brain Res. Rev.*, 15 (1990) 41–71.
- [16] Miller, W.C. and DeLong, M.R., Altered tonic activity of neurons in the globus pallidus and subthalamic nucleus in the primate MPTP model of parkinsonism. In M.B. Carpenter and A. Jayaraman (Eds.), *The Basal Ganglia II*, Plenum, New York, NY, 1987, pp. 415–427.
- [17] Mitchell, I.J., Clarke, C.E., Boyce, S., Robertson, R.G. et al. Neural mechanisms underlying parkinsonian symptoms based upon regional uptake of 2-deoxyglucose in monkeys exposed to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, *Neuroscience*, 31 (1989) 213–226.
- [18] Olney, J.W., Price, M.T., Labruyere, J. et al., Anti-parkinsonian agents are phencyclidine agonists and N-methyl-D-aspartate antagonists, *Eur. J. Pharmacol.*, 142 (1987) 319–320.
- [19] Pycock, C.J., Turning behaviour in animals, *Neuroscience*, 3 (1980) 461–514.
- [20] Praxinos, G. and Watson, C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, Sydney, Australia, 1986.
- [21] Reavill, C., Jenner, P. and Marsden, C.D., Gamma-aminobutyric acid and basal ganglia outflow pathways. In D. Evered and M. O'Connor (Eds.), *Functions of the Basal Ganglia*, Pitman, London, UK, 1984, pp. 164–171.
- [22] Robledo, P. and Feger, J., Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidum complex: electrophysiological data, *Brain Res.*, 518 (1990) 47–54.
- [23] Scarnati, E., Campana, E. and Pacitti, C., Pedunculopontine evoked excitation of substantia nigra neurons in the rat, *Brain Res.*, 304 (1984) 351–361.
- [24] Scheel-Krüger, J., Dopamine-GABA interactions: evidence that GABA transmits, modulates and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and the limbic system, *Acta Neurol. Scand. Suppl.*, 107 (1986) 1–54.

- [25] Schmidt, W. and Bubser, J., Anticataleptic effect of the *N*-methyl-*D*-aspartate antagonist MK-801 in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 32 (1989) 621-623.
- [26] St-Pierre, J.A., Gaudin, D., Grégoire, L. and Bédard, P.J., Circling induced by an intracerebral injection of the NMDA antagonist MK801: involvement of the dopaminergic system? *Soc. Neurosci.*, 17 (1991) 588.
- [27] St-Pierre, J.A., Grégoire, L. and Bédard, P.J., Intracerebral injection of dopamine in a denervated striatum reverses circling induced by the NMDA antagonist MK-801, *Soc. Neurosci.*, 19 (1992) 1153.
- [28] Wong, E.H.F., Kemp, J.A., Priestley, T., Knight, A.R., Wood, G.N. and Iversen, L.L., The anticonvulsant MK-801 is a *N*-methyl-*D*-aspartate antagonist, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83 (1986) 7104.

2.3 Résumé 2

L'administration systémique de l'antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA MK-801 ((+)-5-méthyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine) potentialise la réponse rotatoire induite par la stimulation directe des récepteurs striataux dopaminergiques, eux-mêmes activés par l'application intracérébrale de dopamine. L'administration locale de dopamine (1, 5, 25 ou 50 µg/1.0 µl) dans le côté lésé produit un comportement de rotation contralatéral, dose-dépendant, chez des rats porteurs d'une lésion unilatérale de la voie dopaminergique. Remarquablement, l'application intrastriatale de dopamine (1, 5, 25 ou 50 µg/1.0 µl) suivie de l'administration systémique de MK-801 (100 µg/kg i.p.) provoque un comportement de rotation potentialisé chez le même modèle animal. La direction de cette réponse comportementale est inversée comparativement à la réponse ipsilatérale marquée obtenue par le MK-801 lui-même. De plus, l'effet potentialisateur persiste quatre fois plus longtemps en comparaison de la durée du comportement de rotation induit par la dopamine lorsqu'injectée seule. Les résultats suggèrent que la potentialisation exercée par l'antagoniste NMDA sur l'activité motrice, induite préalablement par un agoniste dopaminergique, ne peut être attribuée purement et simplement par la libération de dopamine. D'autres mécanismes incluant l'augmentation de sensibilité des récepteurs dopaminergiques de type D1 ou du blocage de la transmission glutamatergique dans les structures de sortie doivent être envisagés.

2.4 Article 2

Publié dans la revue

European Journal of Pharmacology (1995) **272**: 123-129.

**“SYSTEMIC ADMINISTRATION ON THE NMDA
RECEPTOR ANTAGONIST MK-801 POTENTIATES
CIRCLING INDUCED BY INTRASTRIATAL
MICROINJECTION OF DOPAMINE.”**

Systemic administration of the NMDA receptor antagonist MK-801 potentiates circling induced by intrastriatal microinjection of dopamine

Jacques-André St-Pierre^a, Paul J. Bédard^{a,b,*}

^a Department of Pharmacology, Laval University and Centre de Recherche en Neurobiologie, Hôpital de l'Enfant-Jésus, 1401, 18^e rue, Québec (Québec), Canada, G1J 1Z4

^b Department of Neurological Sciences, Laval University and Centre de Recherche en Neurobiologie, Hôpital de l'Enfant-Jésus, 1401, 18^e rue, Québec (Québec), Canada, G1J 1Z4

Received 22 July 1994; accepted 4 October 1994

Abstract

Systemic administration of the non-competitive antagonist of NMDA receptors MK-801 ((+)-5-methyl-10,11-dihydro-5*H*- α -benzo[*a,d*]cyclohepten-5,10-imine) potentiates the circling response induced by direct stimulation of the striatal dopaminergic receptors through intracerebral application of dopamine. Microinjection of dopamine (1, 5, 25 or 50 μ g/1.0 μ l) induced dose-dependent contralateral circling response, when injected directly into the lesioned side of unilaterally 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rats. Interestingly, intrastriatal application of dopamine (1, 5, 25 or 50 μ g/1.0 μ l) followed by a systemic administration of MK-801 (100 μ g/kg i.p.) produced a potentiated contralateral circling response in unilaterally 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rats. This motor effect is reversed compared to the marked ipsilateral circling response produced by MK-801 when given alone. Moreover, the potentiated responses persist 4-fold longer compared to the circling induced by dopamine alone. The results suggest that the potentiation by NMDA receptor antagonists of motor activity induced by dopaminergic agonists in animal models of Parkinson's disease cannot be ascribed simply to increased release of dopamine. Other mechanisms including increased sensitivity of dopamine D₁ receptors or blockade of glutamatergic transmission in output structures must be considered.

Keywords: Dopamine; Microinjection; MK-801; Circling; Potentiation; Striatum, rat; 6-Hydroxydopamine

1. Introduction

Several studies have proposed that antagonists of excitatory amino acids may be beneficial for the treatment of Parkinson's disease (Klockgether and Turski, 1989; Carlsson and Carlsson, 1989a,b; Schmidt and Bubser, 1989; Olney et al., 1987). This new therapeutic approach is based in part on the belief that glutamate and dopamine are functionally opposite in the basal ganglia. In several models, dopamine receptor agonists and glutamate receptor antagonists, such as (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyclohepten-5,10-imine (MK-801), a noncompetitive antagonist of the NMDA receptor/channel complex (Wong et al., 1986, 1988), have similar actions at both biochemical and

behavioral levels. It appears that MK-801 produces behavioral responses partly mediated by the release of dopamine (Clineschmidt et al., 1982; Hiramatsu et al., 1989; Lösher et al., 1991; Rao et al., 1990), and partly by a catecholamine-independent process (Carlsson and Carlsson, 1990).

In fact, antagonism of excitatory amino acid neurotransmission by MK-801 administered systemically induces a marked ipsilateral circling response in 6-hydroxydopamine (6-OHDA) unilaterally lesioned rats (Clineschmidt et al., 1982; St-Pierre et al., 1991). However, this compound produces a pronounced locomotor stimulation in catecholamine-depleted mice (Carlsson and Carlsson, 1989a) and rats (Klockgether and Turski, 1990), suggesting a catecholamine-independent mechanism. Moreover, an interesting property has been revealed about the noncompetitive NMDA receptor antagonists MK-801 and phencyclidine as well as the competitive NMDA receptor antagonists CPP (3-((±)-

* Corresponding author. Tel. (418) 649-5593, fax (418) 649-5910.

2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid) and SDZ EAA494 (D-CPPene) of the NMDA receptor. When combined in low doses either with the α -adrenoreceptor agonist clonidine or subthreshold doses of the dopamine receptor agonists apomorphine or L-dopa, which per se did not produce motor stimulation, these NMDA receptor antagonists induced a remarkable potentiation of the antiparkinsonian action in monoamine-depleted mice (Carlsson and Carlsson, 1989b; Carlsson and Svensson, 1990) and rats (Klockgether and Turski, 1990).

In the present study, we were particularly interested in determining whether the presence of striatal dopamine is really crucial in the ipsilateral circling (toward the denervation) response of 6-hydroxydopamine-lesioned rats induced by MK-801. If so, local application of dopamine on the denervated side should decrease or abolish the ipsiversive circling response to systemic administration of MK-801 by restoring the balance in stimulation of dopamine receptors. Moreover, it is well known that injection of the neurotoxin 6-hydroxydopamine into the medial forebrain bundle (MFB) of the rat causes degeneration of the ipsilateral nigrostriatal dopamine neurons and loss of dopamine from the ipsilateral striatum (Ungerstedt, 1968), and leads to supersensitivity of postsynaptic dopamine receptors. In this context, local administration of dopamine on these supersensitive receptors might even facilitate the motor response of the denervated striatum and induce contraversive circling in combination with systemic MK-801. A preliminary report of these results has been presented (St-Pierre et al., 1992).

2. Materials and methods

The experiments were carried out on 12 female adult Sprague-Dawley rats (Charles River, Canada) weighting 200–300 g at the beginning. The animals were housed in single cages on a 12 h light/dark schedule with free access to food and water. Monitoring of circling activity took place between 9 a.m. and 11 p.m. The measurements began a few minutes after intracerebral microinjection of drugs, and was continued for a period of up to 600 min. A period of 30 min was allowed for habituation prior to drug administration.

2.1. 6-Hydroxydopamine lesion

Unilateral lesions were performed in the left medial forebrain bundle at the following stereotaxic coordinates B -4.8, L +1.4, V -8.5 (Paxinos et Watson, 1986). All lesions were done in ovariectomized rats under ketamine/xylazine (87 mg/kg, 13 mg/kg i.m.) anaesthesia. 6-Hydroxydopamine (8 mg/2 ml ascorbate

(0.1%) saline (0.9%) (Sigma, St. Louis, MO, US) was delivered at a rate of 0.5 μ l/min with a Harvard infusion pump. The stainless-steel injection cannula (30 gauge) was left in place an additional minute to allow diffusion of the neurotoxin.

2.2. Behavioral test

Fifteen days after the lesion, the rats were tested with apomorphine (0.25 mg/kg of body weight; Merck Frost). After systemic administration, the rats were placed in circling activity cages (rotometer). Each activity cage consists of a Plexiglas cylinder measuring 40 cm high and 30 cm wide. One by one, the rats were fitted with a harness and attached to the activity monitoring system. The circling response induced by the dopaminergic agonist was monitored during 10 min. Animals which circled more than 5 turns per minute were selected for further study.

2.3. Guide cannula implantation

All rats assigned to intracerebral microinjection experiments were anesthetized with intramuscularly administered ketamine/xylazine (87 mg/kg, 13 mg/kg). Two stainless-steel intracerebral guide cannulas (30 gauge) were stereotaxically implanted into the striatum at the following stereotaxic coordinates: B +0.25, \pm 2.7, V -5.6, according to Paxinos and Watson (1986). The guide cannulas were secured 2.0 mm above the injection site with dental cement and skull screws. Moreover, protection stylets (30 gauge) were inserted into guide cannulas between injections. Experiments were performed at least 3 days after implantation.

2.4. Combined injections

Prior to the intracerebral microinjection, the protection stylets were removed. A stainless-steel injection cannula (30 gauge) of appropriate length was connected to a 10 μ l Hamilton syringe by polyethylene tubing and carefully lowered through the guide cannula. Microinjections were made by a Harvard infusion pump in conscious animals. The injected volume was 1.0 μ l and the rate of injection was 1.0 μ l/min. The injection cannula was left in place an additional minute to allow diffusion of the solution.

Intrastriatal microinjections were performed into the lesioned side of the unilaterally 6-OHDA-lesioned rats. Twelve animals received a dose of 1, 5, 25 and 50 μ g dopamine, in a random order. For experiments 1 and 3, dopamine (Sigma) (solubilized in Ringer solution containing NaCl 147 mM, CaCl₂ 2.3 mM, and KCl 4 mM) was followed by administration of a 0.9% NaCl solution. For experiment 2, microinjection of dopamine was followed by MK-801 (100 μ g/kg of body weight)

RBI). Each microinjection of dopamine was repeated 3 times in the same animals and followed, 20 min later, by intraperitoneal administration of MK-801 or saline. One injection of saline preceded and the other followed the combination with MK-801 to ensure that responsiveness to dopamine was maintained. After the systemic injection, each animal was placed in the circling activity cage. Six animals were also tested with the same dose of MK-801 alone. The animals were allowed to rest 5-7 days between experiments.

2.5. Histology

When the experiments were completed, the animals were perfused successively with 500 ml of a 0.9% NaCl solution and 500 ml of 10% formaline under ketamine/xylazine anesthesia. The brain was then excised carefully and coronal tissue sections were prepared frozen on a microtome. The sections were placed on chromalun microscope slides and stained with cresyl violet for verification of injection sites (Fig. 4).

2.6. Statistics

Measurements of the circling activity such as total counts and maximum rate were expressed as the mean and standard error of the mean (S.E.M.) for each dose of dopamine. Significant differences were evaluated using an analysis of variance (ANOVA) for repeated measures followed by Scheffe's *a* posteriori test with a level of $P < 0.05$ being considered significant.

3. Results

MK-801 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.p.) per se produced a marked ipsilateral circling activity as we had reported previously (Fig. 1). Microinjections of dopamine, in doses of 1, 5, 25 and 50 $\mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ in experiments 1 and 3, were used as controls. Intrastriatal injections of dopamine into the lesioned side induced a dose-dependent con-

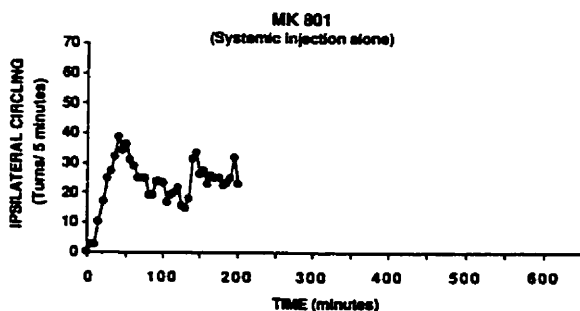


Fig. 1. Time course of action of an intraperitoneal injection of MK-801, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, in unilaterally lesioned rats. Results are expressed as mean values ($n = 6$).

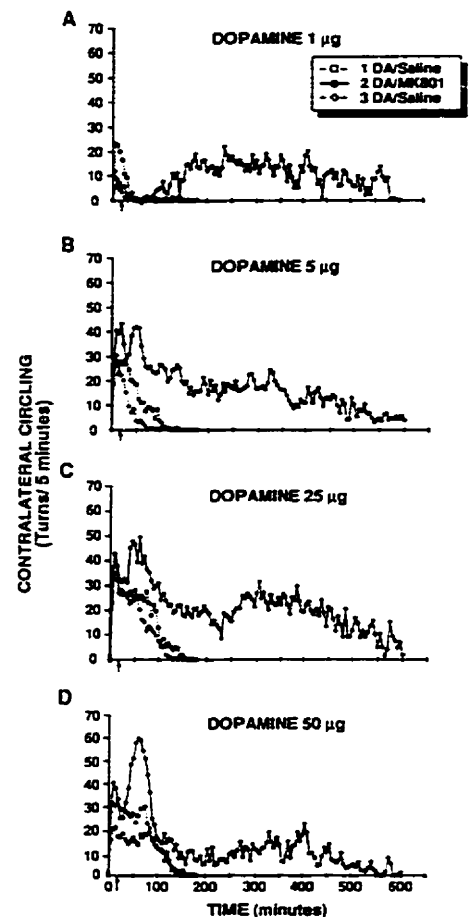


Fig. 2. Time course of action of intrastriatal microinjections of dopamine into the lesioned side at a dose of (A) 1, (B) 5, (C) 25, and (D) 50 μg in 1.0 μl followed by intraperitoneal administration (arrow) of either vehicle (\square ----- \square , \diamond ----- \diamond) or MK-801 (\bullet ----- \bullet), 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, on the circling response in unilaterally lesioned rats. Results are presented as mean values. Statistical evaluations of the curve parameters are shown in Figs. 3 and 4.

tralateral (referred to the injection site) circling response. Importantly, the circling activity produced by each dose of dopamine in experiment 1 was similar to the response observed in experiment 3 showing that there was no change in responsiveness to dopamine itself during the course of the experiment (Fig. 2). The duration and the total counts of the circling responses for each dose of dopamine were virtually identical (Figs. 2 and 3A).

Furthermore, in the second experiment, systemic administration of MK-801 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.p.) combined with intrastriatal application of dopamine (1, 5, 25 and 50 $\mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ in the striatum) induced a potentiated contralateral circling response (Fig. 2). This reverse response to the combined drugs persisted with a duration 4-fold that of the circling response induced by dopamine alone (Fig. 2). The total counts of the potentiated

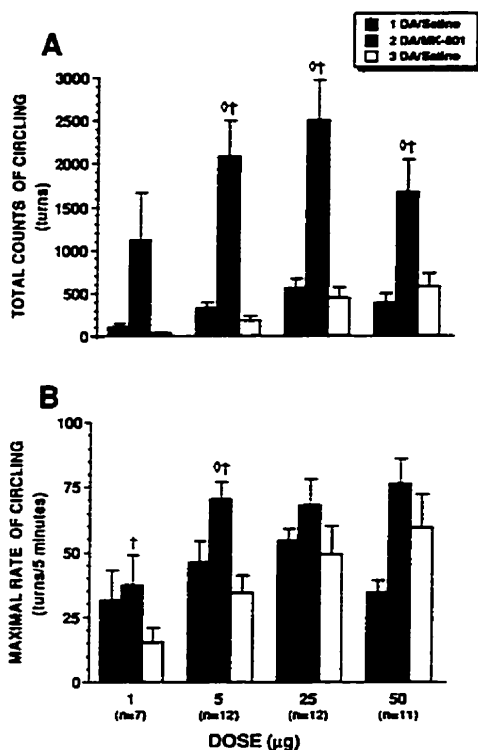


Fig. 3. Total counts (A) and maximum rate (B) of the circling response induced by intrastriatal microinjections of 1, 5, 25, and 50 $\mu\text{g}/1.0 \mu\text{l}$ of dopamine (DA) into the lesioned side followed by vehicle or by MK-801, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, administered intraperitoneally in unilaterally lesioned rats. The number of animals is given in parentheses. Results are presented as means \pm S.E.M. ($^{\circ}$ $P < 0.05$ vs. experiment 1 (DA/Saline), † $P < 0.05$ vs. experiment 3 (DA/Saline), Scheffe's a posteriori test).

tiated circling response, for all doses of dopamine, were significantly different compared to the control experiments 1 and 3 except for the dose of 1 μg in which the group was smaller (Fig. 3A). However, the duration of each potentiated rotation activity was significantly different compared to the control experiments 1 and 3 for all doses of dopamine (Fig. 2). Curiously, the potentiated circling responses induced at all doses of dopamine had a biphasic curve for the total counts whereas the durations are equal (Figs. 2 and 3A). The maximum circling rate seems to be potentiated by MK-801 at all doses of dopamine but the difference reached statistical significance only at a dose of 5 μg of dopamine compared to control experiments 1 and 3 (Fig. 3B).

4. Discussion

This study demonstrates that systemic application of MK-801 potentiates the circling response induced by direct stimulation of the striatal dopaminergic receptors with intracerebrally administered dopamine.

Moreover, microinjection of dopamine combined with MK-801 reverses the circling response in unilateral 6-OHDA-lesioned rats compared to the marked ipsilateral circling response produced by MK-801 when given alone (Figs. 1 and 2). In fact, dopamine induced a contralateral circling response, when injected directly into the lesioned side. The response to dopamine appeared to increase with the dose up to 25 μg (Fig. 3A). Similarly, microinjection of dopamine into the lesioned side followed by systemic injection of MK-801 produced a contralateral circling response both in terms of duration and maximal rate (Figs. 2, 3A and B). Again, the maximum effect was seen at 25 μg of dopamine. This circling response persisted with a duration 4-fold that of the circling response induced by dopamine alone (Fig. 2). Interestingly, the potentiated response still continued in the contralateral direction long after dopamine-induced circling responses should have been terminated. We might have expected at the end of the normal effect of dopamine to see a progressive reversal of the contralateral to an ipsilateral circling response as seen when MK-801 is given alone. Since there should be only a minimal amount of dopaminergic fibers remaining reported on the lesioned side, the persisting MK-801-induced contralateral circling response seems to be related to the activation of postsynaptic dopaminergic receptors. It could also mean an increased efficacy of the signal originating in the striatum at the level of output structures such as the substantia nigra pars reticulata.

Some studies have reported an increase of dopamine metabolism in several regions, including striatum, after systemic administrations of MK-801 (Hiramatsu et al., 1989; Löshner et al., 1991; Rao et al., 1990). It is possible that blockade of NMDA receptors causes activation of the dopamine release via an indirect influence on the dopaminergic nerve terminals. Inhibition of glutamatergic transmission in the striatum, a region with a high density of NMDA receptors (Albin et al., 1992), could lead to a decrease in the activity of the GABAergic striatonigral neurons resulting by suppressing the inhibitory feedback in an increase of the dopaminergic transmission in the striatum by the nigrostriatal neurons.

On the other hand, there is now considerable evidence that agonists of the glutamate receptors such as L-glutamate and *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) can increase the synthesis (Arias-Montano et al., 1992) and release of striatal dopamine in vitro (Roberts and Anderson, 1979) and in vivo (Carter et al., 1988; Chermant et al., 1986; Moghadam et al., 1990) by acting on excitatory amino acid receptors located on the dopaminergic terminals. Competitive and noncompetitive NMDA receptor antagonists can abolish the NMDA-evoked dopamine release without affecting the basal dopamine release in the striatum (Carter et al.,

1988). Moreover, electrophysiological studies have demonstrated that intrastriatal application of NMDA enhances firing rate of striatal cells in the rat (Overton and Clark, 1992). In addition, contraversive motor asymmetry and forelimb dyskinesias were observed when glutamate analogs were given unilaterally (Jenner et al., 1980; Toth and Lajtha, 1989), and increased motor activity when given bilaterally (Cools and Peeters, 1987).

Considering these results, the antagonist of the NMDA receptor might be expected to block dopamine release. In fact, microdialysis studies performed *in vivo* have shown that systemic application of MK-801 produced no increase of the extracellular level of dopamine indicating that MK-801 caused motor effects by a mechanism which does not involve release of striatal dopamine (Kashihara et al., 1990; Weihmuller et al., 1991). Considering the fact that dopaminergic nerve terminals are degenerated in the lesioned side in 6-hydroxydopamine animal models, it is conceivable that activation of the postsynaptic dopaminergic receptors would be responsible for the behavioral effects.

Recent molecular evidence shows that blockade of NMDA receptors could increase the effects of dopamine upon the dopamine D₁ receptors in the striatonigral neurons by preventing dephosphorylation of DARPP-32 (dopamine and cyclic AMP regulated phosphoprotein) (Halpain et al., 1990). In fact, a behavioral study performed in the 6-hydroxydopamine rat model has shown that SKF 38393, a dopamine D₁

receptor agonist or L-dopa, a pro-drug of dopamine combined with MK-801 produce a potentiated contralateral circling response (Morelli and Di Chiara, 1990) while the opposite is true for the dopamine D₂ receptor agonist quinpirole.

It is known that the affinity of the dopamine D₁ receptors for dopamine is 10-fold higher than that of the dopamine D₂ receptors (Seeman et al., 1986). Then, it is possible that a certain degree of dopamine D₁ receptor stimulation is a prerequisite for facilitate DARPP-32 phosphorylation by NMDA antagonists and production of a potentiated response. In fact, in Figure 2A, a very small dose of dopamine (1 µg) which by itself produces practically no motor response was followed about 40 min after MK-801 by a prolonged contralateral circling response. Probably, such a small amount of dopamine is sufficient at the cellular level to stimulate the dopaminergic receptors. As seen in Figures 3A and B, the contralateral response to dopamine increases to a certain point with the dose in terms of peak circling rate and total circling counts. These two parameters were greatly magnified by the administration of systemic MK-801. The increase was parallel to that seen after dopamine alone. However, the duration of the response appears equal for all doses of dopamine suggesting that this potentiation is an all-or-none phenomenon which requires a minimal presence of dopamine at the post-synaptic receptors.

Taken together, our results suggest that the potentiation of dopamine effects seen in the present exper-

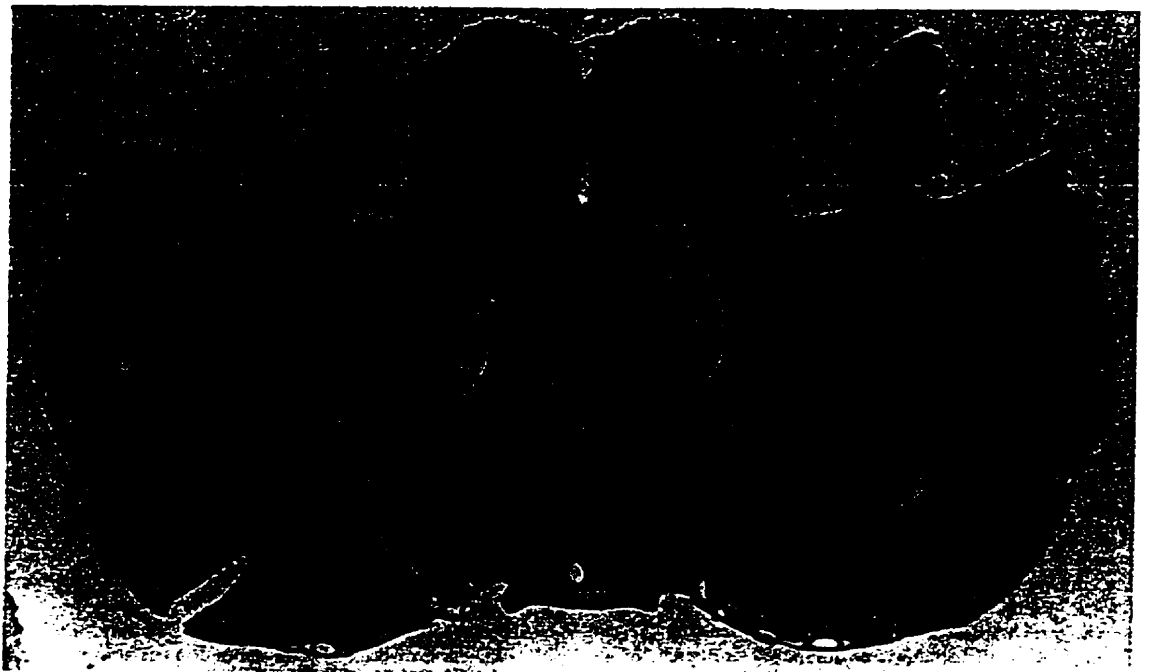


Fig. 4. Photomicrograph showing bilateral needle tracks with tips located in the striatum.

ment cannot be explained by increased release of dopamine due to MK-801. The interaction between these two agents could occur at the level of the striatum, but in the present experiment, we can only be certain that dopamine acted at this level. As for MK-801, it could act at multiple sites and in preliminary experiments (St-Pierre et al., 1991), we have observed a stronger effect of MK-801 on circling when injected directly in the substantia nigra pars reticulata than in the striatum. The combination of dopamine receptor activation (possibly D_1) and suppression of glutamatergic transmission leads to a new functional state of responsiveness to these agents which could be beneficial for instance in the treatment of Parkinson's disease.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Medical Research Council (MRC) of Canada and the Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR) de la province of Quebec. The authors wish to thank Mrs. Laurent Grégoire and François Tardif for technical assistance and Miss Monique Baron who helped prepare the manuscript.

References

- Albin, R.L., R.L. Makowicz, Z.R. Hollingsworth, L.S. Dure, IV, J.B. Penney and A.B. Young, 1992, Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study, *Neuroscience* 46, 35.
- Arias-Montano, J.A., D. Martinez-Fong and J. Aceves, 1992, Glutamate stimulation of tyrosine hydroxylase is mediated by NMDA receptors in the rat striatum, *Brain Res.* 569, 317.
- Carlsson, M. and A. Carlsson, 1989a, The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice, *J. Neural Transm.* 75, 221.
- Carlsson, M. and A. Carlsson, 1989b, Dramatic synergism between MK-801 and clonidine with respect to locomotor stimulatory effect in monoamine-depleted mice, *J. Neural Transm.* 77, 65.
- Carlsson, M. and A. Carlsson, 1990, Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within basal ganglia: implications for schizophrenia and Parkinson's disease, *Trends Neurosci.* 13, 272.
- Carlsson, M. and A. Svensson, 1990, The noncompetitive NMDA antagonists MK-801 and PCP, as well as the competitive NMDA antagonist SDZ EAA494 (D-CPPene), interact synergistically with clonidine to promote locomotion in monoamine-depleted mice, *Life Sci.* 47, 1729.
- Carter, C.J., R. L'Heureux and B. Scatton, 1988, Differential control by *N*-methyl-D-aspartate and kainate of striatal dopamine release in vivo: a trans-striatal dialysis study, *J. Neurochem.* 51, 462.
- Cheramy, A., R. Romo, G. Godeheu, P. Baruch and J. Glowinski, 1986, In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus. II. Facilitatory or inhibitory influence of L-glutamate, *Neuroscience* 19, 1081.
- Clineschmidt, B.V., G.E. Martin, P.R. Bunting and N.L. Papp, 1982, Central synathomimetic activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[*a,d*]cyclohept-5,10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central synathomimetic, and apparent anxiolytic properties, *Drug Dev. Res.* 2, 135.
- Cools, A.R. and B.W.M.M. Peeters, 1987, Behavioral function of neostriatal glutamate and its interaction with dopamine, *Neurosci. Res. Commun.* 1, 47.
- Halpain, S., J.-A. Girault and P. Greenberg, 1990, Activation of NMDA receptors induces dephosphorylation of DARPP-32 in striatal slices, *Nature* 343, 369.
- Hiramatsu, M., A.K. Cho and T. Nabeshima, 1989, Comparison of the behavioral and biochemical effects of the NMDA receptor antagonists, MK-801 and phencyclidine, *Eur. J. Pharmacol.* 163, 359.
- Jenner, P., C.D. Marsden and R.J. Taylor, 1980, Behavioral changes induced by the unilateral intrastriatal administration of glutamate analogs in the rat, *Br. J. Pharmacol.* 72, 570.
- Kashihara, K., T. Hamamura, K. Okumura and S. Otsuki, 1990, Effect of MK-801 on endogenous dopamine release in vivo, *Brain Res.* 528, 80.
- Klockgether, T. and L. Turski, 1989, Excitatory amino acids and the basal ganglia: implications for the therapy of Parkinson's disease, *Trends Neurosci.* 12, 285.
- Klockgether, T. and L. Turski, 1990, NMDA antagonists potentiate antiparkinsonian actions of L-dopa in monoamine-depleted rats, *Ann. Neurol.* 28, 539.
- Löschner, W., R. Annies and D. Hönnack, 1991, The *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 induces increases in dopamine and serotonin metabolism in several brain regions of rats, *Neurosci. Lett.* 128, 191.
- Moghadam, B., R.J. Gruen, R.H. Roth, B.S. Bunney and R.J. Adams, 1990, Effect of L-glutamate on the release of striatal dopamine: in vivo dialysis and electrochemical studies, *Brain Res.* 518, 55.
- Morelli, M. and G. Di Chiara, 1990, MK-801 potentiates dopamine release from the D_1 but reduces D_2 responses in the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease, *Eur. J. Pharmacol.* 182, 611.
- Olney, J.W., M.T. Price, J. Labruyere et al., 1987, Anti-parkinsonian agents are phencyclidine agonists and *N*-methyl-D-aspartate antagonists, *Eur. J. Pharmacol.* 142, 319.
- Overton, P. and D. Clark, 1992, Electrophysiological evidence that intrastriatal administered *N*-methyl-D-aspartate augments striatal dopamine tone in the rat, *J. Neural Transm.* 4, 1.
- Paxinos, G. and C. Watson, 1986, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Academic Press, Sydney).
- Rao, T.S., H.S. Kim, J. Lehmann, L.L. Martin and P.L. Wood, 1990, Interactions of phencyclidine receptor agonist MK-801 with the dopaminergic system: regional studies in the rat, *J. Neurochem.* 54, 1157.
- Roberts, P.J. and S.S. Anderson, 1979, Stimulatory effect of L-glutamate and related amino acids on [3 H]dopamine release from rat striatum: an in vitro model for glutamate actions, *J. Neurochem.* 32, 1539.
- Schmidt, W. and J. Bubser, 1989, Anticatalytic effect of the *N*-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 32, 621.
- Seeman, P., D.E. Grigoriadis and H.B. Niznik, 1986, Selectivity of agonists and antagonists at D_2 dopamine receptors compared to D_1 and D_2 receptors, *Drug Dev. Res.* 9, 63.
- St-Pierre, J.A., D. Gaudin, L. Grégoire and P.J. Bédard, 1990, Circling induced by an intracerebral injection of the NMDA antagonist MK801: involvement of the dopaminergic system, *Soc. Neurosci.* 17, 588.
- St-Pierre, J.A., L. Grégoire and P.J. Bédard, 1992, Intracerebral injection of dopamine in a denervated striatum reverses circling induced by the NMDA antagonist MK-801, *Soc. Neurosci.* 19, 1153.

- Toth, E. and A. Lajtha, 1989, Motor effects of intracaudate injection of excitatory amino acids, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 33, 175.
- Ungerstedt, U., 1968, 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons, *Eur. J. Pharmacol.* 5, 107.
- Weihmuller, F.B., S.J. O'Dell, B.N. Cole and J.F. Marshall, 1991, MK-801 attenuates the dopamine-releasing but not the behavioral effects of metamphetamine: an vivo microdialysis study, *Brain Res.* 549, 230.

- Wong, E.H.F., J.A. Kemp, T. Priestley, A.R. Knight, G.N. Woodruff and L.I. Iversen, 1986, The anticonvulsant MK-801 is a potent *N*-methyl-D-aspartate antagonist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 7104.
- Wong, E.H.F., A.R. Knight and G.N. Woodruff, 1988, [³H]MK-801 labels a site on the *N*-methyl-D-aspartate receptor channel complex in rat brain membranes, *J. Neurochem.* 50, 274.

3.0 DISCUSSION

De nombreuses équipes de recherche ont porté leur intérêt sur l'étude de l'utilisation éventuelle des antagonistes des récepteurs au glutamate et plus particulièrement au sous-type NMDA dans le traitement de la maladie de Parkinson.

3.1 Effet de l'administration systémique de MK-801

Notre étude confirme le fait que l'antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA MK-801 injecté systémiquement produit un comportement de rotation ipsilatéral marqué chez le rat lésé unilatéralement à la 6-OHDA (Tableau 1 de *l'article #1*). De plus, nous avons observé qu'une injection similaire de MK-801 administrée à des animaux normaux augmente d'emblée leur activité motrice (Tableau 1 de *l'article #1*). Ce qui distingue les deux groupes expérimentaux, c'est la présence de la voie dopaminergique nigro-striée dans les deux hémisphères pour les rats normaux tandis qu'elle est d'un seul côté chez les animaux lésés. Alors, les résultats obtenus chez les rats lésés suggèrent que le MK-801 peut agir du côté où la voie dopaminergique est intacte afin de produire le comportement de rotation.

3.2 Effet de l'injection intracérébrale de MK-801

Il est bien connu que l'injection unilatérale d'un agoniste dopaminergique directement dans le striatum de différentes espèces produit une rotation et/ou une contorsion de l'animal dans la direction opposée du site d'injection. Puisque MK-801 possède des propriétés similaires à celles de l'amphétamine (Pycock, 1980) et stimule l'activité motrice via la relâche de la dopamine vésiculaire, comment pouvons-nous expliquer son inefficacité à provoquer un comportement de rotation lorsqu'on l'administre dans le striatum du côté intact? Il est probable que le MK-801 doit activer plusieurs régions afin d'induire une réponse rotatoire puisque qu'il y a de nombreux récepteurs aux acides aminés excitateurs dans le cerveau notamment dans le cortex (Cotman et al., 1989).

Les résultats du premier article montrent que l'injection intrastriatale de MK-801 soit dans le côté intact ou dans le côté lésé ne produit aucun comportement de rotation significatif chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA (Figure 1 de l'article #1). Nous rejetons la possibilité d'avoir injecté une dose insuffisante pour expliquer l'inactivité comportementale puisque une dose reportée pour être efficace a été choisie (Raffa, 1989). Alors, nous envisageons la possibilité que l'action de MK-801 sur la réponse rotatoire pourrait mettre en jeu une autre région que le striatum. Supportant cette éventualité, nous observons en effet que l'injection directe du MK-801 dans la SNr induit une réponse rotatoire significative dans une direction contralatérale au site d'injection (Figure 1 de l'article #1). Par conséquent, la suppression de l'afférence excitatrice de la SNr semble être plus critique que celle exercée sur l'afférence excitatrice du striatum en ce qui a trait à la réponse motrice: la voie excitatrice directe provenant du STN étant réputée pour maintenir le niveau élevé d'activité spontanée dans le noyau entopédonculaire et la SNr (Robledo et al., 1990).

De plus, nous démontrons pour la première fois que le blocage de l'afférence excitatrice de la SNr, un noyau de sortie des noyaux gris centraux, produit une réponse rotatoire chez le rat lésé unilatéralement à la 6-OHDA (Figure 1 de l'article #1). Par ailleurs, d'autres équipes ont rapportées que le blocage de la transmission excitatrice par un antagoniste non-sélectif (acide kynurénique) dans le noyau entopédonculaire (EP) (structure homologue du GPi chez le rongeur) renverse le parkinsonisme chez le rat akinétique et le singe MPTP (Brotchie et al., 1991). De plus, l'injection bilatérale d'un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA CPP (3-[(±)-2-carboxypiperazin-4-yl]-propyl-1-phosphonate dans l'EP, le STN ou dans la SNr, à l'exception du striatum, stimule l'activité locomotrice chez des rats démunis en monoamine (Klockgether et al., 1990). Toutes ces observations obtenues suite à des injections intracérébrales suggèrent que la réduction pharmacologique de l'hyperactivité du STN, GPi et de la SNr causée par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc pourrait améliorer les déficits moteurs de la maladie de Parkinson.

3.3 Effet de l'injection combinée de MK-801 et de dopamine

Par ailleurs, cette étude démontre que la stimulation des récepteurs dopaminergiques par la dopamine potentialise le comportement de rotation induit par l'administration systémique de MK-801. Une injection intrastriatale de dopamine combinée avec le MK-801 renverse la direction du comportement de rotation (direction contralatérale) comparée à celle induite par le MK-801 lorsqu'administré seul (direction ipsilatérale) chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA (Figure 1 et 2 de *l'article #2*). En effet, la dopamine appliquée directement dans le côté lésé induit un comportement de rotation contralatéral d'une manière dose-dépendante (Figure 3, *article #2*). D'une façon similaire, l'application directe de dopamine suivie du MK-801 administré systématiquement produit un comportement de rotation contralatéral. Par contre, cet effet moteur persiste 4 fois plus longtemps et cette réponse synergique semble avoir des pointes maximales supérieures comparativement à l'application unique de dopamine (Figure 2 et 3 de *l'article #2*). Curieusement, la réponse synergique perdure dans une direction contralatérale malgré l'arrêt de l'effet moteur induit par la dopamine. Nous aurions pu s'attendre à voir un renversement du comportement de rotation (dans une direction ipsilatérale) telle que provoquée par le MK-801 lorsqu'il est administré seul, puisqu'il a été rapporté que le MK-801 favorise la libération de dopamine (Hiramatsu et al., 1989 ; Lōsher et al., 1991 ; Rao et al., 1990).

Dans notre modèle animal, étant donné que les terminaisons dopaminergiques sont dégénérées du côté lésé de notre animal, la possibilité de libération de dopamine présynaptique induite par le MK-801 est écartée. Cette observation concorde avec celles démontrant respectivement l'abolition ou l'absence d'activation de la libération basale ou induite de dopamine par le MK-801 (Carter et al., 1988 ; Kashihara et al., 1990 ; Weihmuller et al., 1991). Par conséquent, nous pouvons envisager que les effets moteurs provoqués par la synergie du MK-801 et de la dopamine semblent être véhiculés par un mécanisme non-relié à la libération présynaptique de dopamine striatale mais probablement via l'activation des récepteurs postsynaptiques de type dopaminergique situés sur des neurones de projection, des interneurones striataux (de type GABAergique ou cholinergique) voir même dans une autre région que le striatum.

Récemment, des évidences moléculaires ont montrés que le blocage des récepteurs NMDA pourrait renforcer les effets de la dopamine sur les récepteurs D1 des neurones striatonigraux en prévenant la déphosphorylation de la DARPP-32 (Halpain et al., 1990). Ainsi, une étude comportementale a démontré que l'administration systémique combinant le SKF 38393, un agoniste dopaminergique de type D1, ou le *L*-dopa, un agoniste mixte D1/D2, avec le MK-801, produit une réponse rotatoire amplifiée dans une direction contralatérale par rapport à la lésion chez des rats lésés unilatéralement à la 6-OHDA (Morelli and Di Chiara, 1990).

Sachant que l'affinité des récepteurs D1 à la dopamine est 10 fois supérieure à celle des récepteurs D2 (Seeman et al., 1986), il est possible qu'un certain niveau de stimulation des récepteurs D1 soit pré-requis pour faciliter la phosphorylation de la DARPP-32 par les antagonistes NMDA pour ainsi générer la réponse potentialisatrice. À la figure 2A (*article#2*), une très petite dose de dopamine (1 µg) produit pratiquement aucune réponse motrice et lorsque le MK-801 est ajouté, environ 40 minutes s'écoulent avant d'observer une réponse potentialisatrice. Voici donc une autre indication de la nécessité de l'activation préalable des récepteurs dopaminergiques afin d'obtenir un comportement moteur significatif.

Donc, nos résultats suggèrent que la potentialisation observée dans cette étude ne peut pas être expliquée par une stimulation de la libération de dopamine. De plus, le comportement de rotation induit par la suppression de la neurotransmission glutamatergique semble être facilité par l'activation des récepteurs dopaminergiques.

4.0 CONCLUSION

À l'aide de la technique d'injection intracérébrale, nous avons pu déterminer l'importance de la dopamine dans la stimulation de l'activité motrice. Ainsi, l'activation des récepteurs dopaminergiques semble jouer un rôle majeur dans le comportement de rotation provoqué par le MK-801. Ces résultats nous permettent ainsi d'éliminer la possibilité que le MK-801 agit en provoquant la libération de dopamine par les terminaisons nerveuses.

De plus, il semble que le MK-801 agit préférentiellement dans la SNr, par rapport au striatum, afin de produire cette réponse motrice chez les rats lésés unilatéralement.

Donc, nos travaux informent sur le mode d'action de l'antagoniste NMDA non-compétitif MK-801. Par contre, du point de vue de son application clinique, il reste énormément de chemin à parcourir! Certains chercheurs ont observés des effets négatifs à l'utilisation des antagonistes aux récepteurs NMDA: effets psychotomimétiques et de l'amnésie (Schmidt et al., 1990). Des déficiences à la mémoire à court-terme ainsi que des troubles attentionnels ont également été observés (Schmidt et al., 1990). Les effets secondaires engendrés par les antagonistes NMDA limitent leur application dans le traitement de la maladie de Parkinson.

Par contre, les propriétés potentialisatrices (à de faible dose) et neuroprotectrices de ces composés étant non négligeables, elles doivent justifier la progression de la recherche dans cette nouvelle approche pour le traitement de la maladie de Parkinson.

5.0 BIBLIOGRAPHIE

Abele, A.E., Scholz, K.P., Scholz, W.K. and Miller, R.J. (1990) Excitotoxicity induced by enhanced excitatory neurotransmission in cultured hippocampal pyramidal neurons. *Neuron* **2**: 413-419.

Afsharpour, S. (1985) Topographical projections of the cerebral cortex to the subthalamic nucleus. *J. Comp. Neurol.* **236**: 14-28.

Albin, R.L., Young, A.B. and Penney, J.B. (1989a) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* **12**: 366-375.

Albin, R.L., Aldridge, J.W., Young, A.B., Gilman, S. (1989b) Feline subthalamic nucleus neurons contain glutamate-like but not GABA-like or glycine-like immunoreactivity. *Brain Res.* **491**: 185-188.

Albin, R.L., Makowiec, R.L., Hollingsworth, Z.R., Dure IV, L.S., Penney, J.B. and Young, A.B. (1992) Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience* **46**: 35-48.

Alexander, G.E. and Crutcher, M.D. (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* **12**: 266-271.

Araki, T and Endo, K. (1976) Short latency EPSPs of pyramidal tract cells evoked by stimulation of the centrum medianum-parafascicular complex and the nucleus ventralis anterior of the thalamus. *Brain Res.* **113**: 405-410.

Arias-Montano, J.A., Martinez-Fong, D. and Aceves, J. (1992) Glutamate stimulation of tyrosine hydroxylase is mediated by NMDA receptors in the rat striatum. *Brain Res.* **569**: 317-322.

Barbeau, A. (1986) Parkinson's disease: clinical features and etiopathology. *Handbook of Clinical Neurology* **5**: Extraparamidal Disorders, Vinken, Bruyn, Klawans eds, Elsevier Science Publishers, B.V.

Beal, M.F., Kowal, N.W., Ellison, D.W. et al. (1986) Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* **321**:168-172.

Bergman, H., Wichmann, T., DeLong, M.R. (1990) Reversal of experimental Parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* **249**:1436-1438.

Brotchie, J.M., Mitchell, I.J., Sambrook, M.A. and Crossman, A.R. (1991) Alleviation of parkinsonism by antagonist of excitatory amino acid transmission in the medial segment of the globus pallidus in rat and primate. *Movement Disorders* **6**: 133-138.

Carlsson, M. and Carlsson, A. (1989a) The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice. *J. Neural. Transm.* **75**: 221-226.

Carlsson, M. and Carlsson, A. (1989b) Dramatic synergism between MK-801 and clonidine with respect to locomotor stimulatory effect in monoamine-depleted mice. *J. Neural Transm.* **77**: 65-71.

Carlsson, M. and Carlsson, A. (1990) Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within basal ganglia: implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **13**:272-276.

Carlsson, M. and Svensson, A. (1990) The noncompetitive NMDA antagonists MK-801 and PCP, as well as the competitive NMDA antagonist SDZ EAA494 (D-CPPene), interact synergistically with clonidine to promote locomotion in monoamine-depleted mice. *Life Sciences* **47**: 1729-1736.

Carter, C.J., L'Heureux, R. and Scatton, B. (1988) Differential control by N-methyl-D-aspartate and kainate of striatal dopamine release in vivo: a trans-striatal dialysis study. *J. Neurochem.* **51**: 462-468.

Ceballos-Baumann, A.O., Obeso, J.A., Vitek, J.L., DeLong, M.R., Bakay, R., Linazasoro, G., and Brooks, D.J. (1994) Restoration of thalamocortical activity after posteroventral pallidotomy in Parkinson's disease. *Lancet* **344**: 814.

Cedarbaum, J.M. (1990) Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in the management of motor response fluctuations in Parkinson's disease. *Neurol. Clin.* **8**: 31-49.

Cheramy, A., Romo, R., Godeheu, G., Baruch, P. and Glowinski, J. (1986) In vivo presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus-II. Facilitatory or inhibitory influence of L-glutamate. *Neuroscience* **19**: 1081-1090.

Childs, A.M., Evans, R.H., Watkins, J.C. (1988) The pharmacological selectivity of three NMDA antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* **145**: 81-86.

Choi, D.W. (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* **1**: 623-634.

Clineschmidt, B.V., Martin, G.E., Bunting, P.R., and Papp, N.L. (1982) Central synathomimetic activity of (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine (MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central synathomimetic, and apparent anxiolytic properties. *Drug. Dev. Res.* **2**: 135-145.

Comella, C.L. and Tanner, C.M. (1990) Anticholinergic drugs in the treatment of Parkinson's disease. In: Koller W.C., Paulson G. eds. *Therapy of Parkinson's disease* New York: Marcel Dekker Inc; 123-141.

Cools, A.R. and Peeters, B.W.M.M. (1987) Behavioral function of neostriatal glutamate and its interaction with dopamine. *Neurosci. Res. Comm.* **1**: 47-55.

Cotman, C.W., Bridges, R.J., Taube, J.S., Clark, A.S., Geddes, J.W. and Monaghan, D.T. (1989) The role of the NMDA receptor in central nervous system plasticity and pathology. *J. NIH Res.* **1**: 65-74.

Creese, I., Burt, D.R. and Snyder, S.H. (1977) Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science* **197**: 596-598.

Criswell, H.E., Mueller, R.A., Breese, G.R., (1990) Long-term D1-dopamine receptor sensitization in neonatal 6-OHDA-lesioned rats is blocked by an NMDA antagonist. *Brain Res.* **512**: 284-290.

DeLong, M.R. (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* **12**: 281-285.

Dingledine, R., Boland, L.M., Chamberlin, N.L. et al. (1988) Amino acid receptors and uptake systems in the mammalian central nervous system. *Crit. Rev. Neurobiol.* **4**:1-96.

Farooqui, Akhlaq, A. and Horrocks, Lloyd, A. (1991) Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Res. Rev.* **16**: 171-191.

Filion, M., Tremblay, L. and Bédard, P.J. (1989) in *Neural mechanisms in disorders of movement* (Crossman, A.R. and Sambrook, M.A., eds), pp.157-164, John Libbey.

Girault, J.-A., Halpain, S., Greengard, P., (1990) Excitatory amino acid antagonists and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **13**: 325-326.

Greenamyre, J.T. and Young, A.B. (1989) Excitatory amino acids and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **10**: 593-602.

Greenamyre, J.T. (1991) Neuronal bioenergetic defects, excitotoxicity and Alzheimer's disease: "use it and lose it". *Neurobiol. Aging* **12**: 334-336.

Halpain, S., Girault, J.-A., Greengard, P. (1990) Activation of NMDA receptors induces dephosphorylation of DARPP-32 in rats striatal slices. *Nature* **343**: 369-372.

Hassler, R. (1955) The pathological and pathophysiological basis of tremor and Parkinsonism. *Proc. 2nd Internat. Congr. Neuropathology* **1**, 29.

Hiramatsu, M., Cho, A.K. and Nabeshima, T. (1989) Comparison of the behavioral and biochemical effects of the NMDA receptor antagonists, MK-801 and phencyclidine. *Eur. J. Pharmacol.* **166**: 359-366.

Hornykiewicz, O. (1966) Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol Rev.* **18**: 925-964.

Jankovic, J. and Marsden, C.D. (1988) Therapeutic strategies in Parkinson's disease. In: Jancovic, J., Tolosa, E. eds. *Parkinson's disease and movement disorders*. Baltimore, Md: *Urban and Schwarzenberg*; 95-119

Jenner, P. Marsden, C.D. and Taylor, R.J. (1980) Behavioral changes induced by the unilateral intrastriatal administration of glutamate analogs in the rat. *Brit. J. Pharmacol.* **72**: 570.

Kashihara, K., Hamamura, T., Okumura, K. and Otsuki, S. (1990) Effect of MK-801 on endogenous dopamine release in vivo. *Brain Res.* **528**: 80-82.

Kebabian, J.W. and Calne, D.B. (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* **277**: 93-96.

Kindt, M.V., Nicklas, W.J., Sonsalla, P.K. and Heikkila, R.E. (1986) Mitochondria and the neurotoxicity of MPTP. *Trends Pharmacol. Sci.* **7**: 473-475.

Klockgether, T. and Turski, L. (1985) Rigidity and catalepsy after injections of muscimol into the ventromedial thalamic nucleus: an electromyographic study in the rat. *Exp. Brain Res.* **58**: 559-569.

Klockgether, T. and Turski, L. (1989) Excitatory amino acids and the basal ganglia: implications for the therapy of Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **12**: 285-286.

Klockgether, T. and Turski, L. (1990) NMDA antagonists potentiate antiParkinsonian actions of L-dopa in monoamine-depleted rats. *Ann. Neurol.* **28**: 539-546.

Koek, W., Woods, J.H. and Winger, G.D. (1988) MK-801, a proposed noncompetitive antagonist of excitatory amino acid neurotransmission, produces phencyclidine-like behavioral effects in pigeons, rats and rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **245**: 969-974.

Lee, T., Seeman, P., Rajput, A., Farley, I.J. and Hornykiewicz, O. (1978) Receptor basis for dopaminergic supersensitivity in Parkinson's disease. *Nature* **273**: 59-61.

Lehmann, J., Scatton, B. (1982) Characterization of the excitatory amino acid receptor-mediated release of [³H]acetylcholine from rat striatal slices. *Brain Res.* **252**: 77-89.

Löschner, W., Anniés, R. and Hönack, D. (1991) The N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 induces increases in dopamine and serotonin metabolism in several brain regions of rats. *Neurosc. Lett.* **128**: 191-194.

McDonald, J.W. and Johnston, M.V. (1990) Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res. Rev.* **15**: 41-70.

Miller, W.C. and DeLong, M.R. (1987) Altered tonic activity of neurons in the globus pallidus and subthalamic nucleus in the primate MPTP model of Parkinsonism. In: Carpenter, M.B., Jayarman, A., eds. *The basal ganglia II*. New York: Plenum Press; 415-427.

Mitchell, I.J., Clarke, C.E., Boyce, S., Robertson, R.G. et al. (1989) Neurochemical mechanisms underlying Parkinsonian symptoms based upon regional uptake of 2-deoxyglucose in monkeys exposed to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neuroscience* **32**: 213-226.

Moghadam, B., Gruen, R.J., Roth, R.H., Bunney, B.S. and Adams, R.N. (1990) Effect of L-glutamate on the release of striatal dopamine: in vivo dialysis and electrochemical studies. *Brain Res.* **518**: 55-60.

Morelli, M. and Di Chiara, G. (1990) MK-801 potentiates dopaminergic D1 but reduces D2 responses in the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Eur. J. Pharmacol.* **182**: 611-612.

Morelli, M. and Di Chiara, G. (1990) Stereospecific blockade of N-methyl-D-aspartate transmission by MK-801 prevents priming of SKF 38393-induced turning. *Psychopharmacol.* **101**: 287.

Mouradian, M.M., Chase, T.N. (1988) Hypothesis: central mechanisms and levodopa response fluctuations in Parkinson's disease. *Clin. Neuropharmacol.* **11**: 378-385.

Nakanishi, H., Kita, H., Kitai, S.T. (1988) An N-methyl-D-aspartate receptor mediated excitatory post-synaptic potential evoked in subthalamic neurons in an in vitro slice preparation of the rat. *Neurosci. Lett.* **95**:130-136.

Olanow, C.W.(1990) Oxydation reactions in Parkinson's disease. *Neurology* **40**: 32-37.

Olney, J.W., Price, M.T., Labruyere, J., et al. (1987) Anti-parkinsonian agents are phencyclidine agonists and N-methyl-D-aspartate antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* **142**: 319-320.

Overton, P. and Clark, D. (1992) Electrophysiological evidence that intrastriatal administered N-methyl-D-aspartate augments striatal dopamine tone in the rat. *J. Neural Transm.* **4**: 1-14.

Pan, H.S. and Walters, J.R. (1988) Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decreases the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. *Synapse* **2**:650-659.

Parkinson study group (1989) DATATOP: a multicenter controlled clinical trial in early Parkinson's disease. *New Engl. J. Med.* **46**:1052-1060.

Paxinos, G. and Watson, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press.

Playtakis, A. (1990) Glutamate dysfunction and selective motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a hypothesis. *Ann. Neurol.* **28**: 3-8.

Playtakis, A., Berl, S. and Yahr, M.D. (1989) Abnormal glutamate metabolism in adult-onset degenerative neurological disorders. *Science* **216**: 193-196.

Raffa, R.B., Ortegon, M.E., Robisch, D.M. and Martin, G.E. (1989) In vivo demonstration of the enhancement of MK-801 by L-glutamate. *Life Sciences* **44**: 1593-1599.

Pycock, C.J. (1980) Turning behaviour in animals. *Neuroscience* **5**: 461-514.

Rao, T.S., Kim, H.S., Lehmann, J., Martin, L.L. and Wood, P.L. (1990) Interactions of phencyclidine receptor agonist MK-801 with dopaminergic system: regional studies in the rat. *J. Neurochem.* **54**: 1157-1162.

Reavill, C., Jenner, P., Marsden, C.D., (1984) Gamma-aminobutyric acid and basal ganglia outflow pathways. In: Evered, D., O'Connor, M. eds. *Functions of the basal ganglia*. London: Pitman, 164-171.

Roberts, P.J. and Anderson, S.D. (1979) Stimulatory effect of L-glutamate and related amino acids on [3H]dopamine release from rat striatum: an in vitro model for glutamate actions. *J. Neurochem.* **32**: 1539-1545.

Robledo, P. and Feger, J. (1990) Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidal complex: electrophysiological data. *Brain Res.* **518**: 47-54.

Rouzair-Dubois, B. and Scarnati, E. (1987) Pharmacological study of the cortical-induced excitation of subthalamic nucleus neurons in the rat: evidence for amino acids as putative transmitters. *Neuroscience* **21**: 429-440.

Scarnati, E., Campana, E. and Pacitti, C. (1984) Pedunclopontine-evoked excitation of substantia nigra neurons in the rat. *Brain Res.* **304**: 351-361.

Scheel-Krüger, J., (1986) Dopamine-GABA interactions: evidence that GABA transmits, modulates and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and the limbic system. *Acta. Neurol. Scand.* **107**: 1-54.

Schmidt, W.J. Bubser, (1989) Anticataleptic effect of the N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **32**: 621-623.

Schmidt, W.J. Bubser, M., Hauber, W. (1990) Excitatory amino acids and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* **13**: 46-47.

Seeman, P., Grigoriadis, D.E. and Niznik, H.B. (1986) Selectivity of agonists and antagonists at D2 dopamine receptors compared to D1 and D2 receptors. *Drug Dev. Res.* **9**: 63-69.

Smith, Y. and Parent, A. (1988) Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Res.* **453**: 353-356.

Snell, L.D., Johnson, K.M. (1985) Antagonism of N-methyl-D-aspartate-induced transmitter release in the rat striatum by phencyclidine-like drugs and its relationship to turning behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **235**: 50-57.

Sonsalla, P.K., Nicklas, W.J. and Heikkila, R.E. (1989) Role for excitatory amino acids in amphetamine-induced nigrostriatal dopaminergic toxicity. *Science* **243**: 398-400.

St-Pierre, J.A., Gaudin, D., Grégoire, L., Bédard, P.J. (1991) Circling induced by an intracerebral injection of the NMDA antagonist MK801 : involvement of the dopaminergic system ? *Society for Neuroscience Abstract*, **17**: 588.

St-Pierre, J.A., Grégoire, L., Bédard, P.J. (1992) Intracerebral injection of dopamine in a denervated striatum reverses circling induced by the NMDA antagonist MK-801. *Society for Neuroscience Abstract*, **18**:1153.

Toth, E. and Lajtha, A. (1989) Motor effects of intracaudate injection of excitatory amino acids. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **33**: 175-179.

Trétiakof, C. (1919) Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Soemmering avec quelques déductions relatives à la pathogénie des troubles du tonus musculaire de la maladie de Parkinson. *Thesis*, Paris.

Turski, L., Bressler, K., Retting, K.-J. et al. (1990) N-methyl-D-aspartate antagonists protect substantia nigra from MPP⁺ toxicity. *Ann. Neurol.* **28**: 295.

Ungerstedt, U. (1968) 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur. J. Pharmacol.* **5**: 107-110.

Ungerstedt, U. and Arbuthnott, G.W. (1970) Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* **24**: 485-493.

Watkins, J.C. and Evans, R.H. (1981) Excitatory amino acid transmitters. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **21**: 165-204.

Weihmuller, F.B., O'Dell, S.J., Cole, B.N. and Marshall, J.F. (1991) MK-801 attenuates the dopamine-releasing but not the behavioral effects of metamphetamine: an vivo microdialysis study. *Brain Res.* **549**: 230-235.

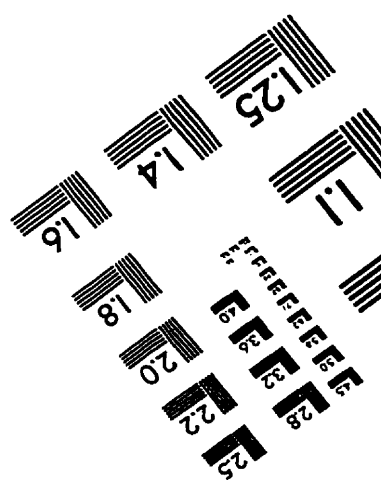
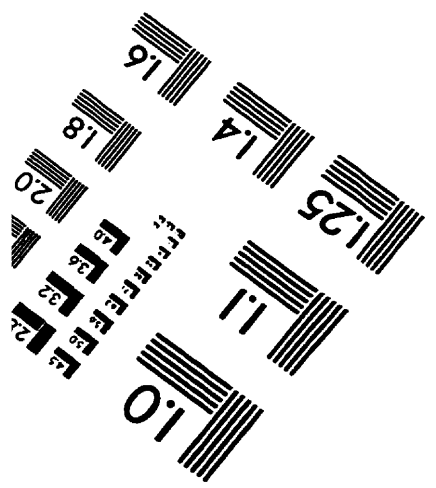
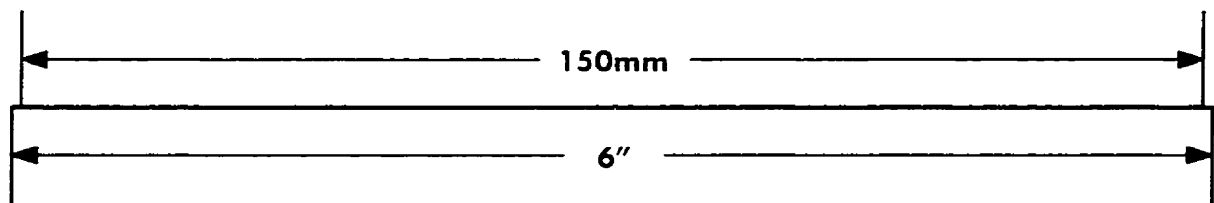
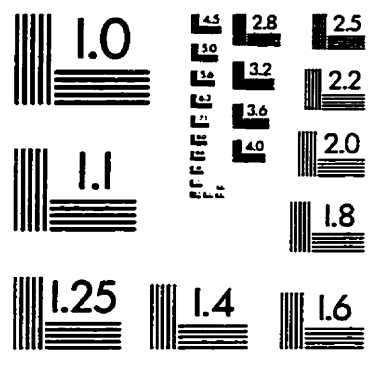
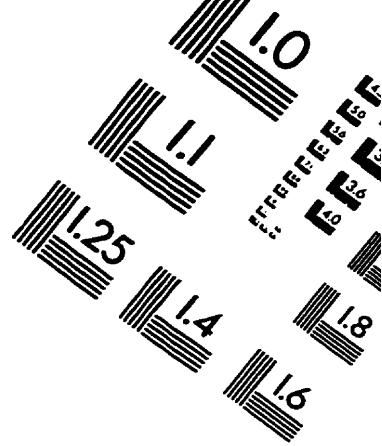
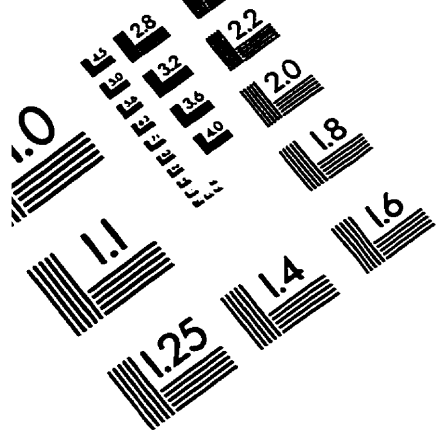
Weiner, H.L. and Levitt, L.P. (1989) *Neurology for the house officer*. 4th ed. Williams and Wilsinks, Baltimore 239 pages.

Wong, E.H.F., Kemp, J.A., Priestley, T., Knight, A.R., Woodruff, G.N. and Iversen, L.I. (1986) The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **83**, 7104.

Wong, E.H.F., Knight, A.R., Woodruff, G.N. (1988) [³H]MK-801 labels a site on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex in rat brain membranes. *J. Neurochem.* **50**: 274-281.

Young, A.B., Greenamyre, J.T., Hollingsworth, Z. (1988) NMDA receptor losses in putamen from patients with Huntington's disease. *Science* **241**: 981-983.

Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D., Berger, T.W., Grace, A.A. and Stricker, E.M.
(1990) Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some
clinical and basic implications. *Trends in Neurosci.* **13**: 290-296.



APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved