

5 ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Wirkung der Kombination von Dopaminrezeptoragonisten mit Glutamatrezeptorantagonisten in zwei Rattenmodellen der Parkinsonerkrankung untersucht. Dabei handelte es sich zum einen um das Monoaminverarmungsmodell, das durch Behandlung mit α -Methyl-p-tyrosin und Reserpin erzeugt wird. Zum anderen wurde das Rotationsmodell benutzt, bei dem einseitig und selektiv in der *Substantia nigra pars compacta* der Tiere die dopaminergen Neurone durch das Neurotoxin 6-Hydroxydopamin zerstört wurden. Es wurde der nicht kompetitive NMDA-Rezeptorantagonist Dizocilpin ((+)-5-Methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzocyclohepten-5,10-imine Maleat, (+)MK-801), der kompetitive NMDA-Rezeptorantagonist CGP 39551 (DL-(E)-2-Amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentensäure-Ethylester) und der AMPA-Rezeptorantagonist NBQX (2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)-quinoxalin) als Glutamatrezeptorantagonisten verwendet. Diese wurden mit den D_1 -Rezeptoragonisten SKF 38393 (R(+)-1-Phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-(1H)-3-benzazepin-7,8-diol HCl), SKF 82958 ((±)-6-Chloro-7,8-dihydroxy-3-allyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepin HBr) und dem erst kürzlich verfügbaren Dihyrexidin (Trans-10,11-Dihydroxy-5,6,6a,7,8,12b-hexahydrobenzo[a]phenanthridin), dem D_2 -Rezeptoragonisten Bromocriptin und dem Dopaminvorläufer L-DOPA kombiniert. Daneben wurde Dizocilpin auch mit NBQX kombiniert und Bromocriptin mit den drei D_1 -Rezeptoragonisten. Darüberhinaus sollten diese Kombinationen auf ihre möglichen neuroprotektiven Wirkungen im Methamphetamin-Modell, das als ein Modell für den Pathomechanismus der Schädigung dopaminergener Neurone beim Parkinson gilt, getestet werden. Nachdem Zweifel an der Relevanz dieses Modells aufkamen, die durch Probleme bei der Etablierung des Modells noch verstärkt wurden, wurden die Versuche mit diesem Modell eingestellt. Ergänzend zu den Verhaltensversuchen wurden autoradiographisch die Veränderungen der Dichte der NMDA-Rezeptoren in den Modellen im Vergleich zu unbehandelten Ratten zur weiteren Charakterisierung der Modelle untersucht. Dabei wurde die Bindung von NMDA-sensitiven tritiiertem Glutamat und tritiiertem CGP 39653, einem kompetitiver NMDA-Rezeptorantagonisten, im *Nucleus accumbens* (NAc), im ventralen Pallidum (VP) und in der *Substantia nigra pars reticulata* (SNr) jeweils auf der rechten Seite, also ipsilateral zur SNc-Läsion, gemessen.

Alle Dopaminomimetika und Dizocilpin hatten in beiden Modellen einen lokomotions- bzw. rotationsstimulierenden Effekt. Die Untersuchungen zeigten weiter, daß es in beiden Modellen zwischen Dizocilpin und D_1 - wie D_2 -Rezeptoragonisten zu einer synergistischen Wirkung kommen kann. Dieser Synergismus trat im Monoaminverarmungsmodell in Kombination mit Dihydroxidid und L-DOPA und in abgeschwächter Form in Kombination mit Bromocriptin auf. Im Rotationsmodell war dieser Synergismus in Kombination mit L-DOPA und abgeschwächt mit Dihydroxidid zu sehen. Die Kombination mit Bromocriptin resultierte in einer Erhöhung der ipsilateralen Rotationen im Vergleich zur Dizocilpin-Gruppe. Der kompetitive NMDA-Rezeptorantagonist CGP 39551 wurde nur im Rotationsmodell getestet und nur mit Dihydroxidid, Bromocriptin und L-DOPA kombiniert. CGP 39551 erhöhte zwar nicht die maximale Anzahl der Rotationen gegenüber der Behandlung mit den Dopaminomimetika, es schien aber die Schwellendosis von Dihydroxidid und Bromocriptin herabzusetzen. Im Gegensatz dazu hatte die Kombination mit NBQX meistens keinen Effekt auf die Wirkung der Dopaminomimetika. Im Monoaminverarmungsmodell bestand in Verbindung mit Dihydroxidid und L-DOPA, im Rotationsmodell mit Bromocriptin und L-DOPA sogar eine Tendenz zur Inhibition. Die Wirkung von Dizocilpin wurde im Monoaminverarmungsmodell durch NBQX antagonisiert. Im Vergleich der D_1 -Rezeptoragonisten konnte weder in Kombination mit den Glutamatrezeptorantagonisten noch mit Bromocriptin ein grundsätzlicher Unterschied der Wirkungen festgestellt werden. Die autoradiographische Untersuchung erbrachte eine Erhöhung der NMDA-empfindlichen Glutamatbindungsstellen im NAc der einseitig läsierten Tiere und eine Abnahme der Bindung des selben Liganden im VP der monoaminentleerten Tiere. An den anderen Meßpunkten zeigten sich nur unwesentliche Veränderungen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung weisen darauf hin, daß nicht kompetitive NMDA-Rezeptorantagonisten sowohl die Wirkung von D_1 - als auch D_2 -Rezeptoragonisten günstig im Sinne einer lokomotorischen Stimulation beeinflussen können. Sie stehen damit in Kontrast zu Ergebnissen, die zuvor einen synergistischen Effekt nur mit D_1 -, und dafür einen antagonistischen Effekt mit D_2 -Rezeptoragonisten postuliert haben. Obwohl eine wichtige Rolle von NMDA- und AMPA-Rezeptoren bei der Vermittlung überaktiver exzitatorischer Innervation beim Parkinson und seinen experimentellen Modellen offensichtlich ist, so erscheint die systemisch applizierte, pharmakologische Blockade dieser Rezeptoren nur unter sehr

begrenzten Bedingungen einen positiven Effekt zu erreichen. Dabei scheinen die häufig aufgetretenen inhibitorischen Effekte von NBQX gegenüber dopaminomimetischen Wirkungen eher gegen einen sinnvollen Einsatz von AMPA-Rezeptorantagonisten zu sprechen. Die Interpretation des Effekts von CGP 39551 gegenüber den Schwellendosen von Dihydropyridin und Bromocriptin erfordert weitere Untersuchungen. Die Ergebnisse der Autoradiographie zeigten beim Rotationsmodell vergleichbare Veränderungen wie bei der Parkinsonerkrankung. Es muß jedoch abgeklärt werden, ob diese Veränderung auf der läsierten Seite mit einer guten Vorhersagbarkeit („Predictive Validity“) dieses Modells für NMDA-Rezeptorantagonisten korreliert.

SUMMARY

Matthias Gossel

Pharmacological interaction studies in two Parkinson-models of the rat: Comparison of action of different dopamine-receptor agonists in combination with a competitive and a non-competitive NMDA-receptor antagonist and an AMPA-receptor antagonist

In this work, the action of a combination of dopamine-receptor agonists with glutamate-receptor antagonists was investigated in two Parkinson's disease models of the rat. This was the monoamine-depletion-model, achieved by treatment with α -methyl-P-tyrosine and reserpine. Secondly, the rotation model was used, achieved by unilateral and selective destruction of dopaminergic neurones in the *substantia nigra pars compacta* by the neurotoxin 6-hydroxydopamine. The used glutamate-receptor antagonists were: the non-competitive NMDA-receptor antagonist dizocilpine ((+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzocyclohepten-5,10-imine maleate, (+)MK-801), the competitive NMDA-receptor antagonist CGP 39551 (DL-(E)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentenoic acid-ethylester), and the AMPA-receptor antagonist NBQX (2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)-quinoxaline). Those were combined with the D₁-receptor agonists SKF 38393 (R(+)-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepin-7,8-diol HCl), SKF 82958 ((±)6-chloro-7,8-dihydroxy-3-allyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepin HBr), and the only recently available dihydropyridine (trans-

10,11-dihydroxy-5,6,6a,7,8,12b-hexahydrobenzo[a]phenanthridine), the D₂-receptor agonist bromocriptine and the dopamine precursor L-DOPA. In addition dizocilpine was combined with NBQX and bromocriptine was combined with the three D₁-receptor agonists. These combination should as well be tested for their potential neuroprotective abilities in the methamphetamine-model, which is looked at as a model of the pathomechanism in Parkinson's disease. As the relevance of this model was questioned, and as problems in establishing this model could not be overcome, the work with this model was cancelled. In addition to the behavioural tests, the changes of the NMDA-receptor density was assessed autoradiographically in comparison to untreated animals for further characterisation of the models used. For this purpose the binding of NMDA-sensitive tritiated glutamate and CGP 39653, a competitive NMDA-receptor antagonist, was assessed on the right side, i. e. ipsilateral to the SNc-lesion, in the *nucleus accumbens* (NAc), ventral pallidum (VP), and *substantia nigra pars reticulata* (SNr).

All dopaminomimetics as well as dizocilpine exerted a locomotion- and rotation-stimulating effect respectively. In both models dizocilpine had exerted a potentiating at least increasing effect on the actions of D₁- as well as D₂-receptor agonists. In the monoamine-depleted rats this effect was seen in combination with dihydrexidine, and L-DOPA and less pronounced with bromocriptine. In the rotation model dizocilpine potentiated the action of L-DOPA and less pronounced the action of dihydrexidine. The combination with bromocriptine resulted in an increase of ipsilateral rotations compared to the dizocilpine-group. The competitive NMDA-receptor antagonist CGP 39551 was only tested in the rotation-model and only in combination with dihydrexidine, bromocriptine, and L-DOPA. Although CGP 39551 did not increase the maximal number of rotations compared to the treatment of the dopaminomimetics, it seemed to reduce the threshold-dose of dihydrexidine and bromocriptine. In contrast NBQX had in general no effect on the action of the tested dopaminomimetics. There was even a tendency towards inhibition in monoamine-depleted rats in combination with dihydrexidine and L-DOPA and in the rotation-model in combination with bromocriptine and L-DOPA. In monoamine-depleted rats NBQX antagonised the action of dizocilpine. Comparing the D₁-receptor agonists no general difference was seen, neither in combination with the glutamate-receptor antagonists nor in combination with bromocriptine. The autoradiography revealed an increase of NMDA-sensitive glutamate binding in the unilaterally lesioned animals, and an decrease of binding of

the same ligand in the VP of monoamine-depleted animals, while there were only minor changes in the other structures measured.

The results of this investigation indicated that non-competitive NMDA-receptor antagonists can exert a locomotion stimulating effect in combination with D₁- as well as D₂-receptor agonists. This contrasts previous findings postulating a potentiating effect only in combination with D₁- and an inhibitory effect with D₂-receptor agonists. Although an important role of NMDA- and AMPA-receptors in mediating overactiv, excitatory neurotransmission in Parkinson's disease and its experimental models is obvious, it seems that systemically mediated pharmacological inhibition of these receptors can only exert a positive effect under very limited conditions. The in part inhibitory influence of NBQX on dopaminomimetic actions does not seem to recommend the use of AMPA-receptor antagonist in this context. The interpretation of the results obtained with CGP 39551 on the threshold-doses of dihydrexidine and bromocriptine requires further studies on this subject. The results of the autoradiography indicated similar changes in the rotation model as in Parkinsonism in humans. However, it must be further elucidated, if those changes on the lesioned side correlate with a good predictive validity of NMDA-receptor antagonists in this model.