

Université de Montréal

**Le mGluR2, une cible thérapeutique pour les symptômes
psychotiques et dyskinétiques induits par la lévodopa dans
la maladie de Parkinson.**

par Lamia Sid-Otmane

Département de pharmacologie et physiologie
Faculté de médecine

Thèse présentée
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiae Doctor*
en pharmacologie

Décembre 2021

© Lamia Sid-Otmane, 2021

Université de Montréal
Département de pharmacologie et physiologie
Faculté de médecine

Cette thèse intitulée

**Le mGluR2, une cible thérapeutique pour les symptômes
psychotiques et dyskinétiques induits par la lévodopa dans
la maladie de Parkinson.**

Présentée par
Lamia Sid-Otmane

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Jonathan Brouillette

Président-rapporteur

Philippe Huot

Directeur de recherche

Michel Panisset

Codirecteur

Pierre-Paul Rompré

Membre du Jury

Frederic Bretzner

Examineur externe

Pierre Blanchet

Représentant du doyen

Résumé

La maladie de Parkinson (MP) se manifeste par une grande variété de symptômes moteurs et non-moteurs suite à une déficience dopaminergique issue de la mort des neurones de la substance noire pars compacta (SNpc). Le traitement principal utilisé depuis des décennies est la lévodopa, un précurseur de la dopamine qui, malgré une efficacité démontrée, peut induire des complications motrices et non-motrices en moins de 3 ans d'utilisation. Malgré plusieurs stratégies suggérées, ces complications demeurent une limite et un inconvénient majeur pour le traitement des patients parkinsoniens.

L'efficacité de certaines molécules avec un effet direct ou indirect sur la transmission glutamatergique ainsi que certains éléments de la pathophysiologie et de l'évolution de ces complications ont mené à une attention particulière aux récepteurs glutamatergiques métabotropiques et à leur potentiel dans le rétablissement de ces complications, particulièrement le récepteur glutamatergique métabotropique 2 (mGluR2)

L'implication du mGluR2 et son potentiel thérapeutique contre les complications au traitement chronique à la lévodopa, dont les hallucinations visuelles (HVs) et symptômes psychotiques et les dyskinésies, ont été évalués.

À l'aide d'un modulateur allostérique positif (MAP) spécifique au mGluR2, l'effet de la stimulation du récepteur a été évalué dans deux modèles animaux, soit les marmousets parkinsoniens lésés au 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) et les rongeurs hémiparkinsoniens lésés à la 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Des échelles évaluant les symptômes dyskinétiques, dont des mouvements de chorée et de dystonie, et des symptômes de type psychotique, dont la réponse à un stimulus non-apparent, des stéréotypies et de l'hyperkinésie, ont été utilisées. Des effets bénéfiques contre les dyskinésies ont été observés dans les deux modèles animaux et des effets bénéfiques contre les symptômes de type psychotique ont été observés chez les marmousets parkinsoniens. Une évaluation de la distribution cérébrale des mGluR2 dans des tissus de patients parkinsoniens présentant des HVs a également été faite et comparée à des tissus de patients parkinsoniens n'ayant pas d'HVs et de sujets sains. Une diminution des mGluR2 a été observée dans le cortex préfrontal et dans l'aire de Brodmann 21 du cortex temporal des patients ayant des HVs, des régions impliquées dans la reconnaissance et traitement d'informations visuelles.

Ces observations démontrent que le mGluR2 a un bon potentiel comme cible thérapeutique pour le traitement des complications issues de l'administration chronique de lévodopa dans la MP, principalement les HVs et symptômes psychotiques et les dyskinésies.

Mots-clés : lévodopa, dyskinésie, hallucination, maladie de Parkinson, mGluR2

Abstract

Parkinson's disease includes a wide variety of motor and non-motor symptoms as a result of dopaminergic deficiency caused by the death of neurons of the substantia nigra pars compacta (SNpc). The gold standard treatment for the past 6 decades is levodopa, a dopamine precursor. Despite its proven efficacy, this treatment could induce motor and non-motor complications within 3 years of chronic administration. Regardless of several strategies suggested for the clinical management, these side effects remain an important limitation and a major drawback in the treatment of patients with Parkinson's disease.

The efficacy of certain molecules with a direct or indirect effect on glutamatergic transmission as well as several elements of the pathophysiology and the development of these complications led to a particular interest in metabotropic glutamatergic receptors and their potential involvement in the treatment of these complications, particularly receptor 2 (mGluR2).

The specific involvement of mGluR2 and its therapeutic potential in the management of levodopa-induced complications, more specifically visual hallucinations and psychotic behaviors and dyskinesia, were evaluated.

Using a positive allosteric modulator specific to mGluR2, the effect of stimulation of this receptor was evaluated in two animal models, MPTP-lesioned parkinsonian marmosets and 6-OHDA-lesioned hemiparkinsonian rodents. Validated scales were used to evaluate the dyskinetic symptoms, including chorea and dystonia, and psychosis-like behaviours such as response to non-apparent stimuli, stereotypies and hyperkinesia. A beneficial effect against levodopa-induced dyskinesia was observed in both animal models and a beneficial effect against psychosis-like behaviors was observed in parkinsonian marmosets. An evaluation of the distribution of mGluR2 in brain tissues of parkinsonian patients with visual hallucinations was also performed and compared to parkinsonian patients without visual hallucinations and healthy subjects. A decrease in mGluR2 was observed in the prefrontal cortex and in the Brodmann area 21 in the temporal cortex of parkinsonian patients with visual hallucinations, areas that are known to be involved in visual discrimination and processing.

These observations indicate that stimulation of mGluR2 has a good potential as a therapeutic target against levodopa-induced complications in PD, mainly visual hallucinations and psychotic symptoms and dyskinesia.

Keywords : levodopa, dyskinesia, hallucination, Parkinson's disease, mGluR2

Table des matières

Résumé.....	3
Abstract.....	5
Table des matières.....	7
Liste des tableaux.....	11
Liste des figures.....	12
Liste des abréviations.....	14
Remerciements.....	17
1. Chapitre I - Introduction.....	18
1.1. La maladie de Parkinson.....	19
1.1.1. Historique et statistiques.....	19
1.1.2. Symptômes de la maladie de Parkinson.....	21
1.1.2.1. Diagnostic et symptômes moteurs.....	21
1.1.2.2. Symptômes non-moteurs.....	22
1.1.3. Étiologie et facteurs de risque/protecteurs.....	25
1.1.3.1. Facteurs génétiques.....	25
1.1.3.2. Facteurs environnementaux.....	26
Facteurs protecteurs.....	27
Facteurs de risque.....	28
1.1.4. Pathophysiologie.....	29
1.1.4.1. Processus pathologiques de la MP.....	29
1.1.4.2. Développement de la MP.....	33
1.1.4.3. Régions et systèmes de transmission affectés.....	35
1.2. Traitements dans la maladie de Parkinson.....	38
1.2.1. Traitements symptomatiques.....	38
1.2.1.1. Traitements pharmacologiques.....	38
1.2.1.2. Traitements chirurgicaux.....	41
1.2.2. Traitements modificateurs de l'évolution de la maladie.....	42
1.2.3. Lévodopa.....	44
1.2.3.1. Origine et chronologie.....	44

1.2.3.2.	Mécanismes et effets.....	46
1.2.3.3.	Limites et effets adverses.....	48
1.3.	Complications issues du traitement chronique à la lévodopa.....	51
1.3.1.	Dyskinésies.....	51
1.3.1.1.	Symptômes et impact.....	51
1.3.1.2.	Pathophysiologie et hypothèses.....	53
1.3.2.	Hallucinations et symptômes psychotiques.....	56
1.3.2.1.	Symptômes et impact.....	56
1.3.2.2.	Pathophysiologie et hypothèses.....	58
1.4.	Modèles animaux dans la maladie de Parkinson.....	61
1.4.1.	Modèles neurotoxiques.....	61
1.4.1.1.	MPTP.....	65
1.4.1.2.	6-OHDA.....	66
1.4.2.	Particularité de l'étude des symptômes psychotiques.....	68
1.5.	Le système glutamatergique.....	70
1.5.1.	Récepteurs et transmission glutamatergiques.....	70
1.5.2.	Récepteurs glutamatergiques et leur potentiel thérapeutique dans les complications de la lévodopa chronique (dyskinésies et symptômes psychotiques).....	73
2.	Chapitre II – Objectifs et Hypothèses.....	79
3.	Chapitre III – Effet de la stimulation des mGluR2s chez le marmouset.....	83
3.1.	Méthodologie.....	85
3.1.1.	Animaux.....	85
3.1.2.	Induction du parkinsonisme et des comportements psychotiques et dyskinétiques	85
3.1.3.	Procédures expérimentales.....	86
3.1.4.	Évaluations comportementales.....	86
3.1.5.	Analyses statistiques.....	90
3.2.	Résultats.....	91
3.2.1.	Effet sur le comportement de type psychotique.....	93
3.2.2.	Effet sur les dyskinésies.....	96
3.2.3.	Effet sur le parkinsonisme et l'efficacité motrice de la lévodopa.....	99

4.	Chapitre IV – Effets de la stimulation des mGluR2 chez le rongeur.....	102
4.1.	Méthodologie	104
4.1.1.	Animaux.....	104
4.1.2.	Induction du parkinsonisme et des comportements dyskinétiques	104
4.1.3.	Procédures expérimentales.....	106
4.1.4.	Procédures expérimentales - de novo.....	106
4.1.5.	Évaluations comportementales des dyskinésies.....	107
4.1.6.	Analyses statistiques	109
4.2.	Résultats	110
4.2.1.	Induction du parkinsonisme et effet de la lévodopa	110
4.2.2.	Effet du LY-487379 sur les dyskinésies induites par la lévodopa.....	110
4.2.3.	Effet du LY-487379 sur les dyskinésies induites au temps du maximum de concentration de lévodopa	115
4.2.4.	Effet du LY-487379 sur le développement des dyskinésies suite au traitement à la lévodopa	117
5.	Chapitre V – Les mGluR2 dans les tissus humains de patients parkinsoniens.....	120
5.1.	Méthodologie	122
5.1.1.	Échantillons.....	122
5.1.2.	Lyse des tissus et quantification protéique	123
5.1.3.	Immunobuvardage	124
5.2.	Résultats	126
5.2.1.	Comparaison entre les régions cérébrales chez les sujets sains	126
5.2.2.	Comparaison entre les patients parkinsoniens avec hallucinations visuelles et les sujets sains	128
5.2.3.	Comparaison entre les patients parkinsoniens avec et sans hallucinations visuelles	130
6.	Chapitre VI – Discussion	134
6.1.1.	Résumé et discussion des résultats de recherche	135
6.1.1.1.	Effet du LY-487379 chez le marmouset.....	135
6.1.1.2.	Effet du LY-487379 chez le rongeur	137
6.1.1.3.	Les mGluR2 dans le cerveau humain	138

6.1.2.	Effets généraux sur la transmission glutamatergique	141
6.1.3.	Le complexe mGluR2/5HT2A.....	143
6.1.3.1.	Effets et implication du complexe	143
6.1.3.2.	Concordance avec les traitements impliquant le système serotoninergique et/ou glutamatergique.....	145
6.1.4.	Implications de la présence des symptômes moteurs	146
6.1.5.	Discussion des modèles animaux et échelles utilisés	148
6.1.6.	Le LY-487379, un choix bénéfique.	151
6.1.7.	Perspectives et évaluations cliniques	152
6.1.7.1.	Volet clinique : Éléments à considérer pour une réussite clinique	155
	Bibliographie.....	158

Liste des tableaux

Table 1 : Exemples de symptômes typiques dans la maladie de Parkinson	24
Table 2 : Description et évaluation de modèles animaux neurotoxiques communs dans la MP	63
Table 3 : Résumé de l'échelle d'évaluation des comportements de type psychotiques chez le marmouset lésé au MPTP	68
Table 4 : Récepteurs glutamatergiques métabotropiques et leurs fonctions.....	71
Table 5 : Échelle d'évaluation des comportements de type psychotiques chez le marmouset lésé au MPTP	87
Table 6 : Échelle d'évaluation des dyskinésies chez le marmouset lésé au MPTP	89
Table 7 : Échelle d'évaluation du parkinsonisme chez le marmouset lésé au MPTP.....	89
Table 8 : Échelle d'évaluation de l'amplitude des MAIs chez le rongeur lésé à la 6-OHDA	107
Table 9 : Échelle d'évaluation de la durée des MAIs chez le rongeur lésé à la 6-OHDA.....	109
Table 10 : Régions cérébrales évaluées	122
Table 11 : Statistiques descriptives de la quantification relative des mGluR2 dans les différentes régions cérébrales par groupe	133

Liste des figures

Figure 1 : Voies d'innervation dopaminergique	30
Figure 2 : Schématisation de l'évolution de la perte des neurones dopaminergiques en comparaison aux symptômes moteurs et non-moteurs de la maladie de Parkinson	31
Figure 3 : Exemples de corps de Lewy observés dans la maladie de Parkinson	32
Figure 4 : Stades d'évolution de Braak des corps de Lewy dans la maladie de Parkinson...	33
Figure 5 : Ganglions de la base et régions adjacentes	36
Figure 6 : Processus métabolique de la lévodopa / dopamine	46
Figure 7 : Transmission dopaminergique	48
Figure 8 : Voies directe et indirecte de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale.....	75
Figure 9 : Nombre total de minutes avec comportements (A) psychotiques dérangeants et (B) dyskinétiques dérangeants.	92
Figure 10 : Effet du LY-487379 sur les comportements de type psychotique dans le temps...	94
Figure 11 Effet du LY-487379 sur les comportements de type psychotique durant l'effet antiparkinsonien maximal de lévodopa.	95
Figure 12 : Temps ON avec comportements psychotiques dérangeants.	96
Figure 13 : Effet du LY-487379 sur les dyskinésies dans le temps.....	97
Figure 14 : Effet du LY-487379 sur les dyskinésies durant l'effet antiparkinsonien maximal de lévodopa.....	98
Figure 15 : Temps ON avec dyskinésies dérangeantes.....	99
Figure 16 : Profil du parkinsonisme dans le temps.....	100
Figure 17 : Temps ON total des animaux.	101
Figure 18 : Utilisation des membres antérieurs lors du test du cylindre.....	110
Figure 19 : Scores intégrés de MAIs cumulatifs.....	111
Figure 20 : Scores intégrés de MAIs axiaux.....	112
Figure 21 : Scores intégrés de MAIs des membres supérieurs.....	113
Figure 22 : Scores intégrés de MAIs orolinguaux.....	114
Figure 23 : Scores de durée de MAIs.....	116
Figure 24 : Scores d'amplitude de MAIs.....	117
Figure 25 : Évolution des scores intégrés de MAIs tous types cumulés.....	118

Figure 26 : Scores intégrés de MAIs cumulatifs suite à l'administration de lévodopa.	119
Figure 27 : Schématisation des régions évaluées.....	123
Figure 28 : Quantification relative médiane (+ écart semi-interquartile) des mGluR2 dans le groupe contrôle.	126
Figure 29 : Distribution de la quantification relative des mGluR2 dans le groupe contrôle. .	127
Figure 30 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans les régions corticales du groupe contrôle.	128
Figure 31 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe contrôle.	129
Figure 32 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe MP-SHV.	130
Figure 33 : Distribution de la quantification relative des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe MP-SHV.	131
Figure 34 : Quantification relative médiane des mGluR2 par région cérébrale dans les différents groupes évalués.	132

Liste des abréviations

6-OHDA : 6-hydroxydopamine
5-HT : Hydroxytryptamine 5 (sérotonine)
AC : Adénylate cyclase
AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate
ARNsi : Acide ribonucléique interférent
ASB : Albumine de serum bovin
ATP : Adénosine triphosphate
ATV : Aire tegmentale ventrale
BCA : Acide bicinchoninique
BHE : Barrière hématoencéphalique
CE50 : Concentration permettant 50% d'efficacité
CHUM : Centre Hospitalier de l'Université de Montréal
CL : Corps de Lewy
COMT : Catéchol-o-méthyltransférase
DAT : Transporteur dopaminergique
DMSO : Diméthyl-sulfoxyde
ECL : *Enhanced chemiluminescence*
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
FDA : *Food and Drug Administration*
GABA : Acide γ -aminobutyrique
GP : Globus pallidus
GPe : Globus pallidus externe
GPi : Globus pallidus interne
HV : Hallucination visuelle
MAI : Mouvement anormal involontaire
MAO : Monoamine oxydase
MAP : Modulateur allostérique positif
mGluR : Récepteur glutamatergique métabotrope
mGluR2 : Récepteur glutamatergique métabotrope 2

mGluRx : Récepteur glutamatergique métabotrope x
MP : Maladie de Parkinson
MPDP⁺ : 1-méthyl-4-phényl-2,3-dihydropyridinium
MPP⁺ : 1-méthyl-4-phénylpyridinium
MPTP : 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
NMDA : N-méthyl-D-aspartate
NST : Noyau sous-thalamique
PK : Pharmacocinétique
PKPD : Pharmacocinétique/pharmacodynamique
PLC : Phospholipase C
PVDF : Polyvinylidène fluorure
RIPA : *RadioImmuno-precipitation Assay*
SN : Substance noire
SNC : Système nerveux central
SNpc : Substance noire pars compacta
SNpr : Substance noire pars reticulata
TBST : *Tris-Buffered Saline Tween*
TCSP : Trouble du comportement en sommeil paradoxal
VMAT : Transporteur de monoamine vésiculaire

- La science consiste à passer d'un étonnement à un autre - Aristote

Remerciements

Je remercie d'abord grandement tous les membres du jury pour leur générosité à consacrer leur temps et effort dans la révision de cette thèse. Je remercie également mon directeur, Philippe Huot et mon co-directeur, Michel Panisset, pour leur supervision durant toutes ces années en plus de leurs temps et efforts pour l'accomplissement des projets et de la rédaction.

Un grand merci à Daniel Lévesque pour son support et son aide très précieuse pour toutes les expériences d'immunobuvardage et Giovanni Hernandez pour le partage de toute sa grande expertise, je ne pouvais espérer de meilleurs formateurs sur le sujet. Je remercie également René Cardinal et Pierre Drapeau pour leur aide et support lors de la dernière ligne droite! Merci à Pierre aussi pour sa générosité m'ayant permis de terminer mon projet. Merci aux membres du CRCHUM autour de moi qui ont toujours été disponibles pour m'aider dans mes multiples questions, merci à Alexandre Desjardins et Meijiang pour leur aide de laboratoire et le partage de leurs connaissances.

Un grand merci à toutes les personnes impliquées de près ou de loin durant mon parcours de doctorat, incluant les membres de mon laboratoire, les membres du laboratoire de Daniel Levesque, merci à Yves Théoret et Nastya Kassir pour leur encouragement, merci à mes collègues de travail pour leurs mots de motivation, merci à bien d'autres personnes pour toute votre aide professionnelle ou personnelle!

Je remercie évidemment les membres de ma famille et tous les amis, qui m'ont encouragé à ne jamais abandonner. Merci à Hamid pour son support continuel qui a grandement aidé à ce que cette thèse voit le jour!

Cette thèse est le résultat de l'implication de plusieurs personnes durant mon parcours, que ce soit pour leur contribution dans les projets de recherche, dans le parcours académique ou pour le support personnel. Sans toutes ces petites ou grandes implications, je ne serais pas là où je suis aujourd'hui et je vous en suis reconnaissante!

1. Chapitre I - Introduction

1.1. La maladie de Parkinson

1.1.1. Historique et statistiques

Il y a près de deux siècles, James Parkinson, un médecin-apothicaire anglais, a décrit pour la première fois les symptômes d'un nouveau trouble qui porte aujourd'hui son nom. Ce qu'il nommait en 1817 la paralysie tremblante dans sa publication « an essay of the shaking palsy » évoque parfaitement un des points cardinaux caractéristiques de la maladie de Parkinson (MP), soit le tremblement. Ce document aujourd'hui emblématique détaillait les symptômes de quelques cas de patients atteints d'un trouble jusqu'alors non identifié [1, 2]. Sa description des cas incluait différents symptômes moteurs maintenant bien connus de la MP mais aussi certains symptômes qu'on qualifie aujourd'hui de symptômes non-moteurs [1, 3]. Pendant plus d'un siècle, plusieurs médecins et experts, dont Jean-Martin Charcot, Thomas Buzzard et James Ramsay Hunt, ont débattu sur l'existence et la validité de ce syndrome clinique de James Parkinson, tel que l'a nommé Jean-Martin Charcot [1]. L'origine et les caractéristiques histologiques de la MP sont restées incertaines pendant des décennies.

L'identification en 1912 par Fritz Lewy d'inclusions cellulaires caractéristiques de la maladie, dénommés corps de Lewy (CL) quelques années plus tard, fut une des avancées clés pour la compréhension des aspects neuropathologiques de la MP, suivie par le travail de thèse de Tretiakoff démontrant une mort de neurones dans la SNpc chez des patients parkinsoniens [4-6]. Les travaux de recherche de Arvid Carlsson et ses étudiants dans les années 1950 et 1960 ont mené à la découverte de la dopamine et ensuite à sa confirmation comme neurotransmetteur [7, 8]. Un autre moment tournant pour la caractérisation de la MP concerne l'implication de la dopamine dans cette maladie, plus précisément sa réduction au niveau striatal [9, 10]. Ceci marquerait l'entrée d'un traitement symptomatique révolutionnaire pour les patients, la lévodopa, et de plusieurs découvertes liées aux perturbations du système dopaminergique et d'autres systèmes de neurotransmission dans les décennies suivantes. Au fur des années, une précision des caractéristiques cliniques de la MP et de certaines corrélations avec les caractéristiques

pathologiques a apporté de grandes améliorations dans le suivi des patients et la compréhension de la maladie et de son évolution.

La MP est la seconde maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer [11, 12]. Malgré la présence de plusieurs études épidémiologiques, l'estimation de la prévalence, soit le nombre total de cas existants, et l'incidence, soit le nombre de nouveaux cas, de la MP dans la littérature demeure variable à cause des différences environnementales et génétiques pouvant être impliquées. Des méthodologies différentes ainsi que des diagnostics variables et parfois erronés seraient aussi en cause [13-15]. Une méta-analyse publiée en 2014 a évalué les résultats statistiques faits par porte-à-porte et par échantillonnage populationnel de 47 différentes études incluant un diagnostic fait par un professionnel de la santé. Une des principales observations de cette analyse est évidemment la grande influence de l'âge sur la prévalence de la MP, celle-ci étant grandissante avec un âge croissant. Par exemple, la prévalence de la MP a été estimée à 41 cas par 100 000 individus de 40 à 49 ans et 428 cas par 100 000 individus de 60 à 69 ans [13]. Malgré ces différences et variabilités, de manière générale, on considère que la MP affecte environ 1% de la population âgée de plus de 60 ans [15].

La MP affecte davantage d'hommes que de femmes, cette prévalence n'étant toutefois significative dans la méta-analyse que dans un seul groupe d'âge, soit celui des 50 à 59 ans [13]. D'autres études ont pu observer une fréquence de la MP 1.5 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes [14].

Les études d'incidence de la MP arrivent à des conclusions similaires aux études de prévalence. L'incidence de la MP augmente de façon constante avec l'âge, avec un taux différent entre les hommes et les femmes, particulièrement à des âges avancés. Le pic d'incidence est atteint dans le groupe de 70 à 79 ans, estimé à 104.99 et 132.72 par 100 000 habitants chez les femmes et les hommes, respectivement [16].

Ces statistiques d'incidence dépendent de la qualité et de l'espérance de vie des individus au moment évalué, et l'amélioration de celles-ci depuis les dernières années et au cours des années à venir auront un impact important sur la présence de la MP dans la société. L'incidence de la MP dans la population de plus de 50 ans a augmenté au cours

des 30 dernières années et pourrait être augmentée de près de 50% au cours des 20 prochaines années, d'où l'importance d'améliorer les soins et la prise en charge des patients parkinsoniens [17, 18].

1.1.2. Symptômes de la maladie de Parkinson

1.1.2.1. Diagnostic et symptômes moteurs

La MP inclut plusieurs symptômes moteurs et non-moteurs et son diagnostic représente un défi de taille. En général, un diagnostic clinique requiert la présence de bradykinésie, soit un ralentissement des mouvements, et d'un second élément entre le tremblement au repos ou la rigidité [19]. Une des premières difficultés du diagnostic clinique réside dans la similitude des symptômes de la MP avec d'autres syndromes et maladies liées aux troubles du mouvement, particulièrement en début de maladie [20]. Afin d'éclaircir les critères de diagnostic clinique, la Société Internationale du Parkinson et des Troubles du Mouvement (*International Parkinson and Movement Disorder Society - IPMDS*) a mis en place il y a quelques années un groupe d'experts chargé d'évaluer et d'apporter des recommandations pour le diagnostic de la MP. Parmi leurs suggestions figurent l'utilisation de la liste du *Queen Square Brain Bank Criteria* pour les symptômes principaux, l'évaluation de certains symptômes non-moteurs connus de la maladie et la valeur ajoutée des tests génétiques pour la présence de mutations particulières [21]. Deux particularités additionnelles à observer pour le diagnostic de la MP sont l'apparition asymétrique des symptômes, étant principalement unilatéraux particulièrement en début de maladie, ainsi qu'une bonne réponse thérapeutique aux traitements de remplacement dopaminergique, dont la lévodopa, bien que ce ne soit pas observé chez tous les patients [22]. La *Movement Disorder Society* a également établi en 2015 des critères aidant au diagnostic de la MP généralement similaires à ceux présentés plus haut [23].

Malgré toutes ces avancées et clarifications pour le diagnostic clinique, le diagnostic final de la MP n'est confirmé qu'après la mort du patient, suite à une évaluation pathologique du cerveau. Des études ont indiqué que la valeur prédictive positive du diagnostic clinique n'est que d'environ 75% à 80%, ce pourcentage étant légèrement

augmenté lorsque l'évaluation est faite par un spécialiste des troubles du mouvement [14, 20, 21]. De nouveaux moyens plus innovateurs sont aujourd'hui explorés afin d'améliorer le diagnostic de la MP, mais aussi de le devancer de plusieurs années, les outils de diagnostic actuels n'étant utiles qu'une fois l'évolution pathologique de la maladie bien avancée avec la manifestation de symptômes moteurs. L'utilisation d'algorithmes issus de méga-données et de *machine learning*, incluant par exemple des symptômes avant-coureurs, dont les symptômes non-moteurs, en est un bon exemple prometteur pour la détection précoce de la maladie et l'amélioration des stratégies thérapeutiques dans la recherche et pour le traitement clinique [24, 25]. La Table 1 présente des exemples de symptômes courants dans la maladie de parkinson.

1.1.2.2. *Symptômes non-moteurs*

Malgré une caractérisation traditionnellement motrice de la MP, les symptômes non-moteurs font également partie intégrante de la maladie et sont même un facteur considéré dans l'évaluation des patients [21]. Les symptômes non-moteurs peuvent être observés de 2 à 10 ans avant l'apparition des premiers signes moteurs et l'établissement du diagnostic [26, 27]. Cette période prodromique peut varier entre les patients dans sa durée, mais aussi dans les symptômes qui s'y manifestent [27].

Une étude observationnelle incluant plus de 200 sujets a permis de comparer les symptômes de patients parkinsoniens et de sujets sains. Celle-ci a observé une proportion significativement supérieure chez les patients parkinsoniens pour 17 symptômes non-moteurs. On y retrouve l'apathie, la constipation et les problèmes de sommeil présents chez plus de 60% des patients nouvellement diagnostiqués et représentant le plus grand impact [26].

Un des premiers symptômes observés chez plusieurs patients parkinsoniens est une dérégulation de l'odorat. Les troubles olfactifs sont présents dans 50 à 90% des cas de MP et peuvent être utiles pour la distinction entre certains troubles parkinsoniens [28]. Toutefois, malgré la fréquence de ce symptôme et les différents tests olfactifs existants, il demeure assez aspécifique et ne peut être considéré comme un biomarqueur [29]. Au niveau pathologique, des évidences démontrent que le bulbe olfactif fait partie des

premières régions cérébrales affectées dans la MP, ce qui coïncide avec l'apparition précoce de troubles olfactifs [28].

Les dysfonctions du système nerveux autonome, dont la constipation et l'hypotension, sont également fréquentes dans la maladie [27]. Les troubles du sommeil, particulièrement le trouble du comportement en sommeil paradoxal (TCSP), sont observés chez plus de 50% des patients, se manifestant généralement dans la période prodromique. Le TCSP constitue d'ailleurs un facteur de risque de maladies neurodégénératives ou du moins un signe précurseur, l'évolution vers un trouble neurodégénératif se manifestant dans 40% des cas après 5 ans et 52% à 92% des cas après 10 ans [30]. Dans la MP, une forte association a été établie entre les TCSP et les troubles cognitifs observés dans la maladie. Plusieurs études longitudinales ont pu démontrer que les TCSP en sont même un facteur de risque [31].

Le déclin cognitif touche quant à lui une majorité de patients parkinsoniens et est reconnu pour son impact majeur sur la qualité de vie, particulièrement à des stades avancés. Une étude longitudinale a pu confirmer les statistiques généralement observées, indiquant qu'environ 50% des patients parkinsoniens avec des fonctions cognitives normales développent des troubles cognitifs légers multi-domaines dans les 6 années suivantes [32]. En début de maladie, il s'agit principalement de troubles exécutifs et de difficultés d'attention. Plusieurs tests sont suggérés avec divers critères de dépistage et de diagnostic afin de détecter une déficience cognitive légère, communément connue sous le nom de *PD-MCI* [33]. Malgré la présence de multiples études sur le sujet, il demeure difficile de bien distinguer les troubles cognitifs exclusivement liés à la MP de ceux provenant d'autres maladies sous-jacentes [34, 35]. Il est important de bien identifier ce trouble, d'abord afin d'y apporter les bons traitements, mais aussi pour prédire l'évolution des symptômes, la déficience cognitive légère étant un important facteur de risque dans le développement de la démence liée à la MP et des hallucinations, d'autres troubles également fréquents dans la maladie [35].

La démence liée à la MP est une déficience plus sévère ayant une prévalence de 15 à 20% 5 ans après le diagnostic de MP et de 46% 10 ans après le diagnostic de MP. Celle-

ci inclue une exacerbation de troubles cognitifs précoces mais aussi la présence d'hallucinations, principalement visuelles, et de confusion [35]. Le risque de développer de la démence est jusqu'à 5 fois plus élevé chez les patients parkinsoniens que chez les sujets non-parkinsoniens, ce risque étant directement corrélé à la durée et sévérité de la maladie ainsi qu'à l'âge du patient parkinsonien lors du diagnostic [14].

La démence parkinsonienne est toutefois à distinguer de la psychose parkinsonienne, cette dernière se manifestant dans 40% des cas et se caractérisant également par des hallucinations visuelles (HVs) et des délires [36]. La psychose parkinsonienne est l'un des troubles non-moteurs les plus débilissants de la MP, ayant un large spectre de symptômes positifs qui incluent également des hallucinations mineures. La présence de HVs est observée dans divers troubles liés à la MP et en fait un symptôme présent à différents stades de la maladie [37-39]. Ceci est discuté davantage plus bas.

Plusieurs autres symptômes non-moteurs sont observés à différentes proportions, tels que les troubles neuropsychologiques incluant la dépression et l'anxiété, les difficultés visuelles mineures, la fatigue chronique et bien d'autres [27]. Les symptômes non-moteurs dans la MP ont un impact significatif et majeur sur la qualité de vie des patients et de leurs proches et sont souvent difficiles à traiter efficacement, notamment dus à leurs causes pathologiques sous-jacentes variables. Le traitement des symptômes non-moteurs dans la MP est aujourd'hui tout aussi important que le rétablissement des symptômes moteurs.

Table 1 : Exemples de symptômes typiques dans la maladie de Parkinson

Troubles moteurs	Troubles non-moteurs
<ul style="list-style-type: none"> - Bradykinésie - Tremblement au repos - Rigidité - Dyskinésies - Instabilité posturale - Asymétrie des symptômes observés (début unilatéral) 	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles olfactifs - Troubles du sommeil (dont le TCSP) - Fatigue - Troubles cognitifs et démence - Hallucinations, principalement visuelles - Troubles psychiatriques et psychose - Troubles neuropsychologiques incluant la dépression et l'anxiété
De plus : - Bonne réponse à la lévodopa (particulièrement les premières années) - Progression de la maladie	

1.1.3. Étiologie et facteurs de risque/protecteurs

La MP est une maladie hétérogène dont l'étiologie demeure complexe et incertaine. Elle est considérée comme une maladie multifactorielle incluant des facteurs génétiques et environnementaux. Une des principales hypothèses d'étiologie serait alors une exposition significative à des toxines de personnes ayant déjà des prédispositions génétiques [14, 40]. Une bonne compréhension de l'étiologie de la MP aide à comprendre sa pathophysiologie et l'évolution de plusieurs symptômes. La MP se présente généralement sous forme idiopathique, soit sans antécédents familiaux, ou plus rarement sous forme génétique, soit causée par une mutation d'un gène spécifique.

1.1.3.1. Facteurs génétiques

Les études de prévalence ont déterminé qu'environ 10 à 15% des patients parkinsoniens auraient une histoire familiale de MP, ce qui confirme la présence de facteurs génétiques dans la maladie [14, 15]. Malgré la présence minoritaire de la forme familiale, son étude génétique a permis de grandes découvertes également applicables pour les cas idiopathiques. Plusieurs gènes liés au développement de la maladie sont aujourd'hui identifiés et étudiés. Le facteur de risque pour la MP, particulièrement la MP idiopathique, est plutôt un facteur polygénique, avec possiblement plusieurs mutations de gènes différents impliquées simultanément. Plus de 20 gènes identifiés dans la MP familiale ont été répertoriés, ceux-ci prenant le nom de *PARK* avec leurs numéros de découverte chronologique correspondants [40].

Des formes monogéniques de MP ont été identifiées mais sont relativement rares, la dysfonction génétique la plus commune étant celle impliquant le gène *LRRK2* (*leucine-rich repeat kinase*). Diverses mutations autosomales dominantes de ce gène représentent environ 4% de la MP héréditaire, avec un profil pathologique et clinique ressemblant à ce qui est observé dans la MP idiopathique. D'ailleurs, des mutations de ce gène sont également présentes dans 1% des cas de MP idiopathique. D'autres mutations dominantes de gènes sont aujourd'hui connues, telles qu'une mutation dans le gène de l'alpha-synucléine *SNCA*, une des premières à être découverte dans la MP familiale [15, 40-43].

Les mutations autosomales récessives identifiées dans la MP sont plus nombreuses. Celles-ci incluent des gènes impliqués dans les fonctions mitochondriales tels que *PINK1* (*PTEN-induced putative kinase 1*), *DJI* et *PRKN* (*Parkin*), ce dernier étant le gène le plus fréquemment affecté parmi les mutations autosomales récessives de la MP familiale [40-43]. La comparaison entre jumeaux homozygotes dont un seul est atteint de MP a identifié des différences dans les fonctions mitochondriales et même la traduction des gènes sans toutefois observer de différences génétiques à proprement parler [44]. Un suivi de 20 ans de jumeaux dans une autre étude n'a observé aucun diagnostic de MP génétique, ce qui va de pair avec l'hypothèse d'une maladie multifactorielle [45].

Ces différentes mutations enclenchent des processus pathologiques décrits plus bas menant à la mort des neurones dopaminergiques et la formation de CLs. L'étude de ces mutations permet de comprendre leur potentielle implication dans la MP idiopathique, mais aussi de mieux comprendre les processus pathologiques sous-jacents menant au développement de la maladie et potentiellement l'identification de cibles thérapeutiques.

1.1.3.2. Facteurs environnementaux

Contrairement aux facteurs génétiques, les facteurs environnementaux dans la MP sont plus difficiles à évaluer à cause des changements courants dans l'environnement des individus au cours d'une vie. L'impact des facteurs environnementaux s'établit des années et même des décennies avant le diagnostic et il est difficile d'établir une cartographie précise de ces facteurs, surtout à postériori. Toutefois, ces facteurs sont plus facilement modifiables et peuvent être utiles pour la prévention et la réduction du risque de développer la MP [46].

L'échelle de Braak, un indicateur de l'évolution pathologique de la maladie, démontre que les premiers stades de la MP s'observent dans des régions impliquées dans les fonctions olfactives et gastro-intestinales, deux fonctions directement affectées par des facteurs externes. Ceci accentue l'hypothèse d'une implication potentielle de l'environnement par l'intermédiaire de ces fonctions biologiques dans le développement de la MP. Plus d'une douzaine de facteurs ont été identifiés, certains ayant démontré une

corrélation directe avec le développement de la maladie (facteur de risque), d'autres démontrant une corrélation inverse (facteur protecteur) [40, 46].

Facteurs protecteurs

Un des facteurs les plus étudiés est le tabagisme. Étonnamment, les études épidémiologiques et méta-analyses semblent observer un effet protecteur chez les fumeurs en comparaison aux non-fumeurs. Ceux-ci auraient jusqu'à 60% moins de risque de développer la MP, avec un risque relatif de 0.35 à 0.70 dépendamment des études et populations incluses [14, 47-49]. L'influence exacte de ce facteur et ses mécanismes sous-jacents possiblement protecteurs sont complexes et demeurent un mystère sur plusieurs aspects. Une relation dose-dépendante avec l'intensité et encore plus avec la durée du tabagisme y est observée [14, 48, 49]. La présence de multiples composants dans le tabac et les cigarettes complexifie la compréhension de cette corrélation inverse. Différentes hypothèses sont considérées et évaluées incluant un effet de la nicotine, du triméthyl-naphtoquinone, un inhibiteur des monoamines oxydases (MAO) retrouvé dans le tabac, ou même un changement induit au microbiote intestinal [48, 49].

Un effet potentiellement protecteur de la consommation de café est également observé. Les différentes études et méta-analyses établissent une réduction de risque de développer la MP d'environ 30% chez les consommateurs de café. Toutefois, les études plus récentes indiquent également qu'il s'agit d'une consommation dose dépendante et que la réduction de risque du développement est observée suite à une consommation modérée ou élevée, dépassant généralement les 3 cafés par jour [50, 51]. La caféine, ou encore la théophylline dans le thé, et certains autres métabolites dans le café pourraient être à l'origine de cet effet protecteur, possiblement par l'intermédiaire d'un effet antagoniste des récepteurs à l'adénosine [15, 51]. D'autres cibles d'action du café sont également explorées et établies, particulièrement en *in vitro* et sur des modèles animaux. Par exemple, l'effet de l'eicosanoyl-5-hydroxytryptamide, une autre composante du café, sur la protéine phosphatase 2 a été démontré chez la souris [52]. Une interaction avec certains facteurs génétiques est également envisagée [53].

La consommation de café n'est pas seulement considérée dans un aspect protecteur contre le développement de la MP mais aussi pour un possible effet bénéfique pour les patients parkinsoniens, les résultats demeurant toutefois contradictoires. Une étude d'imagerie évaluant l'effet d'une consommation habituelle de café sur le transporteur dopaminergique (DAT) n'a pas observé de changements significatifs [54]. Un certain effet protecteur aux stades avancés a été considéré, les conclusions demeurant parfois contradictoires ou non-reproduites [55-57]. Au niveau clinique, une étude a observé un effet positif du café sur la sévérité des symptômes non-moteurs, celui-ci pouvant être le résultat d'un effet symptomatique, tel que l'amélioration de la fatigue [58].

Facteurs de risque

La découverte accidentelle de l'effet parkinsonien du 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) lorsqu'administré en intraveineux a lancé plusieurs études et investigations concernant l'impact des pesticides dans le développement de la MP (voir la section 1.4.1.1 pour le MPTP). Le MPTP est d'ailleurs devenu un composé de grande importance utilisé dans la recherche animale sur la MP [59, 60]. Malgré l'hétérogénéité dans les méta-analyses et revues de littérature qui incluent une variété de produits pesticides sélectionnés, il est clair que les pesticides augmentent le risque de développer la MP jusqu'à 1.6 fois [14]. Plusieurs hypothèses concernant l'action précise de ceux-ci sont évaluées. L'ingestion de pesticides et d'herbicides induirait entre autres un changement dans le microbiote de futurs patients qui se verront atteints de MP plus tard, l'implication du système gastro-intestinal étant de plus en plus reconnue dans cette maladie [46, 61].

Les études sur des fermiers et dans des milieux ruraux ont permis de confirmer cette association négative entre la MP et les pesticides, l'intensité de l'exposition étant l'élément qui comporte le plus grand impact [14, 47]. André Barbeau a par exemple évalué la prévalence de MP dans des régions rurales du Québec et observé que les régions avec le plus d'utilisation de pesticides étaient également celles avec la plus haute prévalence de MP [62]. Cet impact sur le développement de la MP est tel que certains pesticides, dont la roténone et le paraquat, ont également permis le développement de modèles animaux parkinsoniens avec des rongeurs [46]. Les effets potentiels des pesticides dans le corps

incluent l'induction d'un stress oxydatif ou encore l'inhibition du complexe mitochondrial [63, 64].

Parmi les autres facteurs environnementaux considérés, on retrouve les lésions cérébrales qui pourraient précipiter le processus inflammatoire observé dans la MP [14, 46]. Les troubles vasculaires et métaboliques sont également évalués pour leur influence négative dans le développement de la MP, alors que l'utilisation d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens, particulièrement l'ibuprofène, et l'exercice sont considérés pour leur effet protecteur contre la MP, possiblement le résultat d'un effet cérébral anti-inflammatoire, antioxydant ou même anti-apoptotique [14, 41, 46]. Une meilleure compréhension des facteurs environnementaux et de leurs mécanismes pourrait contribuer à des avancées cliniques ainsi que des changements sociétaux, par exemple avec le retrait des pesticides et la prise d'agents neuro-protecteurs pour les personnes à risque. Ceci aiderait également à améliorer la recherche animale avec le développement et l'amélioration des modèles animaux et de leur validité prédictive et l'évaluation de nouvelles hypothèses.

1.1.4. Pathophysiologie

1.1.4.1. Processus pathologiques de la MP

Malgré les incertitudes entourant l'étiologie de la MP, la recherche a permis la compréhension de plusieurs éléments concernant la pathophysiologie et l'évolution neuropathologique de la maladie. Deux particularités neurologiques caractéristiques de la MP sont observées, soit la mort des neurones dopaminergiques de la SNpc et la présence de CLs intracytoplasmiques [19, 40].

La première caractéristique pathologique importante de la MP est la perte de l'innervation dopaminergique nigrostriatale issue d'une perte des neurones pigmentés dans la SNpc, particulièrement dans la région ventrolatérale (Figure 1). Des observations histologiques et d'imagerie ont démontré une perte de la zone foncée dans la SNpc directement corrélée avec la perte de neurones dopaminergiques et noradrénergiques [40, 65, 66]. La manifestation de plusieurs symptômes moteurs typiques de la maladie résulte de cet échec de la transmission nigrostriatale [19].

Figure 1 : Voies d'innervation dopaminergique

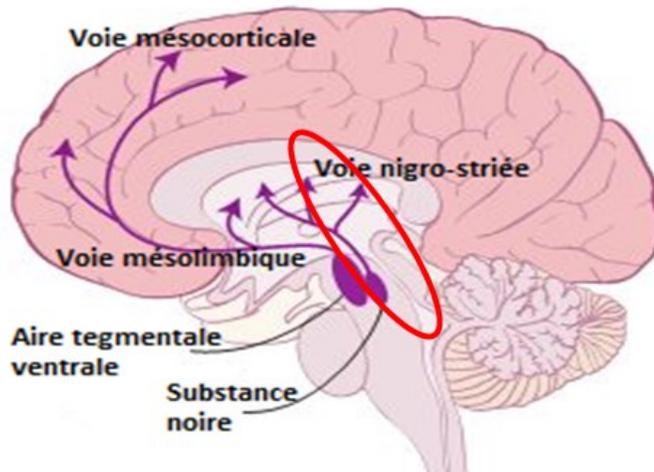
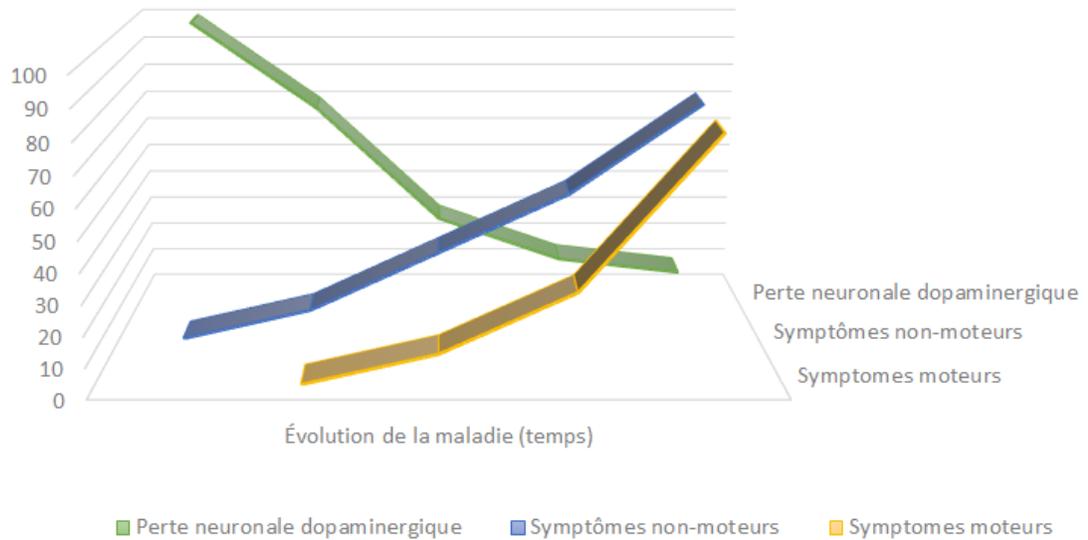


Figure modifiée de: Neuroanatomy and Neuroscience at a Glance. Fourth Edition. Roger A. Barker, Francesca Cicchetti, Michael J. Neal. 2012 John Wiley & Sons.

Les premiers symptômes dans la MP sont observés après une perte non négligeable des neurones de la SNpc, cette perte allant jusqu'à 60% lors de la manifestation des symptômes moteurs et du diagnostic, avec un stade présymptomatique et prodromique pouvant durer plusieurs années (Figure 2). Le début de la mort neuronale survenant bien avant toute manifestation clinique empêche donc d'avoir une détection précoce de la maladie dès le début du processus pathologique. Le diagnostic de la MP survient après la mort d'une bonne partie des neurones dopaminergiques, ce qui complexifie la recherche clinique de traitements curatifs pouvant rétablir cette neurotransmission [27, 40].

Figure 2 : Schématisation de l'évolution de la perte des neurones dopaminergiques en comparaison aux symptômes moteurs et non-moteurs de la maladie de Parkinson

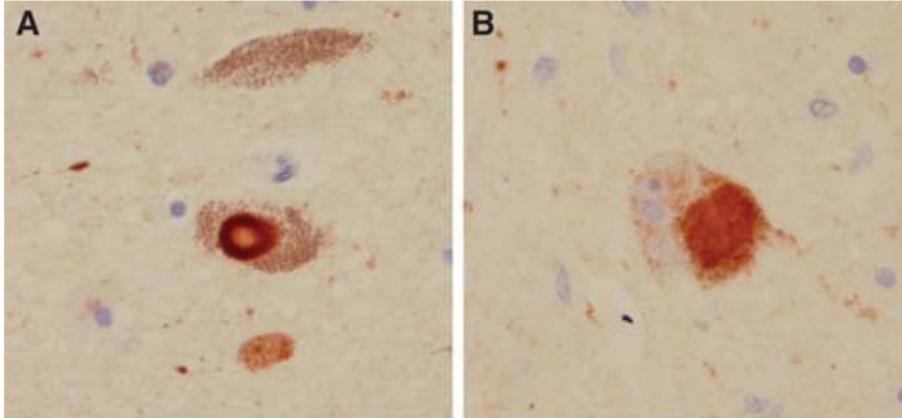


Il est intéressant de noter que le processus pathologique de la MP débiterait même bien avant l'observation de la mort des neurones dopaminergiques. Certaines études ont observé des dommages axonaux aux terminaisons projetant au striatum avant la mort neuronale observée dans la SNpc, soit très tôt dans le processus pathologique [67, 68].

Le second élément caractéristique de la MP est la présence de CLs. Ceux-ci sont des agrégats cytoplasmiques composés de denses granules et longs filaments et principalement observés dans les corps neuronaux [69]. L'agrégation de plusieurs protéines y est observée, dont principalement l'alpha-synucléine « anormale » mais aussi des ubiquitines, des protéines du protéasome, parkin et bien d'autres. Avec un diamètre variable allant de 5 à 30 μm , un seul neurone peut contenir plusieurs CLs. Plusieurs types de CLs avec des structures et des localisations différentes sont identifiés [65, 66, 70]. Les CLs classiques et les CLs corticaux se retrouvent au niveau des corps neuronaux alors que les neurites de Lewy avec leur forme filamenteuse sont principalement dans les axones (Figure 3). Les CLs dans la MP sont présents dans plusieurs régions du système nerveux central (SNC). Les CLs classiques sont particulièrement observés dans le tronc cérébral. En général, les CLs peuvent être dans la substance noire (SN), le locus coeruleus, le bulbe

olfactif et bien d'autres régions, ce qui confirme l'implication de plusieurs aires cérébrales et systèmes de transmissions autres que le système dopaminergique dans la MP [65, 66, 70].

Figure 3 : Exemples de corps de Lewy observés dans la maladie de Parkinson

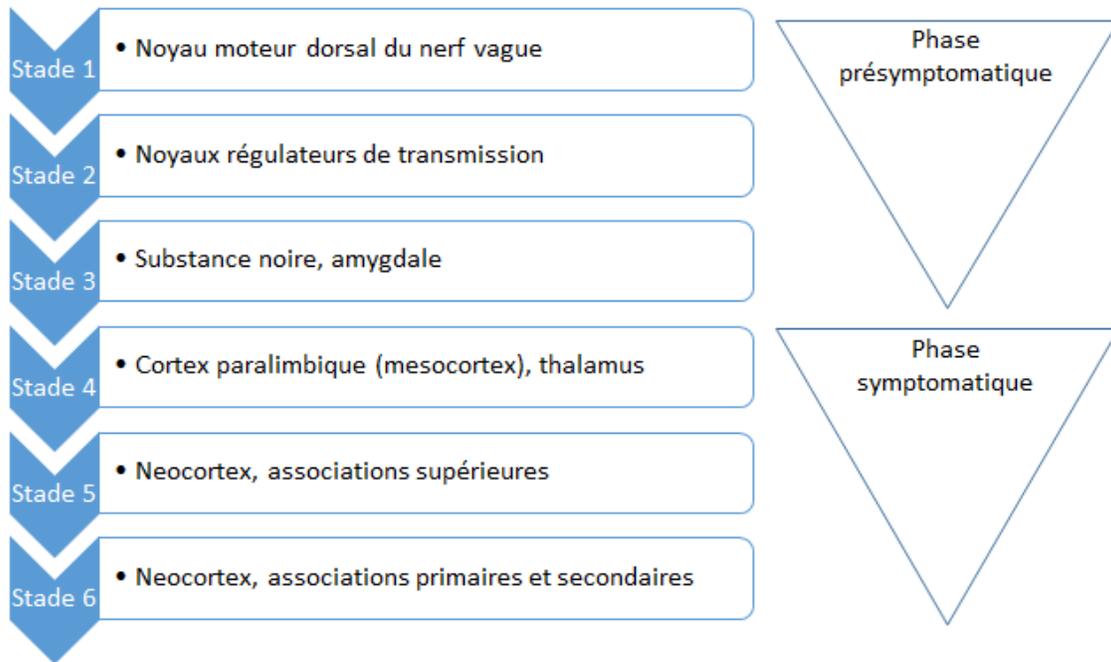


Observations microscopiques des corps de Lewy auprès de patients avec MP A) corps de Lewy classiques dans le tronc cérébral et B) corps de Lewy corticaux

Figure de: Dickson D. W. (2012). Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2(8), a009258.

Dans les années 2000, un système d'évaluation histologique des stades de la MP a été établi en fonction des CLs observés. L'anatomiste Braak a donné son nom à l'échelle basée sur l'évaluation semi-quantitative de la distribution des CLs et de l'accumulation d'alpha-synucléine chez les patients (Figure 4) [70, 71]. Toutefois, l'utilisation de cette échelle est parfois remise en question puisqu'elle ne décrit qu'une partie des patients parkinsoniens et que la corrélation entre l'évolution des différents stades de Braak et celle des dysfonctions cliniques n'est pas toujours exacte [72, 73].

Figure 4 : Stades d'évolution de Braak des corps de Lewy dans la maladie de Parkinson



En résumé, ces deux éléments, soit la mort des neurones principalement dopaminergiques et la présence de CLs, sont les points pathologiques caractéristiques de la MP. Toutefois, la pathogenèse de la maladie est un processus bien plus complexe et hétérogène incluant une perturbation de l'élimination des protéines, des dysfonctions mitochondriales et de la neuroinflammation [40].

1.1.4.2. *Développement de la MP*

Le développement de la MP est selon plusieurs études issu principalement de l'agrégation de l'alpha-synucléine [74]. La protéine dans son état normal est généralement sous forme monomérique ou oligomérique avec une structure hélicoïdale [74, 75]. Le rôle physiologique de la protéine demeure un sujet non résolu. Certaines études laissent penser qu'elle serait impliquée dans la plasticité synaptique et le transport vésiculaire [76-78]. Son implication pathologique serait quant à elle un résultat de modifications post-translacionnelles multiples, particulièrement de la phosphorylation. En effet, les CLs observés dans la MP comportent majoritairement de l'alpha-synucléine phosphorylée et hyperphosphorylée. Ces modifications mèneraient à des structures protéiques propices à

l'oligomérisation et l'agrégation [76-78]. L'ubiquitination et la troncation des protéines seraient également des sources d'agrégation protéique. Ces différents processus causeraient une toxicité cellulaire grandissante, menant au déclenchement de processus inflammatoires qui amplifient l'agrégation protéique, devenant un cercle vicieux de plus en plus important et diffus dans le cerveau [74, 78]. Une des pistes explorées dans la recherche de traitements neuroprotecteurs et modificateurs de l'évolution de la maladie consiste d'ailleurs à utiliser des agents anti-alpha-synucléine ciblant cette protéine, son expression ou encore son accumulation [79-81].

Une découverte intéressante est que l'alpha-synucléine phosphorylée est également détectable en dehors du cerveau, ce qui accentue l'hypothèse d'une implication du système nerveux périphérique dans la MP, par exemple avec l'importance de l'axe entre l'intestin et le cerveau dans la pathogenèse [61].

Le développement de la MP serait également lié à des dysfonctions mitochondriales, que ce soit dans la forme familiale ou sporadique de la maladie. Plusieurs dommages y sont observés, incluant du stress oxydatif et des perturbations dans la chaîne de transport d'électrons. L'étude génétique des formes familiales de MP a permis d'identifier des mutations dans plusieurs gènes qui joueraient un rôle dans l'homéostasie de la mitochondrie, ce qui va de pair avec l'hypothèse de l'implication mitochondriale [82-84]. L'alpha-synucléine et son accumulation seraient même liées directement ou indirectement à ces dysfonctions mitochondriales observées [74].

Un élément important à considérer est que le repliement anormal et l'accumulation de protéines observés dans la MP sont communs à plusieurs maladies neurodégénératives, d'où leur nom de protéinopathies. La particularité de chaque maladie réside entre autres dans le type de protéine impliquée et dans la distribution de celle-ci. Chaque découverte sur les protéinopathies est alors d'intérêt pour la compréhension de plusieurs maladies. Par exemple, une protéine importante est la protéine TAU, codée par le gène *MAPT*, qui peut être anormalement hyperphosphorylée et former des inclusions intracytoplasmiques. Ceci est observé dans la maladie d'Alzheimer mais aussi dans le striatum de patients atteints de la MP et de la MP avec démence. L'alpha-synucléine dont l'importance dans la MP est

décrite plus haut est également d'intérêt dans la maladie d'Alzheimer, où des dépôts corticaux de cette protéine ont été associés à la formation de plaques d'amyloïde-bêta, une observation également faite chez certains groupes de patients parkinsoniens et dans certaines formes de démence [40, 85, 86]. Les découvertes sur les protéinopathies peuvent avoir un grand impact sur la MP et apporter des pistes thérapeutiques pertinentes à toutes ces maladies.

1.1.4.3. Régions et systèmes de transmission affectés

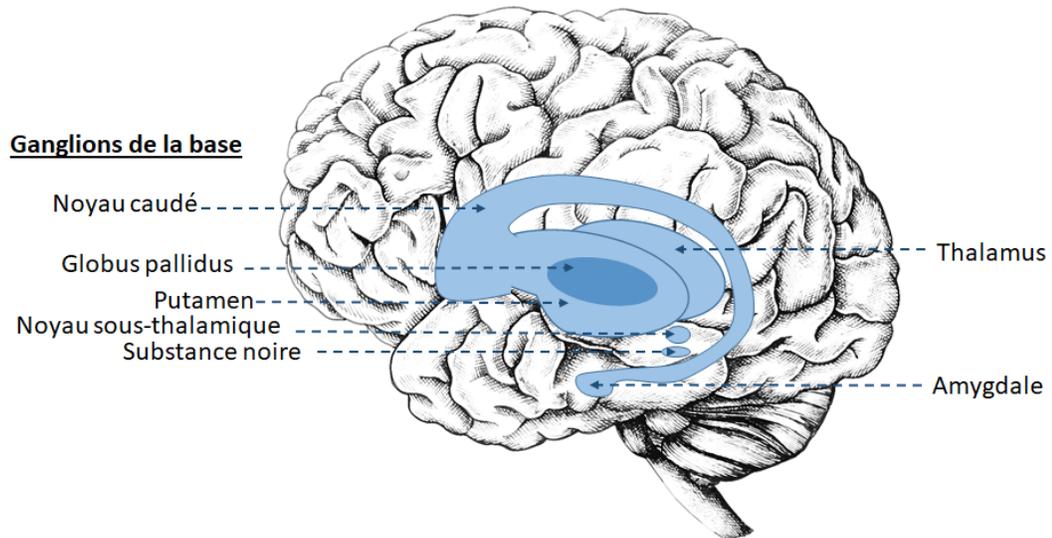
Diverses régions cérébrales et systèmes de neurotransmission sont affectés dans la MP. En suivant les mécanismes moléculaires observés dans la maladie et la mort des neurones vulnérables, plusieurs systèmes et régions impliqués ont pu être identifiés [69].

La propagation des CLs selon la description de l'échelle de Braak permet de comprendre l'étendue des aires cérébrales atteintes. Les CLs sont largement distribués dans le cerveau, particulièrement lorsque la maladie est bien installée à des stades plus avancés (Figure 4). Toutefois, en début de maladie, les premières aires affectées semblent être le bulbe olfactif et le noyau dorsal moteur du nerf vague. Le tronc cérébral, incluant le mésencéphale et le pont, est également touché plus particulièrement au niveau du locus coeruleus. Cette dernière région cérébrale explique les perturbations observées dans le système noradrénergique dans la MP. La SN, reliée principalement au système dopaminergique, comporte également des dépôts de CLs. Ceux-ci sont ensuite également observés au niveau de l'hypothalamus, de l'amygdale et du noyau basal de Meynert, une région à transmission principalement cholinergique. Les CLs finissent par atteindre plusieurs autres régions cérébrales profondes ainsi que des régions corticales, menant à une pathologie diffuse telle que décrite par l'échelle de Braak. L'évolution de la mort neuronale dans la MP ne coïncide toutefois pas en tous points avec cette description de l'évolution spatiotemporelle des CLs [66, 69, 70, 73].

Les neurones et systèmes de transmission dans les ganglions de la base, ou noyaux gris centraux, sont particulièrement affectés dans la MP. Ceux-ci incluent le striatum composé du noyau caudé et du putamen, le globus pallidus (GP) externe (GPe) et interne

(GPi), la SNpc et la SN pars reticulata (SNpr) et le noyau sous-thalamique (NST) (Figure 5) [87].

Figure 5 : Ganglions de la base et régions adjacentes



Il existe deux voies, la voie directe et la voie indirecte, décrivant l'interaction des ganglions de la base. Celles-ci sont expliquées en détail plus bas dans la section 1.5.2. En résumé, lors du fonctionnement physiologique des ganglions de la base, l'activation de la voie directe aurait un effet facilitateur de mouvement alors que l'activation de la voie indirecte aurait un effet supprimeur de mouvement. La perturbation de ces voies de transmission directe et indirecte issue de la déficience en dopamine expliquerait les débuts symptomatiques caractéristiques de la MP [87].

La mort des neurones dopaminergiques est la plus sévère dans la partie ventrolatérale de la SN. Ceci induit une perte de dopamine prononcée dans le putamen, particulièrement au niveau dorsolatéral. Un déclin exponentiel des marqueurs dopaminergiques y est observé, où les premiers symptômes moteurs se manifestent après 80% de déclin en dopamine et 60% de mort neuronale dans la SNpc. En plus du striatum, les perturbations de la signalisation issues de cette mort neuronale sont également observées sur le GP, le NST ainsi que le noyau pedonculopontin, expliquant l'importance des ganglions de la base dans la MP et les conséquences sur les voies de transmission

directe et indirecte. L'implication de ces régions dans la MP explique la contribution du système dopaminergique, mais aussi des systèmes GABAergique et glutamatergique dans les perturbations fonctionnelles de la maladie [43, 87].

Hormis la SN, les neurones dopaminergiques sont également présents dans l'aire tegmentale ventrale (ATV). Celle-ci comporte plusieurs types de neurones incluant les neurones dopaminergiques, GABAergiques et glutamatergiques, étant donc impliquée dans l'intégration de divers types de signaux provenant de plusieurs autres régions cérébrales. Cette région est une partie intégrante du système de récompense. Les neurones dopaminergiques provenant de l'ATV projettent principalement vers le striatum ventral et le cortex préfrontal. Il est pensé que l'ATV est relativement épargnée dans la MP, particulièrement aux stades non avancés [88].

Des études post-mortem ont également observé une perte des neurones cholinergiques dans le noyau basal de Meynert tôt dans la maladie. Une réduction fonctionnelle de l'acétycholine, particulièrement dans le cortex frontal, est souvent associée à l'apparition de démence, cette réduction se manifestant toutefois même chez les patients parkinsoniens sans démence. Le système sérotoninergique n'est pas épargné dans la MP, une déficience synaptique en sérotonine étant également présente et généralement associée à la dépression, un symptôme non-moteur très fréquent dans la MP. Cependant, malgré les études démontrant une dégénérescence et une perte sérotoninergique dans le noyau raphé caudé et le système limbique, les résultats demeurent incertains et parfois non-généralisés concernant la dégénérescence sérotoninergique et la dépression dans la MP [87].

Les système dopaminergique, GABAergique et glutamatergique sont tous impliqués différemment dans la MP. La complexité de la pathophysiologie et de la symptomatologie de la MP résulte également de l'atteinte d'autres régions et systèmes de transmission qui, malgré leur perturbation moins marquée, demeurent de grande importance pour la compréhension complète de la maladie et la découverte de nouveaux traitements.

1.2. Traitements dans la maladie de Parkinson

Différents traitements de la MP sont aujourd'hui disponibles et plusieurs autres sont en cours de développement. Malheureusement, il n'y a aucun traitement protecteur ou modificateur de l'évolution de la maladie qui ait été approuvé à ce jour, les traitements disponibles étant principalement à but symptomatique. Plusieurs études continuent tout de même d'évaluer des pistes et des thérapies qui pourraient arrêter l'évolution de la maladie ou même l'inverser.

D'anciennes procédures indiquaient que les traitements, même symptomatiques, devraient commencer le plus tôt possible pour de meilleures chances de succès; toutefois, ceci est devenu source de débats pendant plusieurs années et encore aujourd'hui pour déterminer la meilleure stratégie de traitement permettant une réponse thérapeutique optimale et prolongée dans le temps pour chaque patient [87]. En 2012, un résumé des observations et recommandations concernant les options et stratégies de traitement dans la MP a été publié par un groupe d'experts de la IPMDS et de la Fédération Européenne des Sociétés de Neurologie. Ce groupe détaille une évaluation exhaustive des thérapies disponibles et des différents avantages et inconvénients issus de chaque stratégie thérapeutique [89].

1.2.1. Traitements symptomatiques

1.2.1.1. Traitements pharmacologiques

Les médicaments pharmacologiques demeurent les traitements les plus couramment utilisés dans la MP et les options y sont nombreuses. En début de maladie, les symptômes moteurs sont généralement bien gérés par les thérapies de remplacement de la dopamine. Le traitement principal dans cette catégorie demeure la lévodopa, un standard qui a gardé sa place depuis sa découverte à la fin des années 1960. Ce précurseur de la dopamine est recommandé à tous les stades de la maladie, offrant un effet optimal sur les symptômes moteurs pouvant durer plusieurs années, selon les patients. Malgré sa grande efficacité symptomatique, une limite majeure observée avec la lévodopa est la manifestation de complications motrices et non-motrices après quelques années.

Différentes stratégies ont été tentées afin d'optimiser l'effet de la lévodopa, incluant des changements dans la formulation ou le mode d'administration, en plus de la co-administration d'inhibiteurs de dopa-décarboxylase et de catéchol-o-méthyltransférase (COMT) afin de limiter le métabolisme périphérique de la lévodopa [87, 90, 91]. La lévodopa est discuté plus en détail au chapitre 1.2.3.

La lévodopa peut être administrée en monothérapie ou avec d'autres thérapies d'appoint. Parmi celles-ci, l'utilisation d'agonistes dopaminergiques comme traitement de remplacement de la dopamine est considérée. Il existe cinq sous-types de récepteurs dopaminergiques classés en 2 familles principales, l'une incluant les récepteurs D1 et D5 et l'autre composée des récepteurs D2, D3 et D4. Les agonistes dopaminergiques d'intérêt dans la MP requièrent une activité sur les récepteurs D2. On y retrouve une dizaine de médicaments répartis en deux catégories, les agonistes dérivés de l'ergot de seigle tels que la bromocriptine et la pergolide et ceux non-ergotés incluant pramipexole et ropinirole. Leur efficacité en monothérapie et en thérapie d'appoint a été démontrée, le choix d'un agoniste optimal avec un minimum d'effets secondaires pouvant toutefois varier entre les patients. Les agonistes dopaminergiques comportent également leur limite entre autres en raison de leur spécificité et sélectivité variable envers le récepteur D2 par rapport aux autres récepteurs dopaminergiques. En plus des effets secondaires liés à leur action périphérique, cette famille de traitements pourrait causer ou aggraver les troubles de contrôle des impulsions, causer des symptômes neuropsychologiques et psychotiques telle la dépression et la confusion ou encore l'apparition potentielle à long terme de dyskinésies. Certaines études comparant l'utilisation d'agonistes dopaminergiques ou de lévodopa comme premier traitement n'ont pas pu démontrer une tendance générale, les bénéfices et inconvénients étant présents dans chacune des stratégies de traitement [90-92].

Les inhibiteurs de la MAO B, dont la sélégiline, la rasagiline et le safinamide, permettent également une amélioration des symptômes parkinsoniens par la réduction du métabolisme de la dopamine et sont souvent utilisés en début de maladie comme traitement initial ou comme traitement d'appoint à la lévodopa. Malgré une efficacité généralement inférieure aux autres classes de médicament, l'utilisation de ceux-ci permet de retarder le début du traitement à la lévodopa ou encore d'améliorer son effet lorsque les deux sont

administrés conjointement, particulièrement lorsque les effets néfastes de la lévodopa tels que les fluctuations motrices apparaissent [89, 90, 92].

D'autres traitements pharmacologiques ayant des cibles non-dopaminergiques sont également considérés pour l'amélioration des symptômes moteurs. Les anticholinergiques tels que le bipéridène en sont un exemple, leur effet n'étant toutefois pas considérable. L'amantadine, dont le mécanisme d'action exact n'est pas clair, est souvent utilisée en monothérapie en début de maladie pour le traitement de symptômes parkinsoniens ou encore comme thérapie adjointe aux traitements de remplacement de la dopamine, surtout lors de l'apparition de complications motrices. La présence d'un effet bloquant des récepteurs glutamatergiques N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et d'un potentiel effet anticholinergique de l'amantadine pourraient contribuer à son apport additionnel antiparkinsonien [89, 90, 93].

La majorité des traitements pharmacologiques antiparkinsoniens ne permettent généralement pas de rétablissement des symptômes non-moteurs. Ceux-ci sont gérés de manière individuelle, avec un traitement spécifique pour chaque symptôme non-moteur observé, ce qui peut rallonger la liste des médicaments d'un patient parkinsonien et augmenter le risque d'interactions. Une difficulté importante à considérer dans le traitement des symptômes non-moteurs chez les patients parkinsoniens est de s'assurer que les médicaments choisis n'aient pas d'effets néfastes moteurs ou d'effets rivalisant avec le traitement moteur. Par exemple, la mémantine et les inhibiteurs de la cholinestérase sont généralement considérés pour des symptômes de démence, la clozapine est quant à elle considérée pour les symptômes de psychose et les inhibiteurs sélectifs de la recapture de sérotonine permettent de traiter la dépression. Certaines classes de médicaments efficaces pour ces mêmes symptômes ne sont toutefois pas optimales dans la MP puisqu'elles détériorent la transmission dopaminergique et ne devraient pas être considérées, ce qui requiert une grande optimisation et réévaluation des stratégies thérapeutiques pour chaque symptôme additionnel [89, 90, 92, 94].

Les recherches et études cliniques continuent afin de trouver de nouveaux traitements symptomatiques dans la MP. Ces recherches incluent de nouveaux traitements

ayant des cibles thérapeutiques déjà approuvées, des traitements symptomatiques avec de nouvelles cibles thérapeutiques et des traitements symptomatiques approuvés pour d'autres indications et ayant un potentiel bénéfique pour la MP [90, 95].

Malgré la présence d'une variété de traitements pharmacologiques symptomatiques, leur effet demeure limité. D'abord, l'efficacité au niveau des symptômes moteurs devient de plus en plus réduite avec l'évolution de la maladie. De plus, la majorité des traitements pharmacologiques ne ciblent pas les symptômes non-moteurs, ceux-ci étant généralement traités par l'ajout d'autres traitements spécifiques à chaque symptôme [96-98]. Un important manque demeure donc à être comblé au niveau de la thérapie symptomatique dans la maladie de Parkinson.

1.2.1.2. Traitements chirurgicaux

Une découverte accidentelle de l'effet bénéfique de lésions ischémiques dans certaines régions cérébrales sur des symptômes moteurs a introduit la possibilité de traitements chirurgicaux dans la MP. Dans les années 1950, les thalamotomies et pallidotomies étaient considérées mais les résultats demeuraient variables avec plusieurs conséquences parfois graves. Ce n'est qu'après 1990, avec entre autres l'arrivée des techniques de stéréotaxie, que ces traitements chirurgicaux sont revenus d'intérêt pour traiter des symptômes parkinsoniens et troubles du mouvement [87].

La stimulation cérébrale profonde est un traitement largement utilisé dans la MP ainsi que pour les tremblements essentiels et la dystonie. Dans la MP, une stimulation de haute fréquence à l'aide d'électrodes au niveau des régions d'intérêt dont le NST et le GPi permet une amélioration moyenne des symptômes de 40 à 50% ou plus et un important gain dans la qualité de vie des patients et de leurs aidants naturels. Une sélection des patients éligibles basée sur plusieurs facteurs est toutefois requise, la chirurgie étant généralement considérée à des stades modérés et avancés de la maladie. Celle-ci est particulièrement d'intérêt lors de la présence de fluctuations motrices suite aux traitements pharmacologiques ou de dyskinésies. Elle est toutefois plus invasive et assez sélective pour les patients. Plusieurs stratégies sont considérées et évaluées pour améliorer et optimiser le traitement par stimulation profonde [89, 90, 99, 100].

Il existe d'autres stratégies de traitements chirurgicaux évaluées pour la MP, celles-ci étant toutefois moins communes à cause de leur efficacité qui n'est toujours pas établie ou qui est remise en question. On y retrouve la transplantation de tissu fœtal, dont l'efficacité demeure à être prouvée. La lésion de régions cérébrales d'intérêt par ultrasons est aussi évaluée, étant une option moins invasive avec des effets semblables à la chirurgie par stimulation cérébrale profonde [99, 101].

1.2.2. Traitements modificateurs de l'évolution de la maladie

À ce jour, il n'existe pas de traitement permettant le ralentissement ou l'arrêt de la progression de la maladie. Plusieurs traitements ont été évalués à cet effet, mais ont échoué à prouver leur efficacité.

Parmi les traitements pharmacologiques évalués contre l'évolution de la MP, la rasagiline, un inhibiteur de la MAO B approuvé en tant que traitement symptomatique, aurait également ralenti la progression de la maladie dans l'étude ADAGIO [102, 103]. Cet effet n'a toutefois pu être confirmé et l'étude de suivi ainsi que les évaluations à long terme n'ont pas observé d'effet protecteur ou modificateur de l'évolution de la maladie [102, 103]. Des hypothèses sur l'effet neuroprotecteur de la sélégiline, un autre médicament de la même classe, n'ont également pas pu être confirmées après un sevrage du médicament, la dissipation des effets bénéfiques laissant plutôt penser à un effet symptomatique prolongé [104].

Plusieurs autres traitements ont échoué à confirmer les hypothèses d'un effet neuroprotecteur durable, incluant certains agonistes dopaminergiques ou encore la coenzyme Q10. Diverses raisons expliquent ces échecs cliniques malgré la présence d'un potentiel initial, celles-ci étant liées à la complexité concernant les modèles animaux, souvent imparfaits, ainsi qu'aux multiples mécanismes pathophysiologiques dans la MP. Plusieurs traitements ont aussi un effet symptomatique prolongé pouvant être initialement confondu avec un effet curatif [87, 90].

Des hypothèses concernant la neuroprotection dans la MP ont été évaluées ou sont encore en cours d'évaluation. Par exemple, le blocage du flux calcique a été bénéfique pour

la protection des neurones dans certains modèles animaux, ainsi que l'utilisation de l'urée pour la protection des neurones dopaminergiques [87, 90, 105]. Les travaux demeurent toutefois cliniquement non-validés. Par exemple, une étude clinique évaluant l'isradipine, un bloqueur des canaux calciques, n'a pas observé d'effet significatif, l'absence de cette efficacité clinique pouvant toutefois être également expliquées par des limites expérimentales [106, 107].

La thérapie génique est un grand espoir dans la recherche afin de trouver des traitements modifiant l'évolution de la maladie. Les études et recherches à ce sujet ont beaucoup évolué cette dernière décennie et continuent de démontrer un potentiel prometteur [108]. Les facteurs neurotrophiques tel le GDNF (*glial cell-line derived neurotrophic factor*) ou la neurturine permettraient de prévenir, limiter ou réparer la dégénérescence des neurones [108]. Malgré les études pré-cliniques satisfaisantes, les études cliniques n'ont toujours pas été concluantes pour l'efficacité ou même parfois l'innocuité de cette méthode. Parmi les autres options considérées, cibler la dégradation de l'alphasynucléine serait un autre moyen pour guérir ou arrêter la progression de la MP. Ceci serait faisable par exemple à l'aide d'acide ribonucléique interférent (ARNsi) contre l'alphasynucléine ou encore à l'aide d'anticorps ou de vaccins permettant la production d'anticorps anti-alphasynucléine [87, 90, 105, 108, 109]. Des agents thérapeutiques ciblant la neuroinflammation observée dans la MP ou les troubles liés aux fonctions mitochondriales pourraient également avoir un potentiel modificateur de l'évolution de la maladie [105].

Même si aucun traitement curatif ou ralentissant la progression de la maladie n'est approuvé à ce jour, une multitude de cibles et de stratégies thérapeutiques sont considérées et même testées cliniquement, donnant un espoir pour un traitement modificateur de l'évolution de la maladie dans un avenir plus ou moins proche. La cure pour la MP n'est toutefois pas pour demain, ce qui accentue l'importance d'améliorer les traitements symptomatiques disponibles afin d'offrir des soins cliniques optimaux en attendant la possibilité d'une guérison de la MP.

1.2.3. Lévodopa

1.2.3.1. *Origine et chronologie*

La lévodopa est le traitement symptomatique principal et préférentiel dans la MP depuis son introduction par Oleh Hornykiewicz et George Cotzias il y a plus de 50 ans et la contribution de plusieurs individus incluant André Barbeau et Theodore Sourkes durant les années 1960 [110]. Une des premières études contrôlées confirmant l'effet bénéfique de la lévodopa sur les symptômes parkinsoniens provient de Yahr et al. en 1969. Dans un groupe d'une soixantaine de patients, les chercheurs ont observé une amélioration subjective et objective des symptômes parkinsoniens chez une majorité de patients, allant jusqu'à plus de 80% d'amélioration pour certains symptômes [111].

L'isolation initiale de la molécule de lévodopa à partir de légumineuses remonte à il y a plus d'un siècle, celle-ci ayant été découverte quelques années après la première synthèse de la dopamine vers 1910. Initialement identifiée comme un précurseur de l'adrénaline, c'est principalement grâce à la découverte de l'enzyme dopa-décarboxylase en 1938 que la voie des catécholamines liant la lévodopa à la dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline, a pu être établie. Les effets observés de la lévodopa étaient souvent négatifs et principalement périphériques, entre autres au niveau de la pression artérielle et des effets gastro-intestinaux [110, 112, 113].

Plusieurs rapports sur la présence de lévodopa dans différents tissus humains ont été publiés à partir des années 1950. Dans la même période, l'effet de l'administration de lévodopa sur le cerveau a été évalué sur des animaux et a permis de comprendre l'impact important de celle-ci sur les niveaux de dopamine cérébrale. Un effet comportemental et antagoniste de la réserpine a également été observé [112]. Suite aux découvertes concernant la déficience en dopamine dans la MP au début des années 1960s, des hypothèses et des liens avec les effets observés de la lévodopa ont été établis. Ceci a mené aux études qui ont observé son effet bénéfique dans la MP, d'abord administrée en intraveineux et ensuite en fortes doses orales [113-115]. On y retrouve les travaux du groupe de Oleh Hornykiewicz ainsi que d'André Barbeau et de Franz Gerstenbrand.

Les observations de Cotzias en 1967 ont donc suivi, établissant la lévodopa à fortes doses comme un bon traitement symptomatique dans la MP qui permettrait le rétablissement de la déficience en dopamine [116]. Malgré certaines critiques et remises en question sur la lévodopa pendant les années suivantes, son effet bénéfique sur les symptômes parkinsoniens a continué d'être concluant et a pu être confirmé entre autres avec l'arrivée d'agonistes dopaminergiques [117].

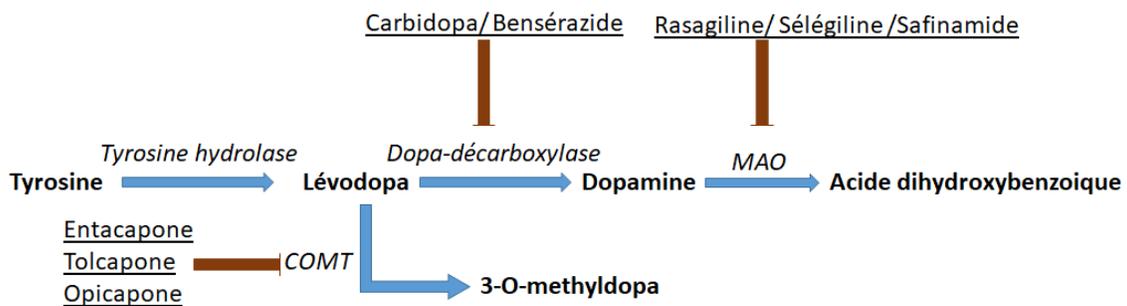
Les effets adverses de la lévodopa étaient également observés à cette époque, d'abord par des effets périphériques incluant les nausées et vomissements et à plus long terme par différentes formes de dyskinésies et mouvements incontrôlés [110, 111]. Dans les années 1970, des suggestions pour remédier aux effets gastro-intestinaux ont été proposées, entre autres par l'introduction graduelle du traitement à la lévodopa et l'ajout d'inhibiteurs de dopa-decarboxylase périphérique plusieurs années plus tard. Par contre, l'apparition des dyskinésies est quant à elle devenue un problème encore plus important, les études révélant que celles-ci empiraient avec le temps et que cela devenait le facteur le plus limitant dans le traitement. Plus tard, d'autres complications liées au traitement à la lévodopa continuaient à être identifiées et caractérisées, dont les fluctuations, les effets de fin de dose ou encore les dyskinésies diphasiques [110]. Depuis, plusieurs recherches ont été lancées pour tenter d'éviter ces limites importantes au traitement de la MP et continuent d'investiguer les options permettant de remédier aux effets adverses.

1.2.3.2. Mécanismes et effets

La lévodopa, également connue sous le nom de L-dopa, est la forme stéréoisomérique lévogyre de la dopa, ou 3,4-dihydroxyphénylalanine. La fonction première de la lévodopa est d'être un précurseur de la dopamine, qui est à son tour précurseur de l'adrénaline et noradrénaline. L'intérêt principal pour l'utilisation de ce précurseur est que ses caractéristiques biochimiques lui permettent de passer la barrière hématoencéphalique (BHE), contrairement à la dopamine, et donc d'avoir une action directe dans le cerveau [118].

À l'aide de l'enzyme dopa-décarboxylase, la lévodopa est rapidement métabolisée en dopamine dans le cerveau et au niveau périphérique, principalement dans les muqueuses du petit intestin. Ce métabolisme dans les muqueuses intestinales est d'ailleurs la cause des principaux effets adverses gastro-intestinaux. Co-administrés avec la lévodopa, les inhibiteurs de la dopa-décarboxylase tels la carbidopa ou le benserazide empêchent la transformation périphérique de lévodopa en dopamine et réduisent ses effets périphériques tout en augmentant jusqu'à 4 fois sa disponibilité au niveau cérébral (Figure 6). Il est à noter que la carbidopa et le benserazide sont des molécules qui ne traversent pas la BHE, n'affectant alors pas la conversion de la lévodopa en dopamine dans le cerveau [118, 119].

Figure 6 : Processus métabolique de la lévodopa / dopamine



La seconde voie métabolique de la lévodopa est par l'enzyme COMT. Cette enzyme transforme la lévodopa en 3-O-methyldopa et est aussi impliquée dans le métabolisme de la dopamine. Cette voie métabolique est entre autres favorisée lors de l'utilisation d'inhibiteurs de dopa-décarboxylase. La fonction enzymatique de la COMT peut être

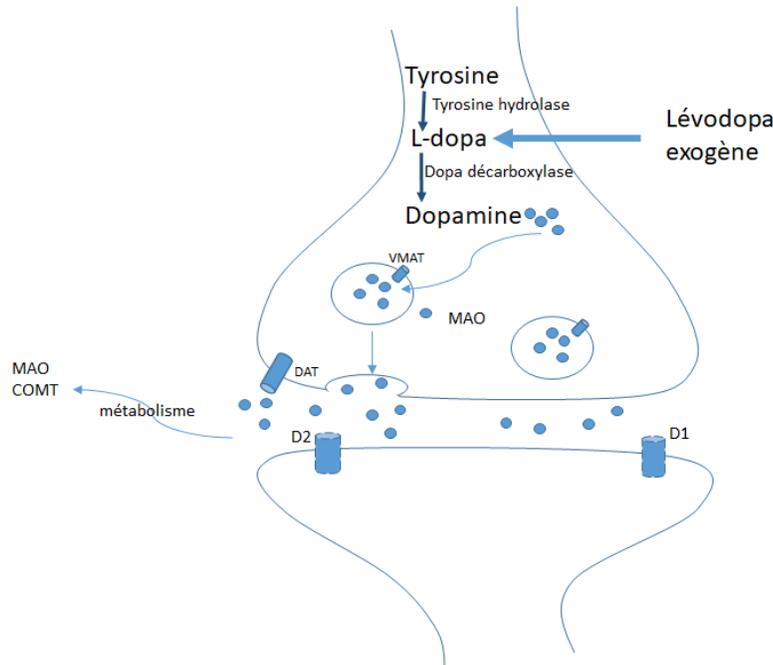
réduite ou bloquée par des inhibiteurs tels que l'entacapone ou la tolcapone, deux molécules commercialement disponibles depuis la fin des années 1990 (Figure 6). La tolcapone a l'avantage de pouvoir traverser la BHE et réduire le métabolisme au niveau cérébral également, augmentant la transmission dopaminergique. Plusieurs rapports d'effets secondaires non négligeables ont toutefois mené à des conditions de suivi clinique plus rigoureux, particulièrement pour la fonction hépatique [120, 121]. Ces inhibiteurs sont particulièrement d'intérêt pour augmenter le temps ON lors du traitement à la lévodopa, soit le temps où les symptômes parkinsoniens sont traités et non observables [118, 119, 122]. Un nouvel inhibiteur, l'opicapone, a été approuvé en 2016 par la European Medicines Agency et en 2020 par la Food and Drug Administration, celui-ci démontrant un important effet dans la réduction du temps OFF, soit le temps avec présence des symptômes parkinsoniens, lors des études cliniques [123, 124].

Finalement, une autre enzyme ciblée dans l'optimisation du traitement à la lévodopa est la MAO, particulièrement la forme B. Celle-ci participe au métabolisme de la dopamine, principalement au niveau intracellulaire, et son inhibition augmente le niveau de dopamine disponible. Indirectement, ceci améliore l'efficacité de la lévodopa administrée [118, 125]. Comme inhibiteur de la MAO B, on retrouve la rasagiline, la sélégiline et le safinamide, des molécules souvent administrées conjointement à lévodopa et même parfois administrées seules (Figure 6). En effet, leur action sur le métabolisme cellulaire de la dopamine et non son précurseur permet leur utilisation même sans lévodopa, particulièrement en début de maladie lorsque les concentrations endogènes de dopamine sont encore acceptables. Ces inhibiteurs réduisent également le temps OFF chez les patients parkinsoniens de façon équivalente aux inhibiteurs de la COMT [125, 126].

Le mécanisme d'action de la lévodopa en fait le meilleur traitement symptomatique, remplaçant la dopamine endogène et rétablissant la transmission déficiente issue de la libération de dopamine synaptique et non-synaptique (Figure 7). Cet effet optimal est toutefois de courte durée, généralement de 1 à 3 ans, et plusieurs éléments limitent cet effet optimal. Les différents moyens mentionnés plus haut tentent de maximiser l'effet bénéfique tout en minimisant les effets adverses. Plusieurs recherches continuent à ce sujet

pour éviter ou rétablir les effets néfastes à long terme observés lors du traitement à la lévodopa.

Figure 7 : Transmission dopaminergique



1.2.3.3. Limites et effets adverses

Le traitement à la lévodopa a la capacité d'augmenter les concentrations de dopamine dans le striatum et d'améliorer la transmission dopaminergique dans la MP. Les effets adverses immédiats de la lévodopa sont principalement les nausées et vomissements issus de sa transformation en dopamine dans les muqueuses intestinales. Comme mentionné plus haut, une solution permettant de réduire ces effets secondaires réside dans la co-administration d'inhibiteurs de la dopa-décarboxylase. Les études comparatives faites dans les années 1970 lors des débuts de l'utilisation des inhibiteurs de dopa-décarboxylase ont démontré que ces effets adverses n'étaient observés que dans moins de 30% des patients prenant ces inhibiteurs contrairement à l'utilisation de lévodopa seule induisant

ces effets adverses chez près de 60% des patients [127, 128]. Les formulations orales de lévodopa disponibles aujourd'hui contiennent presque toutes un inhibiteur de dopa-décarboxylase à des ratios variables.

Lors des premières années de traitement à la lévodopa, son effet symptomatique est généralement optimal. Les symptômes parkinsoniens disparaissent et les fonctions motrices des patients redeviennent normales. Toutefois, généralement en moins de 2 ans, plusieurs patients développent des complications motrices, principalement des fluctuations dans la réponse au traitement et des dyskinésies, des mouvements involontaires, le pourcentage de patients affectés montant à 40% après environ 5 ans de traitement [129, 130]. Les complications motrices ont d'ailleurs été identifiées et considérées comme un important facteur limitant depuis le début de l'utilisation de lévodopa dans la MP dans les années 1960, ces complications étant à cette époque-là observé chez plus de 60% des patients après 5 ans de traitement [111, 131].

Une des premières complications motrices observées lors du traitement prolongé à la lévodopa est un effet de fin de dose, soit une réapparition des symptômes parkinsoniens avant la prise de dose suivante. Suite au développement de la maladie, l'effet symptomatique de la lévodopa finit par refléter la demi-vie de celle-ci, qui est d'environ 60 à 90 minutes et les temps OFF (avec réapparition de symptômes parkinsoniens) deviennent de plus en plus fréquents. Plusieurs variantes existent pour ces complications liées à l'augmentation des temps OFF durant le traitement à la lévodopa Cette réapparition des symptômes parkinsoniens peut par exemple être soudaine, sans lien avec la périodicité du traitement. [132, 133].

Parmi les autres complications importantes observées suite au traitement à long terme à la lévodopa, on observe les troubles psychiatriques. La psychose parkinsonienne est un trouble présent dans les stades avancés de la maladie, principalement caractérisée par des hallucinations généralement visuelles et par des délires. Ceux-ci peuvent être observés suite à l'évolution de la maladie, mais pourraient également être précipités par le traitement antiparkinsonien, entre autres par l'administration chronique de lévodopa [134]. Le traitement à la lévodopa et la durée du traitement seraient d'ailleurs parmi les facteurs

de risque dans le développement des HVs et symptômes psychotiques dans la MP [135, 136]. Le développement d'hallucinations et de psychose parkinsonienne demeure toutefois un phénomène complexe.

Le traitement à la lévodopa pourrait mener vers d'autres conséquences encore incertaines et discutables. Par exemple, des hypothèses concernant des problèmes cutanés tels les mélanomes ont été avancées, les conclusions demeurant incertaines puisque la MP est elle-même associée à un risque augmenté de mélanome [137].

La lévodopa est le traitement symptomatique favori dans la MP et dans l'attente d'une cure ou d'un traitement ralentissant la progression de la maladie, elle demeure parmi les premiers choix thérapeutiques à un moment ou un autre dans la vie des patients. L'amélioration du traitement à la lévodopa réside aujourd'hui dans la découverte de stratégies thérapeutiques ou de médicaments permettant de contrecarrer les différentes limites décrites, particulièrement les limites invalidantes pouvant surpasser les effets bénéfiques et empêcher cette option thérapeutique. Ces complications majeures incluent les dyskinésies et fluctuations motrices et les hallucinations et autres troubles psychotiques.

1.3. Complications issues du traitement chronique à la lévodopa

1.3.1. Dyskinésies

1.3.1.1. Symptômes et impact

Les dyskinésies sont une variété de mouvements involontaires hyperkinétiques, incluant la chorée, la dystonie et les mouvements stéréotypés. Elles peuvent se manifester avec l'évolution naturelle de la MP sans prise de traitement, mais sont généralement précipitées par les traitements dopaminergiques, particulièrement la lévodopa. Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés dans le développement des dyskinésies, particulièrement les dyskinésies issues du traitement à la lévodopa. L'influence du stade de la maladie, de la sévérité des symptômes moteurs et des traitements et doses administrés sont parmi les facteurs connus. Ces mouvements involontaires s'observent entre autres au niveau du visage, du cou ou de manière diffuse dans le corps et se manifestent avec des intensités variables, pouvant être à peine perceptibles ou complètement handicapants [130, 138].

Le pourcentage de patients développant des dyskinésies issues du traitement chronique à la lévodopa varie selon les études à cause des différences dans les stades de maladie des patients inclus, les doses et fréquences du traitement et d'autres facteurs de risque. Après 4 à 6 ans de traitement à la lévodopa, on estime que près de 40% des patients développent des dyskinésies, ce chiffre pouvant monter jusqu'à 90% après 10 à 15 ans de traitement. Le temps médian pour le développement de dyskinésies est entre 2 et 4 ans, la sévérité de celles-ci pouvant varier entre les patients [129, 130, 139].

Les dyskinésies sont parmi les principales difficultés impactant négativement la qualité de vie des patients parkinsoniens et de leurs aidants naturels. Malgré cela, des études ont observé que la majorité des patients préfèrent avoir une bonne gestion de leurs symptômes moteurs et être en ON dans leur traitement avec les inconvénients des dyskinésies plutôt que d'avoir à arrêter la lévodopa et vivre avec les symptômes

parkinsoniens. Ceci démontre l'importance du traitement des dyskinésies et du rétablissement des complications à la lévodopa [140-142].

Les différentes formes de dyskinésies se manifestent à différents moments lors du traitement. La forme la plus communément observée est au moment où l'effet symptomatique moteur du médicament est à son plus fort. On observe également les dyskinésies en fin de dose ou encore des dyskinésies diphasiques, se manifestant en début ou en fin de dose. Les dyskinésies peuvent avoir une prédominance de chorée ou de dystonie [130, 138].

Une méta-analyse avec des études randomisées contrôlées a comparé le potentiel de développement des dyskinésies chez les patients traités uniquement avec de la lévodopa à ceux traités avec d'autres médicaments antiparkinsoniens. Le traitement à la lévodopa augmentait significativement ce risque en comparaison aux autres traitements, dont les agonistes dopaminergiques [143]. Une autre méta-analyse a confirmé que malgré un certain potentiel à développer des dyskinésies également lors du traitement avec des agonistes dopaminergiques, ce risque est grandement réduit, étant 87% plus faible par rapport au traitement à la lévodopa [144].

Les complications motrices issues de traitements dopaminergiques, les plus communes étant les dyskinésies, sont un important facteur à considérer lors du traitement dans la MP. Les dyskinésies sont également un symptôme de la maladie et finissent par toucher presque tous les patients à un moment dans leur vie. Des stratégies thérapeutiques pour y remédier deviennent donc un élément essentiel dans la gestion de la maladie et des patients.

1.3.1.2. Pathophysiologie et hypothèses

Les mécanismes et voies de transmission impliqués dans les dyskinésies sont complexes et diversifiés. Puisque la MP est principalement issue de troubles au niveau du striatum et de la voie nigrostriée, il est pensé que ces troubles seraient également impliqués dans le développement des dyskinésies, particulièrement lorsqu'elles résultent du traitement à la lévodopa. Une transmission dopaminergique pulsatile dans cette région est l'un des principaux éléments provoquant le développement de dyskinésies. Au niveau synaptique, une dégénérescence présynaptique et un maintien des neurones postsynaptiques seraient requis pour leur développement. En effet, les dyskinésies induites par la lévodopa sont beaucoup moins fréquentes, voire rares, dans les formes de parkinsonisme issues d'une dégénérescence postsynaptique [138, 145].

Une infusion continue de lévodopa semble réduire les dyskinésies, confirmant que la stimulation pulsatile lors du traitement oral chronique est problématique. Avec l'évolution de la maladie, la dégénérescence présynaptique est de plus en plus sévère et les fonctions neuronales permettant le transport et l'entreposage de la lévodopa pour une stimulation continue et physiologique deviennent réduites ou presque inexistantes. Ceci explique que la sévérité de la MP soit un facteur de risque important dans le développement des dyskinésies. Des études d'imagerie ont observé qu'une importante réduction du nombre de pulsations et de stimulation neuronale dans le GPi et le NST jouaient également un rôle [138]. Dans la voie nigrostriée, la transmission dopaminergique devient de plus en plus un reflet des concentrations de lévodopa, avec des pics et des creux, ce qui induit des fluctuations et des effets de fin de dose ainsi que des dyskinésies. D'ailleurs, les formulations de lévodopa permettant une stimulation plus continue telles que l'infusion intrajéjunale ou la lévodopa à libération contrôlée ou prolongée ont démontré une bonne efficacité tout en améliorant ou du moins en évitant l'aggravation des complications motrices telles les fluctuations complexe et parfois les dyskinésies [130, 138, 140, 146-148].

La lévodopa étant un précurseur de la dopamine, son action neurologique reflète l'action physiologique de la dopamine, stimulant les différents récepteurs dopaminergiques

de la famille D1 (les récepteurs D1 et D5) et de la famille D2 (les récepteurs D2, D3 et D4). Or, plusieurs éléments portent à penser que les récepteurs D1 seraient particulièrement impliqués dans le développement des dyskinésies. L'administration de fortes doses de lévodopa est un facteur de risque du développement des dyskinésies puisque cela causerait une surstimulation des récepteurs D1. Ces récepteurs ne sont d'ailleurs généralement pas ciblés par les agonistes dopaminergiques, ceux-ci ciblant davantage la famille des récepteurs de type D2. Cette différence pourrait expliquer le fait que la majorité des agonistes n'induisent que peu ou pas de dyskinésies. De plus dans les modèles animaux, l'inactivation des récepteurs D1 bloque certaines chaînes de signalisation et prévient la manifestation des dyskinésies induites par la lévodopa [138, 144, 149, 150]. L'activation sélective des récepteurs D1 aurait aussi induit des dyskinésies dans un petit groupe de patients, similaire à ce qui est observé avec la lévodopa [151].

Quelques études ont également observé que le traitement à la lévodopa induirait des changements dans la plasticité synaptique et l'expression des différents types de récepteurs dopaminergiques, ce qui affecterait la transmission dopaminergique et d'autres systèmes de transmission, pouvant mener au développement des dyskinésies [152-154].

Différentes hypothèses concernant l'implication du système sérotoninergique sont considérées. La dopa-décarboxylase transformant la lévodopa en dopamine est également présente dans les neurones sérotoninergiques, transformant la 5-hydroxy-L-tryptophane en sérotonine. Ces neurones ont alors également la capacité de transformer la lévodopa en dopamine sans toutefois avoir les outils d'autorégulation et de transmission physiologique requis. Des fluctuations et dyskinésies peuvent donc résulter de cette dopamine extracellulaire générée par les neurones sérotoninergiques. Il a été observé qu'une stimulation des récepteurs présynaptiques 5-HT_{1A} réduit la libération anormale de dopamine et réduit les dyskinésies. En plus de cette production anormale de lévodopa, des changements au niveau des transporteurs et de l'expression des récepteurs sérotoninergiques seraient également présents dans le développement des dyskinésies [138, 140, 155].

Le système glutamatergique est impliqué de différentes façons dans le développement des dyskinésies. Une surexpression des récepteurs NMDA est observée, ainsi que des changements dans certaines sous-unités. L'amantadine, un médicament antiparkinsonien aux actions multiples, serait bénéfique dans la réduction des dyskinésies tout en améliorant les symptômes parkinsoniens. Or, un de ses mécanismes observés est l'antagonisme des récepteurs NMDA [140, 156]. Il est intéressant de constater que les voies de signalisation sous-jacentes à l'activation de ces récepteurs seraient liées aux voies des récepteurs D1, ces récepteurs ayant même un rôle dans la réponse médiée par le récepteur NMDA [149]. D'autres traitements permettant une réduction de la transmission glutamatergique, tels que le safinamide qui a démontré un effet de réduction de la libération du glutamate, ont également démontré dans les études animales une réduction des dyskinésies induites par la lévodopa [157]. L'efficacité du safinamide a également été observée dans une petite étude sur 20 patients parkinsoniens [158].

La signalisation glutamatergique jouerait également un rôle dans l'efficacité de la stimulation cérébrale profonde pour les dyskinésies, particulièrement au niveau du noyau sous-thalamique [159, 160]. Un déséquilibre dans les transmissions de la voie directe et indirecte serait également impliqué dans le développement des dyskinésies, ceci étant discuté au chapitre 1.5.2

Les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluRs) sont impliqués dans le développement ou la manifestation de dyskinésies issues de la lévodopa et ont un grand potentiel en tant que cible thérapeutique, ceci étant détaillé au chapitre 1.5

Les traitements pour les dyskinésies dans la MP discutés plus haut sont limités, et les stratégies de gestion clinique varient en fonction des patients et de leurs symptômes au cours de la maladie. Une des premières actions considérées est la réduction de la dose de lévodopa, ceci pouvant toutefois induire une détérioration motrice. Diverses formulations permettant la libération constante ou prolongée de lévodopa peuvent également aider à limiter les dyskinésies. L'ajout d'amantadine permet une amélioration des dyskinésies pour certains patients. L'administration de faibles doses de clozapine, un antipsychotique, serait potentiellement bénéfique par une action antagoniste des récepteurs 5-HT_{2A}. Le système

glutamatergique est quant à lui de plus en plus ciblé dans les recherches pour le traitement des dyskinésies et autres complications motrices (voir Chapitre 1.5).

1.3.2. Hallucinations et symptômes psychotiques

1.3.2.1. Symptômes et impact

Dans la MP, les symptômes non-moteurs sont tout aussi problématiques que les symptômes moteurs, parfois étant même plus contraignants et perturbateurs de la qualité de vie des patients parkinsoniens et de leurs proches. La psychose parkinsonienne est parmi les symptômes psychiatriques les plus problématiques et les plus complexes à traiter dans la MP. Sa prévalence varie selon les études, allant de 26% à plus de 60% des patients lorsque les symptômes psychotiques mineurs sont pris en compte. Les troubles psychotiques sont associés à une diminution du fonctionnement et de la qualité de vie des patients [161, 162].

La définition de psychose dans la MP a évolué, parlant aujourd'hui d'un spectre de la psychose qui regroupe plusieurs symptômes progressant avec la sévérité de la maladie. Les symptômes de psychose parkinsonienne sont généralement ce qu'on appelle des symptômes positifs, issus d'une activation excessive dans le cerveau. Dans la MP, ceux-ci incluent les illusions et hallucinations, principalement visuelles et parfois auditives, et les délires. Pour un diagnostic de psychose parkinsonienne, ces symptômes doivent se manifester après le diagnostic de MP et durer au moins 1 mois, en plus de n'avoir aucune autre cause potentielle pouvant expliquer leur observation [162, 163].

Les HVs sont le symptôme psychotique le plus communément observé, présent chez 16 à 38% des patients. Lors de la considération d'une définition plus large des hallucinations pour y inclure les hallucinations mineures et illusions, ce chiffre monte à 50 à 70% des patients. Parmi ses principaux facteurs de risque, on retrouve une durée et sévérité de maladie avancée et une dose équivalente de lévodopa élevée. Le développement d'hallucinations est quant à lui prédicteur d'une détérioration cognitive jusqu'à un possible développement de démence et un risque de mortalité augmenté [38, 162].

L'implication des traitements antiparkinsoniens dans le développement des hallucinations et autres symptômes psychotiques demeure incertaine, les résultats de plusieurs études étant non-concluants. Ces traitements sont en effet considérés comme un facteur de risque, particulièrement la lévodopa et les agonistes dopaminergiques, mais ne provoqueraient pas nécessairement des hallucinations sans autres facteurs sous-jacents. Ils seraient plutôt problématiques dans les populations à risque et précipiteraient l'apparition des symptômes psychotiques dans ce cas-ci [38, 162]. La lévodopa administrée aux patients à des stades avancés, à un âge avancé, avec des troubles cognitifs ou autres facteurs de risques peut alors provoquer ou exacerber des hallucinations et autres symptômes psychotiques dans la MP, son utilisation pour un traitement optimal devenant alors difficile.

1.3.2.2. Pathophysiologie et hypothèses

Le système dopaminergique a longtemps été considéré comme l'élément principal dans le développement des symptômes psychotiques. Il est aujourd'hui compris que ce serait plutôt une interaction entre plusieurs facteurs et systèmes de neurotransmission qui induirait des hallucinations et symptômes psychotiques. Une des principales difficultés dans l'étude des hallucinations et de la psychose parkinsonienne est le manque de modèles animaux validés pour son évaluation, la majorité des observations venant d'études chez les patients.

Au niveau anatomique, le lobe temporal serait impliqué dans les HVs, ce qui n'est pas étonnant puisque celui-ci contribue normalement à la reconnaissance et au traitement de l'information visuelle. Le système limbique serait également impliqué dans les HVs, l'amygdale ayant démontré des accumulations de CLs plus importantes chez des patients parkinsoniens présentant des HVs. Le cortex préfrontal joue un rôle important dans le traitement de l'information et aurait un rôle dans l'apparition d'HVs. De manière générale, les études d'imagerie ont observé une atrophie dans les régions impliquées dans le traitement visuel et une baisse de fonction dans plusieurs régions corticales. L'hippocampe est également considéré parmi les régions cérébrales affectées lors de la présence d'HVs et de symptômes psychotiques. Tous ces résultats demeurent toutefois variables selon les études et les méthodologies utilisées dans les projets de recherche, ce qui rend difficiles les généralisations et l'établissement clair du processus pathologique sous-jacent à l'apparition d'hallucinations et de symptômes psychotiques dans la MP [38, 162, 164].

Les ganglions de la base grandement impliqués dans la MP sont bien connus pour participer à la transmission de signaux moteurs. Or, ceux-ci sont également impliqués dans la signalisation vers des régions principalement visuelles. Une boucle corticostriatale visuelle jouant un rôle dans la reconnaissance et discrimination de signaux visuels a été identifiée. Le cortex temporal visuel (inféro-latéral) enverrait des signaux à des régions du striatum, le signal continuant alors vers le GP, la SN et le thalamus pour ensuite revenir aux régions corticales, dont le cortex orbito-frontal. Ces différentes régions font partie de la boucle potentiellement d'intérêt dans la formation d'HVs [165, 166].

Plusieurs psychoses telles que la schizophrénie sont issues d'un excès de dopamine et l'utilisation d'antagonistes dopaminergiques permet le rétablissement de certains symptômes. Le récepteur D2 serait particulièrement d'intérêt, ce qui est clairement problématique dans la MP puisque celui-ci est également impliqué dans les fonctions motrices et son activation est même favorisée dans cette maladie. Une des principales stratégies thérapeutiques de la schizophrénie devient alors inenvisageable pour traiter les symptômes psychotiques dans la MP. Toutefois, l'implication du système dopaminergique dans le développement des symptômes est également plausible dans la MP. Un changement dans la distribution des récepteurs dopaminergiques et la formation d'hétérodimères seraient évalués dans les modèles animaux [162].

Le système cholinergique serait quant à lui plutôt impliqué dans les délires des troubles de démence issus de mécanismes différents de la psychose parkinsonienne et répondant généralement bien au traitement à la rivastigmine, un inhibiteur de la cholinestérase [38, 162].

Dans le système sérotoninergique, les récepteurs 5-HT_{2A} sont particulièrement d'intérêt puisque le mécanisme d'action des antipsychotiques utilisés dans le traitement de la psychose parkinsonienne lorsque ceux-ci sont administrés à de faibles doses est l'antagonisme des 5-HT_{2A}/5-HT_{2C}. Ceci a mené à l'investigation de molécules bloquant ces récepteurs, parmi lesquelles la pimavensérine. Cet agoniste inverse des récepteurs 5-HT_{2A} a démontré son efficacité et a été approuvé pour le traitement des hallucinations et délires se manifestant dans la MP, ce qui confirme l'implication du récepteur ciblé dans les HVs [167, 168]. Les récepteurs 5-HT_{2A} ont également été impliqués dans l'action psychédélique et hallucinogène de certaines drogues [169-171]. Il est intéressant de noter que ces récepteurs couplés aux protéines G régulent plusieurs voies de signalisation et interagissent avec divers systèmes de neurotransmission, dont le système glutamatergique [172-174].

Parmi les interactions observées, le complexe du récepteur 5-HT_{2A} avec certains mGluRs aurait une implication fonctionnelle particulièrement d'intérêt dans les symptômes psychotiques [175]. Cette interaction a fait du système glutamatergique une

cible dans la recherche pour les hallucinations et symptômes psychotiques. De plus, une réduction des niveaux de glutamate dans le striatum lors de la présence de psychose parkinsonienne a été observée, ceci s'opposant toutefois à d'autres observations d'une hyperactivité glutamatergique dans certaines régions cérébrales [38, 162]. Les mécanismes exacts impliquant la transmission glutamatergique dans le développement des hallucinations visuelles et de la psychose parkinsonienne demeurent incertains, mais plusieurs éléments laissent penser que les récepteurs métabotropiques glutamatergiques seraient une cible d'intérêt. Ce sujet est abordé davantage au chapitre 1.5

1.4. Modèles animaux dans la maladie de Parkinson

La MP est une maladie à caractère hétérogène dont les symptômes, l'âge au diagnostic et le taux de progression varient énormément. Ce caractère requiert l'utilisation d'une variété de modèles animaux pour étudier et comprendre les différents aspects de la maladie. Pour cet effet, plusieurs modèles basés sur des approches génétiques ou par exposition à des neurotoxines ont été mis au point [176-178].

Plusieurs neurotoxines peuvent modéliser la neurodégénérescence dopaminergique causée par les facteurs environnementaux impliqués dans la MP. Ils induisent généralement une perte rapide des cellules neuronales dans la SNpc, provoquant ainsi des symptômes moteurs et certains changements comportementaux, mais sans formation de CLs [179]. En revanche, les modèles basés sur la génétique démontrent non seulement une perte des cellules neuronales et des symptômes moteurs, mais peuvent également présenter des protéinopathies dont une pathologie liée à l' α -synucléine, dépendamment du modèle génétique spécifié. Des mutations génétiques ou des changements dans l'expression génique peuvent être modélisés à l'aide d'animaux transgéniques ou être induits par transfection virale. Parmi les modèles animaux génétiques prometteurs, on retrouve les modèles ciblant le gène *SNCA* permettant la production de l' α -synucléine. La formation d'agrégats d' α -synucléine suite à des mutations sur ce gène est utile pour certaines études [178].

Les neurotoxines et les approches génétiques sont appliquées à différentes espèces animales pour modéliser la MP. Les modèles neurotoxiques demeurent toutefois plus accessibles et rapides à obtenir, étant souvent préférés dans les projets de recherche, dépendamment de l'objectif de recherche.

1.4.1. Modèles neurotoxiques

Il existe plusieurs modèles de MP basés sur l'administration locale ou systémique de neurotoxines permettant d'induire la dégénérescence des neurones dopaminergiques. La 6-OHDA, initialement utilisée pour induire la dégénérescence de nerfs périphériques [180], est ensuite utilisée dans le cerveau pour modéliser la MP. La neurotoxine MPTP, découverte suite à des cas de parkinsonisme chez de jeunes utilisateurs de drogue

intraveineuse, est également largement utilisée pour générer des modèles animaux de parkinsonisme [181]. En plus de ces 2 toxines couramment utilisées, d'autres modèles basés sur des neurotoxines ont été générés et validés grâce à l'identification du risque de développement de MP lié à l'exposition aux pesticides utilisés en agriculture [182] (Table 2). Le choix du modèle animal dépend évidemment des objectifs de recherche et des limitations de chaque projet.

Table 2 : Description et évaluation de modèles animaux neurotoxiques communs dans la MP

Modèle	Phénotype	Utilisation	Limitation	Références*
MPTP : Inhibition du complexe I	<u>Dose aiguë :</u> - Pas d'agrégats d' α -synucléine. - Dégénérescence des neurones dopaminergiques. - Déficit moteur. <u>Dose chronique :</u> - Agrégats d' α -synucléine. - Maladie progressive. - Pas de dégénérescence des neurones dopaminergiques. - Pas de déficit moteur.	- Modèle préclinique commun. - Injection systémique. - Utilisé chez les souris et les primates.	- Les rats y sont résistants. - Récupération fonctionnelle chez la souris et les primates.	(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7)
6-OHDA : Inhibition du complexe I et stress oxydatif	Lésion dépendante du site d'injection : - Pas d'agrégats d' α -synucléine. - Dégénérescence des neurones dopaminergiques. - Déficit moteur.	- Modèle préclinique commun chez le rat. - Injection intracrânienne dans la SNpc, le striatum ou le faisceau prosencéphalique médian. - Hémiparkinsonisme.	- Procédure chirurgicale complexe.	(4) (5) (8)
Roténone : Inhibition du complexe I	- Agrégats d' α -synucléine. - Dégénérescence modérée des neurones dopaminergiques. - Quelques déficits moteurs.	- Modéliser les risques environnementaux. - Évaluer le risque des pesticides.	- La toxicité chez l'humain reste controversée.	(9) (10)
Paraquat et Maneb : Stress oxydatif	- Agrégats d' α -synucléine. - Faible neurodégénérescence dopaminergique. - Faible déficit moteur.	- Modéliser les risques environnementaux. - Évaluer le risque des pesticides.	- La toxicité chez l'humain reste controversée. - Des doses élevées de paraquat provoquent une fibrose pulmonaire .	(10) (11) (12) (13) (14)

***Références**

- 1- Marco Sedelis, Rainer K.W Schwarting, Joseph P Huston, Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease, *Behavioural Brain Research*, Volume 125, Issues 1–2, 2001, Pages 109-125, ISSN 0166-4328
- 2- Susan H. Fox, Jonathan M. Brotchie, Chapter 7 - The MPTP-lesioned non-human primate models of Parkinson's disease. Past, present, and future, Editor(s): Anders Björklund, M. Angela Cenci, *Progress in Brain Research*, Elsevier, Volume 184, 2010, Pages 133-157, ISSN 0079-6123, ISBN 9780444537508
- 3- Jackson-Lewis, V., Przedborski, S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Nat Protoc* **2**, 141–151 (2007).
- 4- William Dauer, Serge Przedborski, Parkinson's Disease: Mechanisms and Models, *Neuron*, Volume 39, Issue 6, 2003, Pages 889-909, ISSN 0896-6273,
- 5- Vernice Jackson-Lewis, Javier Blesa, Serge Przedborski, Animal models of Parkinson's disease, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 18, Supplement 1, 2012, Pages S183-S185, ISSN 1353-8020,
- 6- Zhang, Qs., Heng, Y., Mou, Z. et al. Reassessment of subacute MPTP-treated mice as animal model of Parkinson's disease. *Acta Pharmacol Sin* **38**, 1317–1328 (2017).
- 7- Giovanni A, Sieber BA, Heikkila RE, Sonsalla PK. Studies on species sensitivity to the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Part 1: Systemic administration. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994 Sep;270(3):1000-7. PMID: 7932147.
- 8- Schober, A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Res* **318**, 215–224 (2004).
- 9- Betarbet, R., Sherer, T., MacKenzie, G. et al. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* **3**, 1301–1306 (2000).
- 10- Berry, C., La Vecchia, C. & Nicotera, P. Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death Differ* **17**, 1115–1125 (2010).
- 11- Dafna Bonne-Barkay, Stephen H. Reaney, William J. Langston, Donato A. Di Monte, Redox cycling of the herbicide paraquat in microglial cultures, *Molecular Brain Research*, Volume 134, Issue 1, 2005, Pages 52-56, ISSN 0169-328X,
- 12- Mona Thiruchelvam, Eric K. Richfield, Raymond B. Baggs, Arnold W. Tank, Deborah A. Cory-Slechta *Journal of Neuroscience* 15 December 2000, 20 (24) 9207-9214; DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-24-09207.2000
- 13- A. Tinakoua, S. Bouabid, E. Faggiani, P. De Deurwaerdère, N. Lakhdar-Ghazal, A. Benazzouz, The impact of combined administration of paraquat and maneb on motor and non-motor functions in the rat, *Neuroscience*, Volume 311, 2015, Pages 118-129, ISSN 0306-4522,
- 14- Uversky, V.N. Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. *Cell Tissue Res* **318**, 225–241 (2004).

1.4.1.1. MPTP

Le MPTP est une neurotoxine couramment utilisée pour modéliser la MP et peut être administré de manière aiguë ou chronique par différentes voies [183]. Il traverse facilement la BHE en raison de sa nature lipophile. Les cellules gliales absorbent le MPTP, où il est d'abord converti en 1-méthyl-4-phényl-2,3-dihydropyridinium (MPDP⁺) par la MAO B et subi une oxydation spontanée le transformant en 1-méthyl-4-phénylpyridinium (MPP⁺), un agent toxique [184]. Une fois ce dernier relâché dans le parenchyme par le transporteur de cations organiques 3, le MPP⁺ est transporté sélectivement dans les cellules dopaminergiques par le DAT et s'accumule dans le cytoplasme et dans les vésicules par le transporteur de monoamine vésiculaire (VMAT) [185]. Le MPP⁺ bloque le complexe mitochondrial I, ce qui réduit la production d'adénosine triphosphate (ATP), augmente le stress oxydatif et finit par provoquer de la neuroinflammation et finalement une mort cellulaire [184]. Ce mécanisme d'action a contribué à l'étude de la neurodégénérescence dopaminergique, du dysfonctionnement mitochondrial, du stress oxydatif et de la neuroinflammation dans la MP.

Modéliser la MP avec le MPTP est couramment utilisé chez les souris et les primates. Cependant, cette méthode est moins utilisée chez les rats à cause de la résistance de ces derniers aux doses modérées de MPTP. Une forte présence de MAO dans la BHE serait à l'origine de cette résistance, transformant le MPTP avant son passage dans le cerveau [60].

Dans la recherche scientifique, la fiabilité et l'accessibilité du modèle MPTP de souris en fait un choix populaire pour étudier la MP. Le plus souvent, les souris reçoivent une dose aiguë de MPTP par injection intrapéritonéale, ce qui provoque une perte de neurones dopaminergiques particulièrement dans la SNpc [179]. La neurodégénérescence se produit en quelques heures et se stabilise en environ 7 jours. Quatre injections à intervalles de 2 heures de MPTP (jusqu'à 20 mg/kg) provoquent 90% de déplétion striatale de dopamine et 70% de perte de neurones dopaminergiques dans la SNpc sans agrégats d' α -synucléine [183]. La dégénérescence dopaminergique induite par MPTP chez la souris est bien corrélée aux déficits moteurs. Cependant, ces déficits peuvent se rétablir en quelques jours après l'injection aiguë, ce qui limite la durée des études comportementales [186]. Comme alternative au modèle de souris aigu, la répétition quotidienne des injections, soit un traitement subaigu, entraîne une

neurodégénérescence nigrostriée retardée et une accumulation progressive d'inclusions d' α -synucléine [187]. La nature progressive de l'exposition prolongée au MPTP chez la souris apporte une meilleure validité d'aspect, avec une progression ressemblant à la MP, incluant la neuroinflammation, la pathologie d'inclusion de l' α -synucléine et le mécanisme moléculaire précédant la mort cellulaire. En revanche, ce modèle progressif ne montre pas de déficits moteurs apparents. L'utilisation de modèles de MPTP chez la souris dépend alors grandement des objectifs de recherche.

Le MPTP est également grandement utilisé chez les primates. Ce modèle de MP a été entre autres utile pour évaluer plusieurs médicaments antiparkinsoniens, dont la lévodopa et les agonistes dopaminergiques [188]. Le MPTP peut provoquer une dégénérescence dopaminergique dose-dépendante dans SNpc. La neuropathologie et les symptômes observés ressemblent aux observations chez les patients parkinsoniens, avec une réponse aux traitements également similaire [189]. De plus, comme chez les patients parkinsoniens, l'administration de la lévodopa rétablit initialement le déficit moteur dans les modèles de primates lésés au MPTP, mais une utilisation prolongée provoque l'apparition d'effets adverses, particulièrement les comportements dyskinétiques [190, 191]. Chez les marmousets, les phénotypes d'effets secondaires observés incluent également des comportements similaires à la psychose parkinsonienne, un autre effet adverse du traitement chronique à la lévodopa observé chez les patients. Ainsi, la ressemblance des modèles MPTP chez les primates avec la MP chez l'humain les rend idéaux pour la recherche préclinique de stratégies thérapeutiques avec leur bonne validité d'aspect et prédictive, le cout élevé et les installations particulières requises demeurant une limite à leur utilisation [60, 192].

1.4.1.2. 6-OHDA

La 6-OHDA est un analogue de la dopamine et de la noradrénaline qui ne traverse pas la BHE, requérant ainsi une administration locale directement dans le cerveau pour induire de la neurodégénérescence. La molécule pénètre dans les neurones dopaminergiques et noradrénergiques à l'aide des transporteurs de monoamines. Par conséquent, l'ajout d'inhibiteurs de la recapture noradrénergique tels que la désipramine lors de l'injection de 6-OHDA est utilisée pour cibler sélectivement les neurones dopaminergiques [193]. La 6-OHDA

induit la mort cellulaire par stress oxydatif en inhibant le complexe mitochondrial I et en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ERO). D'ailleurs, plusieurs agents antioxydants ont démontré un effet protecteur contre la 6-OHDA [181]. La toxicité de la molécule est catalysée par le fer, les agents chélateurs du fer telle la vitamine E pouvant interférer avec cette toxicité [181].

Chez les primates et les rongeurs, l'injection intracérébrale unilatérale de 6-OHDA permet de cibler la SNpc, le striatum ou le faisceau prosencéphalique médian [184], générant ainsi des modèles hémiparkinsoniens [181]. Contrairement aux injections unilatérales, les injections bilatérales provoquent souvent une mortalité élevée, ce qui en fait un choix moins commun [185]. Chez les rongeurs, les injections unilatérales entraînent une asymétrie dans les déficits moteurs et un comportement de rotation. Ceux-ci répondent bien au traitement à la lévodopa et manifestent des phénotypes reflétant les dyskinésies induites par la lévodopa, ce qui en fait un modèle de choix pour les études sur ce sujet [184]. La méthode d'injection unilatérale permet également l'utilisation comme contrôle interne des membres ipsilatéraux non lésés. Chez le primate, une série d'injections de 6-OHDA est nécessaire pour induire des complications [190]. Chez les marmousets, 9 injections striatales de 6-OHDA induisent un comportement de rotation indiquant une lésion nigrostriée unilatérale, mais les symptômes se rétablissent après 10 semaines. L'augmentation du nombre d'injections semble retarder la récupération fonctionnelle, mais n'induit pas la formation d'inclusions d' α -synucléine. Ce modèle est utilisé pour étudier l'hyperactivité du NST, les dyskinésies, l'anhédonie et les comportements dépressifs [178]. Ce dernier modèle est aussi utilisé pour développer des traitements, tels que le DBS (*deep brain stimulation*), les agents neuroprotecteurs, la transplantation et les thérapies géniques [194, 195].

Le choix du site d'injection de la 6-OHDA est d'intérêt. Une injection dans la SN induit une mort neuronale dopaminergique plus sévère et rapide qu'une injection dans le striatum, où une mort neuronale plus faible évoluant sur une plus longue période est observée. L'injection au niveau du faisceau prosencéphalique médian droit cause une perturbation de la voie nigrostriée issue d'une mort neuronale relativement rapide dans la SN suivie de lésions axonales

dans le striatum, avec une atteinte moindre ou minime de l'aire tegmentale ventrale [178, 196, 197].

1.4.2. Particularité de l'étude des symptômes psychotiques

Contrairement aux symptômes moteurs et complications motrices, une des grandes difficultés dans la recherche sur les symptômes psychotiques et les hallucinations dans la MP réside dans le choix limité des modèles animaux validés permettant une bonne évaluation de ces phénotypes. Seulement certains primates non-humains peuvent manifester des comportements évoquant les symptômes neuropsychiatriques observés chez les patients parkinsoniens, incluant les comportements stéréotypés et même les HVs. L'induction de ces comportements suite à certains traitements chroniques entre autres avec l'amphétamine a été d'un grand apport dans le développement de ces modèles animaux [198]. Malgré la présence de certains modèles animaux validés utilisés en schizophrénie ou autres maladies psychiatriques, ceux-ci ne reflètent pas automatiquement les caractéristiques physiques et neurobiologiques particulières des symptômes psychotiques de la MP, dans laquelle une administration exogène de médicaments dopaminergiques peut jouer un rôle.

Le marmouset est le seul modèle animal ayant une échelle validée pour l'évaluation de phénotypes ressemblant aux symptômes psychotiques de la MP (Table 3). Plusieurs de ces comportements ont été initialement utilisés dans la recherche sur la schizophrénie, et l'établissement d'une échelle caractéristique aux particularités de la MP et de son traitement a grandement facilité l'évaluation de nouveaux traitements et nouvelles cibles thérapeutiques pour la psychose parkinsonienne [198, 199].

Table 3 : Résumé de l'échelle d'évaluation des comportements de type psychotiques chez le marmouset lésé au MPTP

Phénotype	Score du dysfonctionnement
1- Hyperkinésie : l'animal a une activité motrice excessive et plus rapide que la normale	0 : Normal 1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal 2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal

	<p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p>
2- Réponse à un stimulus non-apparent : l'animal regarde de façon soutenue dans le vide ou poursuit un élément invisible (similaire à une hallucination visuelle)	<p>0 : Normal</p> <p>1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p>
3- Toilettage excessif : l'animal procède à un toilettage ou grattage répété	<p>0 : Normal</p> <p>1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p>
4- Stéréotypies : l'animal a un comportement répétitif tel que sauter, tourner en cercle ou tapoter avec ses pattes.	<p>0 : Normal</p> <p>1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et n'affectant pas le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et affectant le fonctionnement normal de l'animal</p>

Les phénotypes de type psychotique observés dans cette échelle commencent généralement à se manifester dès les premiers jours, alors que les comportements de type dyskinétique s'amplifient suite à plusieurs doses administrées de lévodopa. L'état pathologique des animaux suite au traitement au MPTP aurait également une influence sur la manifestation de certains phénotypes de type psychotique, ceux-ci n'étant pas observés lors de l'administration de lévodopa à des marmousets sains sans lésions [198, 199]. Ce modèle animal est alors parfait pour l'étude des symptômes psychotiques et des dyskinésies issues de l'administration de lévodopa chronique, la corrélation avec les observations cliniques étant grande.

1.5. Le système glutamatergique

1.5.1. Récepteurs et transmission glutamatergiques

La transmission glutamatergique est la principale transmission excitatrice du système nerveux. On retrouve deux catégories de récepteurs glutamatergiques, les récepteurs ionotropiques et métabotropiques. Parmi les récepteurs ionotropiques, on retrouve les récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionate (AMPA) formés de 4 sous-unités et considérés comme des récepteurs à transmission rapide. Ceux-ci ont un cycle de recyclage et recrutement très rapide, permettant une plasticité synaptique et un apprentissage efficace. Lorsqu'ils sont activés par le glutamate, ceux-ci deviennent perméables aux cations, permettant une dépolarisation rapide des neurones [200].

Les récepteurs AMPA aident également à l'activation des récepteurs NMDA. Formés de plusieurs sous-unités, ces derniers sont à l'état basal bloqués par des ions magnésium qui se délogent uniquement lors de la dépolarisation du neurone entre autres suite à l'activation des récepteurs AMPA. Son activation requiert la liaison du glutamate et de la glycine afin de permettre l'entrée du calcium dans le neurone. Cette entrée de calcium mène à une dépolarisation encore plus importante et plus prolongée du neurone, mais aussi à l'activation de différentes cascades de signalisation [201, 202].

Le troisième groupe de récepteurs ionotropiques est composé des récepteurs kaïnates. Sous forme généralement tétramérique, ceux-ci ont plusieurs similitudes avec les récepteurs AMPA. Leur activation postsynaptique permet une entrée des cations et une transmission d'influx alors que l'activation des récepteurs présynaptiques aide à contrôler la libération de neurotransmetteurs, entre autres l'acide γ -aminobutyrique (GABA) [203].

En général, les récepteurs ionotropiques sont excitateurs, permettant la transmission rapide et prolongée du signal dans de multiples régions du système nerveux. Les récepteurs métabotropiques sont quant à eux couplés aux protéines G et classés en 3 différents groupes selon leur homologie (Table 4).

Table 4 : Récepteurs glutamatergiques métabotropiques et leurs fonctions

Groupe	Récepteurs	Localisation	Protéine G et fonction principale
Groupe I	mGluR1, mGluR5	postsynaptique	- Gαq - Stimulation de PLC et d'AC dans certains cas - ↗ du calcium intracellulaire
Groupe II	mGluR2, mGluR3	Principalement présynaptique, aussi postsynaptique	- Gαi/o - Inhibition d'AC - ↓ de la libération de neurotransmetteurs
Groupe III	mGluR4, mGluR7, mGluR8	Principalement présynaptique	- Gαi/o - Inhibition d'AC - ↓ de la libération de neurotransmetteurs
	mGluR6	Principalement postsynaptique	- mGluR6 : Stimulation de GMPc phosphodiesterase

Le groupe I inclut les récepteurs mGluR1 et mGluR5 couplés à la protéine Gαq dont l'activation induit une augmentation du calcium intracellulaire par l'intermédiaire de la stimulation de la phospholipase C (PLC). Ceux-ci sont principalement localisés en postsynaptique et dans l'espace extracellulaire. Leur localisation cérébrale est principalement au niveau de l'hippocampe et du cortex cérébral, généralement sur des neurones GABAergiques [204-206].

Le groupe II inclue les récepteurs mGluR2 et mGluR3, deux récepteurs particulièrement présents en présynaptique. Étant principalement autorécepteurs, leur fonction est plutôt inhibitrice de la libération des neurotransmetteurs par l'intermédiaire de leur liaison à la protéine Gαi/o qui inhibe l'adénylate cyclase (AC). Les mGluR2 sont principalement observés sur les neurones alors que les mGluR3 peuvent également se trouver sur des cellules gliales. Les récepteurs du groupe II sont généralement sous forme de dimères, leur localisation variant selon la formation d'homodimères (complexe de deux récepteurs similaires), d'hétérodimères (complexe de deux récepteurs différents) avec d'autres mGluR ou d'hétérodimères avec d'autres types de récepteurs non-glutamatergiques. Généralement, ils sont observés sur les terminaisons corticostriées, les terminaisons des interneurons cholinergiques et sur les neurones

GABAergiques. Ceux-ci sont particulièrement d'intérêt dans la MP à cause de leur forte expression dans le striatum et les ganglions de la base en général [204, 205, 207].

Le groupe III inclut tous les autres récepteurs métabotropiques, dont le mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8. Ils sont principalement localisés en présynaptique et permettent également l'inhibition de l'AC. Des observations indiquent également que certains de ces récepteurs ont une fonction d'hyperpolarisation lorsqu'ils sont postsynaptiques [204, 205].

Formé à l'intérieur des neurones, le glutamate est transporté et entreposé dans des vésicules par le transporteur VGLUT. On retrouve 3 types de VGLUT, le VGLUT1 et le VGLUT2, spécifiques aux neurones glutamatergiques, ainsi que le VGLUT3 dont la localisation est moins spécifique aux neurones glutamatergiques. La décharge du glutamate des neurones se fait suite à l'arrivée d'un signal exciteur permettant la fusion des vésicules à la membrane des terminaisons neuronales et la libération du glutamate dans la fente synaptique. La recapture du glutamate se fait ensuite à l'aide de l'un des 5 sous-types de transporteurs membranaires EAAT dépendants du sodium. La grande majorité du glutamate est recapturé au niveau des cellules gliales par les sous-types de transporteurs EAAT communément appelés GLAST et GLT-1. Le glutamate est ensuite converti en glutamine qui est libérée par les cellules gliales et recapturée par les terminaisons neuronales à l'aide d'autres transporteurs. Une reprise du cycle est alors possible, avec la reconversion de la glutamine en glutamate et la capture vésiculaire de celui-ci par le VGLUT. Une petite partie du glutamate libéré dans la fente synaptique est également recapturé directement par les terminaisons neuronales à l'aide d'autres sous-types de EAAT [207-209].

1.5.2. Récepteurs glutamatergiques et leur potentiel thérapeutique dans les complications de la lévodopa chronique (dyskinésies et symptômes psychotiques)

Plusieurs éléments ont apporté une attention particulière au système glutamatergique dans la recherche sur les complications issues du traitement chronique à la lévodopa.

Le blocage des récepteurs NMDA semble apporter un contrôle des dyskinésies dans la MP. L'amantadine serait un exemple de l'implication de ce récepteur. L'efficacité de ce traitement dans les modèles animaux ainsi que chez les patients parkinsoniens a été démontrée, avec une réduction significative du score des dyskinésies ainsi que du temps avec présence de dyskinésies. Cet effet antidyskinétique serait associé à l'antagonisme du récepteur NMDA, l'amantadine ayant tout de même plusieurs autres cibles d'action pouvant contribuer à son effet [210]. Cette efficacité est limitée, n'empêchant pas complètement l'apparition des dyskinésies. Certaines observations indiquent également que l'effet anti-dyskinétique de l'amantadine serait limité dans le temps, avec une réduction de son efficacité après quelques mois ou quelques années. De plus, des effets secondaires sont observés avec ce traitement, dont les hallucinations et les vertiges [140, 211].

Les mécanismes sous-jacents exacts expliquant l'effet anti-dyskinétique de l'amantadine ne sont toujours pas complètement compris. Plusieurs observations laissent penser qu'il s'agirait entre autres de son activité d'antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA. Des études animales sur des rats dyskinétiques ont observé une augmentation des sous-unités GluN2A et une réduction des sous-unités GluN2B des récepteurs NMDA, induisant divers changements dans les signalisations sous-jacentes. L'antagonisme de ces récepteurs par l'amantadine permettrait de rétablir une modulation glutamatergique perturbée et d'améliorer l'interaction entre la signalisation glutamatergique et GABAergique [212, 213].

La transmission issue de l'activation des récepteurs AMPA serait également augmentée lors du développement des dyskinésies. Quelques études sur les animaux et dans de petits groupes de patients ont évalué l'effet sur les dyskinésies du topiramate, un médicament agissant sur les récepteurs GABAergiques et les récepteurs AMPA. Les résultats actuellement

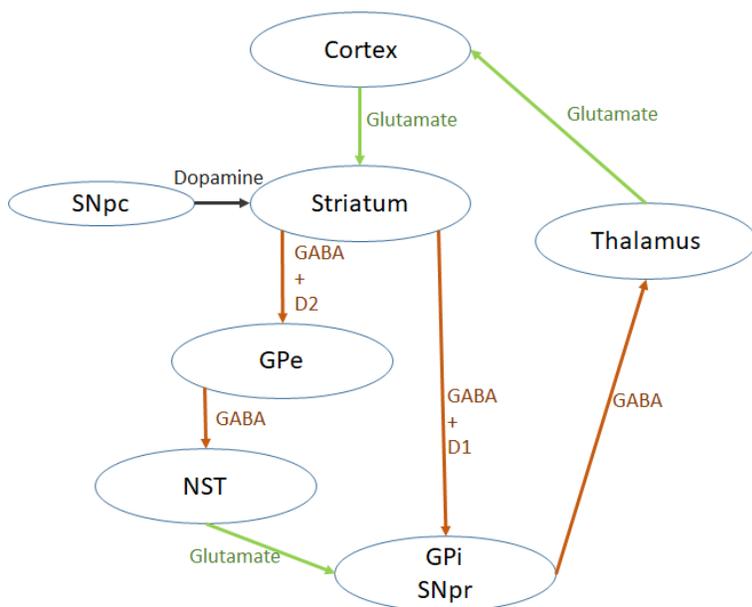
disponibles ne démontrent généralement pas ou peu d'effets bénéfiques cliniquement valides contre les dyskinésies malgré des résultats prometteurs sur les animaux [214-216].

Le safinamide a démontré une efficacité pour la réduction des dyskinésies, son potentiel thérapeutique pouvant être lié à son action inhibitrice de la libération du glutamate et donc la réduction de la transmission glutamatergique. Les résultats demeurent préliminaires et le mécanisme exact permettant un effet bénéfique est encore peu compris [157, 158].

Les dyskinésies induites par le traitement à la lévodopa sont associées à une augmentation du glutamate dans certaines régions cérébrales, dont le striatum, une observation faite dans les modèles animaux ainsi que chez les patients. Cette augmentation perturberait l'équilibre des signaux activateurs et inhibiteurs issus de la voie directe et la voie indirecte de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale, dont le glutamate est un médiateur important [159].

La transmission des signaux dans cette boucle est principalement médiée par le système glutamatergique et le système GABAergique. Le système dopaminergique est également impliqué principalement par les signaux provenant de la SNpc vers le striatum et par les signaux dopaminergiques du striatum vers le GP. En temps normal, dans cette boucle signalétique, le signal excitateur du glutamate provenant du cortex active le striatum, déclenchant ainsi une chaîne de signalisation inhibitrice du GPi/SNr par la voie directe à l'aide des récepteurs D1 et GABAergiques ainsi qu'une activation du GPi/SNr par la voie indirecte (Figure 8). Dans cette voie indirecte, un signal inhibiteur provenant du striatum médié par les récepteurs D2 et GABA vers le GPe induit à son tour un signal GABAergique inhibiteur vers le NST. Un signal glutamatergique excitateur est alors émis par le NST vers le GPi/SNr. L'équilibre entre ces deux voies de transmission permet donc la transmission des signaux vers le thalamus et le cortex pour un bon contrôle des fonctions motrices. Les changements observés dans les niveaux de glutamate perturbent certains points de cette boucle, affectant l'équilibre signalétique général, ce qui explique entre autres la présence des mouvements involontaires des dyskinésies [159, 217-219].

Figure 8 : Voies directe et indirecte de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale



Les difficultés liées à l'utilisation d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques NMDA ou AMPA dans la recherche de traitements pour les dyskinésies résident particulièrement dans l'innocuité limitée de ces cibles thérapeutiques. Les mGluRs ont quant à eux une fonction plutôt modulatrice de la signalisation glutamatergique sans blocage du fonctionnement physiologique diffus, ce qui en fait une cible d'intérêt. On observe une forte expression de plusieurs types de mGluRs au niveau des ganglions de la base et de la boucle corticostriatale, ceux-ci permettant une modulation de la transmission glutamatergique dans les voies directe et indirecte [219, 220].

L'utilisation de modulateurs allostériques négatifs du mGluR5 a démontré un effet bénéfique chez les animaux ainsi que dans certaines études cliniques. Lors d'une comparaison dans un petit groupe de patients parkinsoniens au 16e jour de traitement avec un antagoniste non-compétitif du mGluR5, le mavoglurant, une amélioration significative des dyskinésies a été observée sans détérioration des symptômes parkinsoniens ou de la réponse à la lévodopa. Ces observations ont été confirmées dans d'autres études à plus large échelle et plus longue durée, à l'exception d'une grande étude n'ayant pas observé d'efficacité, freinant donc le développement clinique de cette molécule. Les raisons derrière cet échec seraient possiblement liées à la pharmacocinétique et non à la cible thérapeutique du médicament [140, 219, 220].

Un autre modulateur allostérique négatif du mGluR5, le dipraglurant, a également démontré son innocuité et une possible efficacité contre les dyskinésies sans perturber le traitement moteur à la lévodopa, tant sur les primates non-humains traités au MPTP qu'en étude clinique [221, 222]. Plusieurs autres modulateurs allostériques négatifs du mGluR5 sont considérés, dont le basimglurant ou le fenobam, l'intérêt de cette cible thérapeutique étant grandissant [140, 223, 224].

Plusieurs études animales, principalement sur les rongeurs traités au 6-OHDA ou les primates non-humains traités au MPTP, ont évalué le potentiel thérapeutique de l'activation des mGluR4. Ce récepteur ayant principalement un effet inhibiteur sur la transmission glutamatergique, il est pensé que son activation permettrait une régulation de la surstimulation glutamatergique observée dans les dyskinésies. Que ce soit par l'utilisation d'agonistes orthostériques (liaison au site d'action du récepteur) ou de modulateurs allostériques (liaison à des sites autres que le site d'action modifiant l'affinité du récepteur à son ligand) positifs, ce qui est généralement observé est une amélioration des symptômes parkinsoniens résultant de l'optimisation de l'effet de la lévodopa, sans effet dyskinétique intrinsèque. Une augmentation de la dose de lévodopa serait possible sans détérioration des dyskinésies selon certaines études [219, 220]. Toutefois, l'échec clinique du foliglurax, un modulateur allostérique positif du mGluR4, dans l'étude AMBLED a diminué l'intérêt de recherche pour cette cible thérapeutique. Les deux doses évaluées dans cette étude ont échoué à atteindre le critère d'évaluation clinique, démontrant un manque d'efficacité de cette molécule pour la réduction des dyskinésies induites par la lévodopa [225, 226]. Malgré des études précliniques prometteuses, les études cliniques sur les mGluR4 ne semblent pas confirmer cet enthousiasme [227-229].

La forte présence des récepteurs du groupe II, soit le mGluR2 et mGluR3, dans les terminaisons corticostriatales en provenance de la SN en fait une cible de choix pour le rétablissement des dysfonctions glutamatergiques dans la transmission cortico-striato-thalamo-corticale [204, 230-232]. Depuis le premier clonage des récepteurs mGluR2/mGluR3 dans les années 1990s, plusieurs composés ciblant ces récepteurs à divers niveaux de sélectivité ont été développés [205, 233]. L'utilisation d'agonistes ciblant ces récepteurs présynaptiques permet l'inhibition de la transmission glutamatergique. Vu la grande similitude des mGluR2 et

mGluR3, la majorité des études publiées ont évalué le groupe II au complet, ayant rarement eu la possibilité de distinguer les deux récepteurs et d'évaluer des molécules spécifiques à l'un ou à l'autre. Ceci pourrait expliquer les résultats divergents dans les modèles animaux sur l'efficacité des agonistes de ces récepteurs ou sur l'implication spécifique d'un des deux récepteurs. Lors d'études animales utilisant principalement des rongeurs knock-out, il a été observé que le mGluR2 est particulièrement impliqué dans la mémoire, l'apprentissage et autres fonctions cognitives, ainsi que dans la dépendance et la psychose [205, 234, 235].

Dans la MP, à l'aide du radioligand [³H]LY341495 sélectif aux mGluR2/3, un groupe de recherche n'a pas observé de différences dans la distribution des récepteurs du groupe II dans les ganglions de la base entre les patients parkinsoniens avec et sans dyskinésies, plus spécifiquement dans le putamen, le noyau caudé et le GP. De petites réductions ont toutefois été observées pour les patients parkinsoniens ne démontrant pas de fluctuations en comparaison aux patients parkinsoniens avec fluctuations et au groupe contrôle dans le noyau caudé et le GPi. Les chercheurs ont suggéré un effet compensatoire issu de l'augmentation de signalisation glutamatergique [232].

Les études comparatives sur la distribution des mGluRs dans la MP demeurent limitées. Lors d'expériences d'immunohistochimie, les marquages des mGluR2 dans le cerveau humain ont été observés dans plusieurs régions corticales et régions des ganglions de la base incluant le noyau caudé, le putamen, le GP et bien d'autres. Lors de ces expériences, il a également été observé que le mGluR2 a tendance à s'agglomérer et former des polymères, s'agencant souvent en homodimères dans le cerveau [236]. D'autres études ont confirmé ce potentiel des mGluR2 à former des homodimères ainsi que des hétéromères [237]. Cette particularité est également d'intérêt pour la compréhension de l'implication des mGluR2.

L'intérêt particulier du mGluR2 vient également de sa capacité à former des hétérorécepteurs avec le récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A}. La présence de 3 résidus particuliers dans le domaine transmembranaire IV des mGluR2 permet à ceux-ci de former ces hétérodimères avec les 5-HT_{2A}. Ces hétérorécepteurs ont été confirmés par co-immunoprécipitation, et les études déterminant la localisation de chacun des récepteurs laissent également penser à une colocalisation de ceux-ci entre autres au niveau thalamocortical [238].

Les 5-HT_{2A} sont particulièrement d'intérêt pour la manifestation d'hallucinations et de comportement psychotiques. Dans la MP, la clozapine, un antipsychotique atypique, est un médicament commercialement disponible ayant démontré une efficacité contre les symptômes psychotiques et les dyskinésies. Contrairement à son utilisation dans la schizophrénie et autres psychoses non-parkinsoniennes, de faibles doses sont requises pour permettre une efficacité dans la MP. À ces doses-ci, la molécule a démontré une certaine sélectivité préférentielle aux récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{2A}, ce qui laisse présumer l'implication de ce récepteur dans la manifestation des dyskinésies et des symptômes psychotiques [239, 240]. L'approbation de la pimavenserine, un agoniste inverse des 5-HT_{2A}, pour le traitement des hallucinations et délires dans la MP est un autre argument en faveur le potentiel du ciblage de ce récepteur [167, 168].

Les récepteurs 5-HT_{2A} sont couplés à la protéine G α q permettant l'activation de la PLC pour la formation d'IP₃ et l'accumulation de calcium intracellulaire menant à un signal exciteur. Les molécules non-hallucinogènes n'activent que cette signalisation alors que les hallucinogènes vont également activer la protéine G α i/o, ce qui démontre la sélectivité fonctionnelle de ce récepteur [238]. Avec l'existence de l'hétérorecepneur 5-HT_{2A}-mGluR₂, le blocage du récepteur 5-HT_{2A} semble produire le même effet que l'activation du récepteur mGluR₂ [238, 241]. L'efficacité de l'antagonisme des 5-HT_{2A} contre les symptômes psychotiques et des dyskinésies est un autre élément permettant de penser que l'activation du mGluR₂ serait d'un grand potentiel pour une efficacité contre les symptômes psychotiques et les dyskinésies, pouvant même possiblement produire un effet synergique à l'efficacité de la clozapine agissant sur les 5-HT_{2A}.

2. Chapitre II – Objectifs et Hypothèses

Le traitement chronique à la lévodopa dans la MP, aussi bénéfique soit-il dans la gestion des symptômes moteurs, résulte généralement à moyen et long terme en des effets adverses dérangeants pour les patients, particulièrement avec l'apparition plus fréquente de dyskinésies et d'HVs et symptômes psychotiques. Suite à la prise continue et chronique de lévodopa, des perturbations biologiques et fonctionnelles mèneraient à l'apparition de ces complications et plusieurs hypothèses ont été considérées pour expliquer ces effets adverses. Parmi elles, l'implication directe et indirecte du système glutamatergique dans la manifestation et la résolution de ces complications au traitement à la lévodopa est particulièrement intéressante.

Plusieurs observations à ce sujet ont été présentées au chapitre 1. Il a été observé que les dyskinésies induites par le traitement à la lévodopa sont par exemple associées à une augmentation du glutamate dans certaines régions cérébrales. Une observation similaire a été faite avec les comportements psychotiques et HVs. Une perturbation de l'équilibre des signaux dans la voie directe et la voie indirecte de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale jouerait un important rôle dans la manifestation de ces effets néfastes. Or, la forte présence des récepteurs du groupe II, soit le mGluR2 et mGluR3, dans les terminaisons corticostriatales de neurones recevant des signaux provenant originellement de la SN en fait une cible de choix pour le rétablissement des dysfonctions glutamatergiques et autres perturbations dans cette boucle signalétique. De plus, ces mGluRs ayant une fonction plutôt modulatrice de la signalisation glutamatergique sans blocage du fonctionnement physiologique diffus, ils en deviennent une cible de choix.

D'ailleurs, il y aurait moins de récepteurs mGluR2/3 observés chez les patients parkinsoniens ne démontrant pas de fluctuations en comparaison aux patients parkinsoniens avec fluctuations et au groupe contrôle dans certaines régions de la boucle, suggérant possiblement un effet compensatoire issu de l'augmentation de signalisation glutamatergique lors de l'apparition des fluctuations chez les patients parkinsoniens, les mGluR2/3 ayant une fonction principalement inhibitrice de la libération du glutamate.

De manière générale, des études animales ont observé que le mGluR2 est aussi particulièrement impliqué dans les fonctions cognitives ainsi que dans la dépendance et la psychose. L'implication confirmée des 5-HT_{2A} dans la manifestation ou du moins le traitement

des HVs et comportements psychotiques a également contribué à cet intérêt des mGluR2 dans le traitement des complications à la lévodopa chronique, les hallucinations étant une importante manifestation de ces complications. Plus spécifiquement, c'est l'existence d'hétérorécepteurs 5-HT2A-mGluR2 et la complémentarité fonctionnelle entre les deux récepteurs qui suscitent un grand intérêt vers cette cible thérapeutique. Les mGluR2 ont généralement tendance à former des homodimères et hétérodimères, cette caractéristique pouvant être utile pour le rétablissement d'autres signalisations.

Vu l'homologie des mGluR2 et mGluR3 et leur ressemblance, la majorité des études ont rarement eu la possibilité de distinguer les fonctions et effets des deux récepteurs et de les évaluer de manière distincte.

L'objectif primaire de cette thèse est donc d'évaluer l'implication spécifique des récepteurs mGluR2 et leur potentiel thérapeutique dans les complications issues du traitement chronique à la lévodopa, plus spécifiquement les HVs et comportements psychotiques et les dyskinésies.

Pour ce faire, un modulateur allostérique positif, le LY-487379 est évalué chez les rongeurs parkinsoniens traités à la 6-OHDA et les marmousets parkinsoniens traités au MPTP pour son potentiel thérapeutique dans les complications au traitement à la lévodopa. De plus, la distribution des mGluR2 dans des régions cérébrales d'intérêt (incluant les ganglions de la base et d'autres régions impliquées dans le traitement d'information visuelle) est évaluée dans des tissus de cerveau humain de patients parkinsoniens ayant des HVs en comparaison à des patients parkinsoniens sans HVs et des sujets sains afin d'évaluer toute différence issue de l'apparition d'HVs dans la MP.

Les différents projets permettront de mieux comprendre l'importance et le potentiel des mGluR2 dans les HVs et symptômes psychotiques, les dyskinésies et les complications issues du traitement chronique à la lévodopa en général.

Il est attendu que l'administration du LY-487379 améliore les scores pour les symptômes de type psychotique et les dyskinésies chez les marmousets, particulièrement aux doses plus élevées. L'administration du LY-487379 ne devrait pas détériorer l'effet antiparkinsonien observé suite à l'administration de lévodopa. Il est également attendu que l'effet du LY-487379

sur les scores de dyskinésies chez les rongeurs soit bénéfique et dose-dépendant, la meilleure amélioration étant avec la dose la plus élevée.

Au niveau de la distribution des mGluR2 dans le cerveau parkinsonien, des différences entre les patients parkinsoniens ayant des HVs et ceux sans HVs sont attendues dans des régions cérébrales impliquées dans la boucle visuelle décrite plus haut, dont une partie du cortex préfrontal et temporal. Il est pensé qu'une diminution des récepteurs mGluR2 serait observée dans le groupe parkinsonien avec HVs, impliquant une baisse de la régulation du glutamate et une augmentation de la transmission glutamatergique dans certaines régions, ce qui aurait comme conséquence l'apparition des HVs chez ces patients.

Toutes ces expériences permettront de mieux comprendre l'importance et le potentiel du mGluR2 dans le traitement des complications issues de la lévodopa administrée à long terme.

3. Chapitre III – Effet de la stimulation des mGluR2s chez le marmouset

Dans ce projet, des marmousets lésés au MPTP et présentant des phénotypes parkinsoniens stables ont été préalablement traités à la lévodopa pendant plusieurs semaines pour y induire des phénotypes de complications à la lévodopa observés chez l'humain. Différentes doses du MAP des mGluR2 LY-487379 ont ensuite été évaluées pour leur effet sur divers phénotypes.

L'objectif spécifique de cette étude était de déterminer l'effet de l'activation des récepteurs mGluR2 à l'aide du MAP LY-487379 sur les effets néfastes de la lévodopa chez les marmousets lésés au MPTP. Plus précisément, ce projet visait à :

- Évaluer l'effet du LY-487379 sur la sévérité des comportements psychotiques induits par la lévodopa.
- Évaluer l'effet du LY-487379 sur la sévérité des dyskinésies induites par la lévodopa.
- Évaluer l'effet du LY-487379 sur l'effet antiparkinsonien de la lévodopa.

Il était attendu que l'administration du LY-487379 améliore les scores pour les symptômes de type psychotique et les dyskinésies, particulièrement aux doses plus élevées. Il était également attendu que l'administration du LY-487379 ne détériore pas l'effet antiparkinsonien observé par l'administration de lévodopa.

Les résultats de cette étude ont été publiés dans l'article : *Selective metabotropic glutamate receptor 2 positive allosteric modulation alleviates L-DOPA-induced psychosis-like behaviours and dyskinesia in the MPTP-lesioned marmoset* [242].

3.1. Méthodologie

3.1.1. Animaux

Six marmousets (mâles et femelles) de type *Callithrix jacchus* (colonie de l'université de McGill) pesant entre 300g et 400g étaient hébergés par groupes de 2 à 3 dans des cages enrichies de jouets et de perches. Les conditions d'hébergement étaient contrôlées et standardisées, avec un cycle de lumière de 12 heures, une température des pièces à 24 ± 1 °C et un taux d'humidité maintenu à 50%, ceci imitant le climat tropical de leur habitat naturel. Tous les animaux ont été pris en charge suivant des procédures détaillées dans un protocole de recherche approuvé par le *McGill University Animal Care Committee*, en accord avec les réglementations établies par le conseil canadien de protection des animaux.

Dans le but d'éviter un effet de stress sur les animaux, ceux-ci ont été acclimatés aux manipulations et procédures impliquées dans les expériences, telles que la prise en main et les injections, avant le début des expérimentations.

3.1.2. Induction du parkinsonisme et des comportements psychotiques et dyskinétiques

Une solution de MPTP (MilliporeSigma; Ontario, Canada) de 2.0 mg/mL a été préalablement préparée suivant une procédure d'opération standardisée. En résumé, 5mL de solution saline à 0.9% ont été mélangés avec 10 mg de MPTP hydrochloride. Des seringues préremplies de solution ont été conservées à -80 °C.

Pour l'induction du parkinsonisme, une injection sous-cutanée de 2 mg/kg de la solution de MPTP a été faite pour chaque animal pendant 5 jours consécutifs. Une période de rétablissement de 5 à 6 semaines a permis le développement et la stabilisation des symptômes de parkinsonisme chez les animaux.

Une fois les symptômes parkinsoniens stabilisés, les animaux ont reçu quotidiennement une solution orale de lévodopa et benserazide (MilliporeSigma; Ontario, Canada) à doses de 15 mg/kg et 3.75 mg/kg chacun, respectivement, pour une durée minimale de 30 jours. Ce

traitement a permis d'induire des dyskinésies et des comportements de type psychotique. Les animaux continuaient de recevoir ce traitement oral quotidiennement, à l'exception des journées d'expérience.

3.1.3. Procédures expérimentales

Une solution stock du modulateur allostérique positif de mGluR2, le LY-487390 (Cedarlane Laboratories; Ontario, Canada), a été préalablement préparée avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) à concentration de 100 mg/mL suivant une procédure d'opération standardisée. De celle-ci, trois différentes concentrations ont été préparées afin d'évaluer 3 différentes doses de LY-487379, soit 0.1 mg/kg, 1 mg/kg et 10 mg/kg. Une solution véhicule a également été préparée à 10% de DMSO dans une solution saline à 0.9%.

Lors des journées d'expérience, la dose habituelle de lévodopa/benserazide a été injectée en sous-cutané, suivie d'une injection sous-cutanée de l'une des 3 doses de LY-487379 ou du véhicule. Une fois les injections terminées, les animaux ont été transférés dans des cages individuelles équipées d'eau, de nourriture, d'enrichissement consistant en une perche et une tablette surélevée. Les animaux ont été laissés seuls sans perturbation dans une pièce fermée équipée de caméras enregistrant leur comportement pendant 6 heures suivant l'injection.

La randomisation des doses a été faite suivant un plan en carré latin, permettant l'évaluation de chacune des doses chez chaque animal. Un sevrage d'au moins 48 heures entre chaque dose testée par animal a été respecté. L'étude de pharmacocinétique (PK) du LY-487379 chez le marmouset a permis une bonne caractérisation du profil PK de la molécule dans ce modèle animal, avec une demi-vie estimée à environ 4.2h [242, 243]. Ce sevrage de 48h représente plus de 11 demi-vies, étant largement suffisant pour s'assurer de l'élimination quasi complète de la dose précédente testée pour chaque animal.

3.1.4. Évaluations comportementales

L'évaluation des différents comportements pour chaque animal a été faite à posteriori à l'aide des enregistrements visuels. Des échelles validées ont été utilisées pour déterminer un

score résumant 5 minutes d'observations toutes les 10 minutes pendant 6 heures. Un entraînement préalable sur l'utilisation des échelles a été fait.

Les comportements psychotiques ont été évalués sous 4 aspects, avec des scores allant de 0 pour une absence du comportement à 4 pour un comportement sévère présent plus de 30% du temps et interférant avec les habitudes normales de l'animal (Table 5). Les scores de 3 et 4 représentent un dysfonctionnement déroutant pour l'animal, où celui-ci n'est pas en mesure de boire, manger et fonctionner normalement. Les phénotypes évalués incluent l'hyperkinésie, une réponse à un stimulus non-apparent équivalent à une HV, un toilettage excessif et un comportement stéréotypé (répétitif). Le score du comportement psychotique de chaque animal pour chaque période d'observation de 5 minutes équivaut au score du comportement le plus sévère.

Table 5 : Échelle d'évaluation des comportements de type psychotiques chez le marmouset lésé au MPTP

Phénotype	Score du dysfonctionnement
1- Hyperkinésie : Activité locomotrice consistant à courir, sauter ou grimper, étant plus rapide que la normale et/ou incapacité de l'animal à rester dans une position pendant > 5 secondes sans locomotion.	0 : Normal - vitesse normale de l'animal / animal en mesure de rester en position fixe pendant > 5 secondes. 1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement. 2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement. 3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement. 4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.
2- Réponse à un stimulus non-apparent : l'animal regarde de façon soutenue dans le vide ou vers un endroit (> 10 secondes par minute) ou poursuit un élément invisible (similaire à une hallucination visuelle)	0 : Normal - pas de réponse à un stimulus non-apparent 1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement. 2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.

	<p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p>
3- Toilettage excessif : l'animal procède à un toilettage ou grattage répétitif	<p>0 : Normal - grattage / toilettage < 5 fois par minute.</p> <p>1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p>
<p>4- Stéréotypies :</p> <p>a) Sauts répétitifs d'un côté à l'autre sur le sol de la cage (>2 fois/min)</p> <p>b) Mouvements de la tête d'un côté à l'autre répétitifs, rapides, d'une amplitude exagérée, souvent associés à des mouvements corporels (>3 fois/minute)</p> <p>c) Tourne en rond sur le sol de la cage (>2 fois/min)</p> <p>d) Jouer et/ou saisir de façon répétitive les barres de la cage avec les pattes (>2 fois/min)</p>	<p>0 : Normal</p> <p>1 : Léger - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>2 : Modéré - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal est en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>3 : Marqué - comportement présent moins de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p> <p>4 : Sévère - comportement présent plus de 30% du temps et l'animal n'est pas en mesure de manger, boire et fonctionner normalement.</p>

Les dyskinésies ont quant à elles été évaluées basées sur deux comportements, soit les chorées et les dystonies. Similaire aux notations des comportements psychotiques, les dyskinésies ont été notées de 0 à 4, 0 étant l'absence de dyskinésies et 4 étant la présence sévère et continue du comportement, perturbant l'activité normale de l'animal et étant observée plus de 70% du temps (Table 6). Les scores de 3 et 4 représentent un dysfonctionnement dérangeant pour l'animal, où les dyskinésies interfèrent avec l'activité normale de l'animal. Le score de dyskinésie de chaque animal pour chaque période d'observation de 5 minutes équivaut au score le plus sévère.

Table 6 : Échelle d'évaluation des dyskinésies chez le marmouset lésé au MPTP

Comportements	Score du dysfonctionnement
1- Chorée 2- Dystonie	0 : Comportement absent. 1 : Léger - subtil, présent moins de 70% de la période d'observation 2 : Modéré - présent plus de 70% de la période d'observation et n'interfère pas avec l'activité normale de l'animal. 3 : Marqué - présent moins de 70% de la période d'observation et interfère parfois avec l'activité normale de l'animal. 4 : Sévère - présent plus de 70% de la période d'observation en continu, remplaçant l'activité normale de l'animal.

Le parkinsonisme a également été évalué durant chaque période d'observation basé sur 5 comportements, soit l'amplitude des mouvements de l'animal évaluée de 0 à 9, la bradykinésie évaluée de 0 à 3, la posture de l'animal évaluée à 0 ou 1 et le niveau d'attention de l'animal évalué à 0 ou 1 (Table 7). Une harmonisation des différents aspects moteurs évalués a été faite, permettant l'addition de ceux-ci pour l'obtention du score moteur global. L'évaluation du temps ON de chaque animal correspond à la période durant laquelle l'animal ne démontre pas de bradykinésie.

Table 7 : Échelle d'évaluation du parkinsonisme chez le marmouset lésé au MPTP

Comportement	Score du dysfonctionnement
1- Amplitude du mouvement 0 à 9	0 : l'animal court, saute, grimpe, utilise ses pattes pour une variété de mouvements dans la cage 1 : l'animal monte et descend le long des murs ou sur le perchoir 2 : l'animal grimpe sur le mur de la cage sur le perchoir 3 : l'animal sautille sur le sol 4 : l'animal marche sur le sol 5 : l'animal est positionné sur le mur de la cage ou le perchoir, mouvement des pattes sans locomotion 6 : l'animal est positionné sur le mur de la cage ou le perchoir, mouvement de la tête ou du tronc 7 : l'animal est sur le sol, mouvement des pattes sans locomotion 8 : l'animal est sur le sol, mouvement de la tête 9 : aucun mouvement
2- Bradykinésie 0 à 3	0 : vitesse du mouvement et de son initiation normale 1 : léger ralentissement du mouvement 2 : ralentissement modéré du mouvement, figement, difficultés à initier et maintenir un mouvement. 3 : Figement prolongé, akinésie et incapacité à bouger.

3- Posture 0 ou 1	0 : équilibre normal, posture droite, tête levée. 1 : troubles de l'équilibre, posture accroupie, tête baissée. * l'altération de la posture ne doit pas être causée par un autre comportement (dyskinésie), sinon le score est de 0
4- Attention / Vigilance 0 ou 1	0 : mouvements normaux de contrôle de la tête, mouvement du cou dans des directions variables, petits mouvements fluides. 1 : mouvements de la tête réduits ou absents, tête dans une position pendant > 50 % de la période d'observation.

3.1.5. Analyses statistiques

Vu la nature exploratoire du projet, aucune analyse de puissance n'a été faite pour déterminer le nombre exact d'animaux requis. Lors de l'analyse des résultats, la médiane été utilisée pour comparer les scores dans les différentes échelles, soit l'échelle du parkinsonisme, des symptômes de type psychotique et des dyskinésies. Les analyses statistiques utilisées incluait le test de Friedman ainsi que le test de Dunn lorsque des différences significatives étaient identifiées. Les comparaisons des temps ON ont été faites à l'aide de tests ANOVA et du test Tukey lorsque des différences significatives étaient identifiées.

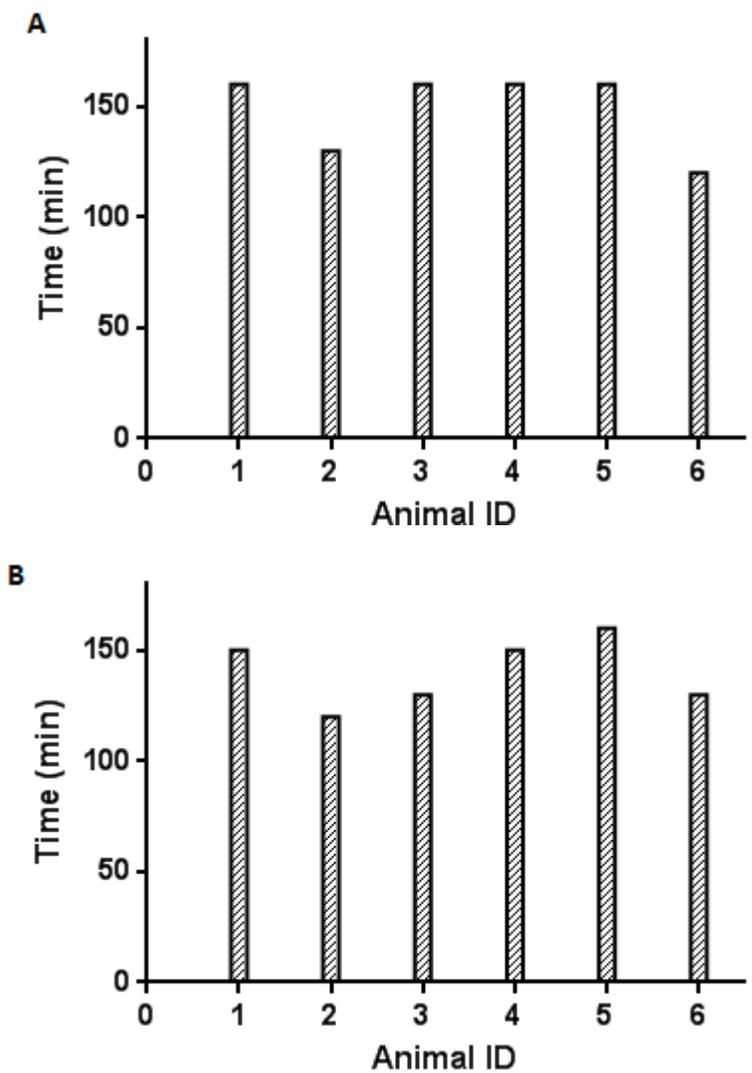
GraphPad Prism 8.0 a été utilisé pour les différentes analyses et un résultat était jugé significatif lorsque $P < 0.05$.

3.2. Résultats

Suite au traitement au MPTP, les six marmousets ont démontré des symptômes de parkinsonisme, confirmant la présence de lésions au niveau cérébral. Ces symptômes sont demeurés stables tout au long de la période de récupération des animaux et durant les expériences. La sévérité des symptômes de parkinsonisme était relativement similaire entre les animaux, à l'exception d'un animal démontrant une sévérité légèrement moindre. Suite à l'administration de lévodopa, un rétablissement des symptômes parkinsoniens a été observé. Le traitement chronique à la lévodopa a induit des dyskinésies et comportements de type psychotique chez tous les animaux en moins de 3 semaines. La sévérité des symptômes de base était variable entre les animaux et dans le temps, tous les animaux ayant manifesté en majorité des symptômes dérangeants (Figure 9).

Figure 9 : Nombre total de minutes avec comportements (A) psychotiques dérangeants et (B) dyskinétiques dérangeants.

Les symptômes A) psychotiques dérangeants (score ≥ 3) et B) dyskinétiques dérangeants (≥ 3) chez les marmousets laissés au MPTP ont été évalués pour une période d'observation de 6 heures suite au traitement à la lévodopa avec le véhicule.



3.2.1. Effet sur le comportement de type psychotique

Suite à l'administration de la lévodopa avec le véhicule, des comportements de type psychotique ont été observés pendant plus de 3 heures, la sévérité de ces symptômes étant à son pic vers la 2^e heure suivant le traitement à la lévodopa (Figure 10). Lors de l'analyse des variances, une différence significative a été observée entre les 4 groupes de traitement ($F(3,20) = 90.13, p < 0.001$). Le test de Tukey pour comparaisons multiples a démontré que comparé au véhicule, la sévérité des comportements de type psychotique a été significativement réduite d'environ 45% lors de la co-administration de levodopa avec les 2 doses de LY-487379 les plus fortes, soit 1 mg/kg et 10 mg/kg, ($p < 0.001$).

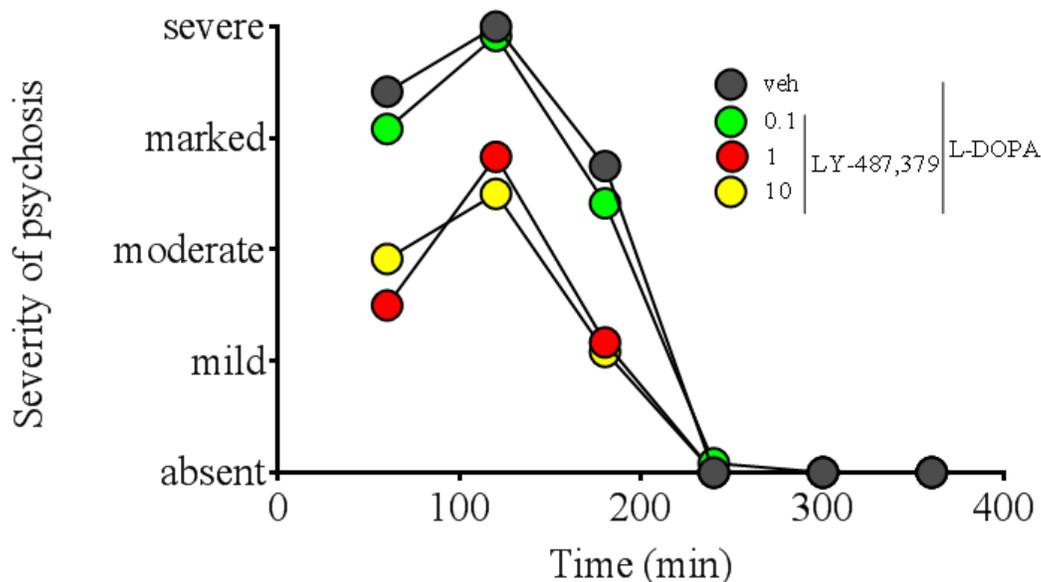
En regroupant les scores par heure, on observe une baisse du score moyen (diminution de la sévérité) dès la première heure de traitement, celui-ci passant de 3.4 avec le véhicule à 1.5 et 1.9 pour les doses de 1 mg/kg et de 10 mg/kg, respectivement. Lorsque les comportements de type psychotique observés étaient à leur maximum de sévérité (score moyen de 3.9), ces deux doses ont significativement réduit cette sévérité à un niveau modéré et acceptable ($p = 0.03$ pour 1 mg/kg et $p = 0.01$ pour 10 mg/kg, test de Dunn).

La dose la plus faible de 0.1 mg/kg n'a quant à elle pas démontré d'efficacité tout au long de la période d'observation, les scores demeurant similaires à ceux observés suite au traitement avec le véhicule. Vu la similitude entre le véhicule et la faible dose, des différences significatives ont été observées lorsque les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg ont été comparées à la dose de 0.1 mg/kg, avec une sévérité des symptômes diminuée de 44% ($p < 0.001$, test de Tukey).

L'effet bénéfique des 2 doses les plus fortes de LY-487379 sur l'amélioration des scores de comportements de type psychotique a été maintenu tout au long de la période d'observation des symptômes, soit un peu plus de 3h, la lévodopa n'ayant plus induit d'effets psychotiques au-delà de cette période.

Figure 10 : Effet du LY-487379 sur les comportements de type psychotique dans le temps.

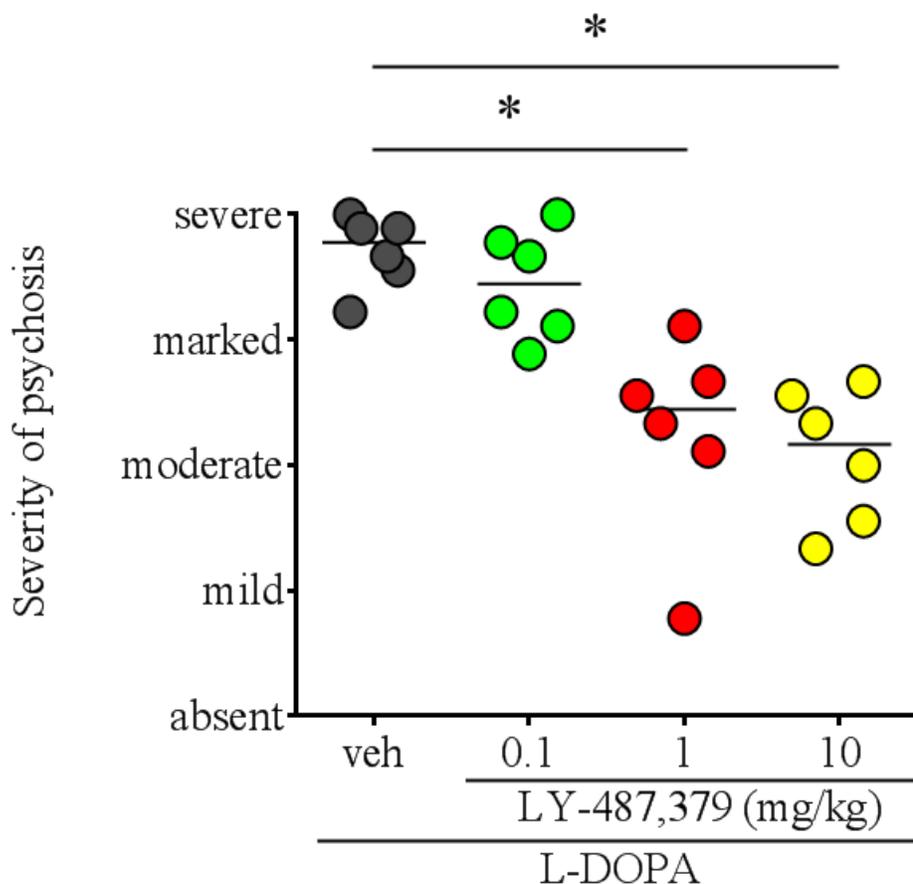
Chaque point représente la somme pour l'heure précédente des scores de comportements de type psychotique à chaque période d'observation de 5 minutes chez les marmousets laissés au MPTP et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg).



La concentration plasmatique de lévodopa étant à son maximum environ 60 à 90 minutes après traitement, il est pensé que son effet maximal induisant les comportements psychotiques et dyskinétiques les plus sévères est observé à cette période. Les symptômes psychotiques suite au traitement avec le véhicule étaient effectivement les plus sévères entre 1 et 2.5h après administration de lévodopa (Figure 11). Durant cette période, la dose de 0.1 mg/kg a induit une légère réduction de ce score, cette réduction n'étant toutefois pas statistiquement significative. La dose de 10 mg/kg a quant à elle significativement réduit la sévérité des comportements psychotiques, passant de symptômes sévères dérangeants (score de 4/4) à non-dérangeants (2/4), avec une réduction de près de 43% du score médian ($p=0.015$, test de Dunn). Une baisse significative de près de 35% du score a également été observée avec la dose de 1 mg/kg ($p=0.015$, test de Dunn).

Figure 11 Effet du LY-487379 sur les comportements de type psychotique durant l'effet antiparkinsonien maximal de lévodopa.

Chaque point représente la somme des scores pour chaque animal des comportements de type psychotique pour toutes les périodes d'observation de 5 minutes lors du pic de l'effet antiparkinsonien, soit entre 1h et 2.5h après administration de la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La barre représente le score médian de chaque groupe. *: significatif à $p < 0.05$

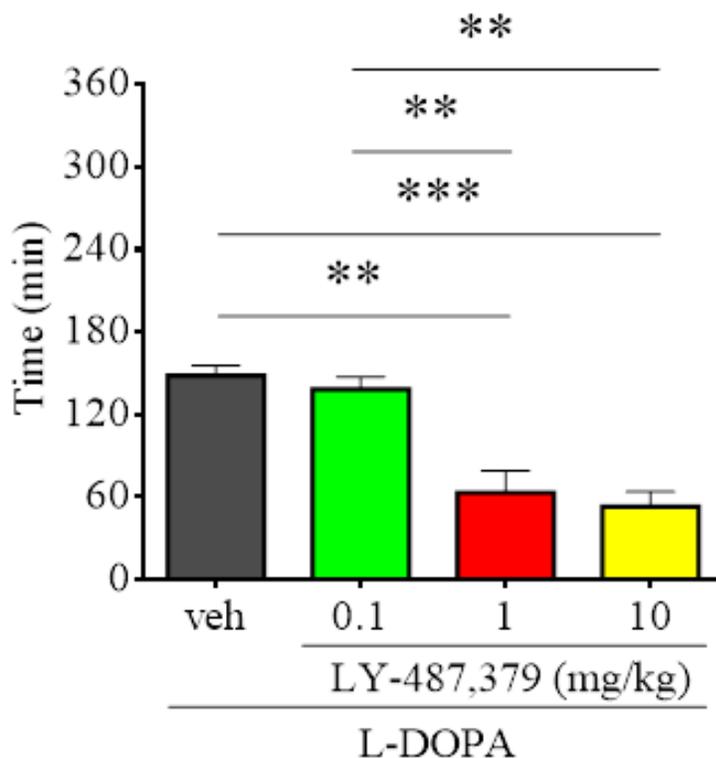


Le temps ON des animaux représente la période durant laquelle les animaux répondent au traitement antiparkinsonien et ne démontrent pas de bradykinésie. Ceux-ci ne sont alors pas dérangés par leurs symptômes parkinsoniens mais le sont toutefois par leurs symptômes de type psychotique. En comparant le temps où les animaux étaient ON avec symptômes psychotiques dérangeants, on observe une différence significative entre les groupes ($F(3,15) = 14.85$, $p < 0.001$, Figure 12). Lorsque les animaux étaient traités avec 1 mg/kg ou 10 mg/kg de LY-487379, une diminution significative de 57% ($p < 0.01$) et 64% ($p < 0.001$) du temps ON avec

symptômes psychotiques dérangeants a été observée, respectivement. Le traitement au LY-487379 a significativement amélioré la qualité du temps ON des animaux, celui-ci passant de 20 min avec la lévodopa seule à 127 min et 152 min avec la co-administration de LY-487379 1 mg/kg et 10 mg/kg.

Figure 12 : Temps ON avec comportements psychotiques dérangeants.

Temps total où l'animal répond au traitement antiparkinsonien (ON) et démontre des comportements de type psychotique dérangeants (score ≥ 3) après administration de la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La moyenne (+ erreur standard) pour chaque groupe est présentée. *: significatif à $p < 0.05$, **: significatif à $p < 0.01$, ***: significatif à $p < 0.001$.



3.2.2. Effet sur les dyskinésies

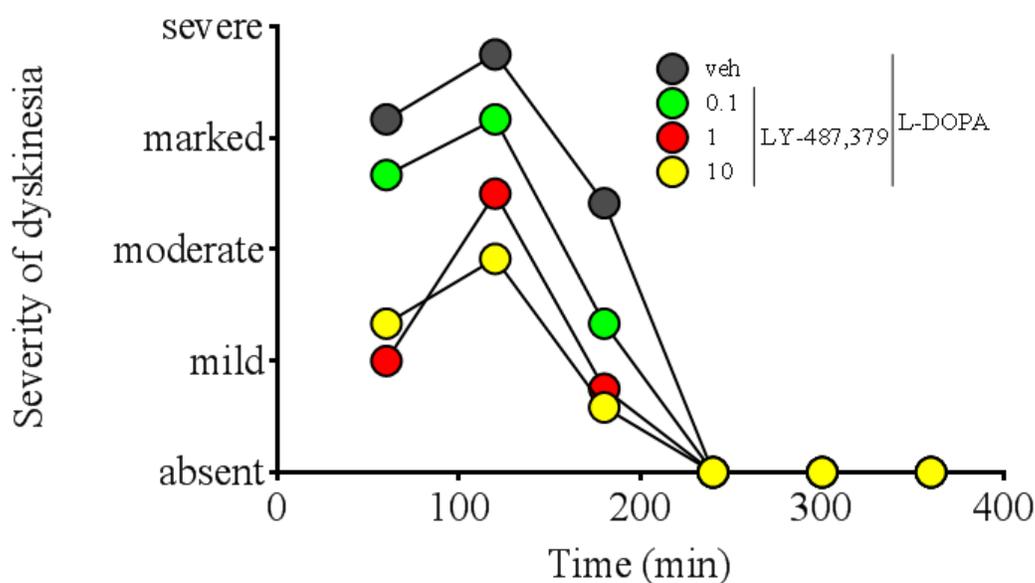
L'effet du LY-487379 sur les dyskinésies est similaire à ce qui a été observé pour les comportements de type psychotique. Une amélioration dose-dépendante significative a été observée avec toutes les doses de LY-487379 testées ($F(3,20) = 118.8$, $p < 0.001$), incluant la

dose faible de 0.1 mg/kg (Figure 13). Une diminution significative de la sévérité des dyskinésies a été démontrée, variant entre 22% et 57% avec l'augmentation de dose ($p < 0.001$, test de Tukey). Une diminution significative de 40% à 45% a également été observée sur la sévérité des dyskinésies avec les deux doses plus fortes en comparaison à la dose de 0.1 mg/kg ($p < 0.001$, test de Tukey).

Ces améliorations ont été observées tout au long des 3 heures d'observation de symptômes dyskinétiques suivant le traitement à la lévodopa, cette dernière n'induisant plus vraiment d'effets néfastes après cette période. Avec la dose la plus forte, les animaux ne démontraient pratiquement plus de dyskinésies dérangeantes tout au long de leur traitement.

Figure 13 : Effet du LY-487379 sur les dyskinésies dans le temps.

Chaque point représente la somme pour l'heure précédente des scores de dyskinésie à chaque période d'observation de 5 minutes chez les marmousets laissés au MPTP et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg).

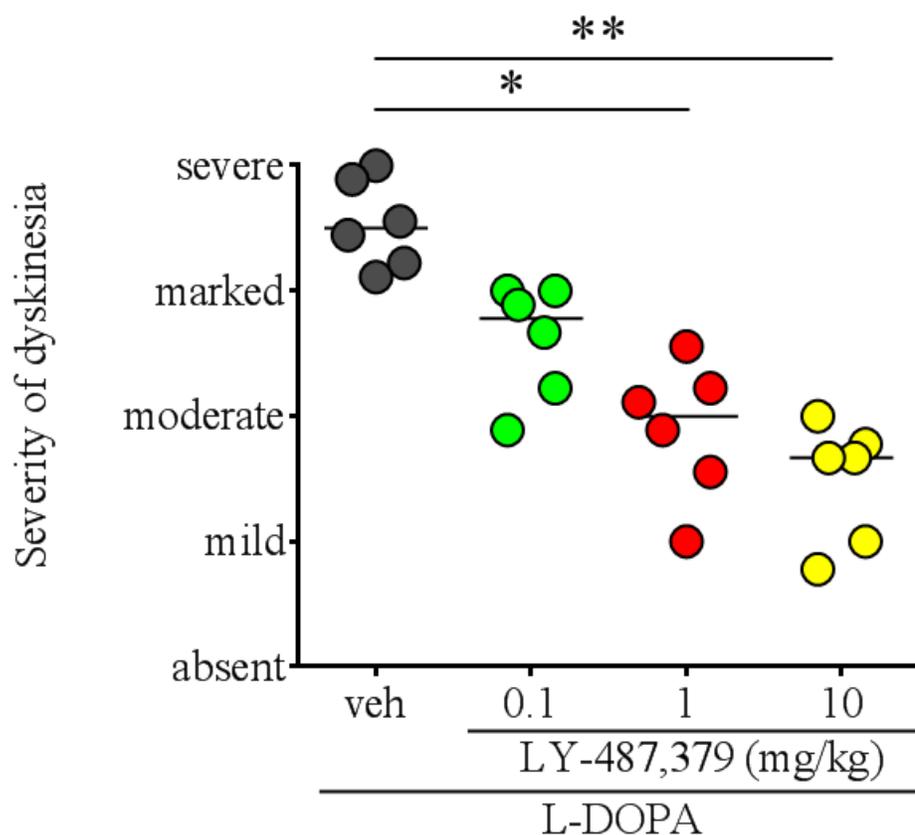


À la période d'effet antiparkinsonien maximal de lévodopa (1h à 2.5h après administration), les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg de LY-487379 ont significativement réduit les scores de dyskinésie de 43% et 52% en comparaison au score lors du traitement à la lévodopa/véhicule ($p < 0.05$, test de Dunn, Figure 14). Même si aucune différence significative

n'a été établie avec la dose de 0.1 mg/kg, une tendance à l'amélioration médiane du score dyskinétique est vue en comparaison au véhicule.

Figure 14 : Effet du LY-487379 sur les dyskinésies durant l'effet antiparkinsonien maximal de lévodopa.

Chaque point représente la somme des scores pour chaque animal des dyskinésies pour toutes les périodes d'observation de 5 minutes lors du pic de l'effet antiparkinsonien, soit entre 1h et 2.5h après administration de la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La barre représente le score médian de chaque groupe. *: significatif à $p < 0.05$, **: significatif à $p < 0.01$

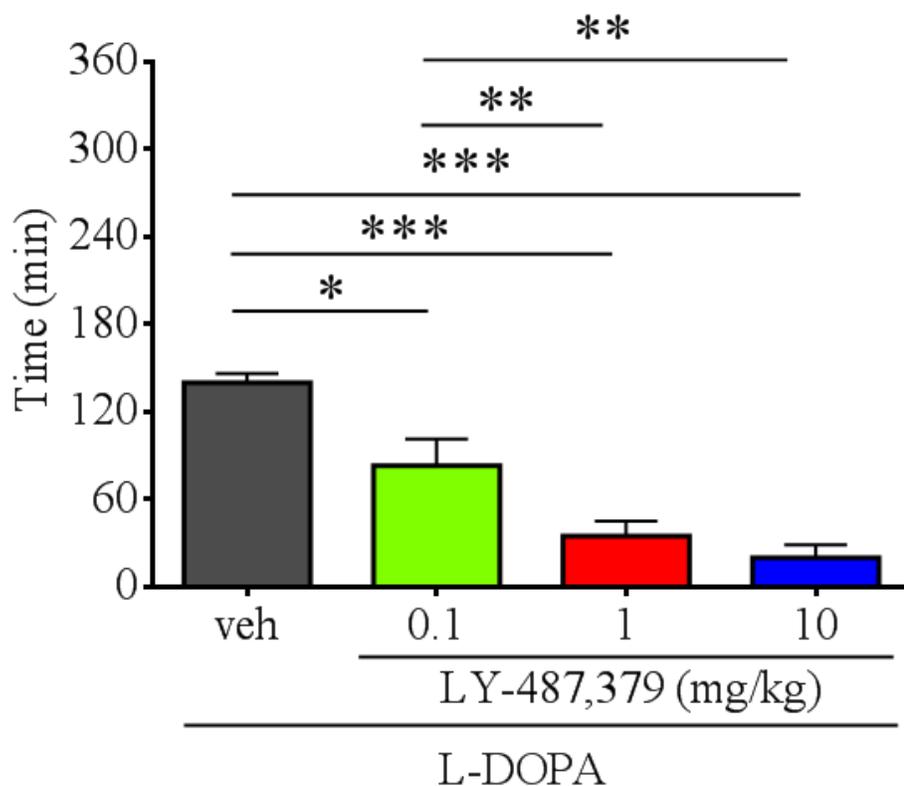


Le temps ON sans dyskinésies dérangeantes a également été significativement augmenté avec les 3 doses testées de LY-487379 ($F(3,15) = 19.21, p < 0.001$). La dose la plus faible a induit une amélioration du temps ON sans dyskinésies dérangeantes, celui-ci passant d'environ 28 min à 95 min ($p < 0.05$, test de Tukey), 155 min ($p < 0.001$, test de Tukey) et 195 min ($p < 0.001$, test de Tukey) avec les doses de LY-487379 de 0.1 mg/kg, 1 mg/kg et 10 mg/kg, respectivement.

Le temps ON avec dyskinésies dérangeantes a donc significativement diminué ($F(3,15) = 21.53$, $p < 0.001$). Avec le test de Tukey, une diminution significative de 41% (57min, $p < 0.05$), 75% (105 min, $p < 0.001$) et 86% (120 min, $p < 0.001$) a été observée avec les doses de 0.1 mg/kg, 1 mg/kg et 10 mg/kg en comparaison au véhicule et de 58% (48 min, $p < 0.05$) et 76% (63 min, $p < 0.01$) lors du traitement à 1 mg/kg et 10 mg/kg en comparaison au traitement à 0.1 mg/kg (Figure 15).

Figure 15 : Temps ON avec dyskinésies dérangeantes.

Temps total où l'animal répond au traitement antiparkinsonien (ON) et démontre des dyskinésies dérangeantes (score ≥ 3) après administration de la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La moyenne (+ erreur standard) pour chaque groupe est présentée. *: significatif à $p < 0.05$, **: significatif à $p < 0.01$, ***: significatif à $p < 0.001$



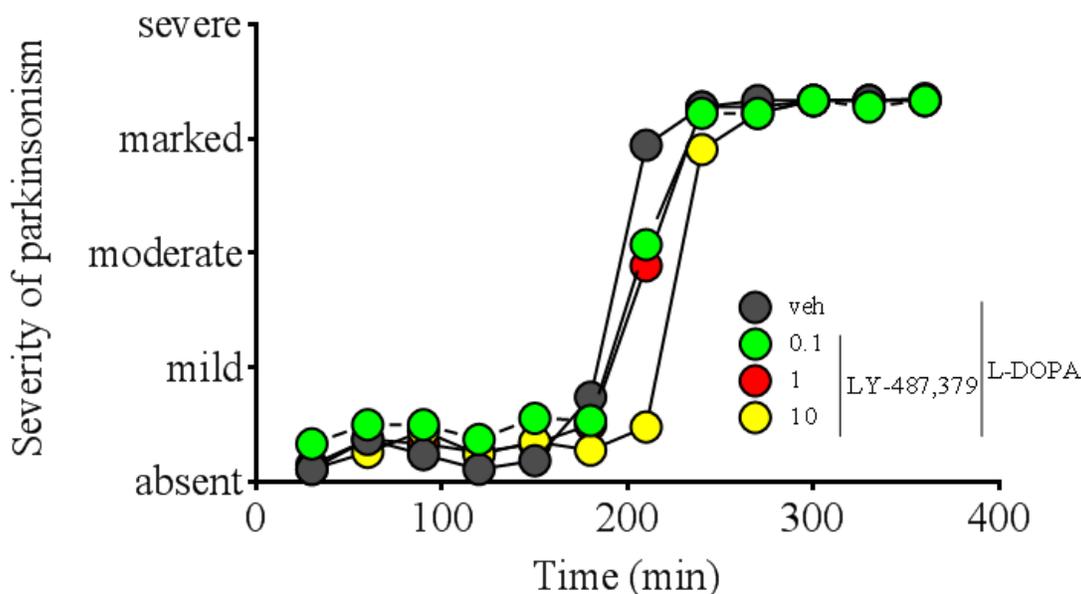
3.2.3. Effet sur le parkinsonisme et l'efficacité motrice de la lévodopa

Une évaluation des symptômes de parkinsonisme a permis de confirmer que la co-administration des différentes doses de LY-487379 avec la lévodopa n'a pas nui à l'effet

antiparkinsonien de celle-ci. Le profil des symptômes moteurs dans chacune des 4 conditions est relativement similaire, et aucune détérioration n'a été observée dans les scores moteurs lors de traitement au LY-487379 en comparaison au traitement avec le véhicule (Figure 16). Les améliorations suite à l'administration du LY-487379 dans le comportement de type psychotique et les dyskinésies ne corrélient pas avec quelconques changements moteurs, confirmant que l'effet sur ces comportements est indépendant de l'effet bénéfique moteur de la lévodopa.

Figure 16 : Profil du parkinsonisme dans le temps.

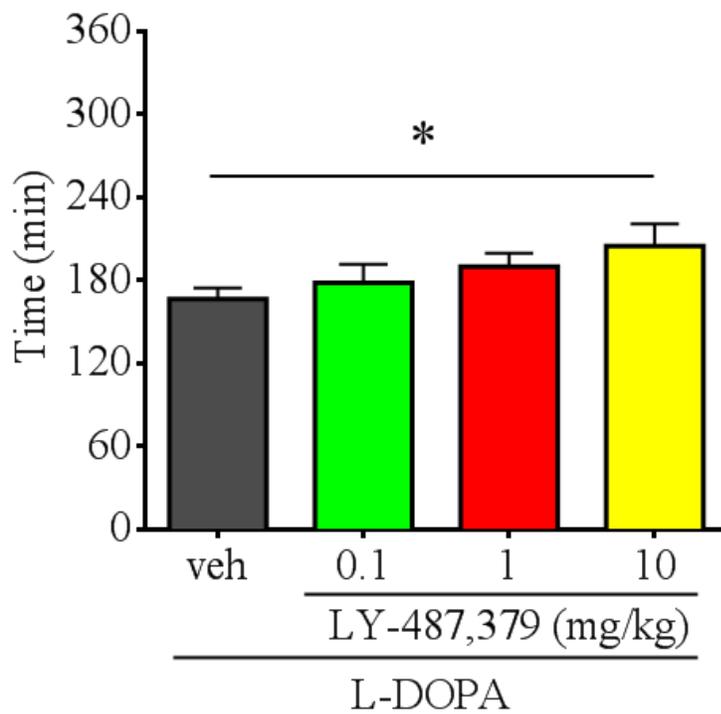
Chaque point représente la somme pour les 30 minutes précédentes des scores de parkinsonisme à chaque période d'observation de 5 minutes chez les marmosets laissés au MPTP et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane pour chaque groupe est présentée.



Lors de la comparaison des scores moteurs, il est intéressant de constater que la dose la plus forte testée de LY-487379, soit 10 mg/kg, a induit une légère amélioration des scores de parkinsonisme particulièrement à partir de 3h après l'administration de levodopa (Figure 16). Dans la période de 3h à 4h après administration, le score de parkinsonisme a diminué de 41% avec le LY-487379 10 mg/kg en comparaison au véhicule ($p < 0.05$, test de Dunn). Ceci s'est reflété également par une amélioration significative générale du temps ON des animaux de près de 23% (Figure 17) passant de 167 min avec le véhicule à 205 min avec le LY-487379 10 mg/kg ($p < 0.05$, test de Tukey).

Figure 17 : Temps ON total des animaux.

Temps total où l'animal répond au traitement antiparkinsonien (ON) après administration de la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La moyenne (+ erreur standard) pour chaque groupe est présentée. *: significatif à $p < 0.05$



4. Chapitre IV – Effets de la stimulation des mGluR2 chez le rongeur

Dans ce projet, des rongeurs rendus hémiparkinsoniens suite à une lésion à la 6-OHDA ont été préalablement traités à la lévodopa pendant plusieurs semaines pour y induire des phénotypes de type dyskinétique quantifiables. Différentes doses du MAP des mGluR2 LY-487379 ont ensuite été évaluées pour établir l'effet sur les phénotypes observés.

L'objectif spécifique de cette étude était de déterminer l'effet de l'activation des récepteurs mGluR2 à l'aide du MAP LY-487379 sur les mouvements anormaux involontaires (MAIs) résultant du traitement à la lévodopa chez les rongeurs lésés à la 6-OHDA.

Il était attendu que l'administration de différentes doses du LY-487379 allait significativement améliorer les scores de MAIs chez les rats. Il était attendu que cet effet soit dose-dépendant, la meilleure amélioration étant avec la dose la plus élevée.

Les résultats de cette étude ont été publiés dans l'article: *The highly selective mGlu2 receptor positive allosteric modulator LY-487,379 alleviates l-DOPA-induced dyskinesia in the 6-OHDA-lesioned rat model of Parkinson's disease* [244].

4.1. Méthodologie

4.1.1. Animaux

Un total de 30 rats de type Sprague-Dawley (Charles River), toutes femelles, étaient hébergés par groupes de 2 à 3 dans des cages avec un accès libre à l'eau et à la nourriture. Les conditions d'hébergement étaient contrôlées et standardisées, avec un cycle de lumière de 12 heures (lumière de jour), une température des pièces à 21 ± 1 °C et un taux d'humidité maintenu à 55%. Tous les animaux ont été pris en charge suivant des procédures détaillées dans un protocole de recherche approuvé en accord avec les réglementations établies par le conseil canadien de protection des animaux et le centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM).

Dans le but d'éviter un effet de stress sur les animaux, ceux-ci ont été acclimatés aux manipulations et procédures impliquées dans les expériences, telles que la prise en main et les injections, avant le début des expérimentations.

4.1.2. Induction du parkinsonisme et des comportements dyskinétiques

Les chirurgies de lésion unilatérale ont été effectuées un animal à la fois. Suite à une anesthésie générale avec de l'isoflurane (induction à 3-5% et maintien à 1.5-2.5% sur 1 L/min d'O₂), l'animal a été préparé à la chirurgie et placé dans un cadre stéréotaxique permettant la stabilisation de la tête de l'animal pour la détermination des coordonnées de la cible cérébrale à atteindre. Une anesthésie constante et profonde a été maintenue tout au long de la procédure chirurgicale. Suite à l'insertion des barres d'oreilles dans les conduits auditifs de l'animal, la barre incisive a été insérée et fixée à 3.3 mm sous les barres d'oreilles. Après l'incision exposant le bregma et le perçage du crâne au site d'intérêt, l'aiguille d'injection a été dirigée vers le faisceau prosencéphalique médian droit aux coordonnées suivantes : antéro-postérieure à -2.8, média-latérale à -2.0 et dorso-ventrale à -9.0 par rapport au bregma selon l'atlas *Praxinos and Watson* [245]. L'injection de 2.5 uL d'une solution de 6-OHDA (MilliporeSigma; Ontario, Canada) à concentration de 7 ug/uL a ensuite été effectuée à débit constant pendant 5 minutes.

Des injections sous-cutanées de solution saline et de carprofène ont également été effectuées pour prévenir la déshydratation et la douleur.

Une fois la procédure chirurgicale terminée, chaque animal a été remis dans sa cage pour une période de rétablissement d'environ 3 semaines. Leur parkinsonisme a ensuite été évalué à l'aide du test du cylindre pour déterminer le succès de la chirurgie. Pour cela, chaque animal a été placé dans une enceinte cylindrique en verre d'environ 30 cm de hauteur et assez large pour permettre un mouvement rotatif de l'animal. Les animaux ont ensuite été laissés seuls sans perturbation dans une pièce fermée pendant 10 minutes avec des caméras placées afin de permettre l'enregistrement de leur comportement avec une vision à 360 degrés.

Les vidéos ont ensuite été évaluées à l'aveugle, sans information préalable sur les détails expérimentaux de chaque animal. Durant ce test, chaque élévation de l'animal a été évaluée afin de déterminer quelle patte parmi les 2 membres antérieurs est entrée en contact avec la surface du cylindre en premier. Si l'animal plaçait sur la paroi du cylindre ses deux membres antérieurs de manière simultanée ou avec un écart de temps négligeable (moins d'une seconde), ceci était considéré comme un contact bilatéral. Le total de chaque type de contact avec la surface du cylindre (patte droite, patte gauche ou contact bilatéral) a ensuite été calculé pour la période d'observation. Puisque la chirurgie est faite pour une lésion unilatérale au cerveau, un animal correctement lésé a tendance à s'appuyer de façon préférentielle sur son côté non-lésé, étant sa patte droite (innervée par son côté cérébral sain gauche). Une utilisation supérieure à 70% du côté non-lésé a été considérée pour déterminer le succès de la chirurgie, indiquant une réduction de la dopamine dans le striatum d'au moins 88% [246].

Les animaux lésés avec succès ont ensuite reçu quotidiennement une injection sous-cutanée de lévodopa/benserazide (MilliporeSigma; Ontario, Canada) à doses de 6 mg/kg / 15 mg/kg, pour une durée de 21 jours. Ce traitement a permis d'induire des MAIs stables et assez sévères, reflétant des dyskinésies stables.

4.1.3. Procédures expérimentales

Trois différentes concentrations d'une solution de LY-487379 (Cedarlane Laboratories; Ontario, Canada) dans du DMSO ont été préparées afin d'évaluer 3 différentes doses, soit 0.1 mg/kg, 1 mg/kg et 10 mg/kg. Une solution véhicule a également été préparée à 10% de DMSO dans une solution saline à 0.9%.

Lors des journées d'expérience, la dose habituelle de lévodopa/benserazide a été injectée en sous-cutané, suivie d'une injection sous-cutanée de l'une des 3 doses de LY-487379 ou du véhicule. Une fois les injections terminées, chaque animal a été transféré dans un contenant cylindrique en verre. Les MAIs ont ensuite été évalués pour une durée de 2 minutes toutes les 20 minutes pendant une durée d'observation totale de 3 heures suivant les injections. Chaque animal a reçu les 4 options de traitement (3 doses de LY-487379 et véhicule) de manière randomisée aléatoirement avec un sevrage minimal de 48 heures entre chaque traitement. L'étude PK du LY-487379 chez le rat a estimé la demi-vie à environ 1.6h [243]. L'élimination quasi complète de la molécule est donc attendue en moins de 12 heures (7 demi-vies = 11.2h). Le sevrage de 48h entre chaque dose et traitement évalué est donc jugé suffisant.

Les injections et évaluations de comportement ont été faites à l'aveugle concernant le traitement administré.

4.1.4. Procédures expérimentales - de novo

Dans un autre volet du projet de recherche, trois groupes de 8 nouveaux animaux hémiparkinsoniens chacun ont été formés. Dans cette expérience, suite à l'induction et stabilisation du parkinsonisme, le traitement chronique à la lévodopa induisant les MAIs a été entamé en même temps qu'un traitement chronique de LY487379. Une administration quotidienne sous-cutanée concomitante de lévodopa et de LY-487379 0.1 mg/kg, LY-487379 1 mg/kg ou du véhicule, dépendamment de l'assignation du groupe, a été faite pendant 22 jours consécutifs. Un sevrage de 72 heures sans aucun traitement a ensuite été fait.

Après la période de sevrage, seule la dose habituelle de lévodopa/benserazide 6 mg/kg / 15 mg/kg a été injectée en sous-cutané chez tous les animaux des trois différents groupes. Lors

de cette journée, les MAIs ont été évalués selon une procédure similaire à celle décrite dans la section précédente. Les MAIs ont également été évalués de façon similaire chaque semaine pendant la période d'administration concomitante des deux traitements (lévodopa + LY-487379 ou lévodopa + véhicule), soit aux jours 1, 8, 15 et 22.

4.1.5. Évaluations comportementales des dyskinésies.

Les comportements de type dyskinétique évalués chez les rongeurs sont des MAIs axiaux, des MAIs des membres supérieurs et des MAIs orolinguaux, ceux-ci connus sous le terme anglais de ALO AIMs (*axial, limbs and orolingual abnormal involuntary movements*). Lors de chaque période d'observation de 2 minutes, chacun des 3 mouvements est noté sur une échelle de 0 à 4 pour sa durée et de 0 à 4 pour son amplitude de sévérité [247]. Un score intégré équivaut à la multiplication du score de durée par le score d'amplitude pour chaque comportement alors qu'un score cumulatif représente la somme des scores de durée et des scores d'amplitude [248].

Une description des mouvements pour chaque score d'amplitude est utilisée (Table 8). Pour les mouvements axiaux, des scores de 1 et 2 représentent une déviation légère au niveau de la tête et du cou alors que des scores de 3 et 4 représentent une torsion plus importante allant jusqu'au tronc et causant un déséquilibre de l'animal pour le score de 4. Pour les mouvements du membre supérieur, l'amplitude va d'un mouvement très léger de la patte équivalent à un score de 1 à un mouvement vigoureux de tout le membre et de l'épaule pour un score de 4. Le comportement orolingual varie d'un simple tremblement de la mâchoire et léger mouvement de mastication pour un score de 1 à un mouvement de tous les muscles faciaux et de mastication incluant une ouverture de la bouche et une sortie de langue de l'animal pour un score de 4 [247].

Table 8 : Échelle d'évaluation de l'amplitude des MAIs chez le rongeur lésé à la 6-OHDA

Évaluation	Description des scores de dysfonctionnement
1- Axial	0 : absent 1 : déviation soutenue de la tête et du cou, à un angle de $\sim 30^\circ$ 2 : déviation soutenue de la tête et du cou, à un angle de $\leq 60^\circ$. 3 : torsion soutenue de la tête, du cou et du haut du tronc à un angle $>60^\circ$ mais $\leq 90^\circ$.

	<p>4 : torsion soutenue de la tête, du cou et du tronc à une amplitude maximale (angle $>90^\circ$), provoquant une perte d'équilibre du rat lorsqu'en position bipède.</p> <p>*L'angle calculé est l'écart par rapport à l'axe longitudinal du corps</p>
2- Membre supérieur	<p>0 : absent</p> <p>1 : petit mouvement de la patte dans une position fixe selon deux variantes</p> <ul style="list-style-type: none"> - la patte se déplace depuis et vers le museau (mouvement latéral ou circulaire) mais demeure juxtaposée au corps <p style="text-align: center;">ou</p> <ul style="list-style-type: none"> - la patte est soulevée du sol de manière répétitive, comme si le rongeur s'apprêtait à marcher sans y arriver. <p>2 : Mouvements résultant en un déplacement visible de l'ensemble du membre supérieur sur le côté ou de haut en bas (par exemple, la patte perd le contact avec le museau).</p> <p>3 : Grand déplacement de l'ensemble du membre supérieur avec contraction visible des muscles de l'épaule. Flexion-extension du membre dans le plan sagittal ou abduction-adduction dans le plan frontal. Le plus souvent, le mouvement est circulaire, impliquant à la fois une composante sagittale et une composante frontale.</p> <p>4 : Déplacement vigoureux et énergique du membre supérieur à une amplitude maximale possible, avec contraction notable des deux groupes musculaires de l'épaule et des muscles extenseurs (derrière la patte).</p> <p>Amplitude maximale possible = si le mouvement est circulaire, le membre se déplace sur environ la moitié de la circonférence autour du corps, si le mouvement est sagittal et/ou frontal, le membre est soulevé pour atteindre un angle $>90^\circ$ par rapport au corps.</p>
3- Orolingual	<p>0 : absent</p> <p>1 : contractions des muscles faciaux accompagnées de petits mouvements masticateurs sans ouverture de la mâchoire.</p> <p>2 : contractions musculaires du visage, accompagnées de mouvements masticateurs perceptibles, entraînant parfois une ouverture de la mâchoire.</p> <p>3 : mouvements avec une large implication des muscles faciaux et des muscles masticateurs. L'ouverture de la mâchoire est fréquente, la sortie de la langue est occasionnelle.</p> <p>4 : toutes les catégories musculaires ci-dessus sont impliquées au maximum.</p>

Pour l'évaluation de la durée des comportements, un score de 0 équivaut à l'absence de comportement alors qu'un score de 4 représente la présence continue du comportement

dyskinétique n'étant pas interrompu par un stimulus externe telle une légère tape sur la paroi du contenant (Table 9). Les scores de 1 et 2 représentent la présence du comportement pour moins ou plus que 50% du temps, respectivement, et un score de 3 est un comportement continu pouvant être interrompu par un stimulus externe.

Table 9 : Échelle d'évaluation de la durée des MAIs chez le rongeur lésé à la 6-OHDA

Évaluation	Description des score de dysfonctionnement
Durée pour chaque MAI individuellement.	<p>0 : pas de MAIs</p> <p>1 : signes occasionnels du MAI, qui sont présents pendant moins de la moitié du temps d'observation.</p> <p>2 : signes fréquents du MAI, qui sont présents pendant plus de la moitié du temps d'observation.</p> <p>3 : le MAI est présent pendant toute la durée de l'observation, mais est supprimé par des stimuli externes (par exemple, ouverture soudaine et bruyante du couvercle de la cage ou tapotage sur la paroi du cylindre).</p> <p>4 : le MAI est continu et n'est pas supprimable par des stimuli externes.</p>

4.1.6. Analyses statistiques

Vu la nature exploratoire du projet, aucune analyse de puissance n'a été faite pour déterminer le nombre exact d'animaux requis dans les expériences. Un test d'analyse de variances (ANOVA) a été utilisé pour évaluer les différences dans le test du cylindre, suivi du test de Tukey lors de la présence de différences significatives. L'effet du LY-487379 sur les dyskinésies a été analysé à l'aide du test de Friedman, suivi du test de Dunn lors d'évaluations supplémentaires. Les résultats présentés sont résumés en médianes.

Dans l'évaluation de novo, les scores des MAIs ont été évalués avec le test de Kruskal-Wallis suivi du test de Dunn. L'évolution du développement des MAIs a été analysée par un ANOVA suivi du test de Dunnett.

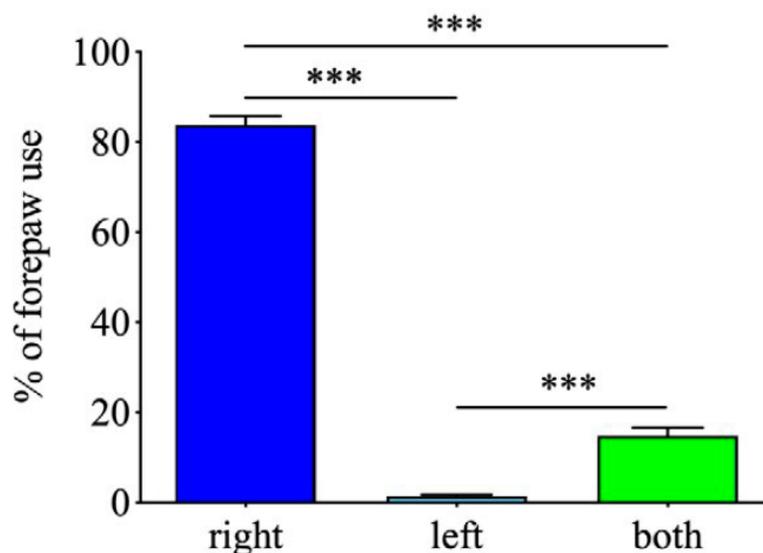
4.2. Résultats

4.2.1. Induction du parkinsonisme et effet de la lévodopa

Sur les 30 rats ayant subi des chirurgies stéréotaxiques avec injection du 6-OHDA, 16 rats ont démontré une utilisation préférentielle à 70% du côté non-lésé des membres antérieurs [246]. Dans ce groupe, la différence entre l'utilisation de chacun des deux membres antérieurs lors de l'élévation de l'animal était significative ($F(2,30) = 704.4, p < 0.001$, Figure 18), étant du côté non-lésé 81% du temps, contre 0.3% d'utilisation du côté lésé et 19% d'utilisation simultanée des 2 membres ($p < 0.001$, test de Tukey).

Figure 18 : Utilisation des membres antérieurs lors du test du cylindre.

Le pourcentage moyen (+ erreur standard) d'utilisation préférentielle pour chacun des membres antérieurs est présenté pour les rats laissés à la 6-OHDA. Le côté lésé est le côté opposé au membre non-sollicité (lésion droite dans ce cas-ci).



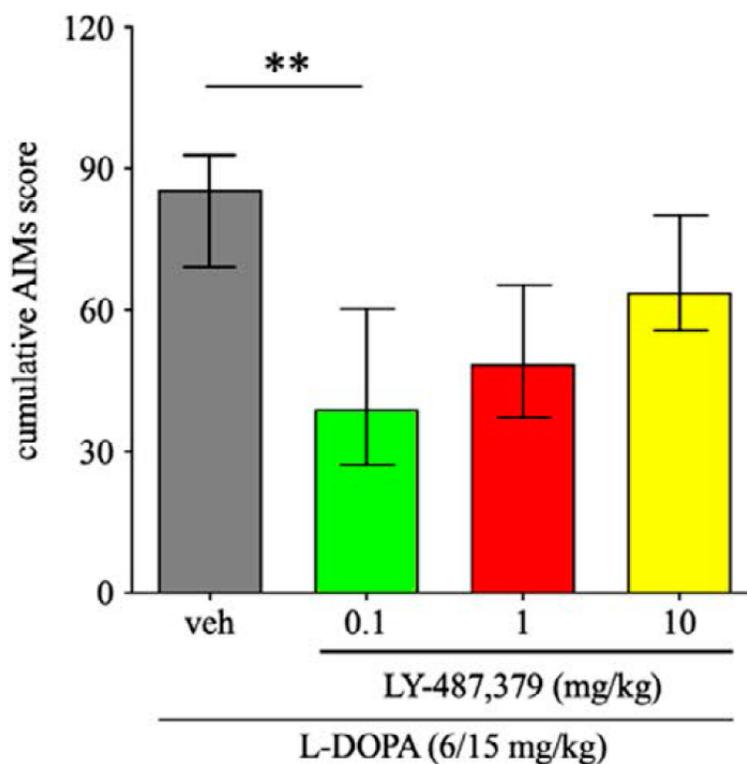
4.2.2. Effet du LY-487379 sur les dyskinésies induites par la lévodopa

La sévérité des MAIs induits par la lévodopa était significativement réduite avec l'administration de LY-487379 en comparaison à l'administration du véhicule ($F=13.88$,

$p < 0.01$). Lors de l'évaluation du score intégré cumulatif de tous les MAIs (axiaux, des membres et orolingaux) (Figure 19), une réduction significative a été observée avec la dose la plus faible de 0.1 mg/kg de LY-487379, où le score a diminué de 54% ($p < 0.01$, test de Dunn), passant de 88 à 40.

Figure 19 : Scores intégrés de MAIs cumulatifs.

Le score cumulatif des MAIs axiaux, des membres supérieurs et orolingaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile est présenté pour chaque traitement.



Cette amélioration significative a également été observée lorsque chaque type de dyskinésie a été évalué séparément. Avec la dose de 0.1 mg/kg, des améliorations de 46% ($p < 0.01$, test de Dunn, Figure 20) pour les mouvements involontaires axiaux, de 64% ($p < 0.01$, test de Dunn, Figure 21) pour les scores de mouvements involontaires du membre supérieur et de 41% pour les MAIs orolingaux ($p < 0.05$, test de Dunn, Figure 22) ont été observées.

Figure 20 : Scores intégrés de MAIs axiaux.

Le score cumulé des MAIs axiaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile est présenté pour chaque traitement.

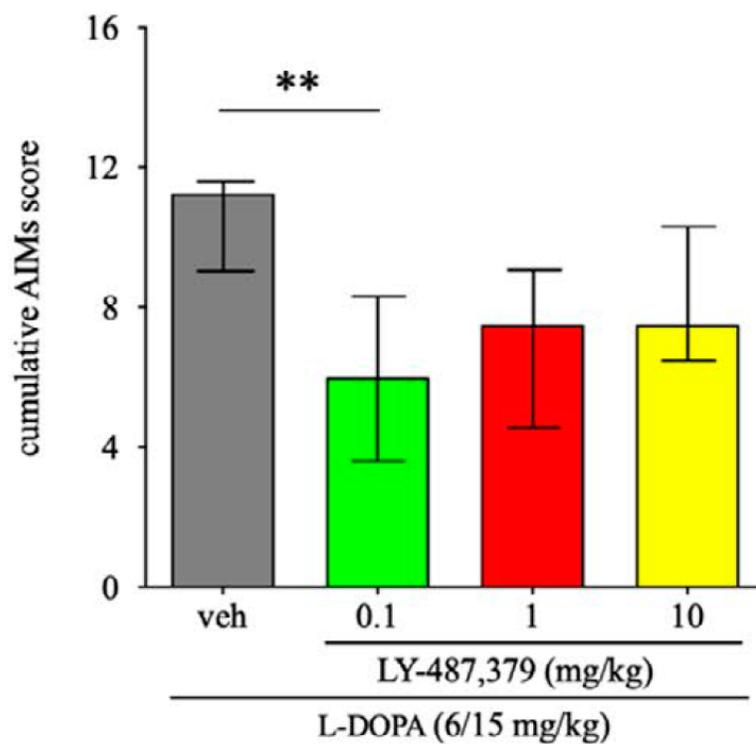


Figure 21 : Scores intégrés de MAIs des membres supérieurs.

Le score cumulé des MAIs des membres supérieurs est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile est présenté pour chaque traitement.

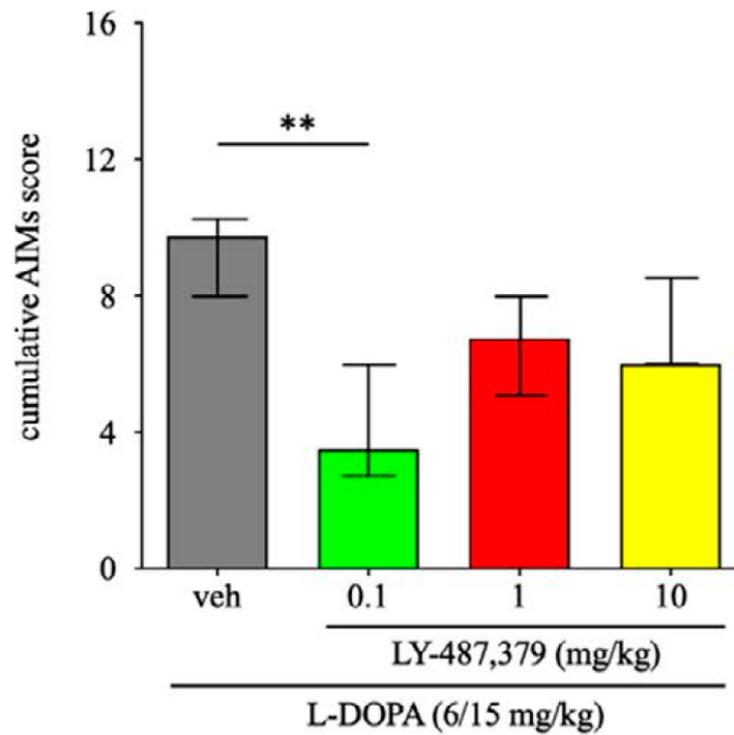
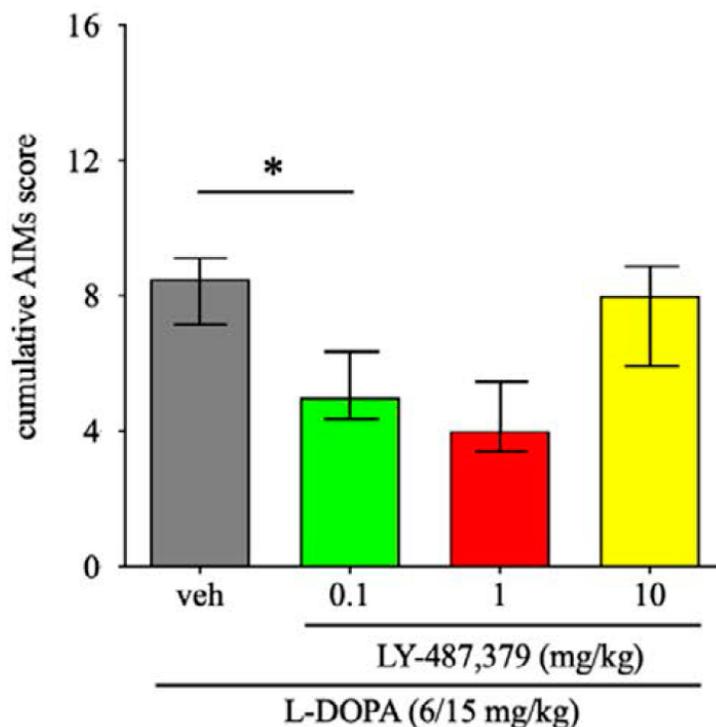


Figure 22 : Scores intégrés de MAIs orolinguaux.

Le score cumulatif des MAIs orolinguaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile est présenté pour chaque traitement.



Malgré la présence de certaines tendances, les changements induits par les doses plus élevées de 1 mg/kg et 10 mg/kg n'ont pas été significatifs. La dose de 1 mg/kg a induit une réduction non-significative de 43% ($p=0.17$, test de Dunn) du score cumulatif intégré des MAIs de tous types (Figure 19) et une réduction non-significative des différents MAIs évalués individuellement, soit les MAIs axiaux ($p=0.4$, Figure 20), les MAIs du membre supérieur ($p=0.5$, Figure 21) et les MAIs orolinguaux ($p=0.06$, Figure 22). La dose de 10 mg/kg a quant à elle induit la plus faible diminution des scores de MAIs combinés et individuels. Avec une valeur p très proche de 1 ($p>0.99$ pour tous), aucun effet significatif n'a été observé avec cette dose.

4.2.3. Effet du LY-487379 sur les dyskinésies induites au temps du maximum de concentration de lévodopa

L'effet thérapeutique optimal de la lévodopa est estimé à environ 60 à 90 minutes après l'administration du traitement. Les scores de dyskinésie à 60 minutes et 80 minutes après administration des traitements ont alors été évalués afin de déterminer l'effet du LY-487379 au pic de dyskinésies. L'amplitude ainsi que la durée des MAIs étaient significativement réduites au maximum de l'effet anti-parkinsonien de la lévodopa ($F=12.66$ avec $p<0.01$ et $F=7.48$ avec $p<0.05$). Durant cette période, avec la dose de 0.1 mg/kg, la durée des MAIs (Figure 23) était réduite de 32% ($p<0.01$, test de Dunn) et une réduction significative de l'amplitude (Figure 24) de 15% a été observée ($p<0.01$, test de Dunn). Similaires aux résultats du score cumulatif intégré durant toute la période d'observation, les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg n'ont pas démontré d'amélioration significative dans l'amplitude ou la durée des dyskinésies au pic de l'effet thérapeutique de la lévodopa. Une réduction non-significative des scores a toutefois été observée, particulièrement pour la dose de 1 mg/kg où des diminutions de 22% ($p=0.41$) pour l'amplitude des MAIs et de 19% ($p=0.26$) pour la durée des MAIs ont été observées. Une réduction inférieure des scores a été observée pour la dose de 10 mg/kg.

Figure 23 : Scores de durée de MAIs.

Le score de durée des MAIs axiaux, des membres supérieurs et orolingaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile est présenté pour chaque traitement.

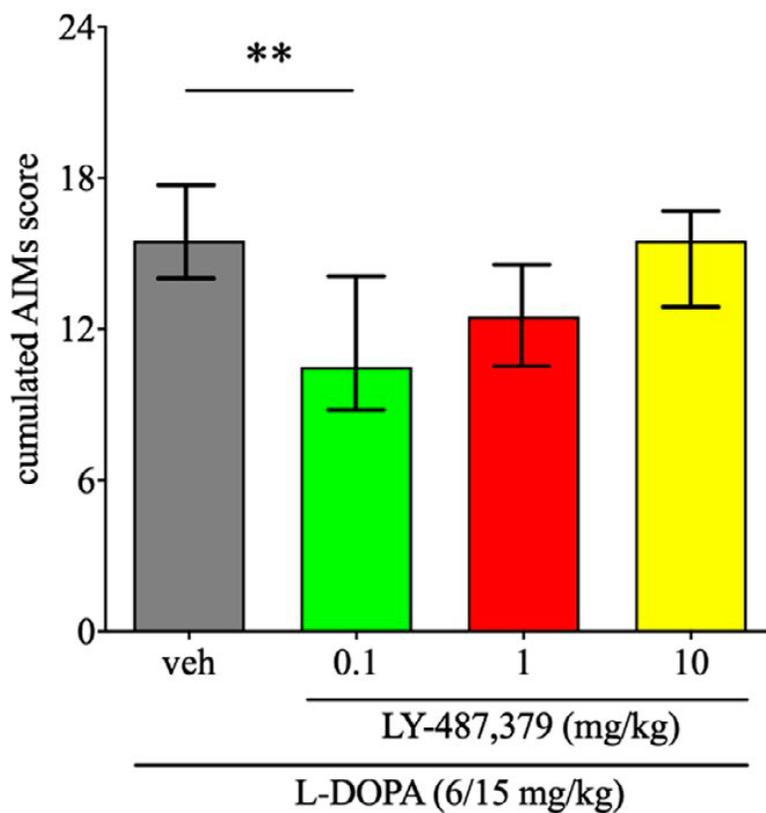
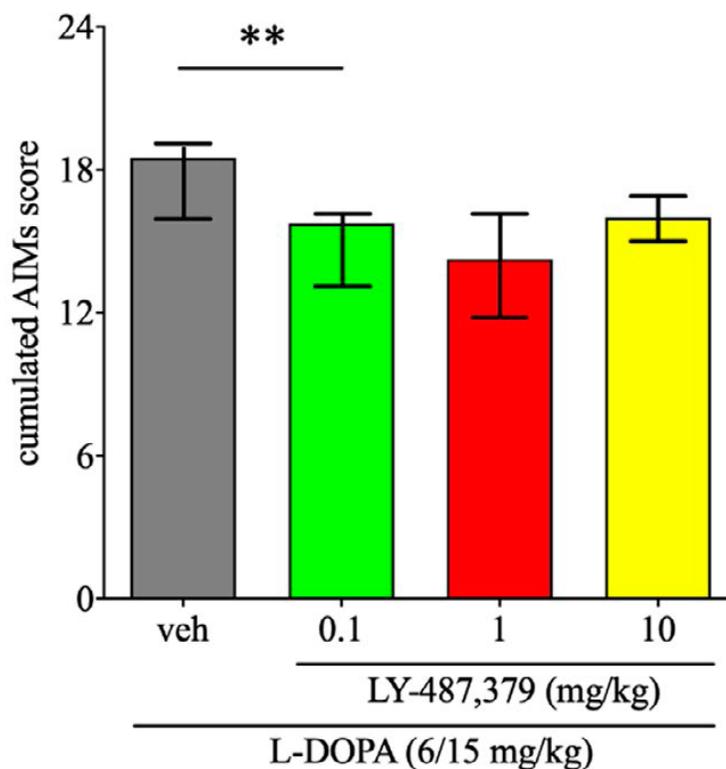


Figure 24 : Scores d'amplitude de MAIs.

Le score d'amplitude des MAIs axiaux, des membres supérieurs et orolingaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane et l'écart semi-interquartile sont présentés pour chaque traitement.



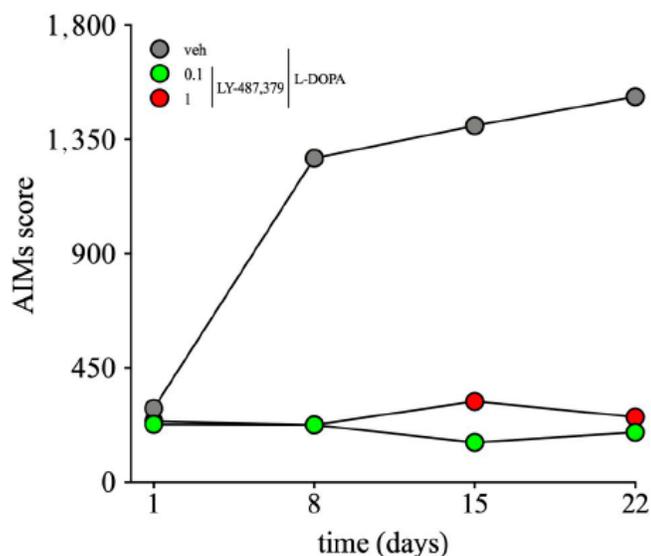
4.2.4. Effet du LY-487379 sur le développement des dyskinésies suite au traitement à la lévodopa

Dans l'étude de-novo, le LY-487379 a été administré chroniquement dès le début du traitement à la lévodopa des animaux et son effet protecteur ou ralentissant le développement des MAIs a été évalué (Figure 25). Lors du suivi hebdomadaire des MAIs, le score cumulé au jour 8 était significativement inférieur de 82% dans le groupe traité à la lévodopa + LY-487379 0.1 mg/kg ou 1 mg/kg en comparaison au groupe traité à la lévodopa + véhicule ($p < 0.001$, test de Dunnett). Cette réduction significative a été maintenue pendant les évaluations suivantes, étant de 88% et 77% pour 0.1 mg/kg et 1 mg/kg, respectivement, au jour 15 et de 87% et 83% au jour 22 pour les doses de 0.1 mg/kg et 1 mg/kg, respectivement ($p < 0.001$, test de Dunnett).

Au jour 1, la réduction des scores dans les groupes traités au LY-487379 comparé au groupe traité avec le véhicule était moindre et non-significative (21% pour 0.1 mg/kg et 17% pour 1 mg/kg $p < 0.001$, test de Dunnett).

Figure 25 : Évolution des scores intégrés de MAIs tous types cumulés.

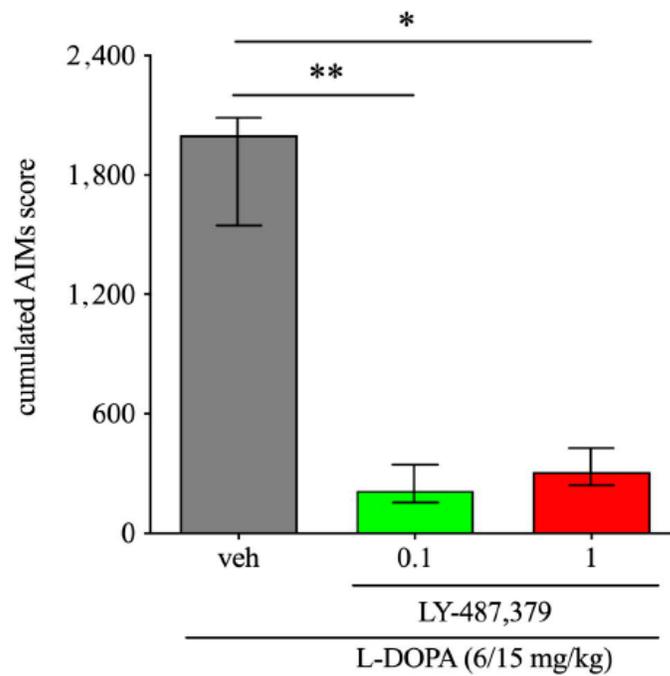
Le score intégré des MAIs axiaux, des membres supérieurs et orolingaux est calculé pour une période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA non-traités. La médiane est présentée pour chaque traitement.



Lors de l'administration de lévodopa seule après le traitement chronique et le sevrage (jour 25), le groupe n'ayant jamais été traité avec le LY-487379 a démontré des MAIs bien plus sévères que les autres groupes (Figure 26). Les scores cumulatifs de MAIs étaient significativement inférieurs dans les groupes d'animaux ayant reçu quotidiennement de la lévodopa et du LY-487379 pendant 22 jours en comparaison au groupe traité avec la lévodopa et le véhicule durant la même période ($H=12.81$ avec $p < 0.01$, test de Kruskal-Wallis). Les scores cumulatifs de MAIs en comparaison au véhicule étaient 89% et 84% plus bas avec les doses de 0.1 mg/kg et 1 mg/kg de LY-487379 ($p < 0.05$, test de Dunn). L'administration de LY-487379 a réduit le développement des MAIs.

Figure 26 : Scores intégrés de MAIs cumulatifs suite à l'administration de lévodopa.

Le score intégré des MAIs axiaux, des membres supérieurs et orolingaux est calculé pour la période d'observation de 3 heures des rats laissés à la 6-OHDA et traités à la lévodopa avec le véhicule ou le LY-487379 (0.1 mg/kg, 1 mg/kg ou 10 mg/kg). La médiane est présentée pour chaque traitement.



5. Chapitre V – Les mGluR2 dans les tissus humains de patients parkinsoniens

Dans ce projet, des tissus de cerveaux humains de 3 différents groupes, soit un groupe de patients parkinsoniens avec des HVs, un groupe de patients parkinsoniens sans HVs et un groupe contrôle de sujets sains, ont été analysés. Une quantification des mGluR2 par immunobuvardage a été faite pour chaque région cérébrale disponible de chaque sujet.

L'objectif spécifique de ces expériences était de comparer la quantification relative et distribution des mGluR2 entre les patients parkinsoniens ayant des HVs, les patients parkinsoniens sans HVs et les sujets sains pour différentes régions cérébrales.

Il était attendu que les mGluR2 soient diminués dans le groupe de sujets parkinsoniens avec HVs en comparaison au groupe de sujets parkinsoniens sans HVs, particulièrement au niveau des régions du cortex frontal et du cortex temporal. Il était également attendu que des différences soient observées entre les sujets parkinsoniens (avec et sans hallucinations) et le groupe contrôle.

Les résultats de cette étude sont en processus de rédaction pour publication dans un article scientifique.

5.1. Méthodologie

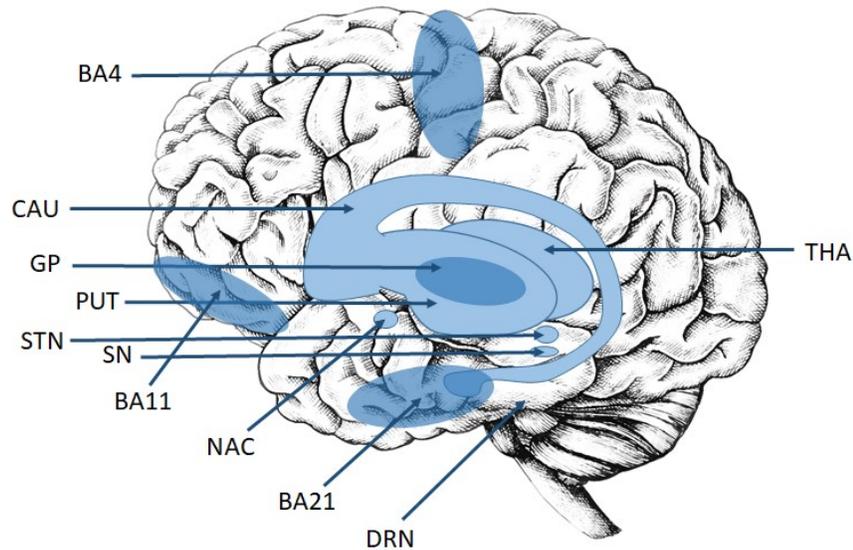
5.1.1. Échantillons

Des échantillons de tissus humains *post-mortem* provenant de la *Parkinson's UK Brain Bank* ont été analysés. Les échantillons sont issus de 24 sujets provenant de 3 groupes de 8 individus chacun, soit un groupe de patients parkinsoniens ayant des HVs (MP-HV ou *PD with VH* dans les figures), un groupe de patients parkinsoniens n'ayant pas d'HVs (MP-SHV ou *PD without VH* dans les figures) et un groupe contrôle de volontaires sains. Onze régions cérébrales ont été évaluées, choisies pour leur probable implication dans la reconnaissance et discrimination visuelle (Figure 27). Celles-ci incluent le striatum, certaines régions corticales, le NST, la SN et d'autres régions présentées dans la Table 10.

Table 10 : Régions cérébrales évaluées

Code de la région cérébrale	Nom de la région cérébrale
BA11	Aire de Brodmann 11
BA21	Aire de Brodmann 21
BA4	Aire de Brodmann 4
CAU	Noyau caudé
DRN	Noyau raphé dorsol
GP	Globus pallidus
NAC	Noyau accumbens
PUT	Putamen
SN	Substance noire
STN	Noyau sous-thalamique
THA	Thalamus

Figure 27 : Schématisation des régions évaluées



5.1.2. Lyse des tissus et quantification protéique

Afin de s'assurer d'une bonne lyse des échantillons (tissus), chaque échantillon de tissu humain est passé par différentes étapes de lyse cellulaire suivant une procédure standardisée. Celui-ci inclut des processus de lyse mécanique, chimique et thermique afin d'en extraire toutes les protéines, incluant les protéines membranaires. Pour chaque flacon d'échantillon, 1.5 mL à 2 mL de tampon Tris au triton (50 mM de Tris à pH 7.4, 0.5% de Triton, 300 mM de NaCl, cocktail d'inhibiteurs des protéases) ont été ajoutés. Même si le tampon RadioImmuno-precipitation Assay (RIPA) est généralement d'intérêt lorsqu'une protéine membranaire est ciblée, lors d'expériences comparatives et d'optimisation du protocole, le tampon choisi a permis une meilleure lyse cellulaire et identification des mGluR2 en comparaison au tampon RIPA.

Une fois le tampon ajouté, une homogénéisation à l'aide d'un pistolet broyeur est faite, avec 3 cycles d'homogénéisation suivie d'une pause sur glace permettant un refroidissement de l'homogénat. Une lyse thermique est ensuite faite par 3 cycles de congélation à l'azote liquide suivie d'un chauffage à 37 °C. Les échantillons sont finalement centrifugés à 4 °C à vitesse maximale pendant 30 minutes pour permettre l'extraction du surnageant formé du tampon de lyse et des différentes protéines cellulaires.

La quantification de tous les échantillons a ensuite été faite suivant la technique de dosage colorimétrique basé sur l'acide bicinchoninique (BCA), avec le kit *PierceTM BCA Protein Assay* de ThermoFisher (cat #23225). En bref, dans une plaque de 96 puits, 25 uL de solutions de référence à différentes concentrations décroissantes sont pipettés pour la calibration ainsi que 5 uL d'échantillon mélangé à 20 uL d'eau distillée. Après l'ajout de 200 uL du réactif BCA dans chacun des puits, la plaque est incubée à 37 degrés pendant 30 minutes. L'absorbance pour chacun des puits est ensuite mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 562 nm. À l'aide de l'équation de calibration des standards, une estimation de la concentration de chaque échantillon est calculée selon l'absorbance observée.

5.1.3. Immunobuvardage

Chaque expérience d'immunobuvardage a été réalisée à l'aide de gels de polyacrylamide à 10% pour le gel de séparation (*running gel*) et 5% pour le gel de concentration (*stacking gel*). Chaque gel a été préparé selon un protocole standard et conservé dans une condition humide à 4 °C pour un maximum de 7 jours avant utilisation. Deux gels de migration par chambre ont été placés et un tampon de Tris-Glycine-SDS (pH ~8.3) a été utilisé pour la migration.

Des échantillons de 25 uL ont été préparés comprenant un volume d'échantillon source équivalent à environ 7.5 ug de protéines, une solution de laemmli buffer/b-mercaptoethanol à ratio de 3:1 et un agent diluant formé du tampon de lyse sans inhibiteurs de protéases. Après 1 minutes dans un vortex à température ambiante, chaque solution est chauffée à 37 °C pendant 5 minutes puis remise une seconde fois dans le vortex pendant quelques secondes. Un échantillon humain contrôle est également préparé dans les mêmes conditions pour chaque gel de migration.

Les échantillons sont transférés dans les puits de chaque gel, avec un échantillon humain contrôle inclus pour chaque gel. Une migration dans le gel de concentration (*stacking gel*) à 80V est faite pendant environ 15 à 20 minutes, augmentée à 100V pendant environ 1h15 minutes pour la migration des protéines. Une fois la migration terminée, les protéines des gels sont transférées vers une membrane polyvinylidene fluoride (PVDF) à 100V pendant environ 1h15.

Une fois le transfert terminé, un blocage de la membrane est fait à l'aide d'une solution d'albumine de serum bovin (ASB/BSA) à 5% pendant au moins une heure à température ambiante. La partie supérieure de chaque membrane est ensuite immergée dans une solution de BSA 5% et d'anticorps primaire anti-mGluR2 spécifique au récepteur (millipore AB9209 [249-251]) dilué à 1 :10000 alors que la moitié inférieure est immergée dans une solution de BSA 5% et anticorps primaire anti-actine à 1 :5000, toutes deux laissées sur agitateur rotatif à 4 °C pendant la nuit.

Des lavages au Tris-Buffered Saline Tween 0.1% (TBST) de chaque membrane sont faits (minimum 4 cycles de 5 minutes chacun) avant qu'elles soient ensuite immergées dans une solution de BSA 5% et d'anticorps secondaire anti-lapin dilué à 1:15000 pendant une heure à température ambiante. Après une seconde étape de lavages au TBST, chaque membrane est traitée avec une solution de chimiluminescence améliorée (*Enhanced chemiluminescence/ECL*) selon les indications du fabricant (Clarity ECL Substrate - BioRad cat #1705061) et révélée à l'aide du système de détection ChemiDoc XRS+ System (BioRad cat #1708265).

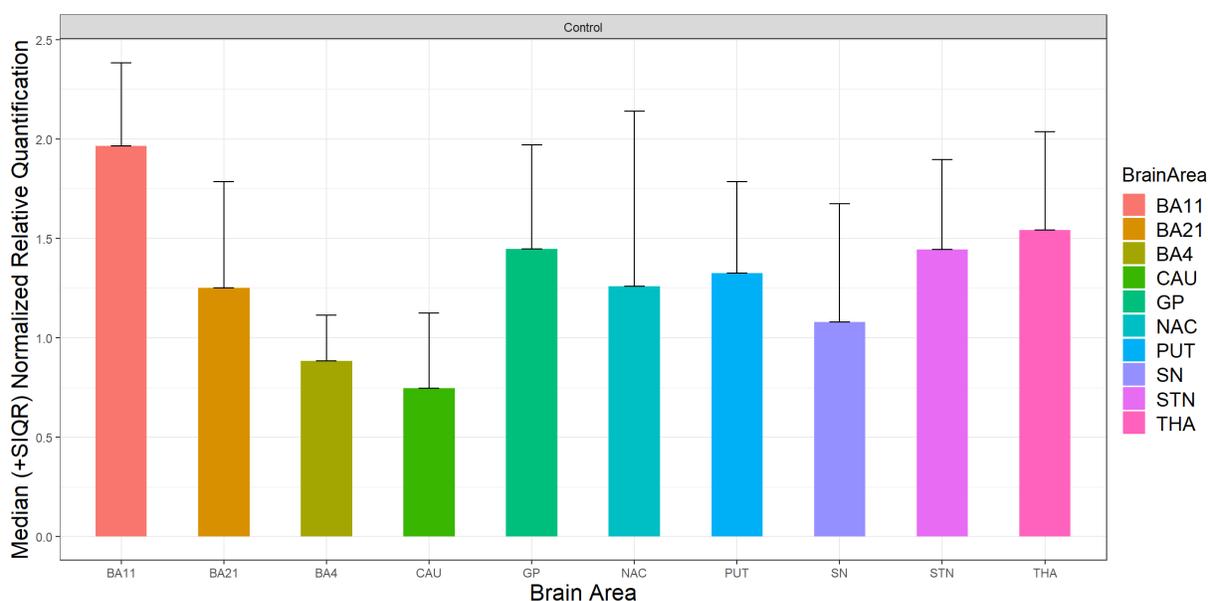
Les signaux des protéines sont ensuite quantifiés à l'aide du logiciel ImageLab, chaque signal du mGluR2 étant normalisé par rapport au signal de l'actine (total protéique) et par rapport au signal de l'échantillon humain contrôle de chaque membrane (conditions expérimentales).

5.2. Résultats

5.2.1. Comparaison entre les régions cérébrales chez les sujets sains

La quantification relative des mGluR2 chez des sujets sains sans pathologies particulières démontre que l'expression de ce récepteur est généralisée dans toutes les régions cérébrales évaluées. Lors des analyses exploratoires, une grande variabilité entre les sujets dans tous les groupes évalués a été observée pour le DRN, cette région ayant alors été exclue de toutes les évaluations et comparaisons dans ce chapitre.

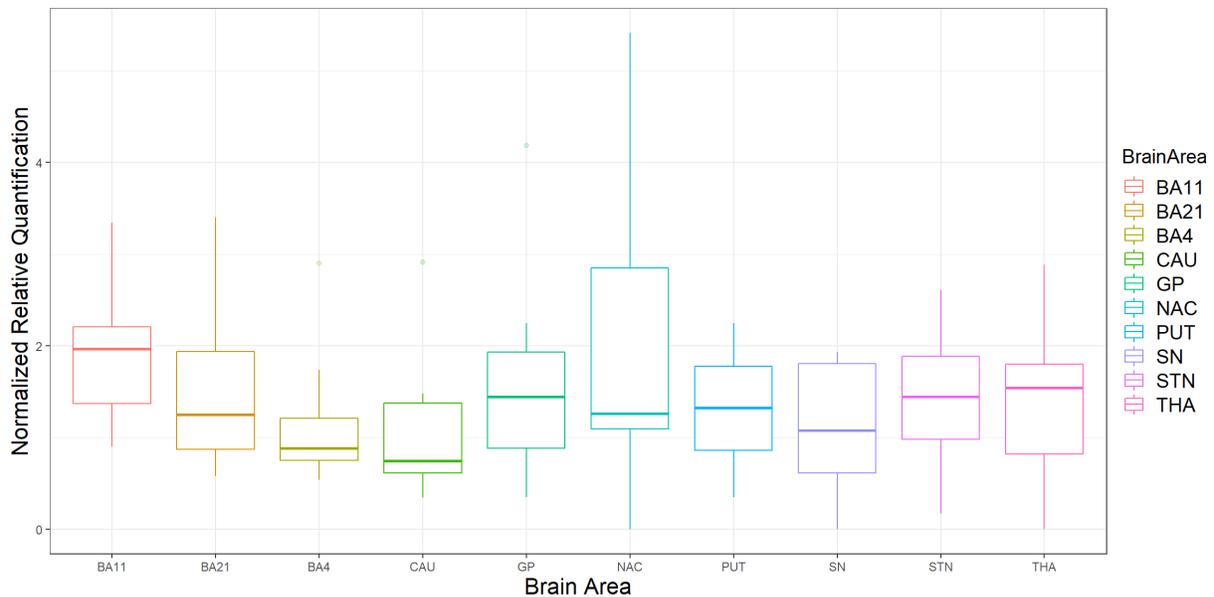
Figure 28 : Quantification relative médiane (+ écart semi-interquartile) des mGluR2 dans le groupe contrôle.



Malgré la présence d'une certaine variabilité, l'expression de mGluR2 semble plus importante dans le cortex orbitofrontal (BA11) alors qu'elle est moindre au niveau du noyau caudé. Une différence de distribution significative est observée entre ces deux régions (Wilcoxon-Mann-Whitney [WMW], $p=0.027$), avec une quantification relative médiane de 1.96 dans le BA11 et 0.746 dans le noyau caudé (Table 11).

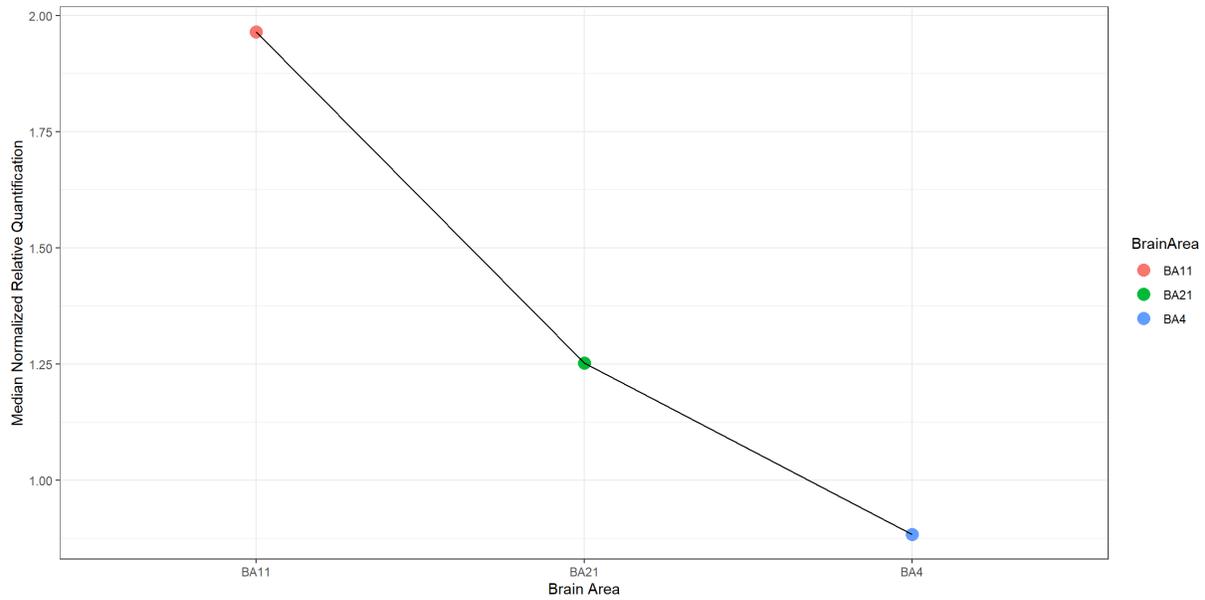
Une expression médiane comparable des mGluR2 est observée dans les régions cérébrales internes incluant le noyau accumbens, le NST, le GP et le thalamus. La distribution des quantifications dans ces régions est également comparable, à l'exception du noyau accumbens, où un plus important écart est observé (Figure 29).

Figure 29 : Distribution de la quantification relative des mGluR2 dans le groupe contrôle.



Au niveau des régions corticales (Figure 30), l'expression des mGluR2 semble plus importante dans le cortex orbitofrontal (BA11) que dans le cortex moteur primaire (BA4) (WMW, $p=0.025$), avec une médiane allant de 1.96 à 0.884. Une réduction a également été observée dans la distribution médiane dans la région temporale (BA21) en comparaison au BA11, celle-ci n'étant toutefois pas significative à cause de la présence d'une valeur extrême (WMW, $p=0.14$ incluant tous les sujets et $p=0.046$ excluant la valeur extrême). Aucune différence significative n'a été observée entre la quantification relative médiane des mGluR2 dans le cortex temporal (BA21) comparé au BA4 (WMW, $p=0.22$).

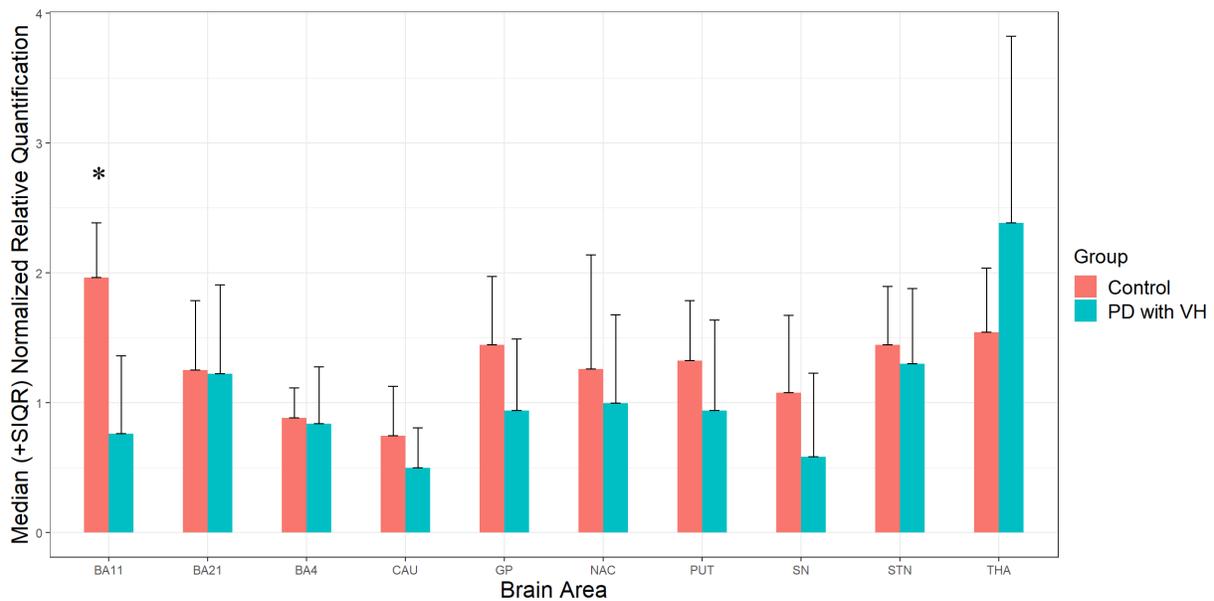
Figure 30 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans les régions corticales du groupe contrôle.



5.2.2. Comparaison entre les patients parkinsoniens avec hallucinations visuelles et les sujets sains

La quantification relative médiane des mGluR2 dans chaque région cérébrale ainsi que la distribution des quantifications dans chaque groupe a été évaluée et comparée entre le groupe MP-HV et le groupe de sujets sains.

Figure 31 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe contrôle.



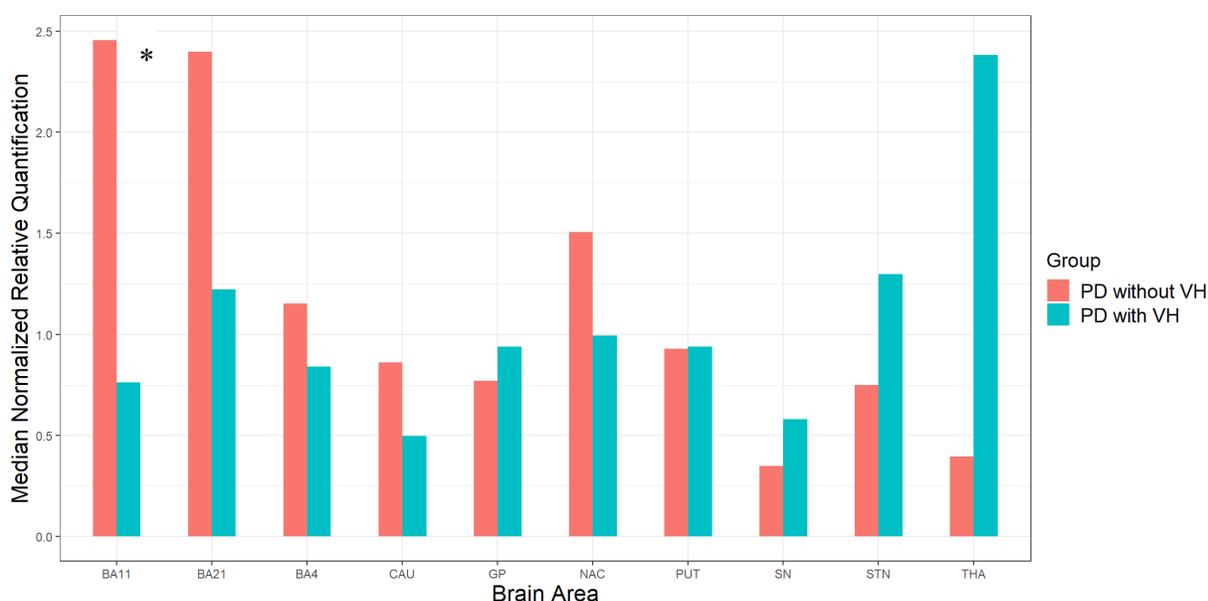
Une expression de mGluR2 inférieure chez les MP-HV au niveau du cortex orbitofrontal (BA11) a été observée en comparaison aux sujets sains (WMW, $p=0.052$). Dans le cortex temporal (BA21) ainsi qu’au niveau du cortex moteur primaire (BA4), l’expression des mGluR2 semble similaire entre les deux groupes, ne démontrant pas de différence significative dans la distribution ni la médiane.

Une légère diminution de l’expression médiane de mGluR2 chez les MP-HV est observée dans plusieurs régions sous-corticales incluant le noyau caudé, le GP, le noyau accumbens, le putamen et la SN. Toutefois, ceci demeure observationnel, la variabilité au sein des deux groupes pour ces régions, particulièrement chez les sujets avec MP-HV, ne permettant pas de voir une différence significative.

5.2.3. Comparaison entre les patients parkinsoniens avec et sans hallucinations visuelles

Une comparaison de l'expression des mGluR2 dans chacune des régions cérébrales a également été évaluée entre le groupe de sujets MP-HV et le groupe de sujets MP-SHV (Figure 32).

Figure 32 : Quantification relative médiane des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe MP-SHV.

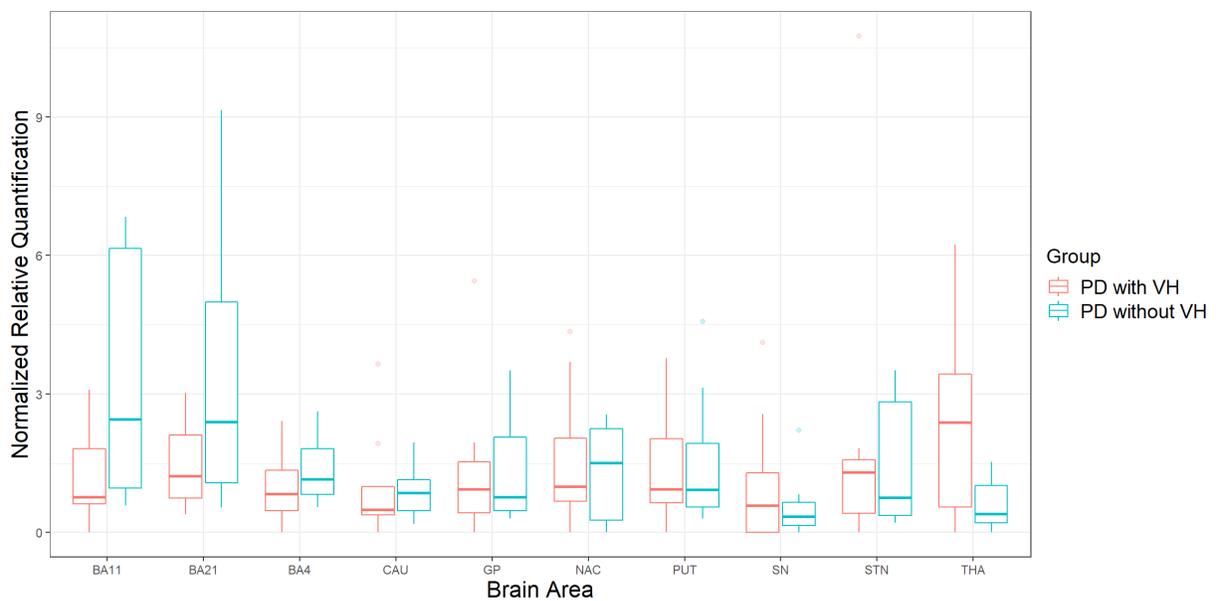


Au niveau cortical, une différence significative a été observée dans la région BA11 entre les deux groupes (WMW, $p=0.032$), ainsi qu'une tendance dans la région BA21 du cortex temporal (WMW, $p=0.097$). Dans ces deux régions, une réduction de l'expression relative médiane de mGluR2 chez les patients MP ayant des HVs est observée en comparaison aux patients MP n'ayant pas d'HVs. La quantification médiane des mGluR2 n'est toutefois pas significativement différente entre les deux groupes pour la région BA4 (WMW, $p=0.19$).

Au niveau des régions sous-corticales, malgré une diminution de l'expression médiane de mGluR2 observée pour le noyau caudé et le noyau accumbens, la quantification dans ces deux régions demeure statistiquement comparable entre le groupe MP-HV et le groupe MP-

SHV. À l'inverse, l'expression médiane des mGluR2 semble toutefois augmentée chez les patients MP-HV dans le NST, la SN et le thalamus. Malgré une importante différence entre les valeurs médianes observées, particulièrement pour la médiane dans le thalamus du groupe MP-HV étant 5 fois supérieure au groupe MP-SHV (Table 11), la différence dans la distribution des quantifications n'est pas significative avec le test de Wilcoxon-Mann-Whitney, vu le chevauchement des distributions (Figure 33).

Figure 33 : Distribution de la quantification relative des mGluR2 dans le groupe MP-HV et le groupe MP-SHV.



De manière générale, la distribution cérébrale des mGluR2 dans les différentes régions d'intérêt serait différente entre les groupes (Figure 34), celle-ci s'adaptant potentiellement aux pathologies des patients (MP et HVs).

Figure 34 : Quantification relative médiane des mGluR2 par région cérébrale dans les différents groupes évalués.

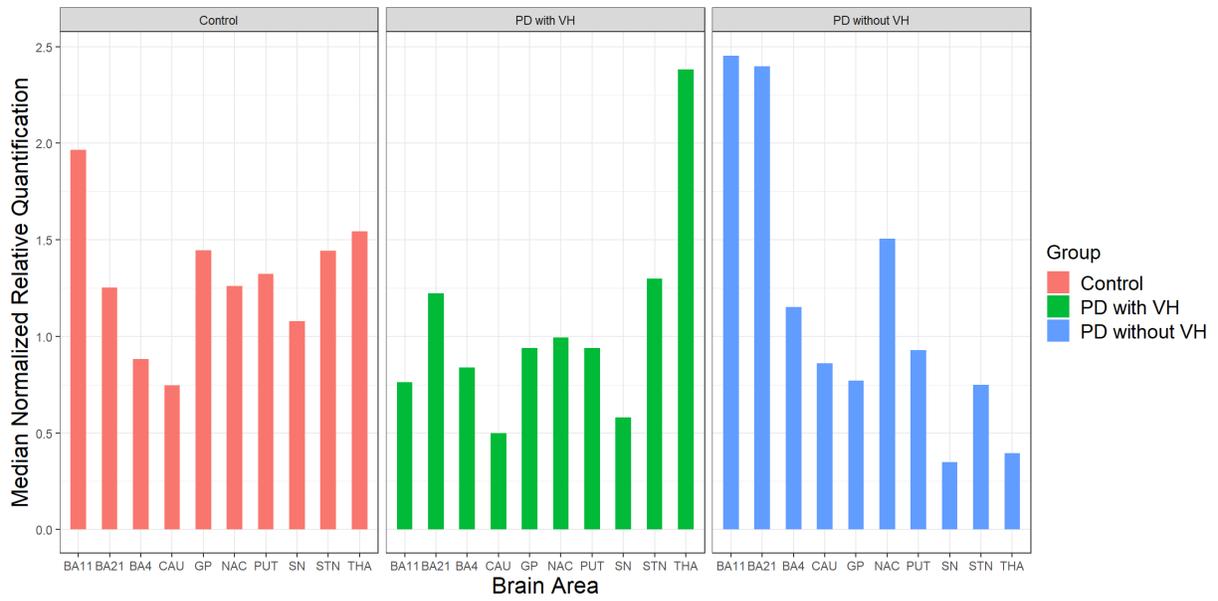


Table 11 : Statistiques descriptives de la quantification relative des mGluR2 dans les différentes régions cérébrales par groupe

	Groupe Contrôle (N=8)	MP-SHV (N=8)	MP-HV (N=8)
BA11			
Moyenne (Écart-type)	1.93 (0.838)	3.32 (2.65)	1.21 (1.05)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.96 [0.903, 3.34]	2.45 [0.581, 6.83]	0.763 [0, 3.08]
BA21			
Moyenne (Écart-type)	1.56 (0.975)	3.46 (3.07)	1.47 (0.966)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.25 [0.577, 3.40]	2.40 [0.536, 9.14]	1.22 [0.391, 3.02]
BA4			
Moyenne (Écart-type)	1.17 (0.790)	1.39 (0.804)	0.985 (0.823)
Médiane [Minimum, Maximum]	0.884 [0.540, 2.90]	1.15 [0.547, 2.62]	0.839 [0, 2.41]
CAU			
Moyenne (Écart-type)	1.14 (0.877)	0.888 (0.591)	0.988 (1.16)
Médiane [Minimum, Maximum]	0.746 [0.343, 2.91]	0.862 [0.185, 1.95]	0.498 [0, 3.65]
GP			
Moyenne (Écart-type)	1.64 (1.20)	1.38 (1.25)	1.47 (1.86)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.45 [0.353, 4.19]	0.771 [0.295, 3.51]	0.940 [0, 5.45]
NAC			
Mean (SD)	2.08 (1.81)	1.30 (1.10)	1.55 (1.62)
Median [Min, Max]	1.26 [0, 5.41]	1.50 [0, 2.55]	0.995 [0, 4.36]
PUT			
Moyenne (Écart-type)	1.29 (0.654)	1.54 (1.53)	1.43 (1.33)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.32 [0.353, 2.25]	0.928 [0.295, 4.57]	0.940 [0, 3.77]
SN			
Moyenne (Écart-type)	1.08 (0.749)	0.566 (0.727)	1.09 (1.49)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.08 [0, 1.93]	0.350 [0, 2.22]	0.582 [0, 4.12]
NST			
Moyenne (Écart-type)	1.41 (0.779)	1.55 (1.48)	2.15 (3.54)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.44 [0.174, 2.61]	0.749 [0.207, 3.51]	1.30 [0, 10.7]
THA			
Moyenne (Écart-type)	1.40 (0.871)	0.625 (0.586)	2.37 (2.27)
Médiane [Minimum, Maximum]	1.54 [0, 2.88]	0.396 [0, 1.53]	2.38 [0, 6.23]

6. Chapitre VI – Discussion

6.1.1. Résumé et discussion des résultats de recherche

6.1.1.1. *Effet du LY-487379 chez le marmouset*

Dans le premier projet présenté au chapitre III, l'objectif était de déterminer l'effet comportemental du LY-487379 chez les marmousets parkinsoniens lésés au MPTP. Nous avons évalué les comportements néfastes induits par la lévodopa, soit les comportements de type psychotique et les dyskinésies, ainsi que le parkinsonisme des six animaux inclus dans l'étude.

Les résultats des expériences ont démontré que la stimulation des mGluR2 par l'intermédiaire de l'administration de LY-487379 chez les marmousets a significativement réduit la sévérité des comportements de type psychotique et des dyskinésies avec les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg. La co-administration de ces doses avec la lévodopa a réduit de près de moitié la sévérité des comportements de type psychotique des animaux et leurs dyskinésies.

Ces résultats vont de pair avec d'autres molécules évaluées dans notre laboratoire [252]. Le rétablissement des symptômes de type psychotique et des dyskinésies chez le marmouset a également été observé suite à la co-administration de lévodopa avec autre molécule ciblant les récepteurs glutamatergiques du groupe II, le LY-354740. Trois différentes doses de LY-354740, un agoniste orthostérique des mGluR2/3s, ont été testé sur les deux modèles animaux présentés ici, soit le marmouset traité au MPTP et le rongeur lésé à la 6-OHDA. Les résultats globaux de ces expériences étaient similaires aux résultats présentés ici. Dans ces expériences, chez le marmouset, une réduction significative des symptômes psychotiques et des dyskinésies a été démontrée avec les 3 doses testées ainsi qu'une amélioration globale des symptômes de parkinsonisme avec la dose testée la plus élevée de 1 mg/kg [252].

Dans un autre projet, l'évaluation des deux molécules ensemble, soit l'agoniste orthostérique LY-354740 et le MAP LY-487379, a également démontré un effet bénéfique contre les dyskinésies et les comportements de type psychotique chez les marmousets. Cet effet n'a toutefois pas été additif ou synergique entre les deux molécules, l'amélioration observée par chacune des molécules séparément étant relativement similaire à l'amélioration des symptômes lors de leur co-administration [253]. L'activation signalétique des récepteurs mGluR2 par l'une ou l'autre des molécules serait possiblement déjà à son maximum lorsque celles-ci sont

administrées seules, l'effet bénéfique issu de cette activation ayant possiblement alors atteint un plateau. Aucun effet additionnel ne serait donc observé par l'administration d'un second activateur des récepteurs mGluR2.

D'ailleurs, l'étude évaluant l'effet du LY-354740 a également observé un possible plafonnement des effets antidyskinétiques et antipsychotiques de la molécule chez le primate [252]. Au chapitre III, nous avons également observé une efficacité relativement comparable entre les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg de LY-487379 malgré une augmentation par un facteur de 10 de la dose testée. Pourtant, la dose la plus faible de 0.1 mg/kg n'a pas été aussi efficace, ne démontrant aucune amélioration significative pour les comportements de type psychotique et quelques tendances à l'amélioration ou petites améliorations significatives pour les dyskinésies en comparaison au traitement avec le véhicule. Il est possible que cette dose soit trop faible pour induire une activation marquée des récepteurs et un effet comportemental quantifiable alors que les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg soient quant à elles déjà dans un effet maximal.

L'effet bénéfique observé est principalement marqué au cours de la 2e heure après l'administration de la lévodopa et du LY-487379, au moment où la sévérité des symptômes psychotiques et dyskinétiques observés induits par la lévodopa était à son plus fort. Les symptômes psychotiques observés au pic de l'effet antiparkinsonien de la lévodopa, soit entre 60 et 150 minutes après son administration, sont passés de sévères dérangeants à modérés non-dérangeants suite au traitement avec la dose la plus forte de LY-487379. La dose de 1 mg/kg a également significativement réduit cette sévérité de symptômes au pic. Les mêmes améliorations ont été observées pour les dyskinésies. La dose faible de 0.1 mg/kg n'a encore probablement pas été suffisante pour induire un effet significatif.

Il est intéressant de constater que le temps au pic des concentrations (T_{max}) du LY-487379 après administration sous-cutanée a été évalué à environ 15 minutes, soit rapidement après l'administration [242]. Ceci expliquerait l'amélioration des symptômes observée dès la première demi-heure après administration du traitement.

Lors des différentes expériences sur les marmousets, l'effet bénéfique antipsychotique et antidyskinétique du LY-487379 a été maintenu tout au long de la période d'observation des

symptômes, ceux-ci ayant été présents pendant environ 3 heures après l'administration de la lévodopa. Dans les analyses de pharmacocinétique, la demi-vie du LY-487379 a été estimée à environ 4.25h, soit bien au-delà de la période de manifestation des symptômes à rétablir. Le profil des concentrations avec la dose de 1 mg/kg a démontré la présence de concentrations élevées de LY-487379 tout au long des 3 heures d'observation des symptômes [242]. Les résultats pharmacocinétiques ainsi que le profil d'efficacité du LY-487379 démontrent que la dose de 1 mg/kg serait suffisante pour induire une bonne réponse contre les symptômes psychotiques et dyskinétiques chez le marmouset.

Finalement, durant les expériences, le temps ON sans symptômes psychotiques dérangeants a été significativement supérieur lorsque les animaux étaient traités avec les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg de LY-487379. Le temps ON sans symptômes dyskinétiques dérangeants était également significativement supérieur suite au traitement avec les 3 doses, incluant la dose la plus faible de 0.1 mg/kg. Au niveau clinique, un effet de la sorte apporterait une importante amélioration à la qualité de vie des patients ainsi que de leurs proches aidants, ceux-ci pouvant mener un quotidien relativement normal et non affecté par leurs symptômes. De plus, l'absence de détérioration du parkinsonisme peu importe la dose de LY-487379 testée laisserait penser qu'il n'y a pas d'interactions entre les deux molécules et leurs effets, un point primordial pour le traitement dans la MP. Une amélioration des symptômes de parkinsonisme a même été observée avec la dose de 10 mg/kg, cet effet étant discuté plus bas.

6.1.1.2. Effet du LY-487379 chez le rongeur

Au chapitre IV, les expériences sur les rongeurs lésés à la 6-OHDA ont confirmé certains résultats observés chez les marmousets concernant l'effet du LY-487379 sur les dyskinésies. Les dyskinésies, se manifestant chez les rongeurs par des MAIs, étaient significativement réduites suite à l'administration de la dose la plus faible de LY-487379 de 0.1 mg/kg. Cette amélioration significative a été observée pour l'ensemble des MAIs mais aussi lorsque chacun des mouvements involontaires était évalué individuellement, soit les MAIs axiaux, du membre supérieur et oroliguaux. Les doses modérée et forte de LY-487379 n'ont toutefois pas démontré de différences significatives sur les MAIs en comparaison au véhicule, les effets bénéfiques observés demeurant de simples tendances.

Dans le projet du laboratoire mentionné plus haut pour le LY 354740, les expériences faites sur les rongeurs ont également observé une amélioration significative des dyskinésies, ou MAIs chez les rongeurs. Une hypothèse intéressante issue de ce projet est la présence potentielle d'une courbe dose-réponse en U pour l'effet antidyskinétique chez le rat. Les doses de LY-354740 ont toutes induit un effet plus ou moins similaire [252]. Toutefois, au chapitre IV, le LY-487379 chez les rongeurs a quant à lui induit un effet bénéfique avec la faible dose et une absence d'effet antidyskinétique avec les doses plus élevées. Il est donc possible selon cette théorie d'effet en U que les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg de LY-487379 chez le rongeur se situent dans le creux de la courbe alors que la dose plus faible de 0.1 mg/kg est plus optimale et se situe au début de la courbe en U. Il serait intéressant d'évaluer si une dose encore plus faible aurait induit un effet encore meilleur et si une dose très forte reproduirait également cet effet bénéfique. La solubilité du LY-487379 pourrait toutefois être limitante pour l'obtention d'une dose très forte, en plus des limites possibles d'innocuité [254].

Au pic prévu des dyskinésies, les mêmes observations ont été faites, avec une réduction significative de la sévérité et de la durée des dyskinésies suite au traitement avec la dose de 0.1 mg/kg et une réduction non-significative lors de l'administration des doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg. Les doses de 1 mg/kg et 10 mg/kg semblent encore une fois être trop élevées pour induire une efficacité chez les rongeurs, celles-ci pouvant avoir induit un certain effet compensatoire ou délétère suite à la surstimulation des mGluR2.

6.1.1.3. Les mGluR2 dans le cerveau humain

Les observations sur les tissus *post-mortem* humains présentées au chapitre V ont démontré que la distribution cérébrale des mGluR2 dans les régions d'intérêt est différente entre les trois groupes évalués, soit le groupe contrôle de sujets sains, le groupe MP-HV et le groupe MP-SHV. Vu le petit nombre de sujets par group (n=7 à 8), la variabilité observée ou la présence d'une valeur extrême dans certains cas a empêché de conclure à certaines différences significatives, malgré la présence de tendances.

Les patients parkinsoniens présentant des HVs semblent avoir moins de mGluR2 au niveau cortical, principalement dans le cortex orbitofrontal et dans le cortex temporal, comparés aux patients parkinsoniens sans HVs et au groupe contrôle. Les dyskinésies et les hallucinations

seraient associées à une augmentation de la signalisation glutamatergique dans le cerveau [38, 159, 162, 255, 256]. Or, le mGluR2, principalement présynaptique, a une fonction inhibitrice de la transmission glutamatergique [204, 205] et sa réduction chez les patients parkinsoniens dans des régions impliquées dans le traitement de l'information et la reconnaissance et discrimination de signaux visuels [165, 166] pourrait expliquer la présence d'HVs résultant d'une suractivation glutamatergique et d'un manque de rétrocontrôle au niveau cortical. Aucune différence significative entre les groupes évalués n'a toutefois été observée dans le cortex moteur primaire.

Une augmentation de l'expression des mGluR2 a été observée dans le thalamus des patients parkinsoniens avec hallucinations en comparaison aux patients sans hallucinations, ce qui laisse penser à une adaptation localisée de l'expression des mGluR2 lors de la manifestation d'HVs. Il est pensé que le thalamus est impliqué dans plusieurs fonctions incluant des fonctions cognitives, sensorielles et même motrices [257]. Celui-ci projette entre autres vers des régions corticales, et l'augmentation des mGluR2 dans le thalamus observée chez les sujets ayant des HVs pourrait être liée à la diminution de ceux-ci dans les régions corticales recevant la signalisation. Un mécanisme d'adaptation pourrait même être en cause dans cette réorganisation, une diminution de la transmission venant du thalamus pouvant mener à une diminution des mGluR2 dans les régions corticales, qui causerait à son tour une augmentation du glutamate dans les régions subséquentes de la boucle de signalisation [166].

La diminution des mGluR2 chez les patients parkinsoniens avec HVs au niveau du cortex orbitofrontal est également observée en comparaison aux sujets sains. L'expression des mGluR2 semble alors plus affectée au niveau du cortex lors de la manifestation d'HVs, cette réduction pouvant expliquer l'effet bénéfique observé lors de la stimulation des mGluR2 dans les études animales.

Une limite à ces évaluations demeure l'absence d'information sur les particularités médicales des sujets inclus. Les trois groupes sont comparables au niveau de l'âge et du sexe, les détails sur la durée de maladie, les traitements et leur durée n'étant toutefois pas disponibles. Ces détails pourraient expliquer la variabilité observée au sein des groupes.

Il est intéressant de constater que les mGluR2 ont été détectés dans toutes les régions cérébrales évaluées, confirmant la présence diffuse de ce récepteur dans le cerveau. Une étude d'autoradiographie sur les récepteurs du groupe II (mGluR2/3s) a également observé la présence des récepteurs dans les ganglions de la base incluant le noyau caudé, le putamen, le GPe et le GPi. Contrairement aux observations dans le chapitre V, cette étude a observé plus de récepteurs dans le noyau caudé que dans le putamen. Toutefois, cette étude a utilisé un radio-ligand spécifique au groupe II, soit incluant les récepteurs mGluR2 et mGluR3s [232]. Cette différence pourrait alors être expliquée par l'ajout du mGluR3, les résultats présentés au chapitre V étant spécifiques au mGluR2.

Une autre étude d'autoradiographie sur des primates non-humains a confirmé une comparabilité dans la distribution des récepteurs mGluR2/3 chez les animaux et les humains. Dans cette étude, les animaux non-dyskinétiques ont démontré une expression réduite de mGluR2/3 particulièrement dans le GP [258]. Dans la quantification du chapitre V, la distribution médiane des mGluR2 observée dans le GP du groupe MP-SHV est également réduite par rapport au groupe contrôle. Ces observations vont de pair avec l'hypothèse d'une similitude entre les changements aux mGluR2 liés à l'apparition de dyskinésies et ceux liés à l'apparition des HVs

Une des particularités observées lors des expériences d'immunobuvardage est la présence constante d'un fort signal dans la partie supérieure de l'image. Ce signal correspond à un poids moléculaire d'environ 200 à 250 kDa alors que le signal du mGluR2 a été observé à environ 100 à 110 kDa. Ce second signal est donc à un poids moléculaire environ double du poids moléculaire observé du mGluR2. De plus, des expériences de transfection de cellules pour que celles-ci puissent exprimer des mGluR2 ont été faites afin de confirmer la validité de l'anticorps utilisé. Dans ces expériences, ce second signal a également été observé en plus du signal de mGluR2, ces deux signaux n'ayant pas été observés dans l'échantillon contrôle sans expression de mGluR2. Ces différentes observations permettent alors de penser que le second signal observé dans les échantillons au poids moléculaire élevé est un signal de dimères de mGluR2, probablement des homo-dimères. Il est connu que les mGluR2 ont une forte tendance à former des dimères entre eux et des hétéromères avec d'autres récepteurs [236, 237, 241]. Ces dimères ont résisté à plusieurs types de tampon de lyse et méthodes de lyse des échantillons, le

signal à haut poids moléculaire étant toujours observé indépendamment des conditions expérimentales. Seulement les monomères de mGluR2 ont été évalués dans le chapitre V, les conditions expérimentales ayant été exactement les mêmes entre les échantillons afin de s'assurer d'une comparabilité des résultats et du pourcentage de monomères présents. Il serait toutefois intéressant d'évaluer également les dimères et de comparer la distribution de ceux-ci entre les différents groupes.

6.1.2. Effets généraux sur la transmission glutamatergique

Les différents résultats présentés dans ce projet de thèse démontrent le potentiel des mGluR2 comme cible thérapeutique contre les complications issues du traitement chronique à la lévodopa, particulièrement les dyskinésies et comportements psychotiques. La stimulation sélective des mGluR2 par l'intermédiaire du MAP LY-487379 a démontré une amélioration significative de plusieurs symptômes de type psychotique chez les marmousets sous différentes conditions, ainsi que l'amélioration significative des dyskinésies chez les marmousets et les rats. Au niveau moléculaire, il a également été observé que l'expression des mGluR2 dans certaines régions cérébrales diffère entre les patients parkinsoniens ayant des HVs et les patients parkinsoniens sans HVs, étant entre autres diminuée dans le cortex orbitofrontal.

Ces différentes expériences ainsi que les autres résultats du laboratoire lors de plusieurs expériences distinctes confirment la reproductibilité des résultats avec cette stratégie thérapeutique. L'effet bénéfique de la stimulation des récepteurs glutamatergiques du groupe II sur les dyskinésies et les comportements de type psychotique est d'un grand potentiel dans la MP.

L'effet bénéfique de l'amantadine contre les dyskinésies induites par la lévodopa chez les patients parkinsoniens confirme également l'importance du système glutamatergique dans le rétablissement de ces symptômes. Ce traitement approuvé par la *Food and Drug Administration* (FDA) agit principalement par antagonisme des récepteurs NMDA, réduisant ainsi la transmission glutamatergique, ce qui résulte en une amélioration des dyskinésies [213, 259, 260]. Dans d'autres projets de recherche, lors d'expériences avec des modèles animaux comparables à ceux utilisés par notre laboratoire, soit les rongeurs lésés à la 6-OHDA et les

marmousets traités au MPTP, plusieurs doses d'amantadine ont significativement réduit les MAIs et comportements de type dyskinétique, démontrant jusqu'à 50% de réduction des symptômes pour certaines doses [210, 261, 262]. Cette corrélation entre l'effet bénéfique animal observé sur ces modèles et l'effet clinique confirmé chez les patients est prometteuse.

Avec le LY-487379, une activation des récepteurs mGluR2 présynaptiques aurait un effet principalement inhibiteur de la transmission avec une réduction de la libération synaptique du glutamate [263, 264]. Cette action mènerait à une diminution de la signalisation glutamatergique et contribuerait à produire l'effet bénéfique observé dans les études animales contre les dyskinésies. Une des principales hypothèses expliquant les dyskinésies est justement une activation excessive de la transmission glutamatergique, particulièrement dans le striatum [159]. Ceci explique alors l'effet antidyskinétique observé du LY-487379.

Un autre effet bénéfique potentiel issu de la diminution de la transmission glutamatergique par l'activation des mGluR2 serait un effet protecteur ralentissant le développement des dyskinésies. L'amantadine administrée avant ou en même temps que l'administration de lévodopa pourrait réduire ou retarder le développement des dyskinésies [265]. Les différentes molécules activant les récepteurs mGluR2 permettraient également de retarder la manifestation des symptômes dyskinétiques ou les ralentir dans leur progression. Lors des expériences de-novo chez les rongeurs, où les animaux non-dyskinétiques jamais traités à la lévodopa ont été introduits aux deux molécules en même temps, les animaux ayant reçu la lévodopa en concomitance avec le LY-487379 depuis le jour 1 ont démontré des scores de dyskinésies induites par la lévodopa moins sévères que ceux ayant reçu la lévodopa avec le véhicule pendant la période de *priming* [244]. Des résultats similaires ont été observés avec le LY-354740 [252]. La réduction de la transmission glutamatergique dès le début du traitement à la lévodopa pourrait avoir empêché cette dernière de provoquer un mécanisme de suractivation du système glutamatergique et retarder ou ralentir le développement des dyskinésies.

6.1.3. Le complexe mGluR2/5HT2A

6.1.3.1. *Effets et implication du complexe*

Le mécanisme exact induisant l'effet antipsychotique et antidyskinétique de la stimulation des mGluR2 demeure à être établi et confirmé. Des hypothèses concernant un effet direct résultant de la diminution de la signalisation glutamatergique ont été discutées. Aussi, plusieurs évidences laissent penser que cet effet, particulièrement pour les symptômes psychotiques, serait directement ou indirectement lié à l'action de certains récepteurs sérotoninergiques, particulièrement le 5-HT2A et l'interaction du mGluR2 avec ce dernier.

Les antipsychotiques atypiques incluant la clozapine agissent notamment par antagonisme des 5-HT2A, dont l'action est médiée par la protéine Gq. Plusieurs hallucinogènes interagissent également avec ces récepteurs, ayant principalement une action agoniste. Or, il a été observé que les effets des ligands de ce récepteur seraient aussi dépendants d'un équilibre entre la signalisation médiée par la protéine Gq, couplée aux 5-HT2A, et celle médiée par la protéine Gi, celle-ci étant couplée aux mGluR2 [266, 267]. Dans la MP, la clozapine par son action antagoniste des 5-HT2A et la pimavansérine par son action agoniste inverse des 5-HT2A ont significativement réduit les symptômes de psychose parkinsonienne [167, 239]. Un effet antipsychotique issu du blocage des récepteurs 5-HT2A est donc probable dans la MP également.

Or, l'interaction fonctionnelle au niveau des mécanismes de signalisation des récepteurs 5-HT2A et mGluR2 est démontrée dans la littérature scientifique depuis plusieurs années [175, 256, 266]. L'effet bénéfique observé sur les symptômes de type psychotique chez les marmousets pourrait être expliqué également par une action indirecte sur la signalisation des récepteurs 5-HT2A. Puisque l'activation des 5-HT2A et l'antagonisme des mGluR2 produisent des effets postsynaptiques qui vont de pair, l'inverse, soit l'antagonisme des 5-HT2A et l'agonisme des mGluR2 aurait également une action comparable ou complémentaire, avec comme résultat l'inhibition des potentiels d'action. L'activation des mGluR2 par l'action du MAP LY-487379 pourrait donc avoir également inhibé de façon indirecte la signalisation issue

des récepteurs 5-HT_{2A}, se rapprochant de l'action mécanistique de la pimavenserine ou de la clozapine à faibles doses [173, 255, 256, 266, 268].

Aussi, une co-localisation des récepteurs mGluR2 avec les récepteurs 5-HT_{2A} a été démontrée dans différentes expériences. L'interaction des deux récepteurs par l'intermédiaire de régions transmembranaires spécifiques a été observée, en plus d'une co-localisation dans plusieurs régions cérébrales. Lors d'expériences de co-immunoprecipitation, les résultats ont confirmé la formation de complexes possible entre les deux récepteurs [173, 175, 241]. Ceci a également été observé lors des expériences de transfection de cellules du laboratoire, où des récepteurs 5HT_{2A} ont été détectés suite à la précipitation des récepteurs mGluR2. Cette co-localisation ajoutée à une interaction fonctionnelle accentuent un effet possible de l'activation des récepteurs mGluR2 sur la signalisation des récepteurs 5-HT_{2A}.

Certaines molécules ayant une action agoniste des 5-HT_{2A} sans démontrer d'effet hallucinogène, tel le lisuride, pourraient d'ailleurs induire une signalisation différente sur ce récepteur, dépourvue d'une signalisation issue de la protéine Gi [170, 269]. Une interdépendance entre l'action des 5-HT_{2A} et des mGluR2 est démontrée mais complexe, l'effet antipsychotique de l'activation des mGluR2 étant possiblement en partie causé par la signalisation des 5-HT_{2A}.

Lors d'expériences subséquentes du laboratoire sur des marmousets parkinsoniens traités au MPTP, l'effet individuel du MAP du mGluR2 et d'un antagoniste neutre 5-HT_{2A}, le EMD-281014, sur les dyskinésies et les comportements de type psychotique ont été comparés à l'effet obtenu lorsque les deux molécules sont co-administrées. L'amélioration des symptômes dyskinétiques lors de la co-administration des deux traitements, en plus de la lévodopa, a été significativement supérieure à l'amélioration observée par chacun des traitements individuels. L'amélioration des symptômes de type psychotique a également été supérieure lors de la co-médication, cette différence n'étant toutefois pas significative. Dans cette étude, l'effet bénéfique observé lors de l'utilisation de l'antagoniste 5-HT_{2A} EMD-281014 a été perdu lorsque ce dernier a été co-administré avec le LY-341495, un antagoniste orthostérique des mGluR2 [270]. Il est clair que les effets observés par l'activation ou l'inhibition du 5-HT_{2A} sont dépendants de la signalisation du mGluR2, ce qui renforce l'hypothèse d'un effet co-

dépendant entre les deux récepteurs. Ces observations vont de pair avec les hypothèses expliquées plus haut sur l'interaction fonctionnelle entre les mGluR2 et les 5-HT2A et le potentiel thérapeutique de ce complexe pour les symptômes psychotiques et dyskinétiques dans la MP.

6.1.3.2. Concordance avec les traitements impliquant le système serotoninergique et/ou glutamatergique

L'agoniste inverse du récepteur 5-HT2A pimavansérine, un antipsychotique atypique, a entre autres démontré son efficacité dans des études de phase II et phase III. Il s'agit du premier traitement approuvé par la FDA contre les hallucinations et les délires dans la MP [167, 168]. Cet effet antipsychotique commence généralement à être observé jusqu'à 4 à 6 semaines après le début du traitement et a démontré quelques effets secondaires graves pouvant limiter son utilisation chez certains patients, particulièrement en post-commercialisation [271, 272]. La quetiapine, un antagoniste sérotoninergique et dopaminergique également utilisé contre la psychose parkinsonienne auprès de certains patients, a quant à elle démontré un profil clinique bien moins intéressant que la pimavansérine [273].

La clozapine, également un antipsychotique atypique antagoniste des 5-HT2A, a aussi démontré une efficacité dans la psychose parkinsonienne lorsque celle-ci est administrée à de faibles doses, étant plutôt non-sélective pour les récepteurs ciblés lorsqu'administrée à des doses élevées. Toutefois, son profil d'innocuité étant limité, son administration requiert des prises de sang fréquentes et comporte des risques parfois graves et pouvant mettre la vie des patients en danger [272, 274]. L'efficacité de cette cible thérapeutique est démontrée, mais des options thérapeutiques additionnelles pour le traitement de symptômes psychotiques dans la MP demeurent nécessaires.

Dans la schizophrénie, l'utilisation d'agonistes des mGluR2/3 a également déjà été considérée il y a plusieurs années. Dans une étude de phase 2, l'utilisation du LY-2140023, une pro-drogue de l'agoniste orthostérique LY-404039 des récepteurs mGluR2/3, a réduit les symptômes positifs et négatifs observés chez les patients schizophrènes, son effet étant pratiquement comparable à l'effet des antipsychotiques atypiques [275, 276]. Des résultats

positifs avaient été observés avec cette molécule au niveau préclinique, par exemple sur des souris transgéniques [277]. D'autres études cliniques de phase 1B et phase 2 ont également démontré des résultats prometteurs de cette molécule lors de son administration pendant 4 semaines ou plus [241, 278]. Le LY-379268, un autre agoniste des mGluR2/3, a quant à lui démontré une efficacité contre les déficits d'apprentissage dans un modèle de schizophrénie chez le rat exposé à l'acetate de méthylazoxyméthanol, particulièrement lorsque le traitement est commencé jeune [279].

L'agoniste allostérique positif des mGluR2 AZD8529 a démontré une efficacité partagée dans différentes conditions. Dans la schizophrénie, une étude de 28 jours avec des patients n'a pas démontré de différence significative comparé au placebo dans le score total des symptômes positifs et négatifs [280]. Dans une autre étude en double-aveugle, malgré l'absence d'amélioration des symptômes négatifs et troubles cognitifs, des changements significatifs dans la signalisation ont été observés à l'aide de l'imagerie par résonance magnétique, particulièrement dans le striatum [281].

Ces différentes études et résultats confirment le potentiel des résultats positifs observés par le ciblage des mGluR2 dans les symptômes psychotiques de la MP. Ces découvertes sur l'activation du mGluR2 peuvent également être d'un grand intérêt pour d'autres troubles psychiatriques. Par exemple, l'agoniste sélectif des mGluR2/3 LY-544340, une pro-drogue du LY354740, a également démontré une efficacité clinique contre le trouble d'anxiété généralisée malgré des résultats préliminaires négatifs [282, 283].

6.1.4. Implications de la présence des symptômes moteurs

Un élément important à considérer dans l'effet de la stimulation des mGluR2 est qu'il ne semble pas interférer avec l'effet antiparkinsonien de la lévodopa. En effet, une importante difficulté clinique dans le traitement des dyskinésies et des symptômes psychotiques et hallucinations dans la MP est la présence de symptômes moteurs requérant déjà un ajustement pharmacologique ciblant les systèmes de neurotransmission, particulièrement la transmission dopaminergique. L'ajout de traitements pouvant influencer la neurotransmission dans le

système nerveux central devient alors complexe, ceci pouvant perturber directement ou indirectement le système dopaminergique déjà problématique.

La majorité des traitements utilisés pour contrer les troubles psychotiques ont un effet direct sur la transmission dopaminergique. Dans la schizophrénie et autres types de psychoses, l'effet bénéfique généralement recherché résulte d'un blocage des récepteurs dopaminergiques, ce qui explique la particularité de la psychose parkinsonienne et la difficulté à trouver de bonnes options thérapeutiques dans la MP [268, 272]. Le même type de problème est observé avec les dyskinésies, où les options thérapeutiques sont limitées entre autres à cause de la difficulté à trouver une balance entre la minimisation des dyskinésies et la maximisation de l'effet bénéfique antiparkinsonien. Les options thérapeutiques incluant l'amantadine et les thérapies invasives telle la stimulation cérébrale profonde ne démontrent que peu ou pas d'effets néfastes sur le parkinsonisme et son traitement, mais leur efficacité demeure d'amplitude et de durée limitées pour plusieurs patients [284, 285].

Il est intéressant de noter que l'utilisation du MAP du mGluR2 à certaines doses a contribué à l'amélioration des symptômes parkinsoniens chez les marmousets. Cette amélioration s'observait par l'augmentation du temps ON des animaux, soit le temps où des symptômes parkinsoniens, particulièrement la bradykinésie, étaient absents ou minimalement présents et non-dérangeants. Les informations disponibles ne permettent toutefois pas d'établir s'il s'agit d'un effet propre à l'action glutamatergique de la molécule testée, soit le LY-487379, ou d'un effet amplificateur de l'efficacité de la lévodopa.

Plusieurs études ont démontré une implication du système glutamatergique dans l'efficacité de certaines options thérapeutiques contre les symptômes moteurs de la MP. Une étude chez les rongeurs lésés au 6-OHDA a par exemple observé que l'effet bénéfique de l'exercice dans le rétablissement des dysfonctions motrices pourrait être dépendant d'une réduction de la libération du glutamate et mener à une augmentation des mGluR2/3 au niveau striatal [286]. Une autre étude chez le rongeur a également confirmé l'implication du système glutamatergique, particulièrement les mGluR2/3s et les mGluR5s, dans l'amélioration de symptômes parkinsoniens avec l'exercice. Celui-ci a augmenté l'expression des mGluR2/3s et

réduit celle des mGluR5s, ce qui va de pair avec l'effet bénéfique observé suite à l'activation des mGluR2 [287].

Le LY-379268, un agoniste sélectif des récepteurs métabotropiques du group 2 mGluR2/3, a été évalué pour son effet moteur ainsi que son potentiel de neuroprotection dans des modèles de rongeur. Au niveau moteur, la molécule administrée en intracérébral a démontré un effet bénéfique dose-dépendant contre l'akinesie induite par la réserpine. Cette molécule a également été administrée pendant plusieurs jours suivant une injection intracérébrale de 6-OHDA. La tyrosine hydroxylase, l'enzyme permettant la formation de L-DOPA, a été mesurée pour comparer et vérifier le niveau de protection cellulaire. L'administration du LY-379268 a démontré une certaine protection des neurones contre la 6-OHDA ainsi qu'une amélioration fonctionnelle [288].

D'autres molécules agissant sur les récepteurs mGluRs ont également démontré certains effets bénéfiques moteurs dans différentes études animales et cliniques [232, 289, 290]. Le ciblage des mGluR2/3s dans la MP pourrait donc également avoir une implication sur les symptômes moteurs de la maladie, tel qu'observé avec le LY-487379 chez le marmouset. Le mécanisme exact permettant d'obtenir ces effets moteurs demeure toutefois à être établi.

6.1.5. Discussion des modèles animaux et échelles utilisés

Le marmouset est le seul modèle animal ayant une échelle validée pour l'évaluation de phénotypes ressemblant à la psychose parkinsonienne, d'où son utilisation dans ce projet [198, 199]. Malgré l'apparence d'une composante semi-subjective dans l'établissement des scores, l'entraînement et la pratique préalable des évaluateurs avant le début des expériences comportementales a permis une standardisation dans l'évaluation des comportements normaux et anormaux des animaux. En effet, lors de la validation des échelles, une grande reproductibilité des résultats indépendamment des connaissances et de l'expérience préalable de l'évaluateur suite à l'entraînement et la pratique a été démontrée [199]. Avant de commencer les expériences présentées, une comparaison des évaluations faites sur des vidéos de pratique a permis de confirmer la reproductibilité des résultats entre les évaluateurs et entre les séances.

Ce qui est intéressant dans l'échelle d'évaluation des comportements chez ces primates est la comparabilité avec les comportements observés chez l'humain. La réponse à un stimulus non-apparent est le phénotype le plus intéressant, étant l'équivalent des HVs observées chez le patient parkinsonien. Ce comportement a d'ailleurs été observé chez tous les animaux parkinsoniens traités à la lévodopa dans les expériences présentées. Les stéréotypies et le toilettage excessif reflètent également un comportement répétitif, obsessif et impulsif très souvent observé chez les patients, où des comportements tels que le trouble du contrôle des impulsions, les troubles obsessifs ou des gestes répétés machinalement sont fréquents. Lors des expériences, ces stéréotypies se distinguaient d'ailleurs bien des comportements dyskinétiques chez les animaux par leur profil très répétitif et machinal contrairement aux dyskinésies se manifestant plutôt par des mouvements involontaires, similaire à ce qui est observé chez les patients [199].

L'origine de ces différents comportements issus de la sensibilisation comportementale corrént également avec ce qui est observé chez les patients parkinsoniens, où les complications cliniques évaluées ou encore les fluctuations motrices se manifestent suite à l'administration répétée et intermittente de la lévodopa, pouvant être également qualifiées de sensibilisation comportementale chez l'humain [291] .

Chez les rongeurs, l'infusion de la 6-OHDA au niveau du faisceau prosencéphalique médian droit a permis l'induction du parkinsonisme unilatéral. Cette méthode de développement de modèles animaux est largement répandue et utilisée dans la recherche sur la MP pour le développement de traitements symptomatiques et même neuroprotecteurs. Le choix du site d'injection et des coordonnées a des répercussions directes sur le degré de dénervation obtenu [177, 178, 197]. Dans le projet présenté sur les rongeurs, le site d'injection a été choisi puisqu'il permet une mort neuronale importante des neurones dopaminergiques au niveau de la SNpc et une atteinte moindre de l'ATV, ce qui reflète la MP observée chez l'humain, où l'ATV est relativement épargnée. L'inconvénient dans l'utilisation de ce modèle est qu'il ne démontre toutefois pas de corps de Lewy, ce point n'ayant pas un grand impact dans ces expériences comportementales sans composante pathophysiologique [292].

Ce modèle animal est très utile pour évaluer des effets comportementaux et certains phénotypes liés directement ou indirectement à la déficience dopaminergique. Le phénotype unilatéral aide aussi grandement à la survie des animaux et facilite l'hébergement et la prise en charge quotidienne des animaux [178, 292].

Le taux de succès observé des chirurgies chez les rongeurs lors des expériences était acceptable et prévisible, avec environ 50% des animaux qui ont démontré un phénotype parkinsonien hémilatéral. Vu l'aspect hémilatéral de la lésion, l'utilisation du test du cylindre a permis de confirmer qu'il y a bel et bien eu une lésion cérébrale, mais aussi que le déficit dopaminergique est assez important pour être jugé significatif et représentatif de la MP. Ce test validé indique qu'une utilisation préférentielle à 70% du côté non-lésé est corrélée avec une perte de dopamine d'au moins 88%, ce test étant alors couramment utilisé pour ce modèle animal [246, 293]. L'utilisation de cette valeur (70% d'utilisation préférentielle du côté non-lésé) comme référence dans la sélection des animaux après les chirurgies a d'ailleurs aidé au succès des expériences présentées, tous les animaux « qualifiés » ayant démontré des MAIs avec le traitement à la lévodopa.

D'autres tests évaluant une déficience motrice peuvent être considérés. Parmi ceux-ci, le test de rotation est également utile pour évaluer la performance motrice d'un animal, celui-ci ayant tendance à tourner sur lui-même vers le côté lésé, ce qui reflète le débalancement dans l'innervation dopaminergique du côté lésé et non-lésé [294, 295]. Le comportement rotatif excessif est également un signe d'hyperkinésie lors de traitements dopaminergiques pouvant être un signe de dyskinésie chez l'animal [217, 296]. L'interprétation des résultats de ce test tant pour évaluer des performances motrices que pour évaluer des comportements dyskinétiques peut être difficile et parfois non-concluante. De plus, pour ce qui est des dyskinésies, l'efficacité des molécules pour réduire celles-ci n'est pas toujours corrélée avec une efficacité démontrée pour la réduction des rotations, contrairement à l'échelle des MAIs utilisée [217]. Tous ces éléments ont été pris en considération dans le choix des tests et échelles à utiliser dans les expériences.

D'autres tests habituellement utilisés pour évaluer les performances motrices des rongeurs, incluant le test de performance Rotarod, le test de mouvement et activité locomotrice dans un espace fermé ou le test de coordination motrice sur faisceau (*beam walking test*) ne sont

pas toujours adaptés à la particularité hémiparkinsonienne des rongeurs dans ce modèle animal. Le test de mouvement de saisie volontaire (*skilled reaching*) quant à lui peut être utile pour ce modèle animal. Toutefois, le test du cylindre demeure le meilleur choix, étant le plus pratique et validé pour ce type de lésion motrice [246, 294, 295, 297, 298].

Parmi les éléments pouvant optimiser les résultats lors des chirurgies, l'administration préalable d'inhibiteurs de transporteurs de la noradrénaline (e.g., desipramine) aide à obtenir une mort dopaminergique spécifique en affectant au minimum les neurones noradrénergiques et sérotoninergiques [188, 246, 299, 300]. L'utilité de ce prétraitement demeure discutable selon les besoins de l'expérience, une certaine implication de la perturbation du système noradrénergique étant parfois requise et plus représentative de la MP. Puisque la 6-OHDA peut être oxydée par la MAO, un prétraitement des animaux avec des inhibiteurs de la MAO (e.g., pargyline) peut optimiser l'effet de la 6-OHDA en réduisant la dégradation oxydative de celle-ci [188, 300, 301]. Dans les expériences présentées, l'administration de carprofène a également permis une bonne analgésie, contribuant ainsi au bon rétablissement des animaux.

6.1.6. Le LY-487379, un choix bénéfique.

Les récepteurs mGluR2 et mGluR3 font tous deux partie du groupe II des récepteurs métabotropiques du glutamate. Une grande homologie entre ces deux récepteurs est observée, avec une similitude des séquences estimée à environ 70% entre les récepteurs du même groupe. Ceci implique la présence de plusieurs similitudes entre ces récepteurs, mais également quelques différences possible dans leur fonctionnement et localisation [204].

Les différentes études cherchant à évaluer l'effet de la stimulation ou l'antagonisme des mGluR2 vont souvent évaluer les récepteurs du groupe II, les résultats ne pouvant être distingués entre les deux récepteurs à cause de cette homologie [302-305]. Pourtant, certaines différences entre ces deux récepteurs peuvent avoir un impact sur l'effet recherché lors de la stimulation ou du blocage, la sélectivité des molécules utilisées devenant un enjeu important dans l'évaluation de l'efficacité de la cible [306-308].

Une des forces de ces résultats dans les différentes expériences avec l'utilisation du LY-487379 est qu'il est assez sélectif aux mGluR2, ce qui permet d'imputer les différents effets observés à l'agonisme de ce dernier et d'éviter autant que possible les interférences issues du mGluR3. De plus, cette molécule étant un MAP du récepteur, non seulement sa sélectivité aux récepteurs mGluR2 est meilleure qu'un agoniste, elle permet aussi une modulation endogène de la signalisation et le maintien d'un certain équilibre fonctionnel dans la transmission glutamatergique [309-311]. En effet, la liaison du LY-487379 à un site autre que le site orthostérique va uniquement modifier et amplifier la réponse du récepteur, la présence du ligand sur le site orthostérique demeurant requise pour cette action. Vu la grande présence du système glutamatergique dans le cerveau, l'utilisation d'un MAP au lieu d'une activation continue avec un agoniste permet une action plus proche du comportement physiologique.

6.1.7. Perspectives et évaluations cliniques

Les complications issues du traitement chronique à la lévodopa sont un facteur très limitant dans la prise en charge des patients parkinsoniens. L'efficacité de la lévodopa pour le rétablissement des symptômes moteurs est d'une importance primordiale dans le traitement de la MP, ce médicament demeurant la meilleure thérapie symptomatique depuis des décennies. Malgré une efficacité optimale limitée dans le temps qui requiert une augmentation de la fréquence et de la dose du traitement, son utilisation demeure positive pour les patients à tous les stades de la maladie. Or, les complications physiques dont les dyskinésies et les fluctuations et les symptômes psychotiques perturbent grandement cette balance des avantages et désavantages de l'utilisation de la lévodopa [87, 91, 97, 312]. Il est clair qu'un traitement curatif ou modificateur de l'évolution de la maladie est d'un grand intérêt dans la recherche et développement de médicaments et pour la prise en charge des patients, mais des options cliniques ne sont malheureusement pas prévues pour un avenir proche [90]. L'optimisation du traitement symptomatique par la molécule favorite à ce jour devient donc une priorité immédiate afin d'améliorer la qualité de vie des patients.

Les résultats présentés ainsi que plusieurs autres publications du laboratoire et d'autres groupes de recherche démontrent le grand potentiel du ciblage des mGluRs dans le traitement des dyskinésies et symptômes psychotiques issues des complications de la lévodopa chronique,

particulièrement les mGluR2 [221, 222, 226, 235, 252, 253, 270, 288, 310]. Or, comme présenté dans l'introduction, ces symptômes sont très fréquents suite au traitement chronique avec la lévodopa mais se manifestent également chez certains patients à des stades avancés de la maladie, indépendamment du traitement. Le bénéfice de la découverte de traitements efficaces par cette cible thérapeutique peut donc s'élargir au-delà des complications à la lévodopa et contribuer à l'amélioration de la qualité de vie d'un fort pourcentage de patients parkinsoniens à des stades avancés. Il serait intéressant d'évaluer l'utilisation d'agonistes des mGluR2 sur les dyskinésies et les hallucinations et même la psychose parkinsonienne issues purement de l'évolution de la MP. Au niveau clinique, les patients naïfs à tout traitement antiparkinsonien étant rares à ces stades avancés de la maladie, l'évaluation de patients traités aux agonistes dopaminergiques serait une bonne alternative pour vérifier si un effet de la stimulation des mGluR2 sur les dyskinésies et symptômes psychotiques issus de l'évolution de la maladie est également observé, la majorité des agonistes dopaminergiques étant moins propices à induire ces complications, contrairement à la lévodopa [143, 144].

Une limite à cela demeure la difficulté à observer ces phénotypes purement issus du développement de la maladie, principalement les dyskinésies et les symptômes de type psychotiques, dans des modèles animaux. Un des moyens utilisés entre autres dans les projets présentés pour évaluer les dyskinésies et symptômes psychotiques chez l'animal est de les précipiter par l'administration chronique de la lévodopa, ce qui n'est pas souhaité pour valider un effet sur ces symptômes lorsqu'ils résultent de l'évolution de la maladie indépendamment des traitements. Toutefois, vu les similitudes symptomatiques et pathophysiologiques supposées entre par exemple les dyskinésies résultant du traitement chronique de la lévodopa et les dyskinésies aux stades avancés de la maladie sans lien apparent avec un traitement à la lévodopa, une validation de l'effet à l'aide des modèles animaux présentés (précipités par la lévodopa) serait suffisant et généralisable pour une évaluation clinique élargie aux symptômes n'étant pas nécessairement précipités par un traitement à la lévodopa.

Ce qui est également prometteur avec cette nouvelle cible thérapeutique est la disponibilité de molécules déjà testées cliniquement et validées pour leur innocuité chez l'humain [275, 278]. Le potentiel translationnel pour la stimulation des mGluR2 est donc grand puisqu'il est déjà possible de conclure que c'est une avenue cliniquement acceptable et sans

dangers majeurs. Une évolution vers des études cliniques apparaît possible pour des molécules ayant déjà démontré leur innocuité, même si le LY-487379 n'est pas validé pour une utilisation clinique. La complexité du cerveau et de son fonctionnement laisse tout de même présager de grands défis pour tout nouveau développement de médicament dans une maladie neurologique.

Autre que la MP, les récepteurs métabotropiques ont également un potentiel positif dans les troubles neuropsychiatriques en général. Les agonistes des mGluR2/mGluR3 ont par exemple démontré une efficacité contre l'anxiété ainsi que les troubles liés au stress chronique [313]. Cette cible thérapeutique est également prometteuse contre l'addiction à la nicotine, où des effets positifs ont été observés dans plusieurs études précliniques et même cliniques [305].

Les résultats précliniques sont très prometteurs pour valider le mGluR2 comme cible thérapeutique, particulièrement pour les hallucinations et symptômes psychotiques, où des résultats positifs ont également été observés dans la schizophrénie, tel que discuté plus haut. Même si le LY-487379 n'est pas une molécule candidate à utiliser en clinique, d'autres molécules ciblant le mGluR2 sont disponibles pour une évaluation clinique immédiate, leur innocuité ayant été validée dans des études cliniques pour d'autres conditions. Or, l'établissement de protocoles cliniques évaluant les symptômes neuropsychiatriques, particulièrement les hallucinations et la psychose parkinsonienne, est nécessaire pour l'évolution de la recherche sur l'efficacité de la stimulation des mGluR2 contre ces symptômes.

Des études animales supplémentaires sont évidemment requises avant d'avancer vers des études cliniques, entre autres pour déterminer les doses requises de molécules prêtes à une utilisation clinique et permettant d'observer un effet chez l'humain ainsi que la fréquence d'administration. Vu qu'il s'agit d'un effet neuropsychiatrique, une administration chronique sera probablement requise, similaire à d'autres traitements à effets neuropsychiatriques connus tels les antidépresseurs et les antipsychotiques. La pimavensérine a également produit son effet optimal après plusieurs semaines. Des études animales à long terme seront donc bénéfiques afin d'évaluer l'efficacité à long terme de la stimulation des mGluR2 et de s'assurer qu'il n'y ai pas de processus de compensation pouvant mener à une interaction avec l'effet bénéfique de la molécule ou encore de la lévodopa.

D'autres types d'études animales peuvent être considérées pour confirmer que l'effet bénéfique observé est directement imputable à la stimulation des mGluR2. Par exemple, l'utilisation de rats transgéniques qui surexpriment les mGluR2 dans des régions spécifiques, entre autres au niveau cortical, permettrait un éclaircissement sur l'importance des mGluR2 et surtout, sur l'implication de certaines régions spécifiques dans cet effet bénéfique observé.

Des études de pharmacocinétique/pharmacodynamique (PKPD) peuvent également permettre une meilleure compréhension de la corrélation entre l'effet observé et les doses administrées. Corréler les concentrations des molécules testées avec des marqueurs de la stimulation du mGluR2 aiderait à établir une concentration donnant 50% ou 80% d'efficacité (CE50 ou CE80), aidant à choisir une dose optimale. L'absence d'effet significatif avec les fortes doses chez les rongeurs peut entre autres être mieux comprise et expliquée par ces études. Mieux comprendre la pharmacocinétique de la lévodopa et son impact sur le développement des dyskinésies, par exemple par la détermination de concentrations maximales à ne pas dépasser ou d'un intervalle de traitement permettant d'éviter une stimulation dopaminergique pulsatile, serait également utile pour la recherche contre les dyskinésies et autres complications issues du traitement chronique à la lévodopa.

6.1.7.1. Volet clinique : Éléments à considérer pour une réussite clinique

Le potentiel translationnel du ciblage des mGluR2 est très grand. Plusieurs éléments sont à considérer pour la réussite de ces études cliniques. Un protocole clinique pour l'évaluation de l'efficacité sur les HVs doit tenir en compte plusieurs éléments. D'abord, étant donné que la MP a une hétérogénéité importante et qu'il est prévu que des patients avec une maladie de gravité différente soient inclus, un bon nombre de patients diagnostiqués selon les critères de la *UK Brain Bank* [21] doit être considéré afin de pouvoir observer un changement significatif ou une tendance à l'amélioration. Une soixantaine de patients serait un bon départ, une étude de puissance étant toutefois utile pour valider le nombre de patients nécessaires afin d'observer tout changement.

D'autres éléments pouvant aider au contrôle de cette hétérogénéité souvent observée dans les études cliniques incluent la durée de la maladie et de traitement. Considérer des patients diagnostiqués depuis au moins 3 ans afin de s'assurer qu'il s'agisse d'un bon diagnostic et ayant

une dose stable de médication antiparkinsonienne pendant au moins trois semaines avant le début de l'étude afin de s'assurer d'une stabilité dopaminergique permettant l'imputabilité de tout changement à la molécule testée. Il est évidemment important qu'une posologie stable de tous les médicaments, particulièrement ceux liés au contrôle de la MP, soit maintenue tout au long de l'étude.

Afin de maximiser les chances d'observer un effet potentiel et de minimiser la variabilité dans les résultats, les patients atteints de démence diagnostiquée ou ayant des déficiences cognitives non-négligeables, avec un score au test MoCA (Montreal Cognitive Assessment) faible par exemple, devraient être exclus, ainsi que des patients qui auraient subi une perturbation cérébrale volontaire ou non, telle que la stimulation cérébrale profonde, une lésion traumatique cérébrale grave ou toute autre maladie du système nerveux central.

Pour une évaluation des hallucinations, afin d'éviter qu'un quelconque effet soit dilué à cause de l'hétérogénéité des patients et de la sévérité des symptômes, les patients devraient démontrer des symptômes d'hallucinations mais sans signe de paranoïa ou de psychose. Toute médication avec un effet neuropsychiatrique doit être évitée, incluant les antidépresseurs et les antipsychotiques, avec un délai d'au moins un mois sans médicaments avant le recrutement dans l'étude, ceux-ci étant connus pour avoir des effets retardés et longs. Une stratégie similaire doit être développée pour l'évaluation de dyskinésies.

Un des principaux facteurs pour la réussite d'une étude clinique réside dans le choix d'évaluations et de tests assez sensibles et spécifiques pour permettre une bonne détection des changements. Les meilleurs choix pour l'évaluation des hallucinations sont l'échelle d'évaluation des symptômes positifs de la maladie de Parkinson (SAPS-PD) et des parties A et B de l'inventaire neuropsychiatrique (NPI-A / NPI-B). Pour l'évaluation des dyskinésies, l'échelle d'évaluation unifiée des dyskinésies (UDysRS) est une bonne échelle à considérer. L'évaluation générale de la maladie chez les patients doit également se faire, entre autres avec l'utilisation de l'échelle du MDS-UPDRS.

Ces différents éléments sont à considérer pour la réussite de l'évaluation de l'efficacité de la stimulation des mGluR2 chez l'humain et pour s'assurer d'une reproductibilité des effets précliniques observés plus haut et dans plusieurs publications discutées.

La forte présence de troubles neuropsychiatriques et leur impact sur la qualité de vie des patients parkinsoniens expliquent l'importance d'une accélération de la recherche préclinique et clinique pour trouver des traitements bénéfiques contre les symptômes neuropsychiatriques dans la MP. Les complications motrices incluant les dyskinésies et les fluctuations motrices sont également un défi de taille dans la gestion clinique de la MP. La découverte des mGluR2 comme nouvelle cible thérapeutique permettant le rétablissement des principales complications issues du traitement chronique à la lévodopa sera d'un grand apport pour le traitement symptomatique des patients et surtout pour l'amélioration de leur qualité de vie et de celle de leurs proches. Les résultats des projets de recherche présentés confirment le grand potentiel derrière ce récepteur et surtout possibilité d'évolution rapide vers des études cliniques qui ont fait de cette cible thérapeutique très prometteuse dans la MP et possiblement d'autres troubles psychotiques et moteurs comparables.

Bibliographie

1. Lees, A., *An essay on the shaking palsy*. Brain, 2017. **140**(3): p. 843-848.
2. Parkinson, J., *An essay on the shaking palsy. 1817*. J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 2002. **14**(2): p. 223-36; discussion 222.
3. Hurwitz, B., *The Status of "Nonmotor" Features of the Malady in an Essay on the Shaking Palsy (1817)*. Int Rev Neurobiol, 2017. **133**: p. 3-12.
4. Lewy, F., *Paralysis agitans. I. Pathologische Anatomie*. Handbuch der Neurologie, 1912. **3**: p. 920-933.
5. Tretiakoff, C., *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 et de la maladie de Parkinson*. 1919, University of Paris.
6. Holdorff, B., *Centenary of Tretiakoff's thesis on the morphology of Parkinson's disease, evolved on the grounds of encephalitis lethargica pathology*. J Hist Neurosci, 2019. **28**(4): p. 387-398.
7. Carlsson, A., *The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system*. Pharmacol Rev, 1959. **11**(2, Part 2): p. 490-3.
8. Bertler, A. and E. Rosengren, *Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues*. Experientia, 1959. **15**(1): p. 10-1.
9. Ehringer, H. and O. Hornykiewicz, *Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system*. Parkinsonism & Related Disorders, 1998. **4**(2): p. 53-57.
10. Ehringer, H. and O. Hornykiewicz, *[Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]*. Klin Wochenschr, 1960. **38**: p. 1236-9.
11. Nussbaum, R.L. and C.E. Ellis, *Alzheimer's disease and Parkinson's disease*. N Engl J Med, 2003. **348**(14): p. 1356-64.
12. Erkinen, M.G., M.O. Kim, and M.D. Geschwind, *Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018. **10**(4).
13. Pringsheim, T., et al., *The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis*. Mov Disord, 2014. **29**(13): p. 1583-90.
14. Elbaz, A., et al., *Epidemiology of Parkinson's disease*. Rev Neurol (Paris), 2016. **172**(1): p. 14-26.
15. Tysnes, O.B. and A. Storstein, *Epidemiology of Parkinson's disease*. J Neural Transm (Vienna), 2017. **124**(8): p. 901-905.
16. Hirsch, L., et al., *The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Neuroepidemiology, 2016. **46**(4): p. 292-300.
17. Dorsey, E.R., et al., *Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030*. Neurology, 2007. **68**(5): p. 384-6.
18. Rossi, A., et al., *Projection of the prevalence of Parkinson's disease in the coming decades: Revisited*. Mov Disord, 2018. **33**(1): p. 156-159.
19. Weiner, W.J., *Neurology for the non-neurologist*. 6th ed. 2010, Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. x, 638 p.

20. Tolosa, E., G. Wenning, and W. Poewe, *The diagnosis of Parkinson's disease*. The Lancet Neurology, 2006. **5**(1): p. 75-86.
21. Berardelli, A., et al., *EFNS/MDS-ES/ENS [corrected] recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease*. Eur J Neurol, 2013. **20**(1): p. 16-34.
22. Martin, W.R.W., et al., *Is Levodopa Response a Valid Indicator of Parkinson's Disease?* Mov Disord, 2021. **36**(4): p. 948-954.
23. Postuma, R.B., et al., *MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease*. Mov Disord, 2015. **30**(12): p. 1591-601.
24. Karapinar Senturk, Z., *Early diagnosis of Parkinson's disease using machine learning algorithms*. Med Hypotheses, 2020. **138**: p. 109603.
25. Espay, A.J., et al., *Technology in Parkinson's disease: Challenges and opportunities*. Mov Disord, 2016. **31**(9): p. 1272-82.
26. Pont-Sunyer, C., et al., *The onset of nonmotor symptoms in Parkinson's disease (the ONSET PD study)*. Mov Disord, 2015. **30**(2): p. 229-37.
27. Schapira, A.H.V., K.R. Chaudhuri, and P. Jenner, *Non-motor features of Parkinson disease*. Nat Rev Neurosci, 2017. **18**(7): p. 435-450.
28. Fullard, M.E., J.F. Morley, and J.E. Duda, *Olfactory Dysfunction as an Early Biomarker in Parkinson's Disease*. Neurosci Bull, 2017. **33**(5): p. 515-525.
29. Iannilli, E., et al., *Olfactory impairment in Parkinson's disease is a consequence of central nervous system decline*. J Neurol, 2017. **264**(6): p. 1236-1246.
30. Gan-Or, Z., et al., *Sleep disorders and Parkinson disease; lessons from genetics*. Sleep Med Rev, 2018. **41**: p. 101-112.
31. Lin, Y.Q. and S.D. Chen, *RBD: a red flag for cognitive impairment in Parkinson's disease?* Sleep Med, 2018. **44**: p. 38-44.
32. Pigott, K., et al., *Longitudinal study of normal cognition in Parkinson disease*. Neurology, 2015. **85**(15): p. 1276-82.
33. Skorvanek, M., et al., *Global scales for cognitive screening in Parkinson's disease: Critique and recommendations*. Mov Disord, 2018. **33**(2): p. 208-218.
34. Smith, C.R., et al., *Cognitive impairment in Parkinson's disease is multifactorial: A neuropsychological study*. Acta Neurol Scand, 2020.
35. Aarsland, D., et al., *Cognitive decline in Parkinson disease*. Nat Rev Neurol, 2017. **13**(4): p. 217-231.
36. Schneider, R.B., J. Iourinets, and I.H. Richard, *Parkinson's disease psychosis: presentation, diagnosis and management*. Neurodegener Dis Manag, 2017. **7**(6): p. 365-376.
37. Lenka, A., et al., *Minor hallucinations in Parkinson disease: A subtle symptom with major clinical implications*. Neurology, 2019. **93**(6): p. 259-266.
38. Ffytche, D.H., et al., *The psychosis spectrum in Parkinson disease*. Nat Rev Neurol, 2017. **13**(2): p. 81-95.
39. Clegg, B.J., et al., *Categorising Visual Hallucinations in Early Parkinson's Disease*. J Parkinsons Dis, 2018. **8**(3): p. 447-453.
40. in *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*, T.B. Stoker and J.C. Greenland, Editors. 2018: Brisbane (AU).
41. Delamarre, A. and W.G. Meissner, *Epidemiology, environmental risk factors and genetics of Parkinson's disease*. Presse Med, 2017. **46**(2 Pt 1): p. 175-181.

42. Kim, C.Y. and R.N. Alcalay, *Genetic Forms of Parkinson's Disease*. Semin Neurol, 2017. **37**(2): p. 135-146.
43. Raza, C., R. Anjum, and N.U.A. Shakeel, *Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies*. Life Sci, 2019. **226**: p. 77-90.
44. Dulovic-Mahlow, M., et al., *Discordant Monozygotic Parkinson Disease Twins: Role of Mitochondrial Integrity*. Ann Neurol, 2021. **89**(1): p. 158-164.
45. Goldman, S.M., et al., *Concordance for Parkinson's disease in twins: A 20-year update*. Ann Neurol, 2019. **85**(4): p. 600-605.
46. Chen, H. and B. Ritz, *The Search for Environmental Causes of Parkinson's Disease: Moving Forward*. J Parkinsons Dis, 2018. **8**(s1): p. S9-S17.
47. Breckenridge, C.B., et al., *Association between Parkinson's Disease and Cigarette Smoking, Rural Living, Well-Water Consumption, Farming and Pesticide Use: Systematic Review and Meta-Analysis*. PLoS One, 2016. **11**(4): p. e0151841.
48. Gallo, V., et al., *Exploring causality of the association between smoking and Parkinson's disease*. Int J Epidemiol, 2019. **48**(3): p. 912-925.
49. Li, X., et al., *Association between cigarette smoking and Parkinson's disease: A meta-analysis*. Arch Gerontol Geriatr, 2015. **61**(3): p. 510-6.
50. Qi, H. and S. Li, *Dose-response meta-analysis on coffee, tea and caffeine consumption with risk of Parkinson's disease*. Geriatr Gerontol Int, 2014. **14**(2): p. 430-9.
51. Wierzejska, R., *Can coffee consumption lower the risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease? A literature review*. Arch Med Sci, 2017. **13**(3): p. 507-514.
52. Yan, R., et al., *Synergistic neuroprotection by coffee components eicosanoyl-5-hydroxytryptamide and caffeine in models of Parkinson's disease and DLB*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018. **115**(51): p. E12053-E12062.
53. Yamada-Fowler, N. and P. Soderkvist, *Coffee, Genetic Variants, and Parkinson's Disease: Gene-Environment Interactions*. J Caffeine Res, 2015. **5**(1): p. 3-10.
54. Gigante, A.F., et al., *Chronic coffee consumption and striatal DAT-SPECT findings in Parkinson's disease*. Neurol Sci, 2018. **39**(3): p. 551-555.
55. Paul, K.C., et al., *The association between lifestyle factors and Parkinson's disease progression and mortality*. Mov Disord, 2019. **34**(1): p. 58-66.
56. Simon, D.K., et al., *Caffeine, creatine, GRIN2A and Parkinson's disease progression*. J Neurol Sci, 2017. **375**: p. 355-359.
57. Kasabova-Angelova, A., et al., *Xanthine Derivatives as Agents Affecting Non-dopaminergic Neuroprotection in Parkinson's Disease*. Curr Med Chem, 2020. **27**(12): p. 2021-2036.
58. Cho, B.H., et al., *Association of coffee consumption and non-motor symptoms in drug-naive, early-stage Parkinson's disease*. Parkinsonism Relat Disord, 2018. **50**: p. 42-47.
59. Langston, J.W., et al., *Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis*. Science, 1983. **219**(4587): p. 979-80.
60. Langston, J.W., *The MPTP Story*. J Parkinsons Dis, 2017. **7**(s1): p. S11-S19.
61. Liddle, R.A., *Parkinson's disease from the gut*. Brain Res, 2018. **1693**(Pt B): p. 201-206.
62. Barbeau, A., et al., *Ecogenetics of Parkinson's disease: prevalence and environmental aspects in rural areas*. Can J Neurol Sci, 1987. **14**(1): p. 36-41.
63. Richardson, J.R., et al., *Neurotoxicity of pesticides*. Acta Neuropathol, 2019. **138**(3): p. 343-362.

64. Hatcher, J.M., K.D. Pennell, and G.W. Miller, *Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective*. Trends Pharmacol Sci, 2008. **29**(6): p. 322-9.
65. Dickson, D.W., et al., *Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria*. The Lancet Neurology, 2009. **8**(12): p. 1150-1157.
66. Dickson, D.W., *Neuropathology of Parkinson disease*. Parkinsonism Relat Disord, 2018. **46 Suppl 1**: p. S30-S33.
67. Bellucci, A., et al., *From alpha-synuclein to synaptic dysfunctions: new insights into the pathophysiology of Parkinson's disease*. Brain Res, 2012. **1476**: p. 183-202.
68. Anichtchik, O., L. Calo, and S. Mg, *Synaptic Dysfunction in Synucleinopathies*. CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, 2013. **999**(999): p. 3-4.
69. Dickson, D.W., *Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012. **2**(8).
70. Wakabayashi, K., et al., *The Lewy body in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders*. Mol Neurobiol, 2013. **47**(2): p. 495-508.
71. Braak, H., et al., *Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease*. Neurobiology of Aging, 2003. **24**(2): p. 197-211.
72. Rietdijk, C.D., et al., *Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease*. Front Neurol, 2017. **8**: p. 37.
73. Jellinger, K.A., *Is Braak staging valid for all types of Parkinson's disease?* J Neural Transm (Vienna), 2019. **126**(4): p. 423-431.
74. Rocha, E.M., B. De Miranda, and L.H. Sanders, *Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease*. Neurobiol Dis, 2018. **109**(Pt B): p. 249-257.
75. Gould, N., et al., *Evidence of native alpha-synuclein conformers in the human brain*. J Biol Chem, 2014. **289**(11): p. 7929-34.
76. Atik, A., T. Stewart, and J. Zhang, *Alpha-Synuclein as a Biomarker for Parkinson's Disease*. Brain Pathol, 2016. **26**(3): p. 410-8.
77. Kalia, L.V. and S.K. Kalia, *alpha-Synuclein and Lewy pathology in Parkinson's disease*. Curr Opin Neurol, 2015. **28**(4): p. 375-81.
78. Barrett, P.J. and J. Timothy Greenamyre, *Post-translational modification of alpha-synuclein in Parkinson's disease*. Brain Res, 2015. **1628**(Pt B): p. 247-253.
79. Ganguly, U., et al., *Alpha-synuclein, Proteotoxicity and Parkinson's Disease: Search for Neuroprotective Therapy*. Curr Neuropharmacol, 2018. **16**(7): p. 1086-1097.
80. Jankovic, J., *Pathogenesis-targeted therapeutic strategies in Parkinson's disease*. Mov Disord, 2019. **34**(1): p. 41-44.
81. Brys, M., et al., *Randomized phase I clinical trial of anti-alpha-synuclein antibody BII054*. Mov Disord, 2019. **34**(8): p. 1154-1163.
82. Park, J.S., R.L. Davis, and C.M. Sue, *Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease: New Mechanistic Insights and Therapeutic Perspectives*. Curr Neurol Neurosci Rep, 2018. **18**(5): p. 21.
83. Macdonald, R., et al., *Mitochondrial abnormalities in Parkinson's disease and Alzheimer's disease: can mitochondria be targeted therapeutically?* Biochem Soc Trans, 2018. **46**(4): p. 891-909.
84. Bose, A. and M.F. Beal, *Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease*. J Neurochem, 2016. **139 Suppl 1**: p. 216-231.

85. Ganguly, G., et al., *Proteinopathy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction: cross talk in Alzheimer's disease and Parkinson's disease*. Drug Des Devel Ther, 2017. **11**: p. 797-810.
86. Mehta, N.J., P.K. Marwah, and D. Njus, *Are Proteinopathy and Oxidative Stress Two Sides of the Same Coin?* Cells, 2019. **8**(1).
87. Obeso, J.A., et al., *Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy*. Mov Disord, 2017. **32**(9): p. 1264-1310.
88. Alberico, S.L., M.D. Cassell, and N.S. Narayanan, *The Vulnerable Ventral Tegmental Area in Parkinson's Disease*. Basal Ganglia, 2015. **5**(2-3): p. 51-55.
89. Ferreira, J.J., et al., *Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease*. Eur J Neurol, 2013. **20**(1): p. 5-15.
90. Oertel, W. and J.B. Schulz, *Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists*. J Neurochem, 2016. **139 Suppl 1**: p. 325-337.
91. Armstrong, M.J. and M.S. Okun, *Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review*. JAMA, 2020. **323**(6): p. 548-560.
92. Connolly, B.S. and A.E. Lang, *Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review*. JAMA, 2014. **311**(16): p. 1670-83.
93. Fox, S.H., et al., *The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease*. Mov Disord, 2011. **26 Suppl 3**: p. S2-41.
94. Hayes, M.W., et al., *Updates and advances in the treatment of Parkinson disease*. Med J Aust, 2019. **211**(6): p. 277-283.
95. Hengartner, D. and H.H. Fernandez, *The next chapter in symptomatic Parkinson disease treatments*. Parkinsonism Relat Disord, 2019. **59**: p. 39-48.
96. Li, B.D., et al., *Comparison of the Efficacy of Different Drugs on Non-Motor Symptoms of Parkinson's Disease: a Network Meta-Analysis*. Cell Physiol Biochem, 2018. **45**(1): p. 119-130.
97. Poewe, W. and P. Mahlknecht, *Pharmacologic Treatment of Motor Symptoms Associated with Parkinson Disease*. Neurol Clin, 2020. **38**(2): p. 255-267.
98. Aradi, S.D. and R.A. Hauser, *Medical Management and Prevention of Motor Complications in Parkinson's Disease*. Neurotherapeutics, 2020. **17**(4): p. 1339-1365.
99. Rowland, N.C., F. Sammartino, and A.M. Lozano, *Advances in surgery for movement disorders*. Mov Disord, 2017. **32**(1): p. 5-10.
100. Beudel, M. and P. Brown, *Adaptive deep brain stimulation in Parkinson's disease*. Parkinsonism Relat Disord, 2016. **22 Suppl 1**: p. S123-6.
101. Lee, D.J. and A.M. Lozano, *The Future of Surgical Treatments for Parkinson's Disease*. J Parkinsons Dis, 2018. **8**(s1): p. S79-S83.
102. Rascol, O., et al., *Long-term effects of rasagiline and the natural history of treated Parkinson's disease*. Mov Disord, 2016. **31**(10): p. 1489-1496.
103. Rascol, O., et al., *A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease (the ADAGIO study): prespecified and post-hoc analyses of the need for additional therapies, changes in UPDRS scores, and non-motor outcomes*. The Lancet Neurology, 2011. **10**(5): p. 415-423.
104. Ward, C.D., *Does selegiline delay progression of Parkinson's disease? A critical re-evaluation of the DATATOP study*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1994. **57**(2): p. 217-20.

105. Elkouzi, A., et al., *Emerging therapies in Parkinson disease - repurposed drugs and new approaches*. Nat Rev Neurol, 2019. **15**(4): p. 204-223.
106. Parkinson Study Group, S.-P.D.I.I.I.I., *Isradipine Versus Placebo in Early Parkinson Disease: A Randomized Trial*. Ann Intern Med, 2020. **172**(9): p. 591-598.
107. Maiti, B. and J.S. Perlmutter, *A Clinical Trial of Isradipine: What Went Wrong?* Ann Intern Med, 2020. **172**(9): p. 625-626.
108. Axelsen, T.M. and D.P.D. Woldbye, *Gene Therapy for Parkinson's Disease, An Update*. J Parkinsons Dis, 2018. **8**(2): p. 195-215.
109. ClinicalTrials.gov. *Evaluating the Efficacy, Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of BIIB054 in Participants With Parkinson's Disease (SPARK)*. 2017; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03318523>.
110. Fahn, S., *The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease*. Mov Disord, 2008. **23 Suppl 3**: p. S497-508.
111. Yahr, M.D., et al., *Treatment of parkinsonism with levodopa*. Arch Neurol, 1969. **21**(4): p. 343-54.
112. Hornykiewicz, O., *L-DOPA: from a biologically inactive amino acid to a successful therapeutic agent*. Amino Acids, 2002. **23**(1-3): p. 65-70.
113. Djamshidian, A. and W. Poewe, *Apomorphine and levodopa in Parkinson's disease: Two revolutionary drugs from the 1950's*. Parkinsonism Relat Disord, 2016. **33 Suppl 1**: p. S9-S12.
114. Birkmayer, W. and O. Hornykiewicz, *[The L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) effect in Parkinson's syndrome in man: On the pathogenesis and treatment of Parkinson akinesia]*. Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr, 1962. **203**: p. 560-74.
115. Barbeau, A.S., T.L.; Murphy, G.F.; *Les catécholamines dans la maladie de Parkinson*. Monoamines et système nerveux central, 1962: p. 247-262.
116. Cotzias, G.C., M.H. Van Woert, and L.M. Schiffer, *Aromatic amino acids and modification of parkinsonism*. N Engl J Med, 1967. **276**(7): p. 374-9.
117. Calne, D.B., et al., *Treatment of Parkinsonism with Bromocriptine*. The Lancet, 1974. **304**(7893): p. 1355-1356.
118. Whitfield, A.C., B.T. Moore, and R.N. Daniels, *Classics in chemical neuroscience: levodopa*. ACS Chem Neurosci, 2014. **5**(12): p. 1192-7.
119. Hauser, R.A., *Levodopa: past, present, and future*. Eur Neurol, 2009. **62**(1): p. 1-8.
120. Olanow, C.W. and P.B. Watkins, *Tolcapone: an efficacy and safety review (2007)*. Clin Neuropharmacol, 2007. **30**(5): p. 287-94.
121. Artusi, C.A., et al., *Safety and efficacy of tolcapone in Parkinson's disease: systematic review*. Eur J Clin Pharmacol, 2021. **77**(6): p. 817-829.
122. Pinheiro, S.D., et al., *Pharmacodynamic evaluation of novel Catechol-O-methyltransferase inhibitors*. Eur J Pharmacol, 2019. **847**: p. 53-60.
123. Ferreira, J.J., et al., *Opicapone as an adjunct to levodopa in patients with Parkinson's disease and end-of-dose motor fluctuations: a randomised, double-blind, controlled trial*. The Lancet Neurology, 2016. **15**(2): p. 154-165.
124. Lees, A.J., et al., *Opicapone as Adjunct to Levodopa Therapy in Patients With Parkinson Disease and Motor Fluctuations: A Randomized Clinical Trial*. JAMA Neurol, 2017. **74**(2): p. 197-206.
125. Dezsi, L. and L. Vecsei, *Monoamine Oxidase B Inhibitors in Parkinson's Disease*. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2017. **16**(4): p. 425-439.

126. Szoko, E., et al., *Pharmacological aspects of the neuroprotective effects of irreversible MAO-B inhibitors, selegiline and rasagiline, in Parkinson's disease*. J Neural Transm (Vienna), 2018. **125**(11): p. 1735-1749.
127. Lieberman, A., et al., *Comparison of dopa decarboxylase inhibitor (carbidopa) combined with levodopa and levodopa alone in Parkinson's disease*. Neurology, 1975. **25**(10): p. 911-6.
128. Wajsbort, J., A. Dorner, and E. Wajsbort, *A comparative clinical investigation of the therapeutic effect of levodopa alone and in combination with a decarboxylase inhibitor (carbidopa) in cases of Parkinson's disease*. Curr Med Res Opin, 1978. **5**(9): p. 695-708.
129. Ahlskog, J.E. and M.D. Muentner, *Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature*. Mov Disord, 2001. **16**(3): p. 448-58.
130. Tran, T.N., et al., *Levodopa-induced dyskinesia: clinical features, incidence, and risk factors*. J Neural Transm (Vienna), 2018. **125**(8): p. 1109-1117.
131. Cotzias, G.C., P.S. Papavasiliou, and R. Gellene, *Modification of Parkinsonism--chronic treatment with L-dopa*. N Engl J Med, 1969. **280**(7): p. 337-45.
132. Fox, S.H. and A.E. Lang, *Levodopa-related motor complications--phenomenology*. Mov Disord, 2008. **23 Suppl 3**: p. S509-14.
133. Schapira, A.H., et al., *Levodopa in the treatment of Parkinson's disease*. Eur J Neurol, 2009. **16**(9): p. 982-9.
134. Lizarraga, K.J., et al., *Hallucinations, Delusions and Impulse Control Disorders in Parkinson Disease*. Clin Geriatr Med, 2020. **36**(1): p. 105-118.
135. Svetel, M., et al., *Hallucinations in Parkinson's disease: cross-sectional study*. Acta Neurol Belg, 2012. **112**(1): p. 33-7.
136. Zhu, K., et al., *Risk factors for hallucinations in Parkinson's disease: results from a large prospective cohort study*. Mov Disord, 2013. **28**(6): p. 755-62.
137. Bougea, A., et al., *Levodopa-induced skin disorders in patients with Parkinson disease: a systematic literature review approach*. Acta Neurol Belg, 2019. **119**(3): p. 325-336.
138. Espay, A.J., et al., *Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts*. Ann Neurol, 2018. **84**(6): p. 797-811.
139. Turcano, P., et al., *Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: A population-based cohort study*. Neurology, 2018. **91**(24): p. e2238-e2243.
140. Vijayakumar, D. and J. Jankovic, *Drug-Induced Dyskinesia, Part 1: Treatment of Levodopa-Induced Dyskinesia*. Drugs, 2016. **76**(7): p. 759-77.
141. Montel, S., A.M. Bonnet, and C. Bungener, *Quality of life in relation to mood, coping strategies, and dyskinesia in Parkinson's disease*. J Geriatr Psychiatry Neurol, 2009. **22**(2): p. 95-102.
142. Rajiah, K., et al., *Quality of Life and Caregivers' Burden of Parkinson's Disease*. Neuroepidemiology, 2017. **48**(3-4): p. 131-137.
143. Giannakis, A., et al., *Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: still no proof? A meta-analysis*. J Neural Transm (Vienna), 2018. **125**(9): p. 1341-1349.
144. Chondrogiorgi, M., et al., *Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease and potential risk factors for dyskinesia: a meta-analysis of levodopa-controlled trials*. Eur J Neurol, 2014. **21**(3): p. 433-40.

145. Hong, J.Y., et al., *Presynaptic dopamine depletion predicts levodopa-induced dyskinesia in de novo Parkinson disease*. *Neurology*, 2014. **82**(18): p. 1597-604.
146. Olanow, C.W., et al., *Continuous intrajejunal infusion of levodopa-carbidopa intestinal gel for patients with advanced Parkinson's disease: a randomised, controlled, double-blind, double-dummy study*. *The Lancet Neurology*, 2014. **13**(2): p. 141-149.
147. Antonini, A., et al., *Global long-term study on motor and non-motor symptoms and safety of levodopa-carbidopa intestinal gel in routine care of advanced Parkinson's disease patients; 12-month interim outcomes*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2015. **21**(3): p. 231-5.
148. Olanow, C.W., P. Calabresi, and J.A. Obeso, *Continuous Dopaminergic Stimulation as a Treatment for Parkinson's Disease: Current Status and Future Opportunities*. *Mov Disord*, 2020. **35**(10): p. 1731-1744.
149. Heumann, R., et al., *Dyskinesia in Parkinson's disease: mechanisms and current non-pharmacological interventions*. *J Neurochem*, 2014. **130**(4): p. 472-89.
150. Utsumi, H., et al., *Evaluation of the efficacy of pramipexole for treating levodopa-induced dyskinesia in patients with Parkinson's disease*. *Intern Med*, 2013. **52**(3): p. 325-32.
151. Rascol, O., et al., *Induction by dopamine D1 receptor agonist ABT-431 of dyskinesia similar to levodopa in patients with Parkinson disease*. *Arch Neurol*, 2001. **58**(2): p. 249-54.
152. Picconi, B., E. De Leonibus, and P. Calabresi, *Synaptic plasticity and levodopa-induced dyskinesia: electrophysiological and structural abnormalities*. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018. **125**(8): p. 1263-1271.
153. Belujon, P., D.J. Lodge, and A.A. Grace, *Aberrant striatal plasticity is specifically associated with dyskinesia following levodopa treatment*. *Mov Disord*, 2010. **25**(11): p. 1568-76.
154. Rajan, R., et al., *Cortical plasticity and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: Connecting the dots in a multicomponent network*. *Clin Neurophysiol*, 2017. **128**(6): p. 992-999.
155. Carta, M., et al., *Role of serotonin neurons in the induction of levodopa- and graft-induced dyskinesias in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2010. **25 Suppl 1**: p. S174-9.
156. Mellone, M., et al., *NMDA receptor GluN2D subunit participates to levodopa-induced dyskinesia pathophysiology*. *Neurobiol Dis*, 2019. **121**: p. 338-349.
157. Gardoni, F., et al., *Safinamide Modulates Striatal Glutamatergic Signaling in a Rat Model of Levodopa-Induced Dyskinesia*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018. **367**(3): p. 442-451.
158. Guerra, A., et al., *Abnormal cortical facilitation and L-dopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease*. *Brain Stimul*, 2019. **12**(6): p. 1517-1525.
159. Sgambato-Faure, V. and M.A. Cenci, *Glutamatergic mechanisms in the dyskinesias induced by pharmacological dopamine replacement and deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease*. *Prog Neurobiol*, 2012. **96**(1): p. 69-86.
160. Kuo, J.R., et al., *Deep brain light stimulation effects on glutamate and dopamine concentration*. *Biomed Opt Express*, 2015. **6**(1): p. 23-31.
161. Martinez-Martin, P., et al., *Neuropsychiatric symptoms and caregiver's burden in Parkinson's disease*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2015. **21**(6): p. 629-34.

162. Chang, A. and S.H. Fox, *Psychosis in Parkinson's Disease: Epidemiology, Pathophysiology, and Management*. Drugs, 2016. **76**(11): p. 1093-118.
163. Ravina, B., et al., *Diagnostic criteria for psychosis in Parkinson's disease: report of an NINDS, NIMH work group*. Mov Disord, 2007. **22**(8): p. 1061-8.
164. Zahodne, L.B. and H.H. Fernandez, *Pathophysiology and treatment of psychosis in Parkinson's disease: a review*. Drugs Aging, 2008. **25**(8): p. 665-82.
165. Middleton, F.A. and P.L. Strick, *The temporal lobe is a target of output from the basal ganglia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(16): p. 8683-7.
166. Nasr, S. and H.D. Rosas, *Impact of Visual Corticostriatal Loop Disruption on Neural Processing within the Parahippocampal Place Area*. J Neurosci, 2016. **36**(40): p. 10456-10471.
167. Cummings, J., et al., *Pimavanserin for patients with Parkinson's disease psychosis: a randomised, placebo-controlled phase 3 trial*. The Lancet, 2014. **383**(9916): p. 533-540.
168. Patel, R.S., et al., *Pimavanserin in Parkinson's Disease-induced Psychosis: A Literature Review*. Cureus, 2019. **11**(7): p. e5257.
169. Preller, K.H., et al., *Changes in global and thalamic brain connectivity in LSD-induced altered states of consciousness are attributable to the 5-HT_{2A} receptor*. Elife, 2018. **7**.
170. Lopez-Gimenez, J.F. and J. Gonzalez-Maeso, *Hallucinogens and Serotonin 5-HT_{2A} Receptor-Mediated Signaling Pathways*. Curr Top Behav Neurosci, 2018. **36**: p. 45-73.
171. Kim, K., et al., *Structure of a Hallucinogen-Activated Gq-Coupled 5-HT_{2A} Serotonin Receptor*. Cell, 2020. **182**(6): p. 1574-1588 e19.
172. Zhang, C. and G.J. Marek, *AMPA receptor involvement in 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor-mediated pre-frontal cortical excitatory synaptic currents and DOI-induced head shakes*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2008. **32**(1): p. 62-71.
173. Shah, U.H. and J. Gonzalez-Maeso, *Serotonin and Glutamate Interactions in Preclinical Schizophrenia Models*. ACS Chem Neurosci, 2019. **10**(7): p. 3068-3077.
174. de Bartolomeis, A., E.F. Buonaguro, and F. Iasevoli, *Serotonin-glutamate and serotonin-dopamine reciprocal interactions as putative molecular targets for novel antipsychotic treatments: from receptor heterodimers to postsynaptic scaffolding and effector proteins*. Psychopharmacology (Berl), 2013. **225**(1): p. 1-19.
175. Gonzalez-Maeso, J., et al., *Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis*. Nature, 2008. **452**(7183): p. 93-7.
176. Dawson, T.M., H.S. Ko, and V.L. Dawson, *Genetic animal models of Parkinson's disease*. Neuron, 2010. **66**(5): p. 646-61.
177. Kin, K., et al., *Animal Models for Parkinson's Disease Research: Trends in the 2000s*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(21).
178. Gubellini, P. and P. Kachidian, *Animal models of Parkinson's disease: An updated overview*. Rev Neurol (Paris), 2015. **171**(11): p. 750-61.
179. Blesa, J. and S. Przedborski, *Parkinson's disease: animal models and dopaminergic cell vulnerability*. Front Neuroanat, 2014. **8**: p. 155.
180. Tieu, K., *A guide to neurotoxic animal models of Parkinson's disease*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2011. **1**(1): p. a009316.
181. Schober, A., *Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP*. Cell Tissue Res, 2004. **318**(1): p. 215-24.

182. Costello, S., et al., *Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California*. Am J Epidemiol, 2009. **169**(8): p. 919-26.
183. Jackson-Lewis, V. and S. Przedborski, *Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease*. Nat Protoc, 2007. **2**(1): p. 141-51.
184. Dauer, W. and S. Przedborski, *Parkinson's Disease*. Neuron, 2003. **39**(6): p. 889-909.
185. Jackson-Lewis, V., J. Blesa, and S. Przedborski, *Animal models of Parkinson's disease*. Parkinsonism & Related Disorders, 2012. **18**: p. S183-S185.
186. Sedelis, M., R.K.W. Schwarting, and J.P. Huston, *Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease*. Behavioural Brain Research, 2001. **125**(1-2): p. 109-125.
187. Zhang, Q.S., et al., *Reassessment of subacute MPTP-treated mice as animal model of Parkinson's disease*. Acta Pharmacol Sin, 2017. **38**(10): p. 1317-1328.
188. Duty, S. and P. Jenner, *Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease*. Br J Pharmacol, 2011. **164**(4): p. 1357-91.
189. Seo, J., et al., *A non-human primate model for stable chronic Parkinson's disease induced by MPTP administration based on individual behavioral quantification*. J Neurosci Methods, 2019. **311**: p. 277-287.
190. Emborg, M.E., *Nonhuman primate models of Parkinson's disease*. ILAR J, 2007. **48**(4): p. 339-55.
191. Jenner, P., *From the MPTP-treated primate to the treatment of motor complications in Parkinson's disease*. Parkinsonism & Related Disorders, 2009. **15**: p. S18-S23.
192. Fox, S.H. and J.M. Brotchie, *The MPTP-lesioned non-human primate models of Parkinson's disease. Past, present, and future*, in *Recent Advances in Parkinson's Disease - Translational and Clinical Research*. 2010. p. 133-157.
193. Bove, J. and C. Perier, *Neurotoxin-based models of Parkinson's disease*. Neuroscience, 2012. **211**: p. 51-76.
194. Kirik, D., et al., *Reversal of motor impairments in parkinsonian rats by continuous intrastriatal delivery of L-dopa using rAAV-mediated gene transfer*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(7): p. 4708-13.
195. Kamel, F., *Epidemiology. Paths from pesticides to Parkinson's*. Science, 2013. **341**(6147): p. 722-3.
196. Blandini, F. and M.T. Armentero, *Animal models of Parkinson's disease*. FEBS J, 2012. **279**(7): p. 1156-66.
197. Przedborski, S., et al., *Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine*. Neuroscience, 1995. **67**(3): p. 631-647.
198. Visanji, N.P., et al., *Pharmacological characterization of psychosis-like behavior in the MPTP-lesioned nonhuman primate model of Parkinson's disease*. Mov Disord, 2006. **21**(11): p. 1879-91.
199. Fox, S.H., et al., *Neuropsychiatric behaviors in the MPTP marmoset model of Parkinson's disease*. Can J Neurol Sci, 2010. **37**(1): p. 86-95.
200. Greger, I.H., J.F. Watson, and S.G. Cull-Candy, *Structural and Functional Architecture of AMPA-Type Glutamate Receptors and Their Auxiliary Proteins*. Neuron, 2017. **94**(4): p. 713-730.

201. Tovar, K.R. and G.L. Westbrook, *Modulating synaptic NMDA receptors*. *Neuropharmacology*, 2017. **112**(Pt A): p. 29-33.
202. Tajima, N., et al., *Activation of NMDA receptors and the mechanism of inhibition by ifenprodil*. *Nature*, 2016. **534**(7605): p. 63-8.
203. Zhuo, M., *Cortical kainate receptors and behavioral anxiety*. *Mol Brain*, 2017. **10**(1): p. 16.
204. Conn, P.J. and J.P. Pin, *Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997. **37**: p. 205-37.
205. Niswender, C.M. and P.J. Conn, *Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2010. **50**: p. 295-322.
206. Mahato, P.K., et al., *Group I Metabotropic Glutamate Receptors (mGluRs): Ins and Outs*. *Adv Exp Med Biol*, 2018. **1112**: p. 163-175.
207. Borroto-Escuela, D.O., et al., *Glutamate heteroreceptor complexes in the brain*. *Pharmacological Reports*, 2018. **70**(5): p. 936-950.
208. McKenna, M.C., *The glutamate-glutamine cycle is not stoichiometric: fates of glutamate in brain*. *J Neurosci Res*, 2007. **85**(15): p. 3347-58.
209. Niciu, M.J., B. Kelmendi, and G. Sanacora, *Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system*. *Pharmacol Biochem Behav*, 2012. **100**(4): p. 656-64.
210. Paquette, M.A., et al., *Anti-dyskinetic mechanisms of amantadine and dextromethorphan in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease: role of NMDA vs. 5-HT1A receptors*. *Eur J Neurosci*, 2012. **36**(9): p. 3224-34.
211. Elkurd, M.T., L.B. Bahroo, and R. Pahwa, *The role of extended-release amantadine for the treatment of dyskinesia in Parkinson's disease patients*. *Neurodegener Dis Manag*, 2018. **8**(2): p. 73-80.
212. Calabresi, P., et al., *Levodopa-induced plasticity: a double-edged sword in Parkinson's disease?* *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015. **370**(1672).
213. Perez-Lloret, S. and O. Rascol, *Efficacy and safety of amantadine for the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia*. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018. **125**(8): p. 1237-1250.
214. Goetz, C.G., et al., *Topiramate as an adjunct to amantadine in the treatment of dyskinesia in parkinson's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study*. *Mov Disord*, 2017. **32**(9): p. 1335-1336.
215. Kobylecki, C., et al., *Randomized clinical trial of topiramate for levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2014. **20**(4): p. 452-5.
216. Silverdale, M.A., et al., *Topiramate reduces levodopa-induced dyskinesia in the MPTP-lesioned marmoset model of Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2005. **20**(4): p. 403-9.
217. Huot, P., et al., *The pharmacology of L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease*. *Pharmacol Rev*, 2013. **65**(1): p. 171-222.
218. De Pharmacologie Et De, S.F., et al., *Neuropsychopharmacologie*. 2019: Elsevier Health Sciences.
219. Sebastianutto, I. and M.A. Cenci, *mGlu receptors in the treatment of Parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia*. *Curr Opin Pharmacol*, 2018. **38**: p. 81-89.
220. Mellone, M. and F. Gardoni, *Glutamatergic mechanisms in L-DOPA-induced dyskinesia and therapeutic implications*. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018. **125**(8): p. 1225-1236.
221. Bezard, E., et al., *The mGluR5 negative allosteric modulator dipraglurant reduces dyskinesia in the MPTP macaque model*. *Mov Disord*, 2014. **29**(8): p. 1074-9.

222. Tison, F., et al., *A Phase 2A Trial of the Novel mGluR5-Negative Allosteric Modulator Dipraglurant for Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease*. *Mov Disord*, 2016. **31**(9): p. 1373-80.
223. Fu, T., et al., *Exploring the Binding Mechanism of Metabotropic Glutamate Receptor 5 Negative Allosteric Modulators in Clinical Trials by Molecular Dynamics Simulations*. *ACS Chem Neurosci*, 2018. **9**(6): p. 1492-1502.
224. Pourmirbabaei, S., M. Dolatshahi, and F. Rahmani, *Pathophysiological clues to therapeutic applications of glutamate mGlu5 receptor antagonists in levodopa-induced dyskinesia*. *Eur J Pharmacol*, 2019. **855**: p. 149-159.
225. ClinicalTrials.gov. *Study to Evaluate the Efficacy, Safety and Tolerability of PXT002331 (Foliglurax) in Reducing Motor Complications of Levodopa Therapy in Parkinson Disease's Patients (AMBED)*. 2020; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03162874>.
226. Doller, D., et al., *A case study of foliglurax, the first clinical mGluR4 PAM for symptomatic treatment of Parkinson's disease: translational gaps or a failing industry innovation model?* *Expert Opin Investig Drugs*, 2020. **29**(12): p. 1323-1338.
227. ClinicalTrials.gov. *Study Investigating Effects of Foliglurax in Patients With Parkinson's Disease (PD) and Healthy Subjects*. 2020; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04322227>.
228. Charvin, D., et al., *An mGlu4-Positive Allosteric Modulator Alleviates Parkinsonism in Primates*. *Mov Disord*, 2018. **33**(10): p. 1619-1631.
229. Volpi, C., et al., *Opportunities and challenges in drug discovery targeting metabotropic glutamate receptor 4*. *Expert Opin Drug Discov*, 2018. **13**(5): p. 411-423.
230. Crupi, R., D. Impellizzeri, and S. Cuzzocrea, *Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Neurological Disorders*. *Front Mol Neurosci*, 2019. **12**: p. 20.
231. Jia, Y.J., et al., *The Role of Group II Metabotropic Glutamate Receptors in the Striatum in Electroacupuncture Treatment of Parkinsonian Rats*. *CNS Neurosci Ther*, 2017. **23**(1): p. 23-32.
232. Samadi, P., et al., *Metabotropic glutamate receptor II in the brains of Parkinsonian patients*. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009. **68**(4): p. 374-82.
233. Schoepp, D.D., D.E. Jane, and J.A. Monn, *Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors*. *Neuropharmacology*, 1999. **38**(10): p. 1431-1476.
234. Fell, M.J., et al., *Evidence for the role of metabotropic glutamate (mGlu)2 not mGlu3 receptors in the preclinical antipsychotic pharmacology of the mGlu2/3 receptor agonist (-)-(1R,4S,5S,6S)-4-amino-2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (LY404039)*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008. **326**(1): p. 209-17.
235. Woolley, M.L., et al., *The mGlu2 but not the mGlu3 receptor mediates the actions of the mGluR2/3 agonist, LY379268, in mouse models predictive of antipsychotic activity*. *Psychopharmacology (Berl)*, 2008. **196**(3): p. 431-40.
236. Phillips, T., et al., *LocalizatiOn of metabotropic glutamate receptor type 2 in the human brain*. *Neuroscience*, 1999. **95**(4): p. 1139-1156.
237. Kammermeier, P.J., *Functional and pharmacological characteristics of metabotropic glutamate receptors 2/4 heterodimers*. *Mol Pharmacol*, 2012. **82**(3): p. 438-47.
238. Becamel, C., et al., *Growing Evidence for Heterogeneous Synaptic Localization of 5-HT_{2A} Receptors*. *ACS Chem Neurosci*, 2017. **8**(5): p. 897-899.

239. Parkinson Study, G., *Low-dose clozapine for the treatment of drug-induced psychosis in Parkinson's disease*. N Engl J Med, 1999. **340**(10): p. 757-63.
240. Kyle, K. and J.M. Bronstein, *Treatment of psychosis in Parkinson's disease and dementia with Lewy Bodies: A review*. Parkinsonism Relat Disord, 2020. **75**: p. 55-62.
241. Delille, H.K., et al., *Heterocomplex formation of 5-HT_{2A}-mGlu₂ and its relevance for cellular signaling cascades*. Neuropharmacology, 2012. **62**(7): p. 2184-91.
242. Sid-Otmane, L., et al., *Selective metabotropic glutamate receptor 2 positive allosteric modulation alleviates L-DOPA-induced psychosis-like behaviours and dyskinesia in the MPTP-lesioned marmoset*. Eur J Pharmacol, 2020. **873**: p. 172957.
243. Gaudette, F., et al., *Development of a selective and sensitive high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay to support pharmacokinetic studies of LY-487,379 in rat and marmoset*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018. **1093-1094**: p. 1-7.
244. Hamadjida, A., et al., *The highly selective mGlu₂ receptor positive allosteric modulator LY-487,379 alleviates l-DOPA-induced dyskinesia in the 6-OHDA-lesioned rat model of Parkinson's disease*. Eur J Neurosci, 2020. **51**(12): p. 2412-2422.
245. Paxinos, G.W., C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 7th Edition ed. 2013.
246. Schallert, T., et al., *CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury*. Neuropharmacology, 2000. **39**(5): p. 777-787.
247. Cenci, M.A. and M. Lundblad, *Ratings of L-DOPA-induced dyskinesia in the unilateral 6-OHDA lesion model of Parkinson's disease in rats and mice*. Curr Protoc Neurosci, 2007. **Chapter 9**: p. Unit 9 25.
248. Ohlin, K.E., et al., *Vascular endothelial growth factor is upregulated by L-dopa in the parkinsonian brain: implications for the development of dyskinesia*. Brain, 2011. **134**(Pt 8): p. 2339-57.
249. Nic Dhonnchadha, B.A., et al., *Changes in expression of c-Fos protein following cocaine-cue extinction learning*. Behav Brain Res, 2012. **234**(1): p. 100-6.
250. Wang, Y., et al., *Neuronal gap junction coupling is regulated by glutamate and plays critical role in cell death during neuronal injury*. J Neurosci, 2012. **32**(2): p. 713-25.
251. Park, W.M., et al., *Interplay of chemical neurotransmitters regulates developmental increase in electrical synapses*. J Neurosci, 2011. **31**(16): p. 5909-20.
252. Frouni, I., et al., *Activation of mGlu_{2/3} receptors, a novel therapeutic approach to alleviate dyskinesia and psychosis in experimental parkinsonism*. Neuropharmacology, 2019. **158**: p. 107725.
253. Nuara, S.G., et al., *Combined mGlu₂ orthosteric stimulation and positive allosteric modulation alleviates L-DOPA-induced psychosis-like behaviours and dyskinesia in the parkinsonian marmoset*. J Neural Transm (Vienna), 2020. **127**(7): p. 1023-1029.
254. TOCRIS. Available from: https://www.tocris.com/products/ly-487379-hydrochloride_3283.
255. Benneyworth, M.A., et al., *A selective positive allosteric modulator of metabotropic glutamate receptor subtype 2 blocks a hallucinogenic drug model of psychosis*. Mol Pharmacol, 2007. **72**(2): p. 477-84.
256. Gewirtz, J., *Behavioral Evidence for Interactions between a Hallucinogenic Drug and Group II Metabotropic Glutamate Receptors*. Neuropsychopharmacology, 2000. **23**(5): p. 569-576.

257. Bordes, S., et al., *Arterial Supply of the Thalamus: A Comprehensive Review*. World Neurosurg, 2020. **137**: p. 310-318.
258. Samadi, P., et al., *Basal ganglia group II metabotropic glutamate receptors specific binding in non-human primate model of L-Dopa-induced dyskinesias*. Neuropharmacology, 2008. **54**(2): p. 258-68.
259. Oertel, W., et al., *Randomized, placebo-controlled trial of ADS-5102 (amantadine) extended-release capsules for levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease (EASE LID 3)*. Mov Disord, 2017. **32**(12): p. 1701-1709.
260. Pahwa, R., et al., *ADS-5102 (Amantadine) Extended-Release Capsules for Levodopa-Induced Dyskinesia in Parkinson Disease (EASE LID Study): A Randomized Clinical Trial*. JAMA Neurol, 2017. **74**(8): p. 941-949.
261. Dekundy, A., et al., *Modulation of L-DOPA-induced abnormal involuntary movements by clinically tested compounds: further validation of the rat dyskinesia model*. Behav Brain Res, 2007. **179**(1): p. 76-89.
262. Kobylecki, C., et al., *Synergistic antidyskinetic effects of topiramate and amantadine in animal models of Parkinson's disease*. Mov Disord, 2011. **26**(13): p. 2354-63.
263. Johnson, M.P., et al., *Metabotropic glutamate 2 receptor potentiators: receptor modulation, frequency-dependent synaptic activity, and efficacy in preclinical anxiety and psychosis model(s)*. Psychopharmacology (Berl), 2005. **179**(1): p. 271-83.
264. Picconi, B., et al., *Striatal metabotropic glutamate receptor function following experimental parkinsonism and chronic levodopa treatment*. Brain, 2002. **125**(Pt 12): p. 2635-45.
265. Kim, A., et al., *Amantadine and the Risk of Dyskinesia in Patients with Early Parkinson's Disease: An Open-Label, Pragmatic Trial*. J Mov Disord, 2018. **11**(2): p. 65-71.
266. Marek, G.J., et al., *Physiological Antagonism between 5-Hydroxytryptamine_{2A} and Group II Metabotropic Glutamate Receptors in Prefrontal Cortex*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2000. **292**(1): p. 76-87.
267. Fribourg, M., et al., *Decoding the signaling of a GPCR heteromeric complex reveals a unifying mechanism of action of antipsychotic drugs*. Cell, 2011. **147**(5): p. 1011-23.
268. Gonzalez-Maeso, J. and S.C. Sealton, *Psychedelics and schizophrenia*. Trends Neurosci, 2009. **32**(4): p. 225-32.
269. Gonzalez-Maeso, J., et al., *Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT_{2A} receptor-mediated signaling pathways to affect behavior*. Neuron, 2007. **53**(3): p. 439-52.
270. Kwan, C., et al., *Combined 5-HT_{2A} and mGlu₂ modulation for the treatment of dyskinesia and psychosis in Parkinson's disease*. Neuropharmacology, 2021. **186**: p. 108465.
271. The Lancet, N., *Difficult choices in treating Parkinson's disease psychosis*. The Lancet Neurology, 2018. **17**(7).
272. Friedman, J.H., *Pharmacological interventions for psychosis in Parkinson's disease patients*. Expert Opin Pharmacother, 2018. **19**(5): p. 499-505.
273. Horn, S., et al., *Pimavanserin versus quetiapine for the treatment of psychosis in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies*. Parkinsonism & Related Disorders, 2019. **69**: p. 119-124.
274. Chen, J.J., *Treatment of psychotic symptoms in patients with Parkinson disease*. Ment Health Clin, 2017. **7**(6): p. 262-270.

275. Patil, S.T., et al., *Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial*. Nat Med, 2007. **13**(9): p. 1102-7.
276. Adams, D.H., et al., *A long-term, phase 2, multicenter, randomized, open-label, comparative safety study of pomaglumedad methionil (LY2140023 monohydrate) versus atypical antipsychotic standard of care in patients with schizophrenia*. BMC Psychiatry, 2013. **13**: p. 143.
277. Mezler, M., et al., *LY-2140023, a prodrug of the group II metabotropic glutamate receptor agonist LY-404039 for the potential treatment of schizophrenia*. Curr Opin Investig Drugs, 2010. **11**(7): p. 833-45.
278. Kinon, B.J., et al., *A multicenter, inpatient, phase 2, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of LY2140023 monohydrate in patients with DSM-IV schizophrenia*. J Clin Psychopharmacol, 2011. **31**(3): p. 349-55.
279. Xing, B., et al., *Juvenile treatment with mGluR2/3 agonist prevents schizophrenia-like phenotypes in adult by acting through GSK3beta*. Neuropharmacology, 2018. **137**: p. 359-371.
280. Litman, R.E., et al., *AZD8529, a positive allosteric modulator at the mGluR2 receptor, does not improve symptoms in schizophrenia: A proof of principle study*. Schizophr Res, 2016. **172**(1-3): p. 152-7.
281. Wolf, D.H., et al., *Effect of mGluR2 positive allosteric modulation on frontostriatal working memory activation in schizophrenia*. Mol Psychiatry, 2021.
282. Kellner, M., et al., *Effects of a metabotropic glutamate(2/3) receptor agonist (LY544344/LY354740) on panic anxiety induced by cholecystinin tetrapeptide in healthy humans: preliminary results*. Psychopharmacology (Berl), 2005. **179**(1): p. 310-5.
283. Dunayevich, E., et al., *Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder*. Neuropsychopharmacology, 2008. **33**(7): p. 1603-10.
284. Muller, T., W. Kuhn, and J.D. Mohr, *Evaluating ADS5102 (amantadine) for the treatment of Parkinson's disease patients with dyskinesia*. Expert Opin Pharmacother, 2019. **20**(10): p. 1181-1187.
285. Leta, V., et al., *Can therapeutic strategies prevent and manage dyskinesia in Parkinson's disease? An update*. Expert Opin Drug Saf, 2019. **18**(12): p. 1203-1218.
286. Chen, P. and X. Li, *Study on Effect of Striatal mGluR2/3 in Alleviating Motor Dysfunction in Rat PD Model Treated by Exercise Therapy*. Front Aging Neurosci, 2019. **11**: p. 255.
287. Shi, K., et al., *Effects of exercise on mGluR-mediated glutamatergic transmission in the striatum of hemiparkinsonian rats*. Neurosci Lett, 2019. **705**: p. 143-150.
288. Murray, T.K., et al., *Evaluation of the mGluR2/3 agonist LY379268 in rodent models of Parkinson's disease*. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2002. **73**(2): p. 455-466.
289. Bonsi, P., et al., *Striatal metabotropic glutamate receptors as a target for pharmacotherapy in Parkinson's disease*. Amino Acids, 2007. **32**(2): p. 189-95.
290. Ossowska, K., et al., *An influence of ligands of metabotropic glutamate receptor subtypes on parkinsonian-like symptoms and the striatopallidal pathway in rats*. Amino Acids, 2007. **32**(2): p. 179-88.
291. Sax, K.W. and S.M. Strakowski, *Behavioral sensitization in humans*. J Addict Dis, 2001. **20**(3): p. 55-65.

292. Shimohama, S., et al., *Disease model: Parkinson's disease*. Trends in Molecular Medicine, 2003. **9**(8): p. 360-365.
293. Tillerson, J.L., et al., *Forced Limb-Use Effects on the Behavioral and Neurochemical Effects of 6-Hydroxydopamine*. The Journal of Neuroscience, 2001. **21**(12): p. 4427-4435.
294. Mokry, J., *Experimental Models and Behavioural Tests Used in the Study of Parkinson's Disease*. Physiol. Res., 1995. **44**: p. 143-150.
295. Fang, X., et al., *Improvements in motor behavioral tests during deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats with different degrees of unilateral parkinsonism*. Brain Res, 2006. **1120**(1): p. 202-10.
296. Konitsiotis, S. and C. Tsironis, *Levodopa-induced dyskinesia and rotational behavior in hemiparkinsonian rats: independent features or components of the same phenomenon?* Behav Brain Res, 2006. **170**(2): p. 337-41.
297. Chang, J.W., et al., *Biochemical and anatomical characterization of forepaw adjusting steps in rat models of Parkinson's disease: studies on medial forebrain bundle and striatal lesions*. Neuroscience, 1999. **88**(2): p. 617-628.
298. Rattka, M., et al., *A Novel Approach to Assess Motor Outcome of Deep Brain Stimulation Effects in the Hemiparkinsonian Rat: Staircase and Cylinder Test*. J Vis Exp, 2016(111).
299. Fulceri, F., et al., *Nigrostriatal damage with 6-OHDA: validation of routinely applied procedures*. Ann N Y Acad Sci, 2006. **1074**: p. 344-8.
300. Simola, N., M. Morelli, and A.R. Carta, *The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease*. Neurotox Res, 2007. **11**(3-4): p. 151-67.
301. Marek, G.J., G. Vosmer, and L.S. Seiden, *Pargyline increases 6-hydroxydopamine levels in the neostriatum of methamphetamine-treated rats*. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1990. **36**(1): p. 187-190.
302. Highland, J.N., et al., *Group II metabotropic glutamate receptor blockade promotes stress resilience in mice*. Neuropsychopharmacology, 2019. **44**(10): p. 1788-1796.
303. Li, M.L., et al., *Perspectives on the mGluR2/3 agonists as a therapeutic target for schizophrenia: Still promising or a dead end?* Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2015. **60**: p. 66-76.
304. Mazzitelli, M., et al., *Group II Metabotropic Glutamate Receptors: Role in Pain Mechanisms and Pain Modulation*. Front Mol Neurosci, 2018. **11**: p. 383.
305. Cross, A.J., R. Anthenelli, and X. Li, *Metabotropic Glutamate Receptors 2 and 3 as Targets for Treating Nicotine Addiction*. Biol Psychiatry, 2018. **83**(11): p. 947-954.
306. Ghose, S., et al., *Differential expression of metabotropic glutamate receptors 2 and 3 in schizophrenia: a mechanism for antipsychotic drug action?* Am J Psychiatry, 2009. **166**(7): p. 812-20.
307. Corti, C., et al., *The use of knock-out mice unravels distinct roles for mGlu2 and mGlu3 metabotropic glutamate receptors in mechanisms of neurodegeneration/neuroprotection*. J Neurosci, 2007. **27**(31): p. 8297-308.
308. Zammataro, M., et al., *mGlu2 metabotropic glutamate receptors restrain inflammatory pain and mediate the analgesic activity of dual mGlu2/mGlu3 receptor agonists*. Mol Pain, 2011. **7**: p. 6.
309. Sheffler, D.J., et al., *Recent progress in the synthesis and characterization of group II metabotropic glutamate receptor allosteric modulators*. ACS Chem Neurosci, 2011. **2**(8): p. 382-93.

310. Trabanco, A.A., J.M. Bartolome, and J.M. Cid, *mGluR2 positive allosteric modulators: an updated patent review (2013-2018)*. *Expert Opin Ther Pat*, 2019. **29**(7): p. 497-507.
311. Groebe, D.R., *Screening for positive allosteric modulators of biological targets*. *Drug Discov Today*, 2006. **11**(13-14): p. 632-9.
312. Excellence, N.I.f.H.a.C., 6, *Pharmacological management of motor symptoms*, in *Parkinson's disease in adults: diagnosis and management*. 2017, NICE Guideline: London (UK).
313. Swanson, C.J., et al., *Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders*. *Nat Rev Drug Discov*, 2005. **4**(2): p. 131-44.