



HAL
open science

Modifications neurochimiques au sein des ganglions de la base et comportements moteurs associés lors d'une stimulation électrique du noyau subthalamique chez le rat hémiparkinsonien ou de la mise en place de la dénervation dopaminergique chez le singe

Sabrina Boulet

► To cite this version:

Sabrina Boulet. Modifications neurochimiques au sein des ganglions de la base et comportements moteurs associés lors d'une stimulation électrique du noyau subthalamique chez le rat hémiparkinsonien ou de la mise en place de la dénervation dopaminergique chez le singe. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. NNT : . tel-00110256

HAL Id: tel-00110256

<https://theses.hal.science/tel-00110256>

Submitted on 27 Oct 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE de DOCTORAT de L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER-
GRENOBLE I
École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant
Spécialité Neurosciences**

Présentée par

Sabrina BOULET

Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE GRENOBLE I

**MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES AU
SEIN DES GANGLIONS DE LA BASE ET
COMPORTEMENTS MOTEURS ASSOCIES**

**LORS D'UNE STIMULATION ELECTRIQUE DU
NOYAU SUBTHALAMIQUE CHEZ LE RAT
HEMIPARKINSONNIEN**

OU

**DE LA MISE EN PLACE DE LA DENERVATION
DOPAMINERGIQUE CHEZ LE SINGE**

Soutenu le 23 octobre 2006

Devant le jury composé de

**M le Pr Jean-Michel DENIAU,
Mme le Dr Lydia KERKERIAN,
Mr le Pr Bernard BIOULAC,
Mr le Pr Paul KRACK,
Mr le Dr Léon TREMBLAY,
Mr le Dr Marc SAVASTA,**

**Rapporteur
Rapporteur
Président du jury
Examineur
Examineur
Directeur de thèse**

Ce travail a été réalisé au sein de l'unité INSERM U704 '**Dynamique des Réseaux Neuronaux**' sous la direction du **Dr Marc SAVASTA**. Je tiens à lui exprimer mes remerciements et ma reconnaissance pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ma thèse au sein de son laboratoire.

Je voudrais également adresser mes remerciements aux membres de mon jury de thèse, **le Pr Bernard BIOULAC**, **le Pr Jean-Michel DENIAU**, **le Dr Lydia KERKERIAN**, **le Pr Paul KRACK**, et **le Dr Léon TREMBLAY**, pour l'honneur qu'ils me font en participant à ce jury, et pour avoir accepté de consacrer une partie de leur temps à juger ce mémoire.

Je remercie plus spécialement **le Dr Lydia KERKERIAN** et **le Pr Jean-Michel DENIAU** d'avoir eu la gentillesse d'accepter d'être rapporteurs de ce travail malgré leurs emplois du temps très chargés.

Je voudrais remercier le **Ministère de la Recherche et des Nouvelles Technologies** pour m'avoir financé pendant trois ans. Merci également à tous les membres de **l'association France Parkinson** et notamment tous les malades qui, à travers leurs dons, permettent de financer de jeunes chercheurs. Qu'ils voient dans ce travail ma motivation à vouloir améliorer leur quotidien en essayant de comprendre les mécanismes physiopathologiques de la maladie de Parkinson afin d'en améliorer les traitements.

Je tiens à remercier profondément tous les membres de l'unité 704.

Tout d'abord, encore une fois **Marc SAVASTA**. Merci de m'avoir soutenue au cours de ces quatre années de thèse et d'avoir tout fait pour que celles-ci se passent dans de bonnes conditions. Merci également d'avoir essayé de me donner les atouts nécessaires pour continuer dans le milieu de la recherche, même si je n'ai pas été toujours prête à entendre tes conseils ! J'ai beaucoup appris au cours de cette thèse, autant sur le plan scientifique que humain...et les données recueillies au sein de mon esprit et analysées par mon Cerveau Libre et Hautement Pertinent montrent clairement que les mécanismes *in fine* de cet apprentissage sont sous-tendus, pour une part importante, par Marc SAVASTA ! (données en cours de publication...).

Merci ensuite à **EMILIE**, pour tous ces moments de découragement et de cafard partagés, ces petits services rendus au quotidien et qui facilitent la vie (bon, alors tu veux que j'te l'arrête quand ta stim ?) et aussi tous ces fous rires, parfois un peu nerveux..... Malgré nos caractères

si différents, nous avons finalement réussi à nous entendre ! Je te souhaite beaucoup de courage pour la suite car je sais que pour toi aussi la route sera peut-être difficile.

Merci à **CAROLE**, évidemment ! Il y a tant à dire... beaucoup trop pour pouvoir tout résumer par de simples mots. Cependant, vu ma tendance naturelle à être bavarde, je voulais d'abord te remercier pour tout ce que tu m'as appris techniquement et ceci toujours avec gentillesse et patience. Mais je voulais également te remercier pour tous ces moments où tu m'as soutenu et encore plus pour ces moments où tu m'as montré la voie ; pour tout ce que tu m'as appris sur « le système » qu'il faut parfois accepter..., pour toutes les questions que tu m'as fait me poser sur moi et sur ma conception de la vie en général. Je te remercie aussi pour nos longues discussions sur la vie tout simplement, pour toutes tes certitudes et ta vision juste des choses, pour tous ces moments à parler de tout et de rien, mais surtout à rigoler avec les mains dans le cryostat pour toi et moi la tête sur mon rat ! Merci aussi pour nos échanges 'littéraires'!!!! (que d'aventures vécues en quatre ans de thèse avec Ayla, Jondalar, Ramsès, Claire, Jamie et les autres) et sportifs ! (deux cinglées qui courent par 40°C, ça te rappelle quelque chose ?). Pour moi, tu fais partie de ces personnes qui ont tant compté dans ma vie. J'espère pouvoir te montrer que l'amitié n'est pas éphémère ! Je te souhaite une bonne route, pleine de soleil et de toutes tes expressions à tomber par terre !!!

Je voudrais aussi remercier **ANNE** pour toutes ces heures passées devant l'HPLC à passer mes manip bien sûr! Je te remercie aussi de ces discussions autour d'un thé à 17H, quand la journée devient longue et que tu as toujours une ou deux anecdotes drôles pour détendre les neurones !

Je voudrais également remercier **ANNIE**. Tout d'abord, tout comme pour Anne, je te remercie d'avoir pris le temps de passer mes manip et de l'avoir fait avec tant d'entrain en y croyant à chaque fois autant que moi ! Mais bien plus que ça, j'aurai, comme pour Carole tant de choses à te dire. Je te remercie pour toutes ces discussions sur ces destinations lointaines qui font rêver. J'espère qu'un jour le rêve deviendra réalité ! Sans toi, Madagascar ne serait peut-être encore qu'une île lointaine pour moi ! Je te remercie pour toutes ces fois où tu as su trouver les paroles qui apaisent, « presque » comme une maman ! Je te remercie de la vision de la vie que tu donnes en général et de toute l'énergie positive qui émane de toi. Je te souhaite de trouver ton équilibre dans ce nouvel institut qui se prépare et comme pour Carole, j'espère que le temps ne viendra pas trop facilement à bout de ces liens si privilégiés tissés pendant 4 ans.

Je voudrais également remercier **EDWIGE** toujours disponible pour moi et pour mes commandes de dernières minutes. Merci de t'être toujours mise en quatre pour me faciliter la vie. Puisse-tu toujours garder ta bonne humeur !

Je voudrais remercier **VERONIQUE SGAMBATO-FAURE** pour l'enthousiasme et l'investissement dont elle a fait part dans la rédaction de mon manuscrit de thèse, notamment à travers ses remarques toujours constructives et son esprit critique.

Merci également à **GUY CHOUVET** pour l'intérêt qu'il a su montrer à l'égard de mon travail.

Merci à **Claude FEUERSTEIN** pour son soutien à distance, toujours efficace cependant. Je te souhaite bonne chance pour la direction de cette belle et grande aventure à venir qu'est l'Institut des Neurosciences de Grenoble.

Enfin, je voudrais remercier tous les autres membres de l'équipe que j'ai moins bien connu (**Antoine, Carine, Céline, Colin, Isabelle, Karine, Mélanie et Mireille**). Merci d'avoir fait de ce laboratoire un endroit agréable à vivre et propice au travail. Bonne chance particulièrement à **CELINE** et **MELANIE** qui ont choisi de s'engager sur la voie de la thèse. Merci pour nos petits fous rires d'étudiantes !

Les mots sont peu pour résumer quatre ans de relations humaines...De plus, on est plus ou moins doué dans l'art de les manier ! Sachez en tout cas que malgré les moments parfois difficiles de la thèse, s'il y avait une raison pour laquelle je recommencerais, c'est **VOUS** ! Et c'est vraiment avec une profonde peine intérieure et quelques larmes aussi, il faut bien l'avouer, que je vais vous quitter.

Merci également à tous les membres du LBFA dirigé par le **Pr Xavier LEVERVE** pour l'ambiance sympathique qui régnait toujours le midi dans la cafétéria.

Un merci tout particulier à **Cindy TELLIER** et **Hervé DUBOUCHAUD** pour leur prise en charge efficace de l'animalerie et le soin qu'ils ont apporté aux animaux qui ont contribué 'à leur manière' à ce travail.

Je voudrais remercier ensuite toute l'équipe du **Dr Rémy SADOUL**. Merci pour ce bout de chemin (deux ans quand même !) fait à vos côtés au CHU de Grenoble et qui a été fort agréable !

Merci particulièrement à **SAKINA** et **JEAN-MARC** pour votre gentillesse, votre sagesse et votre présence discrète mais incontournable. Merci aussi pour les petites bouffes bien sympas faites ensemble.

Un merci particulier également aux filles du CHU, même si nous n'avons pas fini l'aventure ensemble ! Merci pour ses superbes moments passés avec vous dans le 'bureau des filles' ('desperate housewives' à côté c'est de la rigolade !). Merci aussi pour tous les 'apéritifs dinatoires' chez les unes et les autres !

Merci **ANNE-LAURE** pour ce merveilleux moment de rêve qu'a été votre mariage à Thomas et toi.

Merci **FLAVIE** pour ta gentillesse naturelle. Merci de m'avoir si gentiment et patiemment « trimballée » quand je me suis 'cassé' le genou ! Merci pour les discussions que nous avons eues sur plein de choses de la vie. Je regrette beaucoup de ne pas avoir eu plus de temps pour mieux te connaître car je pense sincèrement que tu gagnes à être connue. Je vous souhaite à toutes les deux beaucoup de courage pour la fin de votre thèse. Mais je suis sûre que ce sera du super boulot !

Enfin, merci à toi **YAEL**, pour ton amitié tout simplement ; mais aussi pour ton soutien omniprésent surtout à la fin de la thèse. L'histoire ne s'arrête pas là pour nous puisque je viens te rejoindre à Paris, et c'est tant mieux!

Je voudrais ensuite remercier les membres de l'unité U679 'Neurologie et Thérapeutique Expérimentale' (Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris) qui m'ont si gentiment accueilli au sein de leur équipe de janvier à mai 2005 dans le cadre de la collaboration qu'entretenaient nos deux laboratoires.

Merci au **Dr Etienne HIRSCH** de m'avoir accueillie au sein de son unité dans l'équipe dirigée par **Jérôme YELNIK**.

Merci à **Léon TREMBLAY** d'avoir pris le temps de m'encadrer et de m'avoir fait confiance pendant ces quelques mois. J'ai énormément apprécié nos échanges scientifiques qui m'ont beaucoup apporté et j'ai beaucoup appris sur le singe grâce à toi. Merci pour ça. Merci aussi pour les moments plus détendus....

Merci ensuite à **STEPHANIE** bien entendu ! 5 mois, c'est court pour se connaître. Cependant, ce séjour n'aurait pas été aussi agréable et vivant sans ta présence ! Je te remercie d'avoir pris le temps de m'apprendre tout ce que tu savais sur le singe et de répondre à mes questions stupides, même quand je n'étais plus là physiquement. Merci pour toutes ces

discussions sans fin et ces bonnes tranches de rigolade. Merci pour le petit ‘truc’ des gants violets sans lequel je serai encore probablement en train de regarder **Bolide** dans les yeux ! Bref, merci d’être comme tu es et surtout ne change rien ! Je te souhaite beaucoup de courage pour la fin de ta thèse et pour les choix à faire par la suite aussi. Mais je sais que nous allons bientôt nous revoir puisque tu es aussi parisienne par procuration.

Merci à **Jean FEGER, Chantal FRANCOIS, Dominique TANDE, Nicolas WATTIEZ** et **Jérôme YELNIK** pour leur accueil si chaleureux et leurs conseils toujours avisés.

Enfin merci à tous les singes mais plus particulièrement à **BOLIDE** de m’avoir acceptée en tant qu’expérimentatrice et de m’avoir fait toucher du doigt l’intérêt du travail avec le singe.

Enfin je voudrais remercier **Corinne MERCIER, Frank THOMAS** et **José OLIVARES** de m’avoir fait confiance en me confiant des charges d’enseignement dans les modules qu’ils animent respectivement à l’UFR de Biologie de l’université Joseph Fourier de Grenoble. Ces expériences auront permis de me faire découvrir l’enseignement et sans aucun doute de susciter une vocation.

Passons aux ami(e)s !

Pêle-mêle, je voudrais remercier **Aurélie, Christelle, David, Florence, Karine, Laurent, Maëlle, Sabrina, Stéphanie E. et Stéphanie M. et Yohan**. Merci à vous tous de m’avoir toujours soutenu et surtout d’avoir toujours cru en moi.

Plus spécifiquement, merci à vous **AURELIE** et **YOHAN** pour votre optimisme naturel face à la vie et pour tous ces merveilleux moments passés ensemble à la fac et par la suite. La similitude de nos chemins nous permet de nous comprendre et m’apporte bien souvent un réconfort nécessaire !

CHRISTELLE, ça fait tellement longtemps qu’on se connaît, que je me demande encore comment nous avons pu prendre insensiblement les mêmes voies sans que je ne m’en rende compte plus tôt! Merci pour tous ces moments à discuter de la vie à deux et du mariage ! merci surtout pour cette sérénité que tu dégages. Je t’attends toujours pour une via ferrata!

Merci **DAVID** pour ta gentillesse et tes bons gâteaux ! Je te souhaite de trouver ton bonheur, à Grenoble ou ailleurs !

Merci **FLORENCE** pour ton soutien constant et ta capacité à trouver toujours les mots justes. Nos vies sont si différentes...mais notre amitié est toujours là. Je souhaite qu’il en soit ainsi longtemps encore.

Merci **KARINE** d'avoir toujours été là pour moi dans les moments difficiles et de m'avoir offert la joie d'être le témoin privilégié de ton bonheur ! Mon séjour à Paris n'aurait jamais été aussi agréable sans ta présence. Garde toujours cette gentillesse et cette sagesse qui te caractérisent et que j'admire !

Merci **LAURENT** pour ta bonne humeur constante au cours de cette courte année que nous avons passé ensemble. Ton rire a illuminé le laboratoire au cours de cette période. La vie fait que nous nous croisons sans cesse...peut-être nous retrouverons nous un jour !

MAELLE, le chemin parcouru a été long depuis le lycée, surtout pour toi ! Quelle réussite ! Merci pour ta modestie, ta sagesse, ton calme, ta joie de vivre et tous les bons moments que nous avons passés dans mon appartement !

SABRINA, merci d'avoir toujours voulu m'ouvrir les yeux, parfois avec dureté mais toujours avec amitié. Puisse la vie ne pas trop nous séparer.

Et enfin **STEPHANIE E.** Je t'ai connu toute petite et te voilà devenue 'Madame'. Nous avons grandi, mûri ou vieilli, c'est au choix ! Nos vies sont maintenant différentes, mais nous sommes restées si similaires par la pensée. On rencontre peu de gens comme toi dans une vie...et j'aurai tellement de choses à te dire. Merci simplement de faire tout ce que tu peux, toi aussi, pour que notre amitié perdure !

Je voudrais ensuite remercier ma famille.

D'abord, **MARTINE**, ma mère, pour m'avoir toujours laissé le choix de faire ce qui me plaisait même si pour toi ça n'était pas évident de voir où tout ça menait. Merci de m'avoir supportée jusqu'ici durant les périodes d'examens notamment, où j'excelsais dans l'art d'être pénible ! mais aussi dans tous les autres moments où j'étais pénible sans raison (juste parce que c'est moi).

Merci à ma sœur, **CELINE**, pour m'avoir dit un jour que « c'était le destin ». Merci surtout, ainsi qu'à **BRUCE**, pour m'avoir offert la chance d'être deux fois 'tatie'. Même si je sais que je suis une tatie par intermittence et parfois un peu loin des réalités de la vie infantile ! **ESTEBAN** et **LORENZO** sont pour moi deux petits rayons de soleil immuables, qui réchauffent, éblouissent et donnent parfois des insulations, mais qui toujours me ramènent à la réalité, parce que la science, c'est bien, mais les play-mobils, c'est mieux !.

Merci enfin à **JULIEN**, mon petit frère d'être tel qu'il est, et si différent ! Puisse-tu trouver ta voie.

Et pour finir, Merci à toi **FREDERIC**. Merci pour ton amour naturellement, mais surtout merci d'avoir toujours été à mes côtés, d'avoir cru en moi, parfois plus que moi-même ! de m'avoir constamment soutenu, je dirais même de m'avoir souvent porté.... à bout de bras.....
Merci de faire tant d'efforts pour t'intéresser à toutes ces choses scientifiques qui sont loin de tes soucis quotidiens et qui ne sont pas toujours aisées à comprendre ! J'aurai tellement à te dire, mais ce serait trop long ! Merci simplement d'être toi.

A tous ceux qui ont cru en moi...

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	1
AVANT PROPOS	4
INTRODUCTION	6
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	10
I. LA MALADIE DE PARKINSON	10
I.1. Présentation générale	10
I.2. Aspects cliniques	10
I.2.1. Symptomatologie motrice	10
I.2.2. Symptomatologie cognitive	12
I.3. Anatomo-pathologie	12
I.3.1. Perte neuronale	12
I.3.2. Les corps de Lewy	14
I.4. Etiologie de la maladie	15
I.4.1. Facteurs de risque	15
I.4.2. Facteurs génétiques	16
I.4.3. Facteurs environnementaux	18
I.5. Mécanismes de compensation dans la maladie de Parkinson	20
I.5.1. Mécanismes de compensation rapide au niveau du système dopaminergique nigrostrié	20
I.5.2. Mécanismes de compensation lents	22
I.5.3. Compensation par bourgeonnement	23
I.5.4. Mécanismes de compensation non dopaminergique	25
I.6. Aspects thérapeutiques	26
I.6.1. Traitements pharmacologiques	26
I.6.1.1. Les agents dopaminergiques	27
I.6.1.2. Les agents non dopaminergiques	29
I.6.2. Les traitements chirurgicaux	30

I.6.2.1. Les thérapies lésionnelles	30
I.6.2.2. La stimulation cérébrale profonde	31
I.6.3. Perspectives thérapeutiques	34
I.6.3.1. Les greffes de tissus embryonnaires	34
I.6.3.2. Les facteurs neurotrophiques	35
II. MODELES ANIMAUX DE LA MALADIE DE PARKINSON	36
<hr/>	
II.1. Le rat 6-OHDA	37
II.1.1. Mécanismes d'action de la 6-OHDA	37
II.1.2. Site d'injection de la 6-OHDA	38
II.1.3. Mode de lésion : unilatérale versus bilatérale, totale versus partielle	39
II.1.4. Aspects comportementaux des lésions à la 6-OHDA	39
II.2. Le singe MPTP	40
II.2.1. Mécanismes d'action du MPTP	40
II.2.2. Protocoles d'intoxication au MPTP	41
II.2.3. Déficits moteurs induits par un traitement MPTP	42
II.2.4. Topographie de la perte dopaminergique	43
III. LE SYSTEME DES GANGLIONS DE LA BASE CHEZ LE RONGEUR ET LE PRIMATE	44
<hr/>	
III.1. Anatomie descriptive et connectivité	45
III.1.1. Le Striatum	45
III.1.1.1. Les neurones striataux	47
III.1.1.2. Les afférences striatales	48
III.1.1.3. Les efférences striatales	50
III.1.2. Le Globus Pallidus	51
III.1.2.1. Les neurones pallidaux	51
III.1.2.2. Les afférences pallidales	51
III.1.2.3. Les efférences pallidales	52
III.1.2.3.1. Les efférences du GPe ou GP	52
III.1.2.3.2. Les efférences du Gpi ou EP	53
III.1.3. Le Noyau Subthalamique	53

III.1.3.1. Les neurones subthalamiques	54
III.1.3.2. Les afférences subthalamiques	55
III.1.3.3. Les efférences subthalamiques	57
III.1.4. La Substance Noire	58
III.1.4.1. Les neurones nigraux	58
III.1.4.2. les afférences nigrales	59
III.1.4.3. Les efférences nigrales	60
III.2. Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base	60
III.2.1. Le modèle classique	60
III.2.2. Remise en cause du modèle classique	62
III.2.2.1. La remise en cause du concept de voie indirecte	62
III.2.2.2. Remise en question de l'hypoactivité du GPe/GP en situation parkinsonienne	63
III.2.2.3. Origine de l'hyperactivité du NST après dénervation dopaminergique	64
III.2.3. Proposition de nouveaux schémas d'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base	65
III.3. NST et troubles du mouvement	65
III.3.1. NST, hémiballisme et dyskinésies	65
III.3.2. NST et MP	66
III.3.3. NST et stimulation électrique à haute fréquence : un traitement de la MP	67
IV. NEUROTRANSMETTEURS ETUDIES	69
<hr/>	
IV.1. La dopamine	69
IV.1.1. Le métabolisme de la dopamine	69
IV.1.2. Les récepteurs dopaminergiques	71
IV.2. Le glutamate	72
IV.2.1. Le métabolisme du glutamate	72
IV.2.2. Les récepteurs glutamatergiques	73
IV.2.3. Les transporteurs du Glu	75
IV.3. Le GABA	76
IV.3.1. Le métabolisme du GABA	76
IV.3.2. Les récepteurs GABAergiques	78

IV.4. La sérotonine	79
IV.4.1. Le métabolisme de la sérotonine	79
IV.4.2. Les récepteurs sérotoninergiques	80

PARTIE I :

MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES AU SEIN DES GANGLIONS DE LA BASE ET COMPORTEMENTS MOTEURS ASSOCIES LORS D'UNE SHF DU NST CHEZ LE RAT HEMIPARKINSONIEN

MATERIELS ET METHODES	82
------------------------------	-----------

I. ANIMAUX	82
-------------------	-----------

II. CHIRURGIE	82
----------------------	-----------

II.1. Principe de la chirurgie stéréotaxique	82
---	-----------

II.2. Lésion unilatérale totale de la Substance Noire pars compacta (SNc)	82
--	-----------

II.3. Implantation de l'électrode de stimulation, du guide canule de la sonde de microdialyse et des canules d'injection d'agents pharmacologiques	84
---	-----------

III. STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE	86
--	-----------

III.1. Matériel et connection électrique	86
---	-----------

III.2. Choix de l'électrode de stimulation	87
---	-----------

III.3. Paramètres de stimulation chez le rat éveillé	87
---	-----------

III.3.1. Etude des comportements moteurs induits par la stimulation électrique du NST en fonction des paramètres utilisés	87
---	----

III.3.2. Paramètres utilisés au cours des expériences de dialyse ou de micro-injections intranigrales d'agents pharmacologiques	88
---	----

IV. MICRODIALYSE INTRACEREBRALE CHEZ LE RAT EVEILLE **89**

IV.1. Principe de la microdialyse	89
IV.2. Les sondes de microdialyse	90
IV.2.1. Fabrication des sondes	90
IV.2.2. Spécificité rat	90
IV.2.3. Rendement des sondes <i>in vitro</i>	91
IV.3. Protocole de dialyse	91
IV.3.1. Importance et choix des paramètres de dialyse	91
IV.3.2. Déroulement de la dialyse	92
IV.4. Dosage des neurotransmetteurs étudiés par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)	93
IV.4.1. Matériel nécessaire à la technique de CLHP	94
IV.4.2. Dosage des acides aminés	95
IV.4.2.1. Principe de détection	95
IV.4.2.2. Matériel	95
IV.4.2.3. Paramètres analytiques appliqués	96
IV.4.3. Validation de la technique analytique	97

V. INJECTIONS INTRANIGRALES D'AGENTS PHARMACOLOGIQUES CHEZ LE RAT EVEILLE LIBRE DE SES MOUVEMENTS **98**

V.1. Substances pharmacologiques injectées	98
V.2. Injections pharmacologiques et études comportementales réalisées	98
V.3. Evaluation qualitative et quantitative du comportement moteur induit par les injections pharmacologiques pratiquées	100

VI. CONTROLES HISTOLOGIQUES **100**

VI.1. Evaluation de l'étendue de la lésion dopaminergique	100
VI.2. Protocole d'immunohistochimie de la Tyrosine Hydroxylase (TH)	101
VI.3. Localisation de l'électrode de stimulation, de la sonde de dialyse ou des canules d'injection d'agents pharmacologiques	102

VII. ANALYSE DES DONNEES EXPERIMENTALES 103

VII.1. Estimation des surfaces nigrales et striatales affectées par la lésion dopaminergique 103

VII.2. Analyse statistique des données neurochimiques et comportementales 104

PARTIE EXPERIMENTALE	105
-----------------------------	------------

I. VERIFICATIONS PRELIMINAIRES 105

I.1. Stabilité des taux d'acides aminés dans nos conditions expérimentales 105

I.2. Rendement de sondes *in vitro* 106

I.3. Contrôles histologiques 106

I.3.1. Evaluation de la dénervation dopaminergique 106

I.3.2. Localisation de l'électrode de stimulation, de la sonde de dialyse ou des canules d'injection 107

II. MISE AU POINT DES CONDITIONS DE STIMULATION ELECTRIQUE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, LIBRE DE SES MOUVEMENTS. 107

II.1. Choix de la nature de l'électrode et de la modalité de stimulation, mono-polaire ou bi-polaire 108

II.2. Etude de l'effet induit par les variations des paramètres de stimulation sur le comportement moteur du rat sain et hémiparkinsonien éveillé libre de ses mouvements 110

II.2.1. Effets de la variation de l'intensité de stimulation 110

II.2.2. Effets de la variation de la fréquence ou de la largeur d'impulsion de stimulation 111

II.2.3. Importance de la polarité de l'électrode implantée dans le NST chez le rat éveillé 112

III. EFFETS DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE SUR LES TAUX DE GLUTAMATE ET DE GABA AU SEIN DE LA SNr CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN ET HEMIPARKINSONIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS **113**

III.1. Effets d'une SHF du NST appliquée à une intensité dyskinésiante	113
III.1.1. Chez le rat sain	113
III.1.2. Chez le rat 6-OHDA	114
III.2. Effets d'une SHF du NST appliquée à une intensité non dyskinésiante	115
III.2.1. Chez le rat sain	115
III.2.2. Chez le rat 6-OHDA	115

IV. ETUDE DE L'IMPLICATION DES SYSTEMES GLUTAMATERGIQUES ET GABAERGIQUES DANS L'APPARITION DE DYSKINESIES INDUITES PAR LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN ET HEMIPARKINSONIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS **116**

IV.1. Effets comportementaux induits uniquement par des injections au sein de la SNr d'acide kynurénique, de NMDA+AMPA et de muscimol.	116
IV.2. Effet de l'injection bilatérale d'acide kynurénique sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST	117
IV.3. Effet de l'injection bilatérale de NMDA et d'AMPA sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST	118
IV.4. Effet de l'injection bilatérale de muscimol sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST	118

DISCUSSION GENERALE	119
----------------------------	------------

I. ETUDE DES CONDITIONS DE STIMULATION ELECTRIQUE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN OU HEMIPARKINSONIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS **119**

I.1. Electrode de stimulation : monopolaire, bipolaire, platine ou tungstène ?	119
I.2. Variation des paramètres de stimulation	120
II. ETUDE DES VARIATIONS DES TAUX DE GLUTAMATE ET DE GABA MESURES AU SEIN DE LA SNR LORS DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE INDUISANT OU NON DES DYSKINESIES DE LA PATTE AVANT	124
<hr/>	
II.1. Remarques préliminaires concernant l'origine du Glu et du GABA détectés par microdialyse intracérébrale	124
II.2. Comparaison des taux de base de Glu et de GABA entre le rat sain et le rat hemiparkinsonien	126
II.3. Effet de l'intensité de stimulation sur les modifications des taux de Glu et de GABA au sein de la SNr	129
II.3.1. Modifications neurochimiques induites par une intensité dyskinésiante	130
II.3.2. Modifications neurochimiques induites par une intensité non dyskinésiante	132
III. MISE EN EVIDENCE DE L'IMPLICATION DES SYSTEMES GLUTAMATERGIQUES DANS L'APPARITION DES DYSKINESIES DE LA PATTE AVANT CONTRALATERALE SOUS L'EFFET DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NST	136
<hr/>	

PARTIE II :
**MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES AU SEIN DES GANGLIONS
DE LA BASE ET COMPORTEMENTS MOTEURS ASSOCIES LORS DE
LA MISE EN PLACE DE LA DENERVATION DOPAMINERGIQUE
CHEZ LE SINGE**

MATERIELS ET METHODES 141

I. ANIMAUX 141

**II. MISE EN PLACE DE LA SYMPTOMATOLOGIE PARKINSONIENNE ET
EVALUATION MOTRICE 141**

II.1. Préparation et injection intramusculaire du MPTP 141

II.2. Intoxication progressive au MPTP 142

II.3. Evaluation des déficits moteurs 142

II.3.1. Critères en cage 143

II.3.2. Critères en chaise 143

II.3.3. Critères mixte 144

**III. IMPLANTATION STEREOTAXIQUE DE LA CHAMBRE
D'ENREGISTREMENT NECESSAIRE AUX DIALYSES REPETEES 144**

III.1. Anesthésie et contrôle des fonctions vitales 145

III.2. Contention et ventriculographie 146

III.3. Positionnement et fixation de la chambre 147

**III.4. Contrôle de la douleur et prévention du risque infectieux : suivi opératoire
et post-opératoire 148**

III.5. Nettoyage de la chambre d'enregistrement 148

IV. MICRODIALYSE INTRACEREBRALE CHEZ LE SINGE EVEILLE	149
<hr/>	
IV.1. Les sondes de microdialyse	149
IV.2. Déroulement de la dialyse	150
IV.3. Dosage des neurotransmetteurs cérébraux par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) : dosage des catécholamines	151
IV.3.1. Principe de la détection	152
IV.3.2. Matériel	153
IV.3.3. Paramètres analytiques appliqués	153
IV.3.4. Validation de la technique analytique	154
V. CONTROLES HISTOLOGIQUES : LOCALISATION DES SONDES DE DIALYSE	
	154
<hr/>	
VI. ANALYSE DES DONNEES EXPERIMENTALES	154
<hr/>	
VI.1. Estimation des surfaces nigrale et striatale affectées pas la lésion dopaminergique	154
VI.2. Analyse statistique des données neurochimiques	155
PARTIE EXPERIMENTALE	157
<hr/>	
I. VERIFICATIONS PRELIMINAIRES	162
<hr/>	
I.1. Vérification de la stabilité des taux de neurotransmetteurs dans les conditions expérimentales utilisées	157
I.2. Rendement de sondes <i>in vitro</i>	157
I.3. Contrôles histologiques	158
I.3.1. Evaluation de la dénervation dopaminergique	158
I.3.2. Localisation des sondes de dialyse	159
I.3.3. Etude de la variabilité intra-individuelle des concentrations de neurotransmetteurs au cours des dialyses	160

I.3.4. Etude de l'influence des dialyses répétées sur les taux de neurotransmetteurs étudiés	161
--	-----

II. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ET SYMPTOMES MOTEURS ASSOCIES LORS DE LA MISE EN PLACE D'UNE DENERVATION DOPAMINERGIQUE CHEZ LE SINGE INTOXIQUE AU MPTP	162
---	------------

II.1. Evaluation motrice	162
II.1.1. Symptômes développés	163
II.1.2. Récupération des fonctions motrices	163
II.2. Taux de base des neurotransmetteurs étudiés	164
II.3. Variations des concentrations des neurotransmetteurs au niveau du striatum sensorimoteur et limbique, en fonction de l'état symptomatique étudié	165
II.3.1. Variations des taux de dopamine	165
II.3.2. Variations des taux de DOPAC	167
II.3.3. Variations des taux d'HVA	168
II.3.4. Variations des rapports DOPAC/DA et HVA/DA	168
II.3.5. Variations des taux de sérotonine	169
II.3.6. Variations des taux de 5HIAA	170
II.3.7. Variations du rapport 5HIAA/5HT	171
II.3.8. Variations des taux de GABA et de Glutamate	172

DISCUSSION GENERALE	174
----------------------------	------------

I. CHOIX DU MODELE DE SINGE INTOXIQUE AU MPTP ET DE L'APPROCHE BIOCHIMIQUE PAR MICRODIALYSE	174
--	------------

I.1. Le modèle de singe vert intoxiqué progressivement au MPTP	174
I.2. Approche biochimique par microdialyse intracérébrale répétée	175

II. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ASSOCIEES A L'ETAT PARKINSONIEN	178
---	------------

II.1. Dopamine, DOPAC et HVA	178
II.2. Glutamate et GABA	180
II.3. Sérotonine et 5HIAA	182
III. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ASSOCIEES A LA RECUPERATION FONCTIONNELLE	183
<hr/>	
III.1. Dopamine, DOPAC et HVA	183
III.2. Glutamate et GABA	186
III.3. Sérotonine et 5HIAA	187
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	190
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	194

ABBREVIATIONS

Ac : Anticorps
AK : Acide Kynurénique
AMPA : Acide Alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionique
AMS : Aire Motrice Supplémentaire
ATV : Aire Tegmentale Ventrale
BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor
BHE : Barrière Hémato-Encéphalique
CA : Commissure Antérieure
CACA : Acide Cis-4-AminoCrotonique
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
CM : Complexe Centro-Médian du thalamus
CN : Cyanide
CoI : Cytochrome Oxydase I
COMT : Catéchol-O-Méthyl-Transferase
CP : Commissure Postérieure
d : Largeur d'impulsion en micro-secondes (μ s)
DA : 3-4 dihydroxyphenylethylamine, dopamine
DAB : Di-Amino-Benzidine
DAT : Transporteur membranaire de la Dopamine
D_e : Diamètre externe
D_i : Diamètre Interne
DO : Densité Optique
DOPAC : Acide 3,4 Dihydroxyphenylacétique
EAAT : Transporteurs de haute affinité du Glutamate
EP : Noyau Entopédonculaire
F : Fréquence en hertz (Hz)
FGF : Fibrillary Growth Factor
G : Glutaminase
GABA : Acide Gamma-Amino-Butirique
GABA-T : GABA Transaminase
GAD : Acide Glutamique Décarboxylase
GB : Ganglions de la Base
GC : Guide Canule
GDNF : Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor

Glu : Glutamate
GPe : Globus Pallidus Externe
Gpi : Antisérum primaire de chèvre
GPi : Globus Pallidus Interne
GS : Glutamine Synthétase
Hcl : Acide Chloridrique
5-HIAA : Acide 5-Hydroxy-Indol-Acétique
H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène
HRP : 'Horseradish' Peroxydase
5-HT : Sérotonine
HVA : Acide 4-Hydroxy-3-Méthoxyphenylacétique
I : Intensité en micro-ampères (μA)
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
L-DOPA : Levo-DOPA
MAO : Mono-Amine Oxydase
MFB : Faisceau médian du télencéphale basal
MP : Maladie de Parkinson
MPDP⁺ : 1-Méthyl-4-Phenyl-1,2-Dihydropyridinium
MPTP : 1-Méthyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine
MPP⁺ : 1-Méthyl-4-Phenylpyridine
3-MT : 3-MéthoxyTyramine
N₂ : Di-Azote
NaCl : Chlorure de Sodium
NDA : Naphtalène-2,3-DicarboxAldehyde
NGF : Nerth Growth Factor
NMDA : Acide N-Méthyl-D-Aspartique
NPP : Noyau Pédonculo-Pontin
NST : Noyau Subthalamique
O₂ : Di-Oxygène
6-OHDA : 6 Hydroxy-Dopamine
3-OMD : 3-O-MéthylDopa
PF : Noyau Parafasciculaire du thalamus
PFA : Paraformaldéhyde

PKC : Protéine Kinase C
PPE-A : Pré-Proenkephaline A
SEM : Erreur Standard Moyenne
SHF : Stimulation Haute Fréquence
SNc : Substance Noire pars compacta
SNr : Substance Noire pars réticulata
TBS : Tampon Tris Hcl 0,1M
TBST : TB + Triton 0,3%
TEP : Tomographie par Emissions de Positons
TH : Tyrosine Hydroxylase
TPMPA : 1,2,5,6-Tetrahydropyridine-4-yl
TTX : Tétrodotoxine
UCH-L1 : Ubiquitine Carboxy-terminal Hydrolase-L1
UPDRS : Unified Parkinson's Disease Rating Scale
Vim : Noyau intermédiolatéral du Thalamus
VGLUT : Transporteur Vésiculaire du Glutamate
VMAT : Transporteur Vésiculaire de la Dopamine

AVANT PROPOS

Les résultats issus du travail de cette thèse ont fait ou feront l'objet des publications suivantes :

1. Boulet S., Lacombe E., Carcenac C., Sgambato-Faure V., Feuerstein C., Poupard A. & Savasta M. (2006) Subthalamic Stimulation-Induced Forelimb Dyskinesias are linked to an Increase in Glutamate Levels in the Substantia Nigra Pars Reticulata. *J Neurosci* 26 :10768-10776.

2. Boulet S., Mounayar S., Bertrand A., Poupard A., Jan C., Pessiglione M., Hirsch E. C., François C., Féger J., Savasta M & Tremblay L. (2006) Compensatory mechanisms on MPTP-treated monkeys with recovery of parkinsonian motor symptoms: II. Biochemical approach by microdialysis. En preparation.

3. Mounayar S., **Boulet S.**, Tandé D., Pessiglione M., Jan C., Hirsch E. C., Féger J., Savasta M., François C. & Tremblay L. (2006) Compensatory mechanisms on MPTP treated monkeys with recovery of parkinsonian motor symptoms: I. behavioral and immunohistochemical approaches. En preparation.

Autres publications auxquelles j'ai participé

4. Carcenac C., Lacombe E., **Boulet S.**, Feuerstein C. & Savasta M. (2006) Differential effects of high frequency stimulation of the subthalamic nucleus on D1 and D2 receptors densities within Basal Ganglia nuclei in intact and 6-OHDA-lesioned anesthetized rats. En préparation

5. Lacombe E., Carcenac C., **Boulet S.**, Bertrand A., Poupard A., Feuerstein C. & Savasta M. (2006) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus potentialises the dopamine increase induced by an acute L-Dopa treatment during asymptomatic phase of Parkinson's disease. En préparation

Publication dans des revues de 'vulgarisation scientifique'

6. Boulet S., Lacombe E. & Savasta M. (2006) La maladie de Parkinson : mécanismes physiopathologiques- traitements. Mouvements 1 :22 –34 (revue du club des ganglions de la base).

INTRODUCTION

La Maladie de Parkinson (MP) touche près de 100.000 personnes en France et 1 personne sur 1000 (1 sur 100 après 65 ans) en moyenne en Europe. Elle représente ainsi la maladie neurodégénérative la plus répandue après la maladie d'Alzheimer.

Elle se caractérise, sur le plan clinique, par une triade de symptômes moteurs associant une akinésie, une rigidité, et un tremblement de repos (Obeso et al., 2002, 20004), et sur le plan anatomo-pathologique, par une destruction progressive des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta (SNc) (Ehringer et Hornykiewicz, 1960 ; Agid, 1991). Cependant, d'autres systèmes neuronaux non dopaminergiques (sérotoninergique, noradrenergique, cholinergique) sont également affectés. L'expression clinique de la maladie n'apparaît toutefois que lorsque la perte neuronale au niveau de la SNc devient supérieure à 60-70 % ce qui suggère, lors de la phase pré-symptomatique, l'existence de mécanismes de compensation permettant de palier à ce déficit dopaminergique.

La voie dopaminergique nigrostriée appartient à un réseau neuronal reliant tout un ensemble de structures sous-corticales, que l'on appelle les ganglions de la base, et qui jouent un rôle essentiel dans l'organisation et le contrôle de l'activité motrice mais aussi dans différentes formes d'apprentissage. Le striatum est relié aux structures de sortie des ganglions de la base, le pallidum interne (GPi) et la substance noire pars reticulata (SNr), par une voie directe et une voie indirecte, impliquant successivement le pallidum externe (GPe) et ventral et le noyau subthalamique (NST). De nos jours, le NST est également considéré comme une structure d'entrée de ce système puisqu'il reçoit des afférences corticales directes issues du cortex moteur et pré-moteur ainsi que du cortex pre-frontal. Il a été montré que la mise en jeu de la voie directe, par son action inhibitrice sur les structures GABAergiques de sortie des ganglions de la base, lève l'inhibition tonique qu'elle exerce sur les réseaux pré-moteurs du thalamus. Ce processus de désinhibition est considéré comme central dans la physiologie des ganglions de la base et participerait à l'initiation du mouvement (Deniau et al., 1978 ; Mink, 1996). La mise en jeu de la voie trans-subthalamique, exerçant un effet opposé, excitateur, sur les structures de sortie, contrôlerait ce processus de désinhibition et participerait au contrôle de l'amplitude du mouvement et de l'inhibition des programmes moteurs inappropriés.

L'ensemble des structures des ganglions de la base est sous le contrôle du système dopaminergique issu de la SNc dont la dégénérescence est à l'origine des symptômes moteurs de la MP.

Jusqu'à une période récente, le seul traitement efficace de la MP consistait à restituer les taux de dopamine par administration de L-DOPA (DOPA thérapie). Toutefois, l'efficacité de ce

traitement tend à s'atténuer au cours de l'évolution de la maladie et entraîne chez certains patients l'apparition de mouvements anormaux involontaires appelés dyskinésies.

Plus récemment, les études réalisées dans les modèles animaux de la MP ont mis en évidence une hyperactivité des neurones du NST et des structures de sortie des ganglions de la base, et ont ouvert la voie à une nouvelle approche thérapeutique de cette maladie par la stimulation haute fréquence (SHF) du NST.

Cette SHF du NST, mise au point par l'équipe du Pr BIOULAC à Bordeaux chez le singe traité au MPTP (Benazzouz et al., 1993), a été par la suite appliquée chez l'homme à Grenoble par les professeurs BENABID et POLLAK (Limousin et al., 1995). Les résultats obtenus sont tout à fait spectaculaires car ce traitement chirurgical permet d'abolir les principaux symptômes moteurs de la maladie, mais aussi les dyskinésies tardives induites par la L-DOPA (Limousin et al., 1995 ; 1998 ; Krack et al., 2003). Cependant, les mécanismes *in fine* de l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST sont mal connus et suscitent de nombreuses discussions dans la littérature internationale (Benabid et al., 2002; Dostrovsky et Lozano, 2002; Vitek, 2002 ; McIntyre et al., 2004 a,b)

L'unité INSERM 704 'Dynamique des Réseaux Neuronaux', dirigée par Marc SAVASTA dans laquelle j'ai effectué mon doctorat, s'intéresse depuis de nombreuses années à la physiopathologie de la MP et plus récemment aux mécanismes de la SHF du NST qui sous-tendent son efficacité clinique. La compréhension de ces mécanismes représente un défi important sur le plan physiopathologique et thérapeutique. En effet, ce traitement chirurgical soulève des questions fondamentales qui impliquent la compréhension des interactions des réseaux de neurones appartenant aux différentes voies des ganglions de la base, à la fois dans une situation normale mais aussi pathologique. L'une des principales questions vise à tenter d'élucider l'impact de la SHF du NST sur l'activité des neurones du NST eux-mêmes mais aussi de ses cibles directes et/ou indirectes au sein des ganglions de la base et du cortex.

L'équipe de Marc SAVASTA a développé, depuis quelques années, un certain nombre d'outils techniques permettant d'étudier sur le plan neurochimique l'impact de cette SHF du NST au sein de ses cibles directes ou indirectes. Ces techniques, basées principalement sur la microdialyse intracérébrale couplée aux techniques analytiques de Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP), ont permis d'obtenir de nombreux résultats chez le rat sain et hémiparkinsonien et de suggérer quelques hypothèses de travail concernant ces mécanismes. Ainsi, il a pu être montré chez le rat sain anesthésié, que la SHF du NST augmentait les contenus extracellulaires en glutamate (Glu) dans le GPe et la SNr et ceux du GABA

seulement dans la SNr. Ces données neurochimiques ont permis de suggérer alors que la SHF du NST n'était pas uniquement le résultat d'un phénomène local au sein du NST mais impliquait des mécanismes complexes 'inhibiteurs' et 'excitateurs' au sein des structures de sortie des ganglions de la base, par la mise en jeu de fibres excitatrices et inhibitrices. L'hypothèse principalement avancée au laboratoire était que le GABA pouvait exercer un rôle prédominant au sein de la SNr vis-à-vis du Glu, et induire ainsi une inhibition résultante au niveau des voies de sortie pouvant expliquer son effet thérapeutique (Windels et al., 2000 ; Savasta et al., 2002). Les résultats neurochimiques obtenus par la suite chez le rat hémiparkinsonien, toujours en condition anesthésiée, ont confirmé cette hypothèse et révélé que le GABA mesuré dans la SNr avait une origine principalement pallidale (Windels et al., 2005). Par ailleurs, des études réalisées au laboratoire au niveau du striatum, concernant les variations des contenus en dopamine, Glu et GABA, ont permis de montrer que l'impact de la SHF du NST pouvait affecter à distance d'autres structures des ganglions de la base (Bruet et al., 2001, 2003), et que la compréhension des mécanismes sous-tendant la récupération fonctionnelle observée, devait prendre en compte l'ensemble des interactions intervenant au sein des circuits des ganglions de la base.

C'est donc dans ce contexte que s'est inscrite la première partie de mon projet de thèse qui a eu pour objectif de mettre en place, sur le plan technologique, les outils de la SHF du NST couplés à la microdialyse chez le rat éveillé libre de ses mouvements. L'objectif recherché était d'étudier les modifications neurochimiques induites par la SHF du NST dans des conditions aussi proches que possible de celles utilisées chez le patient parkinsonien.

La deuxième partie de mon travail doctoral m'a permis d'appliquer ces outils de microdialyse intracérébrale, non plus chez le rat, mais chez le singe éveillé. La problématique abordée, toujours reliée à la physiopathologie de la MP, ne s'est plus intéressée aux mécanismes de la SHF du NST mais plus spécifiquement aux processus de récupération et/ou compensation intervenant après intoxication au MPTP.

En effet, comme nous l'avons évoqué plus haut, les symptômes moteurs de la MP n'apparaissent que lorsque plus de 60-70 % des neurones dopaminergiques de la SNc ont dégénéré. Cette phase pré-symptomatique de la maladie, au cours de laquelle les processus dégénératifs sont présents mais n'induisent pas de conséquences fonctionnelles au niveau moteur, laisse supposer l'existence de mécanismes de plasticité/adaptation fonctionnelle capables de compenser la perte de dopamine et de retarder l'apparition des symptômes moteurs.

Cette étude chez le singe a été menée dans le cadre d'une collaboration réalisée avec le Dr Léon TREMBLAY du laboratoire de 'Neurologie et Thérapeutique Expérimentale', Unité INSERM 679, dirigée par le Dr Etienne HIRSCH et situé à l'Hôpital de la Pitié Salpêtrière à Paris. L'équipe de Léon TREMBLAY a mis au point un modèle de singe vert intoxiqué progressivement au MPTP qui développe l'ensemble des symptômes moteurs de la MP (y compris le tremblement de repos) et qui présente l'avantage de récupérer toutes les fonctions motrices après l'arrêt du traitement ; et ceci malgré une très forte perte des neurones dopaminergiques de la SNc et de l'innervation dopaminergique correspondante (Jan et al., 2003). L'objectif expérimental fixé a donc été d'étudier les modifications neurochimiques intervenant dans deux territoires du striatum (l'un associé au système limbique, l'autre associé au système sensorimoteur) dans une situation normale, après intoxication au MPTP et au cours de la récupération motrice. Les résultats escomptés devraient clarifier les bases neurochimiques qui sous-tendent les mécanismes de récupération et qui pourraient s'assimiler aux mécanismes de compensation intervenant dans la phase asymptomatique de la MP.

Le plan que nous avons suivi pour la présentation de ce manuscrit est le suivant. Après avoir rappelé dans un premier chapitre 'Rappels Bibliographiques', un certain nombre de données de la littérature, concernant le rat et le singe, qui a été le support de mon travail doctoral, deux parties expérimentales seront exposées :

- La première, concerne notre étude relative aux modifications neurochimiques induites par la SHF du NST chez le rat éveillé et aux comportements dyskinétiques associés, notamment ceux de la patte avant contralatérale. Les résultats seront présentés et discutés dans leur ensemble.

- La deuxième, concerne nos études neurochimiques conduites chez le singe MPTP. Nous présenterons toutes les corrélations que nous avons pu faire entre les comportements moteurs étudiés et les modifications neurochimiques détectées selon le stade de dégénérescence et/ou de récupération étudiée. Là encore les résultats obtenus seront discutés dans leur ensemble.

Enfin, un dernier chapitre de 'conclusions et perspectives' clôturera ce manuscrit.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

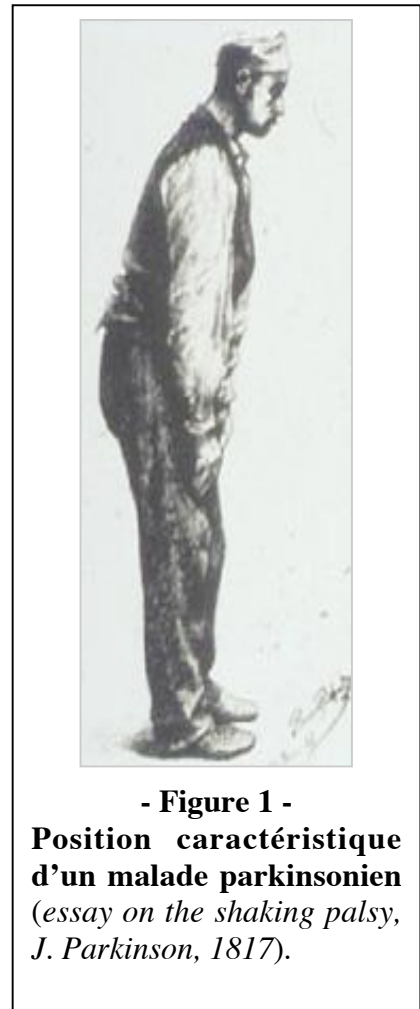
I. LA MALADIE DE PARKINSON

I.1. Présentation générale

Initialement décrite en 1817 par James Parkinson, la maladie de Parkinson (MP) représente l'affection neurodégénérative la plus répandue, après la maladie d'Alzheimer. Elle débute en moyenne entre 55 et 65 ans et touche environ 0,2 % de la population générale. En raison du vieillissement démographique, cette prévalence tend à augmenter, ce qui conduit à considérer la MP comme un problème de santé public qui ne va pas cesser de s'accroître.

La MP est caractérisée par une dégénérescence bilatérale de la voie dopaminergique nigro-striée. La symptomatologie extrapyramidale caractéristique de cette maladie traduit l'atteinte du système des ganglions de la base qui joue un rôle majeur dans l'élaboration et le contrôle de la motricité (Fig 1).

Actuellement, il n'existe aucun traitement curatif de la MP. En effet, si des traitements pharmacologiques (administration de L-DOPA par exemple) et neurochirurgicaux (stimulation cérébrale profonde) efficaces existent, ceux-ci n'arrêtent pas le processus de dégénérescence neuronale à l'origine de la maladie.



I.2. Aspects cliniques

I.2.1. Symptomatologie motrice

La MP idiopathique se caractérise par une triade de symptômes moteurs invalidants, la rigidité, l'akinésie et le tremblement de repos (d'où le nom de « shaking palsy », la paralysie agitante donnée par James Parkinson, Fig 1), qui apparaissent lorsque plus de 60-70 % des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) ont dégénéré. Le développement asymétrique de ces symptômes moteurs, notamment au début de la maladie, reflète la dégénération asymétrique des neurones dopaminergiques de la SNc (Kempster et al.,

1989). La rigidité, qui représente parfois la première manifestation clinique de la maladie, est définie comme une résistance aux mouvements passifs. Celle-ci peut varier par à coups, c'est le phénomène de « roue dentée ». L'akinésie se traduit par une difficulté à initier le mouvement et une perte des mouvements automatiques (balancement des bras à la marche par exemple). Le tremblement, qui touche surtout la partie distale des membres supérieurs, se manifeste essentiellement au repos et diminue au cours des mouvements volontaires. En plus de cette triade caractéristique, les malades parkinsoniens peuvent présenter d'autres symptômes moteurs qui altèrent fortement leur qualité de vie (voir tableau 1 ci-dessous).

Modifications posturales	Attitude générale en flexion, rétropulsion
Troubles de la marche	Lenteur au démarrage, petits pas, blocage, instabilité
Troubles des mouvements automatiques	Absence de balancement des bras à la marche Aspect figé du visage, troubles de la déglutition
Troubles de la parole	Lenteur, monotonie, hypophonie
Troubles de l'écriture	Micrographie
Troubles respiratoires	Rigidité et akinésie des muscles respiratoires

Tableau 1: Principaux symptômes moteurs de la MP (état symptomatique)

Parmi ceux-ci, la modification posturale, assez typique, se caractérise par une position de la tête et du tronc penchés en avant, les épaules en antéposition et les bras collés au corps.

Enfin, il faut savoir que les symptômes de la MP ne se limitent pas à des troubles d'ordre moteur. En effet, la dégénérescence des systèmes noradrénergique, sérotoninergique et cholinergique observées dans les stades avancés de la maladie, donne naissance à des atteintes 'non-motrices' dont les principales sont résumées dans le tableau 2.

Troubles neuropsychiatriques	Troubles cognitifs, confusion mentale, psychose, troubles du comportement, du sommeil, dépression
Troubles digestifs	Dysphagie, constipation
Troubles urinaires	Urgences mictionnelles, pollakiurie nocturne
Troubles sexuels	Modification de la libido
Troubles sécrétoires	Séborrhée, sudations exagérées
Troubles respiratoires	Rigidité et akinésie des muscles respiratoires

Tableau 2: Principaux symptômes 'non-moteurs' de la MP (état symptomatique).

I.2.2. Symptomatologie cognitive

Les troubles cognitifs observés chez les patients parkinsoniens touchent essentiellement les fonctions visuo-spatiale, exécutive et mnésique (Wolters et Francot, 1998; Bodis-Wollner, 2003). Ces troubles sont dus au dysfonctionnement des ganglions de la base qui ne sont pas uniquement impliqués dans des circuits moteurs, mais également associatifs et limbiques. Ces désordres cognitifs peuvent rester discrets ou évoluer vers la démence qui tend à augmenter avec l'âge (65 % des patients de plus de 85 ans en seraient atteints).

La moitié des patients parkinsoniens est aussi atteinte de dépression (Cummings, 1992). Cependant, le diagnostic de cet état est délicat car il peut être camouflé par d'autres manifestations telles que le ralentissement psychomoteur, l'insomnie ou les troubles du sommeil qui sont également des symptômes de la MP.

I.3. Anatomicopathologie

La MP est diagnostiquée chez les patients, de leur vivant, sur des critères cliniques. Cependant, le diagnostic définitif, post-mortem, est attesté par l'observation d'une perte des neurones dopaminergiques du système nigro-strié et la présence d'inclusions protéinaires cytoplasmiques appelées corps de Lewy. Les corps cellulaires des neurones dopaminergiques du système nigro-strié sont riches en mélanine (un pigment brun foncé/noir). Leur dégénérescence conduit donc à la dépigmentation de la substance noire compacte (SNc).

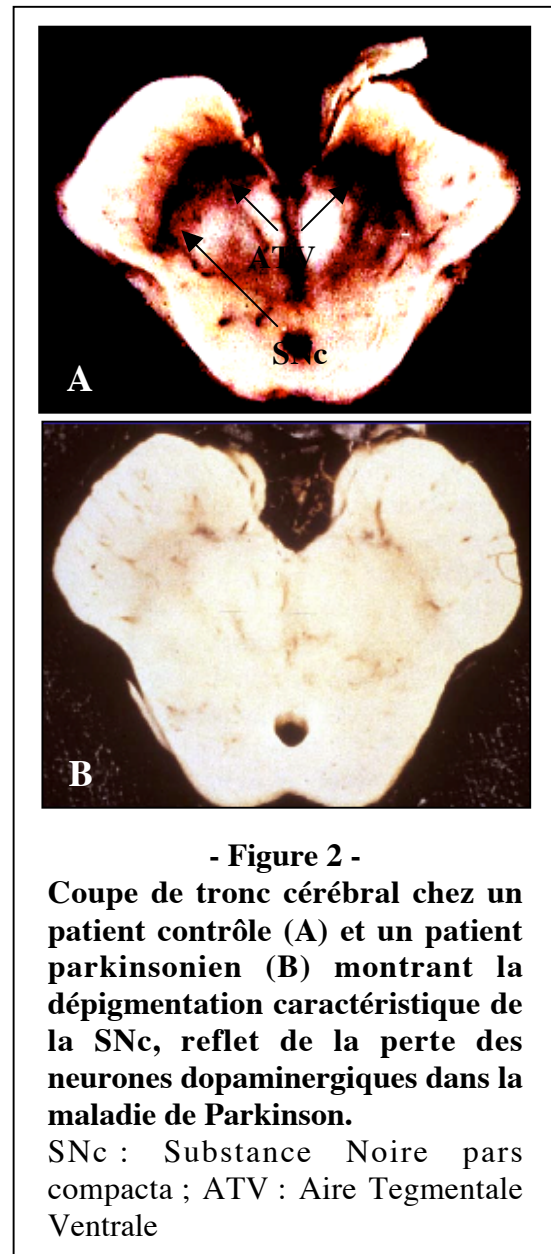
I.3.1. Perte neuronale

La dégénérescence des neurones dopaminergiques du mésencéphale est la caractéristique majeure de la MP. Les neurones du mésencéphale représentent une population hétérogène, ce qui peut expliquer une variation de sensibilité de ces différentes cellules aux phénomènes dégénératifs. La perte des neurones dopaminergiques prédomine dans la SNc où elle atteint jusqu'à 80% et touche plus spécifiquement les parties caudale et ventro-latérale de cette structure (Fearnley et Lees, 1991). Au niveau de l'aire tegmentale ventrale (ATV) partie adjacente à la SNc, la perte en dopamine est plus modérée (40 à 50 %) (Fig 2). Enfin, les neurones dopaminergiques de la région périaqueducule (Hirsch et al., 1988), de l'hypothalamus (Matzuk et Saper, 1985) et ceux se projetant vers la moelle (Scatton et al., 1986) ne semblent pas affectés.

La perte des neurones dopaminergiques de la SNc est également observée au cours du vieillissement normal où le taux de perte peut globalement être évalué à 5 % par décennie. Cependant, dans ce cas, c'est la partie dorso-médiane de la SNc qui est affectée (Fearnley and Lees, 1991).

Les neurones dopaminergiques du mésencéphale innervent, à l'état normal, de nombreuses structures cérébrales dont les ganglions de la base et le cortex cérébral. Le striatum est la structure cérébrale possédant l'innervation dopaminergique la plus dense et où la perte en dopamine est de ce fait la plus marquée dans la MP. Toutefois, la dénervation dopaminergique y est hétérogène. En effet, la perte en dopamine est plus massive dans le putamen (jusqu'à 95%), avec une atteinte privilégiée des parties postérieure et dorsale (Kish et al., 1988), que dans le noyau caudé (80% de perte) où c'est essentiellement la partie antéro-dorsale qui est touchée (Kish et al., 1988). Enfin, le 'striatum ventral', qui comprend le noyau accumbens et les parties ventrales du putamen et du noyau caudé antérieur, est relativement préservé (Kish et al., 1988).

Il existe également d'autres régions cérébrales affectées par cette dénervation dopaminergique, mais de façon moindre. Des mesures de concentration en dopamine ou de marquage des fibres dopaminergiques ont effectivement montré une atteinte des segments pallidaux, du noyau subthalamique (Hornykiewicz, 1998) et du cortex cérébral (Febvret et al., 1991) avec une atteinte préférentielle des cortex moteur, cingulaire et orbitofrontal (Scatton et al., 1983 ; Gaspar et al., 1991).



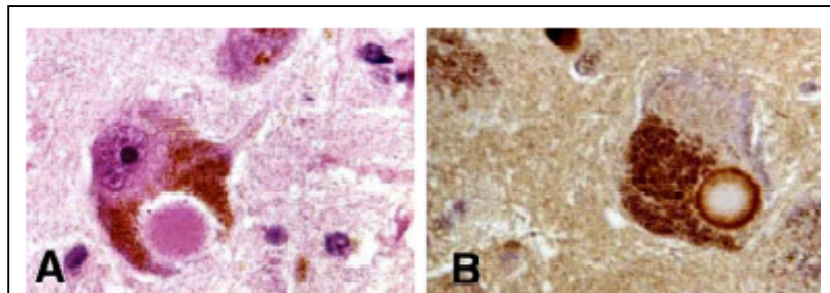
- Figure 2 -
Coupe de tronc cérébral chez un patient contrôle (A) et un patient parkinsonien (B) montrant la dépigmentation caractéristique de la SNc, reflet de la perte des neurones dopaminergiques dans la maladie de Parkinson.

SNc : Substance Noire pars compacta ; ATV : Aire Tegmentale Ventrale

Enfin, il faut noter que dans la MP, la dégénérescence neuronale n'est pas limitée aux neurones dopaminergiques (voir pour revue Hornykiewicz et Kish, 1987). En effet, il a également été observé une perte neuronale, associée à l'apparition de corps de Lewy, dans les systèmes noradrénergique, sérotoninergique et cholinergique respectivement situés dans le locus coeruleus, les noyaux du raphé et le noyau basal de Meynert.

I.3.2. Les corps de Lewy

Les corps de Lewy sont des agrégats neuronaux de protéines cytoplasmiques composés majoritairement d'alpha-synucléine, de parkine, d'ubiquitine, de protéines chaperones et de neurofilaments (Fig 3). Bien qu'ils ne soient pas



- **Figure 3 -**
Photographies de corps de Lewy (x60) dans un neurone de la SNc. A: Marquage hematoxyline/éosine. B: marquage avec des anticorps anti-alpha-synucléine.

spécifiques de la MP et qu'ils soient aussi observés dans des cas de démences liés à l'âge et dans le cerveau de sujets âgés (Forno, 1969), leur présence atteste du diagnostic. On ne connaît pas précisément les mécanismes *in fine* de la formation des corps de Lewy dans la MP. Cependant, l'accumulation dans ces agrégats de formes mutées non fonctionnelles ou de grandes quantités de formes non mutées (alpha-synucléine uniquement) de protéines impliquées dans la machinerie cellulaire laisse penser que la formation des corps de Lewy serait liée à un dérèglement du mécanisme de contrôle de la qualité des protéines dans la cellule (Tanaka et al., 2004). En effet, l'ubiquitine est un marqueur de dégradation de protéines non fonctionnelles qui se lie de façon covalente aux protéines à éliminer grâce à une ubiquitine ligase, la parkine. La production de formes non fonctionnelles de ces deux protéines conduit donc à une défaillance du système de contrôle de la qualité des protéines. Cette défaillance pourrait notamment être à l'origine de l'accumulation au sein des corps de Lewy de l'alpha-synucléine qui exerce un contrôle négatif sur l'activité de la tyrosine hydroxylase (en maintenant cette enzyme dans sa forme déphosphorylée) et des transporteurs à la dopamine (en contrôlant la quantité de transporteurs à la surface des membranes) (voir pour revue Corti et al., 2005). Finalement, le rôle fonctionnel des corps de Lewy dans la MP reste également très discuté. Ils pourraient correspondre à une agrégation de protéines

toxiques qui contribueraient directement à la mort neuronale, ou ils posséderaient au contraire un rôle protecteur en séquestrant l'excès d'alpha-synucléine mutée et non dégradée.

I.4. Etiologie de la maladie

Les causes de la dégénérescence des neurones dopaminergiques du mésencéphale observée dans la MP ne sont pas précisément connues. Une dégénérescence par apoptose a été proposée sur la base d'observations anatomopathologiques (Anglade et al., 1997). Cette apoptose des neurones dopaminergiques surviendrait à la suite d'une cascade d'événements dont le stress oxydatif constitue l'élément majeur (voir pour revue Jenner et al., 1992 ; Schapira, 1994). Le stress oxydatif résulte d'une augmentation de la production de radicaux libres oxygénés. Le déficit du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale mis en évidence dans la SN de patients décédés de la MP, représente un facteur potentiellement générateur de radicaux libres. L'interaction entre les radicaux libres et les lipides poly-insaturés entraîne une peroxydation lipidique excessive qui conduit, à terme à la mort neuronale.

Aujourd'hui, de nombreuses études semblent montrer que des facteurs environnementaux et de prédispositions génétiques pourraient être impliqués dans la cause de la MP.

1.4.1. Facteurs de risque

Il existe plusieurs facteurs de risque associés à la MP. Le plus important est l'âge. En effet, bien qu'il existe des cas de 'Parkinson juvénile' débutant avant 20 ans, les symptômes de la maladie n'apparaissent généralement pas avant 55 ou 60 ans et à partir de cet âge la prévalence de la maladie est exponentielle. En outre, les symptômes moteurs observés au cours du vieillissement normal se rapprochent de ceux existants chez les sujets atteints de la MP. Cependant, ces observations sont à nuancer car la symptomatologie extra-pyramidale des personnes âgées n'est pas améliorée par le traitement L-Dopa, ce qui suggère que les lésions ne sont pas identiques à celles de la MP. De plus, comme dit précédemment, les topographies de la perte neuronale et en particulier celles qui concernent le système dopaminergique du striatum sont différentes de celles observées dans la MP. Ainsi, la MP ne serait pas uniquement une accélération du vieillissement normal.

Le sexe des individus est aussi un facteur de risque important. En effet, bien que l'espérance de vie des femmes soit supérieure à celle des hommes, des études montrent que le taux d'incidence de la maladie est plus élevé chez les hommes que chez les femmes, quelle que

soit la tranche d'âge considérée. Cette différence tend à diminuer avec l'âge (Elbaz et al., 2002).

I.4.2. Facteurs génétiques

Ces dix dernières années, les études menées sur des jumeaux ont conduit à la découverte de formes familiales de MP (Golbe et al., 1990 ; Golbe et al., 1996) et à la mise à jour de mutations sur des gènes codant pour des protéines retrouvées au sein des corps de Lewy (alpha-synucléine, UCH-L1 et parkine). Ces observations ont été autant d'arguments en faveur de l'intervention de facteurs génétiques dans l'origine de la MP. Aujourd'hui, on sait que 10 à 15 % des cas de Parkinson sont des formes familiales qui impliquent un facteur génétique unique (De Silva et al., 2000 ; Mouradian, 2002).

L'étude génétique d'une famille italo-américaine ayant présenté 44 cas de parkinson sur 4 générations a permis de mettre en évidence l'existence d'une mutation ponctuelle sur le gène PARK 1, codant pour l'alpha-synucléine (Polymeropoulos et al., 1997). D'autres mutations observées sur le même gène dans des familles grecques (Papadimitriou et al., 1999) et allemandes (Krüger et al., 1998), ainsi que l'existence de duplications et de triplications de la région génomique codant pour l'alpha-synucléine (Ibanez et al., 2004), ont permis de confirmer l'implication de PARK 1 dans les formes autosomiques dominantes de la MP. Toutefois, plusieurs études ont montré que ce gène ne représentait qu'un locus mineur en termes de fréquence d'apparition de la MP et que les mutations de l'alpha-synucléine étaient une cause très rare de MP.

Cette découverte a orienté les recherches sur d'autres gènes susceptibles d'être impliqués dans les formes autosomiques dominantes de la maladie. C'est ainsi qu'une mutation sur le gène PARK 5 codant pour une protéine appelée UCH-L1, l'ubiquitine carboxy-terminal hydrolase-L1, a été mise en évidence (Leroy et al., 1998). UCH-L1 est une enzyme qui dégrade les polymères d'ubiquitine en monomères afin que ces derniers puissent être recyclés. La mutation sur le gène PARK 5 entraîne une diminution d'activité de l'enzyme UCH-L1 conduisant à une altération de l'activité de dégradation des protéines par le complexe ubiquitine-protéasome (Mouradian, 2002). UCH-L1 constitue également un des composants des corps de Lewy (Leroy et al., 1998 ; Mouradian, 2002).

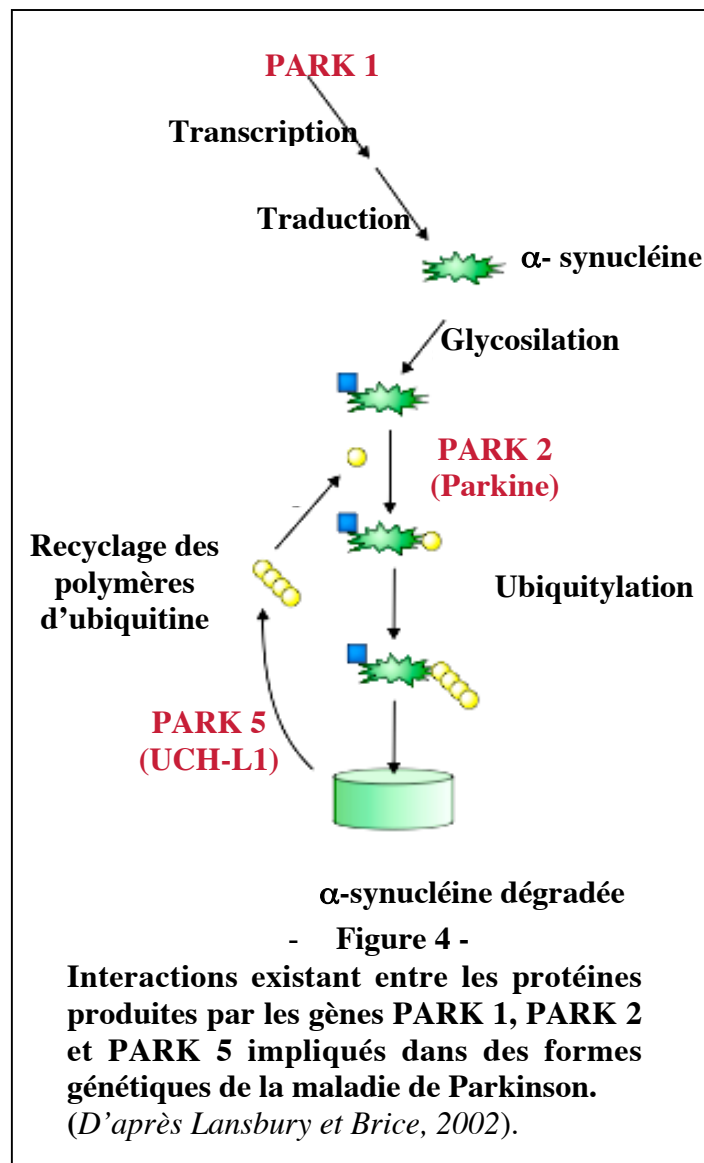
Des études ayant porté sur les formes précoces (début avant 40 ans) et juvéniles (début avant 20 ans) de la MP signalent l'existence de forme familiale à transmission autosomique

récessive (Ota et al., 1958). Des mutations sur le gène PARK 2, codant pour la parkine, seraient impliquées dans ces formes précoces (Matsumine et al., 1998).

De façon intéressante, il faut noter que ces trois gènes identifiés sont en relation avec le système ubiquitine-protéasome et que les protéines correspondantes sont présentes dans les corps de Lewy. Ceci suggère qu'une altération des mécanismes de dégradation, d'élimination et de recyclage des protéines pourrait être impliquée dans la physiopathologie de la MP (Fig 4).

Enfin, dernièrement, quatre gènes NR4A2, DJ-1, PINK1 et LRRK2 impliqués dans des formes familiales de la MP, ont été découverts. Les mutations du gène NR4A2 (codant pour un facteur nucléaire) jouent un rôle mineur dans cette pathologie. Par contre, plusieurs mutations de DJ-1 et deux de PINK1 ont été identifiées dans des cas de MP à transmission autosomique récessive (Bonifati et al., 2003 ; Valente et al., 2004). Les rôles exacts de DJ-1 et PINK1 ne sont pas complètement connus: DJ-1 semble impliquer dans de nombreuses fonctions, dont la protection des mitochondries contre le stress oxydatif (Bonifati et al., 2003) et la fonctionnalité des récepteurs dopaminergiques D2 (Borrelli, 2005). PINK1 permettrait

le maintien du potentiel membranaire des mitochondries dans des conditions pouvant endommager l'intégrité de la cellule (Shapira, 2006). Enfin, plusieurs mutations ont été mises en évidence au niveau du gène LRRK2 (Berg et al., 2005). La protéine LRRK2 possède une double fonction de GTPase et de kinase et serait impliquée dans certaines voies de signalisation intracellulaire. Les mutations du gène LRRK2, qui possèdent un mode de



transmission autosomique dominant (Lesage et al., 2006), conduisent à un phénotype parkinsonien très proche de celui observé dans les cas idiopathiques de la maladie avec une apparition tardive et asymétrique des symptômes moteurs et une réponse à la L-DOPA (Khan et al., 2005).

	Locus	Gène	Transmission	Age moyen de début (ans)	Présence de corps de Lewy
Park 1	4q21-22	α -synucléine	AD	45 (20-85)	+
Park 2	6q25-27	parkine	AR	précoce (3-64)	-
Park 3	2p13	?	AD	59 (37-89)	+
Park 4	4p15	?	AD	33	+
Park 5	4p14	UCH-L1	AD (?)	50	?
Park 6	1p35-36	PINK 1	AR	40 (30-68)	?
Park 7	1p36	DJ-1	AR	33 (27-40)	?
Park 8	12p11.2-q13.1	LRRK2	AD	51	+

Tableau 3: Caractéristiques principales des formes monogéniques de la MP

AD: autosomique dominant, AR: autosomique récessif. (D'après Lau et Breteler, 2006).

I.4.3. Facteurs environnementaux

Dans les années 60, après avoir observé l'apparition de nombreux cas de syndromes parkinsoniens chez des individus ayant développé une encéphalite léthargique, il a été proposé que la MP posséderait une origine post-infectieuse. En fait, des études anatomo-pathologiques ont montré que les patients atteints de syndromes parkinsoniens post-encéphaliques ne présentaient pas les mêmes caractéristiques que ceux atteints de MP idiopathique. Aujourd'hui, ces types de syndromes parkinsoniens sont rares.

L'hypothèse d'une cause environnementale de la MP a pris son essor en 1983, lorsque de jeunes drogués involontairement intoxiqués au 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) développèrent un syndrome parkinsonien sévère et irréversible. Cette découverte fut la première à suggérer que l'exposition à une toxine environnementale pouvait entraîner le développement d'une MP (Langston et al., 1983). Par la suite, de nombreuses études

épidémiologiques ont été réalisées, notamment sur des populations ayant eu un contact favorisé avec certains herbicides ou pesticides dont la structure chimique est proche de celle du MPTP (paraquat ou diquat). Les résultats ont montré que la prévalence de la MP était plus élevée dans les régions hautement industrialisées, présentant de fortes concentrations de produits chimiques et de pesticides, et dans certaines zones rurales (Tanner, 1989 ; Le Couteur et al., 1999).

Ces conclusions ont été confortées par les travaux des équipes de McCormack et de Betardet qui ont respectivement montré que l'injection de paraquat chez la souris ou l'exposition chronique du rat à la roténone (qui rentre dans la composition de nombreux pesticides et qui possède des effets similaires à ceux du MPTP) entraînait une dégénération sélective des neurones dopaminergiques nigro-striés (Betardet et al., 2000 ; McCormack et al., 2002 ; Greenamyre et al., 2003). Enfin, d'autres études ont montré que le MPTP, la roténone et le paraquat pouvaient induire la formation d'inclusions de protéines fibrillaires intracellulaires immuno-réactives à l'alpha-synucléine qui ne sont pas sans rappeler celles présentes dans les corps de Lewy observés chez les malades parkinsoniens en post-mortem (Betardet et al., 2000 ; Forno et al., 1986 ; Manning-Bog et al., 2002).

Aujourd'hui, seule l'exposition prolongée à certains pesticides ou herbicides apparaît comme un facteur environnemental réellement associé à l'apparition de la MP. De nombreux autres agents tels que l'exposition à divers métaux (mercure, cuivre, zinc, aluminium, manganèse), le régime alimentaire, les traumatismes crâniens, le stress ou les maladies infectieuses contractées durant l'enfance pourraient favoriser l'apparition de la MP, mais aucun lien clair n'a pu être établi (voir pour revue Broussolle et Thobois, 2002 ; Lai et al., 2002).

Enfin, toutes les études menées sur l'influence du tabac rapportent une diminution de la fréquence de la MP chez les fumeurs. Ce bénéfice pourrait provenir de l'action de la nicotine qui favorise la libération de DA (voir pour revue Lai et al., 2002).

Toutes ces données ne doivent pas nous faire oublier que les formes génétiques de la MP restent minoritaires, tout comme les syndromes parkinsoniens qui se sont déclarés après l'exposition à un seul facteur toxique. Ainsi, dans la plupart des cas, la MP apparaît comme une maladie d'origine plurifactorielle et quels que soient les facteurs réellement impliqués, nombreux sont ceux qui aboutissent à une action délétère sur les mitochondries et leur métabolisme.

I.5. Mécanismes de compensation dans la maladie de Parkinson

Les symptômes moteurs de la MP n'apparaissent que lorsque 60-70% des neurones dopaminergiques de la SNc ont dégénéré (Zigmond et Stricker, 1973 ; Agid et al. 1973, Agid, 1991 ; Bezard et al., 1997). Ceci implique que l'apparition des symptômes cliniques est retardée par la mise en place de processus capables de compenser, sur le plan fonctionnel, la perte progressive des neurones dopaminergiques. Les nombreuses études réalisées jusqu'à ce jour montrent que ces mécanismes de compensation sont variés et résident au sein du système nigro-strié lui-même, mais aussi dans des systèmes externes à celui-ci.

I.5.1. Mécanismes de compensation rapide au niveau du système dopaminergique nigro-strié :

Les premiers mécanismes de compensation à être mis en place sont appelés « phénomènes de compensation rapide ». Ils sont assurés par le système dopaminergique lui-même. En effet, les propriétés intrinsèques des neurones dopaminergiques et plus globalement du système nigro-strié leur permettent de s'adapter rapidement à la situation créée par la perte progressive des neurones de la SNc. Ces mécanismes de compensation rapide correspondent essentiellement au maintien d'une concentration suffisante en DA dans le striatum (1) et à une utilisation optimale de la DA produite par les neurones restants (2).

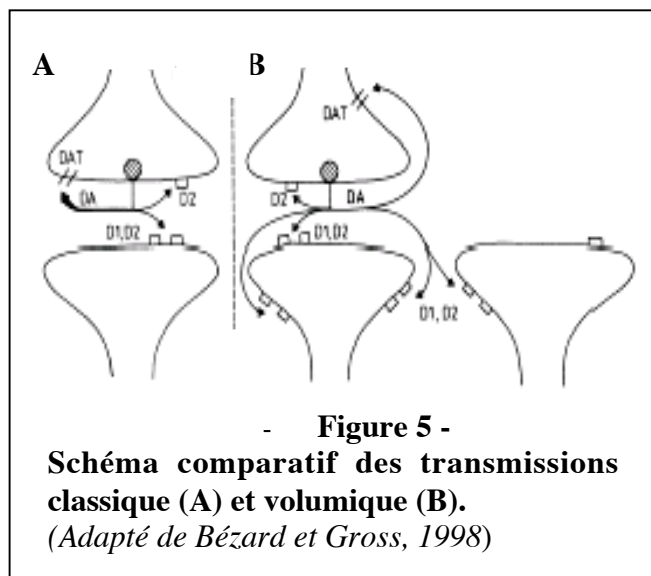
(1) Au cours de la phase asymptomatique de la MP, les concentrations striatales de DA sont maintenues à un niveau satisfaisant grâce à différents processus :

- De nombreuses études ont rapporté une augmentation du turn-over dopaminergique dans les terminaisons nerveuses restantes. Ce phénomène a été mis en évidence au niveau du striatum de modèles animaux de la MP par observation du métabolisme de la DA radio-marquée (Agid et al., 1973) et par l'étude des rapports des concentrations d'acide 3,4 dihydroxyphénylacétique (DOPAC) et d'acide 4-hydroxy-3-méthoxyphénylacétique (HVA) sur celles de DA, le DOPAC et l'HVA étant les deux métabolites produits après dégradation de la DA (Zigmond et al., 1984 ; Altar et al., 1987). Cette augmentation a également été observée chez l'homme après analyse post-mortem des concentrations cérébrales en DA (Berheimer et al., 1973 ; Hornykiewicz, 1979) et calcul du rapport de concentration de la DA et de ses métabolites (Bokobza et al., 1984). De façon concomitante à l'augmentation du turn-over de la DA, on observe une hausse de sa synthèse et de l'activité de la tyrosine

hydroxylase (TH) due à une augmentation rapide de l'affinité de l'enzyme pour son co-facteur (Zigmond et al., 1984 ; Onn et al., 1986).

- L'augmentation rapide du turn-over et de la synthèse de la DA n'implique pas forcément qu'une quantité plus importante de celle-ci soit libérée au niveau de l'espace extracellulaire. En utilisant la technique de microdialyse intracérébrale, Zhang a montré chez des rats traités à la 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA), une neurotoxine des neurones dopaminergiques, que 3 semaines après la lésion, les taux striataux de DA extracellulaire n'étaient pas modifiés alors que le contenu tissulaire était diminué de 90%. Ce maintien des taux extracellulaires de DA n'était plus observé pour des lésions plus étendues (96% de perte dopaminergique) (Zhang et al., 1988). Le maintien des taux extracellulaires de DA serait rendu possible par une augmentation de sa libération conjointe à une baisse de sa recapture, phénomène qui jouerait ici un rôle majeur (Stachowiak et al., 1987 ; Snyder et al., 1990). L'augmentation de libération de DA est suggérée par des études menées sur des tranches de cerveaux de rats lésés à la 6-OHDA, qui montrent une augmentation considérable du flux fractionné de DA (correspondant à l'efflux) au niveau des terminaisons restantes (Zigmond et al., 1984 ; Stachowiak et al., 1987 ; Snyder et al., 1990).

(2) Le mode de neurotransmission le plus fréquemment utilisé dans le cerveau correspond à une neurotransmission classique où le messager chimique libéré reste dans la fente synaptique (Fig 5A). Cependant, le neurotransmetteur peut aussi diffuser en dehors de l'espace synaptique pour aller activer des sites extra-synaptiques. C'est ce qu'on appelle la transmission volumique (Fuxe et Agnati, 1991 ; Herkenham, 1991) (Fig



5B). Son existence a récemment été démontrée au niveau du striatum (Garris et al., 1994 ; Gonon, 1997) où l'efflux de DA est plus important que dans les autres structures sous influence dopaminergique (5 à 50 nM dans un cerveau de rat ; Zetterstrom et al., 1983 ; Garris et Wightman, 1994). La transmission volumique reste un mode de transmission atypique dans des conditions normales, néanmoins elle peut jouer un rôle très important dans des conditions pathologiques. Ainsi, une étude physiologique récente menée sur un modèle animal de la MP chez le rongeur semble indiquer que la transmission volumique serait activée par la

dégénération nigrale (Bjelke et al., 1994). En effet, cette étude réalisée chez le rat hémiparkinsonien montre que la transmission dopaminergique est partiellement restaurée par la transmission volumique qui permet à la DA du striatum intact d'atteindre le côté lésé par diffusion via le liquide céphalo-rachidien. Une autre étude de microdialyse intracérébrale réalisée chez le chat traité au MPTP confirme l'existence de cette transmission volumique et montre que la DA peut diffuser sur une longue distance (plusieurs mm) à partir du striatum ventral, moins atteint par la dénervation dopaminergique, jusqu'au striatum dorsal sans qu'il y ait de transport par le liquide céphalo-rachidien (Schneider et al., 1994).

Le passage d'une transmission classique à courte distance dans des conditions physiologiques, à une transmission volumique à longue distance dans des conditions de dénervation dopaminergique, pourrait représenter un mécanisme de compensation crucial expliquant le maintien d'un comportement moteur normal pendant la phase pré-clinique ou pré-symptomatique de la MP.

I.5.2. Mécanismes de compensation lents

Ces processus de compensation rapides sont complétés par des mécanismes qui se mettent en place plus lentement et qui pourraient notamment être responsables des phénomènes de récupération motrice observés dans certains modèles animaux de la MP. Ils sont regroupés sous le terme de « mécanismes de compensation lents ». Leur existence a été suggérée par le travail de Zigmond et de ses collaborateurs (Zigmond et Stricker, 1989 ; Zigmond et al., 1990, 1993) et ils se manifestent par une augmentation de la synthèse de la tyrosine hydroxylase (TH) (1) et de la réponse des neurones striataux à la DA (2).

(1) La rapide augmentation de l'activité TH mise en place suite à la dénervation dopaminergique (Zigmond et al., 1984 ; Onn et al., 1986) est suivie d'une augmentation plus tardive de l'expression des ARNm. En effet, de telles augmentations ont été observées dans la SNc, chez des rats, 6 mois après la lésion à la 6-OHDA (Blanchard et al., 1995). Cette augmentation d'expression des ARNm s'accompagnait d'une augmentation de la quantité de protéine au niveau du striatum, suggérant que la protéine nouvellement synthétisée était rapidement transportée vers les terminaisons. Une augmentation d'expression de la TH dans les neurones situés dans les régions mésencéphaliques ventrales et de la quantité de protéine dans le striatum ventral a également été observée chez des chats ayant récupérés par rapport à des chats symptomatiques (Rothblat et al., 2001). Toutefois, de telles augmentations n'ont pas été retrouvées chez les patients parkinsoniens (Javoy-Agid et al., 1990 ; Kastner et al., 1993).

Les divergences observées entre les résultats cliniques et expérimentaux pourraient être liées aux effets des traitements L-Dopa administrés durant de longues années aux malades parkinsoniens. En effet, il a été proposé que ces traitements pourraient induire une diminution de l'expression de la TH (Rinne et al., 1979).

(2) L'augmentation de la réponse des neurones striataux à la DA se fait par un accroissement de la sensibilité des récepteurs post-synaptiques à la DA et/ou par une augmentation du nombre de ces récepteurs. L'expression des récepteurs dopaminergiques de type D1 et D2 n'est pas affectée de la même manière par la dénervation dopaminergique.

Concernant les récepteurs dopaminergiques de type D1, les données sont contradictoires. En effet, les différentes études réalisées chez le rat lésé à la 6-OHDA rapportent une augmentation (Buonamici et al., 1986 ; Graham et al., 1990 ; Narang et Wamsley, 1995), une diminution (Ariano, 1988 ; Hervé et al., 1992 ; Blunt et al., 1992), voire aucune variation (Filloux et al., 1988 ; Savasta et al., 1987 ; Gnanalingham et Robertson, 1994) de la densité des sites de liaison striataux des récepteurs dopaminergiques de type D1. Ces modifications ne semblent pas associées à une variation de l'affinité des récepteurs pour la DA (Buonamici et al., 1986 ; Marshall et al., 1989). Enfin, le taux d'expression des ARNm des récepteurs D1 apparaît quant à lui diminué dans ce même modèle (Gerfen et al., 1990 ; Jongen-Rêlo et al., 1994). Au final, chez l'homme, aucune modification de la densité des sites de liaison de ces récepteurs n'a été rapportée (Lee et al., 1978 ; Rinne et al., 1985 ; Pierot et al., 1988 ; Shinotoh et al., 1993). Des résultats similaires ont été obtenus chez le singe MPTP (Graham et al., 1990, Alexander et al., 1991). Ainsi, l'existence et la participation d'une « sur-sensibilité » des récepteurs dopaminergiques de type D1 à la compensation de la perte en DA dans les phases précoces de la MP ne semble pas être un fait établi.

Le rôle des récepteurs de type D2 est plus clair. En effet, il est bien établi, autant chez le patient parkinsonien (Lee et al., 1978 ; Rinne et al., 1985, 1993 ; Piggott et al., 1999) que dans des modèles animaux de la MP (Creese et al. 1977 ; Corini et al., 1990 ; Gerfen et al., 1990 ; Savasta et al., 1992 ; Jongen-Rêlo et al., 1994) que la perte des afférences dopaminergiques striatales entraîne une augmentation de la densité striatale, du taux d'expression des ARNm et de l'affinité des récepteurs D2 pour la DA (Bezard et al., 2001 b).

I.5.3. Compensation par bourgeonnement

De nombreux travaux ont permis de mettre en évidence l'existence de phénomènes de compensation par croissance endogène du système nigro-strié. Ainsi, des études ultra-

structurales réalisées chez des rats traités unilatéralement à la 6-OHDA ont permis de mettre en évidence au niveau des terminaisons striatales dopaminergiques non affectées par le processus dégénératif, une augmentation de la taille des varicosités (Finkelstein et al., 2000) ainsi que l'existence de cônes de croissance (Blanchard et al., 1996). L'injection, dans la SNc de ces mêmes rats, d'un traceur antérograde, la Biotine-Dextran, a permis de confirmer l'existence de ce phénomène de croissance des fibres dopaminergiques (Finkelstein et al., 2000). Des résultats similaires ont été obtenus chez la souris ayant subi une dénervation dopaminergique striatale (Liberatore et al., 1999) ainsi que chez le singe traité au MPTP (Song et Haber, 2000). Dans tous les cas, une ré-innervation dopaminergique fonctionnelle des structures dénervées a été observée (Howells et al., 1996 ; Liberatore, 1999). Bien que l'ensemble des facteurs impliqués dans cette repousse neuronale ne soient pas encore connus, les expériences menées sur des modèles de rats 6-OHDA (Bowenkamp et al., 1997 ; Rosenblad et al., 1998), de singes (Gash et al., 1996) ou de souris (Schneider et Distefano, 1995) traités au MPTP montrent clairement que les facteurs neurotrophiques tels que le FGF (Fibrillary Growth Factor), le BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) et le GDNF (Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor), ou leur inducteur, tel que le GM1 ganglioside, participent à ce phénomène.

À la suite d'une dénervation dopaminergique, le système dopaminergique nigro-strié n'est pas le seul à être le siège de phénomènes de plasticité. Des processus de repousse des fibres sérotoninergiques ont également pu être observés par marquages immunohistochimiques de la sérotonine au niveau de la SN et du striatum de rats et de souris traités à la 6-OHDA (Luthman et al., 1987 ; Zhou et al., 1991 ; Yamazoe et al., 2001), ainsi que chez le singe et la souris traité au MPTP (Gaspar et al., 1993 ; Rozas et al., 1998). Ceci est d'autant plus intéressant qu'il a été montré que la sérotonine pouvait stimuler la libération de DA dans le striatum (Lucas et al., 2001 ; De Deurwaerdere et Spampinato, 2001). De même une croissance de fibres enképhalinergiques et glutamatergiques a été observée par microscopie photonique et électronique, au niveau de la SNc et du striatum de rats hemiparkinsoniens (Ingham et al., 1991,1993). Cependant, il n'existe aucune évidence directe de phénomènes de repousse neuronale chez les patients parkinsoniens. Ainsi, bien qu'une augmentation de la taille et du nombre des afférences cholinergiques de la SN ait été observée chez des patients parkinsoniens (Anglade et al., 1995) et que des récepteurs au NGF (Nerve Growth Factor) aient été décrits au niveau du striatum de malades parkinsoniens lors d'analyses post-mortem (Strada et al., 1993), l'implication de phénomènes de repousse axonale dans les mécanismes de compensation existant durant la phase précoce de la MP est à considérer avec parcimonie.

I.5.4. Mécanismes de compensation non dopaminergiques

Dernièrement, plusieurs études ont suggéré l'existence de mécanismes de compensation intrinsèques et extrinsèques aux ganglions de la base qui ne reposent pas sur le contrôle direct des taux de DA (Bezard et al., 2001c, 2003).

La régulation des taux d'enképhaline, co-transmetteur du GABA dans la voie striato-pallidale, pourrait être impliquée dans ce type de mécanisme de compensation. Une augmentation de la quantité d'ARNm de la pré-proenképhaline A (PPE-A), précurseur de l'enképhaline, a d'ailleurs été observée dans le striatum de souris (Meissner et al., 2003) et de singes traités au MPTP (Bezard et al., 2001b), avant même que l'activité métabolique du globus pallidus (GP) et de la substance noire réticulée (SNr) ne soit modifiée et que les symptômes moteurs n'apparaissent. Bien que les interactions fonctionnelles existant entre le GABA et l'enképhaline ne soient pas totalement claires, cette augmentation d'expression de l'enképhaline pourrait permettre de réduire la suractivité de la voie inhibitrice striato-pallidale, en limitant la libération pallidale de GABA par activation des récepteurs opioïdes.

Des études électrophysiologiques d'enregistrements multi-unitaires menées sur le singe intoxiqué progressivement au MPTP ont montré que l'hyperactivité du NST et du globus pallidus interne (GPi) était déjà présente au cours de la phase asymptomatique de la MP. L'activité de l'aire motrice supplémentaire, recevant des afférences des ganglions de la base via le thalamus, restait quant à elle normale au cours de la phase asymptomatique et diminuait chez les singes présentant des symptômes moteurs (Bezard et al., 2000). Ces résultats montrent que l'hyperactivité des ganglions de la base ne conduit pas forcément à la genèse de symptômes moteurs alors que c'est le cas lorsque l'activité de l'aire motrice supplémentaire est perturbée. Ceci suggère que les mécanismes régulant le transfert des informations des structures de sortie des ganglions de la base à l'aire motrice supplémentaire via le thalamus, participeraient à la compensation de l'activité anormale des ganglions de la base et préviendraient donc l'apparition des symptômes moteurs à l'état pré-symptomatique. Ces mécanismes de compensation extrinsèques aux ganglions de la base pourraient être dus 1) à des propriétés intrinsèques aux neurones thalamiques ; 2) à des structures extérieures aux ganglions de la base, projetant sur l'aire motrice supplémentaire, et dont l'activité contrebalancerait celle pathologique des ganglions de la base. Le cervelet pourrait être un bon candidat pour jouer ce rôle puisque l'aire motrice supplémentaire reçoit des projections du noyau denté du cervelet (Bezard et al., 2003), mais cela reste à confirmer.

La substance noire compacte (SNc) reçoit des afférences glutamatergiques venant du cortex, du noyau subthalamique (NST) et du noyau pédonculo-pontin (NPP). Ces afférences glutamatergiques nigrales semblent impliquées dans les mécanismes de compensation existants durant la phase asymptomatique de la MP. En effet, une étude de Bezard et collaborateurs a montré que le blocage des afférences glutamatergiques de la SNc par injection d'acide kynurénique induit chez des singes traités au MPTP une aggravation des symptômes moteurs (Bezard et al., 1998). Il est peu probable que les afférences glutamatergiques qui sous-tendent les mécanismes compensatoires induits par la SNc proviennent du cortex car la voie cortico-nigrale est décrite comme hypoactive dans la MP (DeLong, 1990). Les voies subthalamo-nigrales et pédonculo-nigrales apparaissent comme de meilleures candidates. En effet, on sait que la première est hyperactive dans la MP, et que la dégénérescence de la seconde par lésion du NPP peut induire l'apparition de symptômes parkinsoniens (Kojima et al., 1997).

I.6. Aspects thérapeutiques

I.6.1. Traitements pharmacologiques

Le traitement pharmacologique de la MP a connu une avancée majeure dans les années 1960 grâce à l'introduction de la levo-dopa (L-DOPA) (Cotzias et al., 1969). La L-DOPA permet de compenser la déficience en DA et améliore grandement la qualité de vie des patients. Cependant, ce traitement n'arrête pas la progression de la maladie et donne lieu au long cours à l'apparition d'effets indésirables caractérisés par des fluctuations motrices et des mouvements anormaux involontaires (Ahlskog et Muenter, 1991). À partir de 1970, l'utilisation d'agonistes dopaminergiques en synergie avec la L-DOPA, a permis de moduler et de réduire les fluctuations motrices liées à ce traitement (Goetz et al., 1985). À ce jour, la L-DOPA reste le traitement pharmacologique le plus utilisé chez les patients parkinsoniens. Par ailleurs, d'autres traitements non dopaminergiques, visant à intervenir sur les systèmes de neurotransmission non dopaminergique touchés par la MP (cholinergique, adrénergique, sérotoninergique) se sont également développés.

I.6.1.1. Les agents dopaminergiques

La L-DOPA est le précurseur direct de la DA, et contrairement à cette dernière, elle est capable de passer la barrière hémato-encéphalique. Sa prise quotidienne permet de synthétiser de la DA par décarboxylation de la L-DOPA via la DOPA décarboxylase. Cette décarboxylation peut également se faire en périphérie. Dans ce cas, le passage encéphalique n'est plus possible et des effets indésirables apparaissent (hypotension artérielle, nausées et vomissements). C'est pourquoi le traitement L-DOPA est généralement associé à la prise d'inhibiteurs de dopa-décarboxylase périphérique, le bensérazide ou la carbidopa qui réduisent considérablement les effets secondaires liés à la formation périphérique de dopamine, mais permettent également d'amplifier sa biodisponibilité dans le cerveau et ainsi de réduire les doses prescrites.

Les complications motrices qui apparaissent suite à la prise au long cours de traitements L-DOPA seraient principalement dues à la stimulation non physiologique des récepteurs dopaminergiques induite par ce traitement ainsi qu'à l'évolution de la maladie. En effet, la perte croissante des neurones dopaminergiques ne permet plus d'assurer un stockage assez conséquent de la L-DOPA à l'intérieur des terminaisons nerveuses. Compte tenu de sa demi-vie assez courte (1,5-3H), sa concentration devient fluctuante et ne permet plus d'assurer une stimulation durable des récepteurs dopaminergiques. Le plus souvent, il devient nécessaire au bout de quelques années d'évolution de la maladie de recourir à un fractionnement des doses de L-DOPA. Malheureusement, ces mesures suffisent rarement, et toutes les classes de médicaments développés ces dernières années (agonistes dopaminergiques, inhibiteurs enzymatiques) visent à éviter ces effets indésirables de la dopathérapie, essentiellement par une augmentation de la durée d'action de la L-DOPA au niveau synaptique.

Ainsi, les années 70 ont vu apparaître la commercialisation de la sélégiline (Deprenyl®). Cette molécule empêche la recapture de la DA et inhibe sélectivement et irréversiblement les monoamines oxydase B (MAO-B) intra et extracellulaires, réduisant ou retardant ainsi la dégradation de la DA en DOPAC. Ce produit traverse bien la barrière hémato-encéphalique et possède une demi-vie plasmatique longue, de l'ordre de 40 heures (voir pour revue Münchau et Bhatia, 2000).

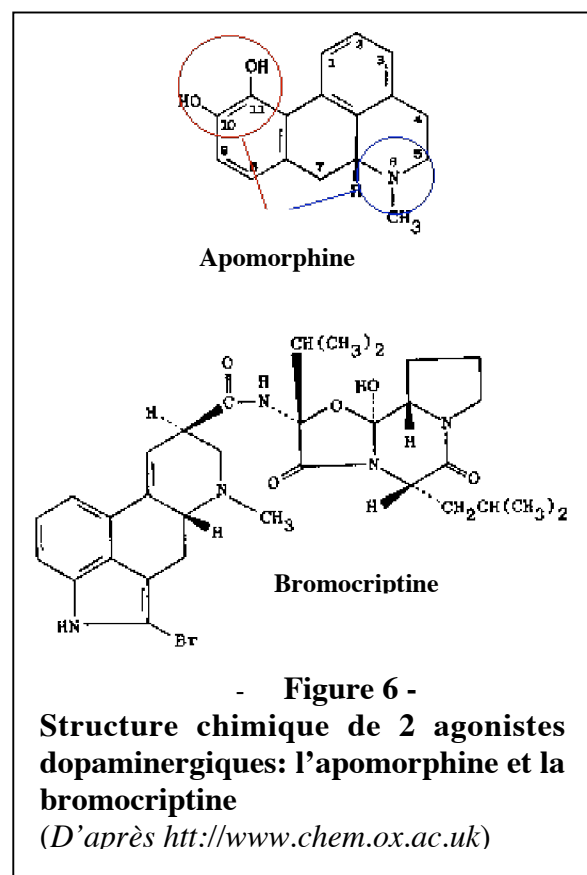
En dehors de sa décarboxylation par la DOPA-décarboxylase, la L-DOPA est également métabolisée en 3-o-methyldopa (3-OMD) par la catéchol-o-méthyltransferase (COMT). L'addition, dans le traitement de la MP, d'un inhibiteur de COMT permet d'inhiber cette voie métabolique et prolonge ainsi la demi-vie plasmatique de la L-DOPA en réduisant sa

métabolisation périphérique. De ce fait, la quantité de L-DOPA disponible dans le cerveau est augmentée (Kaakkola et al., 1994). En outre, deux inhibiteurs sélectifs de COMT ont été développés et mis sur le marché : le tolcapone (TasmarTM) et l'entacapone (ComtanTM). Ces deux molécules induisent une réduction d'environ 40 % des périodes 'OFF' et une augmentation de la proportion (+ 25 %) ou de la durée (de 30 à 60 minutes) des périodes 'ON' (Kurth et al., 1997 ; Larsen et al., 2003). Cependant, l'innocuité du tolcapone a dernièrement été remise en cause. En effet, son utilisation a été associée à l'apparition de dommages cellulaires au niveau du foie entraînant la mort de 3 patients (Olanow, 2000). Cette molécule a depuis été retirée du marché dans de nombreux pays, notamment en Europe.

Les agonistes dopaminergiques utilisés dans le traitement de la MP interagissent avec les récepteurs dopaminergiques ainsi qu'avec des récepteurs non-dopaminergiques (Milan et al., 2002). À l'inverse de la L-DOPA, leur activité pharmacologique est indépendante du stock de neurones dopaminergiques puisqu'ils agissent directement sur les récepteurs post-synaptiques qui restent, au moins en partie, préservés au cours de la maladie.

On distingue deux classes d'agonistes dopaminergiques :

- Les dérivés de l'ergot de seigle ou "ergopeptines" (bromocriptine, pergoline, lisuride et cabergoline, Fig 6) qui possèdent, outre des propriétés agonistes dopaminergiques, des propriétés sérotoninergiques ou adrénergiques, responsables d'effets indésirables (nausée, vomissement, hypotension, confusion, hallucination, insomnie).
- Les agonistes non dérivés de l'ergot de seigle, composés synthétiques plus récents et plus spécifiques des récepteurs D2, présentant moins d'effets indésirables (apomorphine, pramipexole et ropinirole, Fig 6).



Théoriquement, les agonistes dopaminergiques présentent l'avantage d'avoir une durée d'action plus longue que la L-DOPA. Toutefois, la durée de la demi-vie dépend beaucoup de

l'agoniste dopaminergique considéré (Mizuno et al., 1995). D'un point de vue clinique, les agonistes dopaminergiques sont classiquement utilisés en complément d'une DOPA-thérapie afin de réduire les complications motrices (Nohria et Partiot, 1997), mais ils peuvent également être utilisés en monothérapie, particulièrement au début de la maladie où leur bénéfice clinique est comparable à celui d'un traitement L-DOPA. Ainsi, 5 ans après le début du traitement de la maladie, 34 % des patients sont encore sous monothérapie aux agonistes dopaminergiques, ce qui indique une bonne efficacité de ces drogues (Rascol et al., 2000). Lorsque la maladie progresse, le traitement doit être complété avec l'administration de L-DOPA. Cependant, de nombreuses études ont montré que l'introduction tardive de la L-DOPA, grâce à l'utilisation d'agonistes dopaminergiques notamment dans les stades précoces de la MP, permet de différer l'apparition des dyskinésies (Rascol et al., 2000).

I.6.1.2. Les agents non dopaminergiques

Les antagonistes glutamatergiques ont été proposés dans le traitement de la MP sur la base de plusieurs observations. Le noyau subthalamique, structure glutamatergique, est hyperactif chez les patients parkinsoniens (Bergman et al., 1990). Cette hyperactivité pourrait être impliquée dans un processus dégénératif par excitotoxicité. Des études réalisées sur des modèles animaux de la MP ont montré que la sensibilisation des récepteurs glutamatergiques NMDA présents sur les neurones de projection striataux pourrait contribuer à la mise en place des symptômes parkinsoniens ainsi qu'aux modifications de réponses au traitement L-DOPA (Menegoz et al., 1995 ; Oh et al., 1998). L'ensemble de ces données a permis de suggérer que la réduction de la transmission glutamatergique, particulièrement celle médiée par les récepteurs NMDA, pourrait être bénéfique sur la symptomatologie de la MP et ralentir le processus dégénératif (Greenamyre et al., 1994). Les résultats récents fournis par des études réalisées chez des rats 6-OHDA (Papa et al., 1995) et des singes traités au MPTP (Greenamyre et O'Brien, 1991 ; Papa et Chase, 1996) montrent que des antagonistes spécifiques des récepteurs NMDA tel que le MK801 possèdent des effets antiparkinsoniens et diminuent les fluctuations motrices et les dyskinésies liées au traitement L-DOPA. Les études réalisées chez l'homme et utilisant des traitements aigus donnent des résultats similaires (Blanchet et al., 1996). Cependant, compte tenu des effets secondaires induits par la prise chronique de ces molécules (confusion mentale, hallucinations), les antagonistes glutamatergiques, qui sont actuellement peu utilisés chez l'homme, sont généralement prescrits en association avec un traitement L-DOPA et agissent principalement sur l'akinésie

et la rigidité des patients faiblement ou modérément atteints. De nombreuses recherches doivent encore être menées pour améliorer le potentiel thérapeutique de ces substances agissant sur le système glutamatergique central.

Les anticholinergiques ont été les premières molécules utilisées dans le traitement de la MP. L'utilisation de l'atropine a été introduite en France vers 1870 par Charcot, qui en avait remarqué l'effet bénéfique sur le tremblement. Les dérivés synthétiques de l'atropine, mieux tolérés, sont apparus dans les années cinquante, et ont constitué l'essentiel du traitement pharmacologique de la maladie de Parkinson avant l'avènement de la L-DOPA. Leur action passe par la réduction de l'hyperactivité cholinergique striatale due à la baisse du tonus inhibiteur dopaminergique. Ils agissent préférentiellement sur la rigidité et le tremblement (Fahn, 1998). Cependant, compte tenu des effets secondaires qu'ils induisent (glaucome, constipation, confusion mentale), ils ne sont plus guère utilisés.

I.6.2. Les traitements chirurgicaux

I.6.2.1. Les thérapies lésionnelles

Le traitement neurochirurgical de la MP a débuté de façon empirique avant l'ère de la L-DOPA, essentiellement à partir des années 50, avec la pallidotomie ou la thalamotomie (Hassler et Riechert, 1954; Cooper et Poloukhine, 1956).

De nombreuses études ont depuis montré l'efficacité de la pallidotomie dans l'amélioration des tremblements, de la bradykinésie, de la rigidité et dans la suppression des dyskinésies induites par la L-DOPA (Laitinen and al., 1992 ; Baron et al., 1996 ; Lang et al., 1997). Les effets de cette chirurgie prédominent en général dans l'hémicorps controlatéral à la lésion, mais des effets ipsilatéraux sont aussi observés. Les améliorations produites restent stables au long terme malgré l'évolution de la maladie (Hariz et Bergenheim, 2001). Enfin, une revue récente a révélé que des effets secondaires (paralysie faciale, dégradation de la parole, perte de champ visuel, confusion) apparaissaient dans 30 % des cas suite à une pallidotomie unilatérale et que 14% d'entre eux restent permanents. Ces pourcentages sont augmentés pour des pallidotomies bilatérales avec notamment des effets marqués sur la parole et des désordres cognitifs (De Bie and al., 2002).

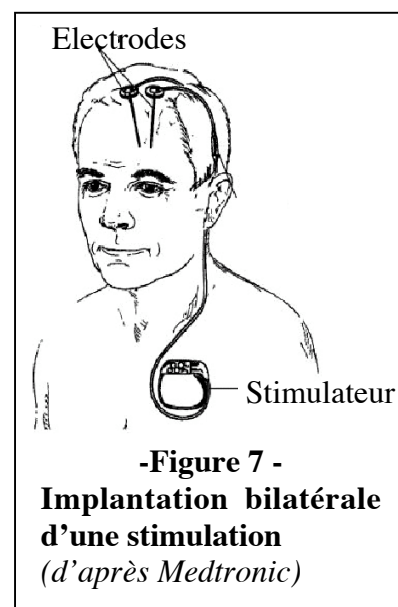
Les lésions du thalamus et plus particulièrement du thalamus ventro-médian ont montré une efficacité particulière dans le traitement des tremblements essentiels et parkinsoniens

(Schoorman et al., 2000). Leurs effets sur la rigidité et la bradykinésie sont en général modérés ce qui diminue leur intérêt dans la MP. Cependant, des lésions de parties plus antérieures du thalamus (noyau ventro-antérieur) peuvent améliorer le tremblement et la rigidité de façon concomitante. Comme pour la pallidotomie, les effets délétères de la thalamotomie sont plus importants pour les interventions bilatérales qu'unilatérales et se manifestent essentiellement par des hypophonies, des dysarthries, des dysphagies et des déficits cognitifs (Matsumoto et al., 1984).

La description de patients parkinsoniens ayant présenté des améliorations motrices suite à une lésion accidentelle du NST, a servi de base au développement de la subthalamotomie dans les années 1960 (Andy et al., 1963). Par la suite, la pratique de lésions chirurgicales du NST chez des singes MPTP a montré une amélioration importante des symptômes moteurs de ces animaux (Bergman et al., 1990). Les études menées chez les malades parkinsoniens montrent que la subthalamotomie améliore la symptomatologie parkinsonienne (Gill et Heywood, 1997 ; Patel et al., 2003) principalement du côté controlatéral à l'intervention avec un effet important sur le tremblement et une diminution de 50 % du traitement médical (Patel et al., 2003). Cependant, la subthalamotomie reste peu pratiquée car elle peut induire l'apparition d'hémiballismes permanents (voir pour revue Guridi et Obeso, 2001). En outre il semble que dans la plupart des cas, l'apparition d'hémiballismes suite à une subthalamotomie soit liée à une lésion confinée du NST. En effet, lorsque la lésion s'étend à la 'zona incerta' et à la 'zone de Forel', de tels effets secondaires ne sont pas observés (Patel et al., 2003).

I.6.2.2. La stimulation cérébrale profonde

C'est dans les années 90 que le renouveau du traitement neurochirurgical de la MP voit le jour sous la forme de la stimulation haute fréquence (SHF) de structures des ganglions de la base (Fig 7). Plusieurs facteurs sont à l'origine de ce retour. Tout d'abord, les limites du traitement dopaminergique au long cours, en particulier le défi thérapeutique que représentent les fluctuations motrices "ON-OFF" et les dyskinésies. Ensuite, la démonstration que la pallidotomie interne sélective entraîne une amélioration nette des signes parkinsoniens, ceci avec un risque opératoire



et des complications post-opératoires devenues faibles (Laitinen et al., 1992). Et enfin, les progrès réalisés dans les techniques de chirurgie stéréotaxique, notamment grâce à l'utilisation de micro-électrodes d'enregistrement et aux nouvelles méthodes d'imagerie médicale, particulièrement l'IRM.

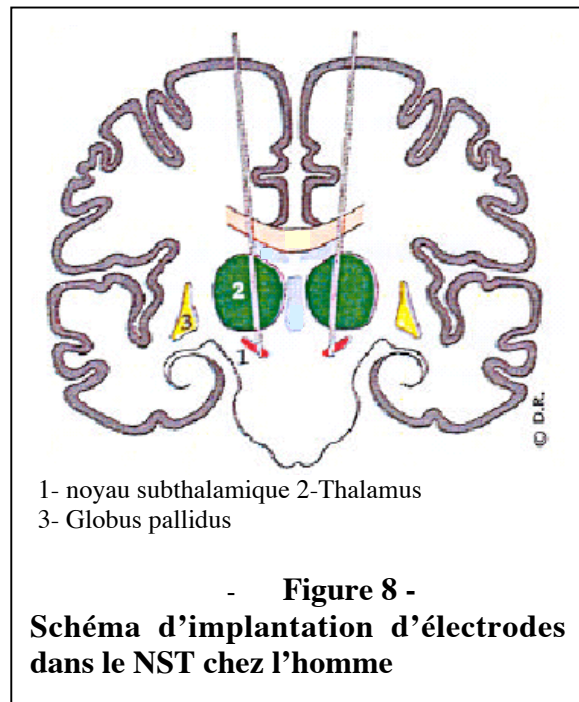
La première cible de la SHF a été le noyau ventro-médian intermédiaire du thalamus. La stimulation chronique du thalamus avait déjà été utilisée pour traiter certaines douleurs chroniques avant d'être proposée dans le traitement de la MP (Ray et Burton, 1980). Une stimulation chronique unilatérale à haute fréquence (130 Hz) du noyau ventro-médian du thalamus fut ensuite réalisée chez des patients parkinsoniens atteints de tremblements sévères et ayant déjà subi une thalamotomie (Benabid et al., 1987). Depuis, la stimulation thalamique a prouvé son efficacité dans le traitement des tremblements parkinsoniens et essentiels alors que ses effets sur la bradykinésie et la rigidité sont moindres (Caparros-Lefebvre et al., 1993; Koller et al., 1997). Aujourd'hui, la stimulation thalamique a supplanté la thalamotomie. En effet, elle s'avère aussi efficace, mais présente l'avantage d'être facile à pratiquer de façon bilatérale, tout en induisant moins d'effets secondaires (Blond et Siegfried, 1991; Nguyen et Degos, 1993 ; Benabid et al., 1996 ; Schuurman et al., 2000).

Cependant, la stimulation thalamique n'agit que sur le tremblement parkinsonien et n'empêche pas l'apparition secondaire ou l'aggravation, chez les patients suivis au long cours, des autres signes de la maladie, ni la survenue de dyskinésies et de fluctuations motrices. Les limitations de la stimulation thalamique ont donc conduit à rechercher d'autres cibles chirurgicales.

Plusieurs groupes ont ainsi développé la stimulation pallidale en alternative à la pallidotomie (Siegfried et Lippitz, 1994; Gross et al., 1997 ; Volkmann et al., 1998). La stimulation du pallidum apparaît efficace sur l'ensemble des symptômes moteurs parkinsoniens, les dyskinésies et les dystonies (Siegfried et Lippitz, 1994 ; Volkmann et al., 1998 ; Burchiel et al., 1999). Cependant, ces effets ne sont pas stables au long cours (Volkmann et al., 2004), ce qui entraîne parfois le remplacement de la stimulation pallidale par celle du NST (Houeto et al., 2000 ; Vitek, 2002). Enfin, il semble que le site optimal de stimulation du GPi ne soit pas clairement défini ce qui conduit à une variabilité des effets bénéfiques obtenus. En effet, la stimulation de la zone postéro-ventrale du pallidum entraîne une aggravation de l'akinésie couplée à une diminution de la rigidité et des dyskinésies alors que la stimulation d'une partie plus dorsale ou plus médiane de ce noyau supprime les symptômes moteurs de la maladie mais peut conduire à l'apparition de mouvements anormaux involontaires (Bejjani et al.,

1997). L'ensemble de ces résultats montrent que le choix de la cible est primordial pour la reproductibilité des effets de la stimulation haute fréquence.

L'essor de la stimulation du noyau subthalamique (NST) est venu des limites ou des difficultés rencontrées avec la stimulation thalamique ou pallidale (Fig 8). Le choix de cette nouvelle cible s'appuie sur des données récentes relatives au fonctionnement des ganglions de la base. En effet, une amélioration des symptômes parkinsoniens a été observée chez des singes traités au MPTP après lésion ou stimulation du NST (Bergman et al., 1990 ; Aziz et al., 1991; Benazzouz et al., 1993). La première investigation clinique de la stimulation du NST s'est faite à



1- noyau subthalamique 2-Thalamus
3- Globus pallidus

- **Figure 8 -**
Schéma d'implantation d'électrodes
dans le NST chez l'homme

Grenoble, il y a plus de 10 ans (Pollak et al., 1993). Depuis, la SHF du NST est devenue une approche thérapeutique de choix pour le traitement des symptômes moteurs de la MP. Ces effets sont similaires à ceux induits par un traitement L-DOPA et persistent au long cours (Vingerhoets et al., 2002). Ainsi, une amélioration de l'akinésie, de la rigidité, de la marche et des périodes de dystonie et de tremblement est observée sous stimulation du NST (Limousin, 1995; Limousin et al., 1995; Pollak et al., 1996 ; Thobois et al., 2002 ; Krack et al., 2003). L'apparition de mouvements involontaires a été reportée dans quelques cas, mais ces effets secondaires peuvent facilement être supprimés en modifiant les paramètres de stimulation (Limousin et al., 1996). Enfin, la stimulation du NST permet de réduire de façon considérable voire de supprimer les doses quotidiennes de médicaments dopaminergiques (L-DOPA et agonistes) prescrits aux patients (Moro et al., 1999 ; Molinuevo et al., 2000), ce qui conduit à une amélioration des dyskinésies induites par la L-DOPA (Krack et al., 1997).

Les effets distincts produits par la stimulation haute fréquence du thalamus, du pallidum et du noyau subthalamique sur les différents symptômes de la MP montre que la thérapie neurochirurgicale doit être ajustée au profil symptomatique de chaque patient.

	Thalamus		Pallidum (GPi)		Noyau subthalamique	
	lésion	SHF	lésion	SHF	lésion	SHF
Bradykinésie	-	-	+	++	+	++
Tremblement	++	++	+	+	+	++
Rigidité	+	+	+	+	+	++
Dyskinésies	+/-	+/-	++	++	+	++
Réduction du traitement pharmacologique	-	-	-	-	+	++

Tableau 4: Récapitulatif des principaux effets de la lésion ou de la stimulation haute fréquence (SHF) du thalamus, du globus pallidus et du noyau subthalamique sur les principaux symptômes moteurs de la maladie de Parkinson (D'après Thobois et al., 2005).

I.6.3. Perspectives thérapeutiques

I.6.3.1. Les greffes de tissus embryonnaires

La MP est due à une dégénérescence du système dopaminergique nigro-strié. L'idée de traiter la maladie en remplaçant les neurones dopaminergiques détruits a émergé il y a plus de 25 ans (Perlow et al., 1979). La transplantation striatale de cellules fœtales mésencéphaliques a d'abord été étudiée chez l'animal (voir pour revue Björklund et Steveni, 1985 ; Dunnett et Richards, 1990) puis chez le patient parkinsonien. De nombreuses études cliniques, confortées par des approches anatomiques et d'imagerie fonctionnelle, ont montré que les greffes striatales de cellules souches dopaminergiques étaient suivies d'une réduction des symptômes moteurs parkinsoniens et que les cellules greffées étaient fonctionnelles en termes d'activité métabolique et de libération de DA (Lindvall et al., 1992 ; Sawle et al., 1992 ; Peschanski et al., 1994 ; Kordover et al., 1995 ; Piccini et al., 1999, 2000). Cependant, ces études ne concernaient qu'un petit nombre de patients et étaient hétérogènes quant aux quantités de cellules greffées et au type de protocole de greffe utilisé. En 1999, deux études en 'double aveugle' ont alors été conduites chez 74 patients. Malgré la survie des cellules greffées, aucune amélioration clinique n'a été démontrée 12 à 24 mois après l'intervention (Freed et al., 2001 ; Olanow et al., 2003). De plus, ces études ont confirmé l'apparition de dyskinésies sévères chez 15 à 56 % des patients opérés (Olanow et al., 2003 ; Hagell et al., 2002), ce qui laisse supposer que les greffes n'ont pas permis une restauration fonctionnelle de la

transmission dopaminergique. Ainsi, ces études tendent à montrer que les bénéfices produits par les greffes de cellules embryonnaires ne suffisent pas à traiter la MP car elles sont uniquement dirigées vers la restauration du système dopaminergique nigro-strié, alors que la MP touche également d'autres systèmes neuronaux (Lang et Obeso, 2004).

I.6.3.2. Les facteurs neurotrophiques

L'utilisation de facteurs neurotrophiques pourrait constituer une thérapie intéressante de la MP. En effet, ceux-ci semblent pouvoir promouvoir le développement et le maintien des neurones dopaminergiques (Björklund et al., 1997). Le GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) en particulier apparaît capable de stimuler spécifiquement la survie et le bourgeonnement *in vitro* des neurones dopaminergiques (Lin et al., 1993).

Compte tenu des résultats encourageants obtenus lors d'essais pré-cliniques réalisés dans des modèles rongeurs ou primates de la MP (Gash et al., 1996 ; Rosenblad et al., 1998; Grondin et al., 2002), des essais cliniques utilisant des infusions intra-ventriculaires (Nutt et al., 2003) ou intra-parenchymateuses (Gill et al., 2003) de GDNF ont été réalisées. La libération ventriculaire de GDNF n'a entraîné aucun bénéfice moteur. Par contre, son administration locale au niveau du striatum a conduit à une amélioration des symptômes moteurs, une réduction de la médication et une augmentation de la capture de 18F-DOPA suggérant ainsi un effet trophique direct du GDNF ou/et un effet sur la fonctionnalité des terminaisons dopaminergiques (Gill et al., 2003). Bien que les patients parkinsoniens semblent bien tolérer ce type de traitement, l'utilisation d'un système mécanique pour délivrer le GDNF est soumis à des risques potentiels lors de l'implantation, à des risques d'infection et à une diffusion limitée de la substance active. C'est pourquoi l'utilisation de vecteurs adénoviraux ou lentiviraux qui permettent le transfert direct *in vivo* de l'ADN complémentaire codant pour le GDNF, semble offrir une meilleure stratégie thérapeutique.

De nombreuses études ont été réalisées sur les effets d'injections intrastriatales d'adénovirus ou de lentivirus codant pour le GDNF humain dans des modèles animaux de la MP. Chez le rat, lorsque l'injection des adénovirus codant pour le GDNF était réalisée avant la mise en place de la lésion du système dopaminergique nigro-strié par injection de 6-OHDA, une prévention de la dégénération dopaminergique et des déficits comportementaux était observée (Bilang-Bleuel et al., 1997 ; Kirik et al., 2000). Par ailleurs, l'injection intrastriatale de vecteurs lentiviraux exprimant le GDNF chez des rats (Rosenblad et al., 2000 ; Georgievska et al., 2002) ou des singes (Kordower et al., 2000 ; Palfi et al., 2002) préalablement rendus

parkinsoniens par des injections de 6-OHDA ou de MPTP, conduisait à une repousse du système dopaminergique nigro-strié et à une récupération des symptômes moteurs. Malgré ces résultats pré-cliniques encourageants, de nombreuses études visant à améliorer l'innocuité des vecteurs viraux et à contrôler la libération de GDNF dans le temps doivent encore être réalisées avant d'envisager la thérapie génique comme un traitement de la MP.

II. MODELES ANIMAUX DE LA MALADIE DE PARKINSON

Les modèles animaux de la MP devraient théoriquement pouvoir répondre aux critères suivants : similarité des mécanismes à l'origine du processus dégénératif, reproduction des symptômes cliniques et anatomopathologiques, prédictabilité des effets des traitements testés. En pratique, aucun modèle n'est jamais complet. Bien que les modèles animaux de la MP possèdent tous en commun une lésion du système dopaminergique nigrostrié, la majorité d'entre eux présentent au moins deux limitations. D'abord, l'âge des animaux utilisés n'est pas comparable à celui des patients. Ensuite, le protocole employé pour induire les lésions dopaminergiques ne reproduit pas la mise en place progressive du phénomène dégénératif de la maladie (voir pour revue Féger et al., 2002).

Il existe différents types de modèles de la MP dont les principaux sont les modèles génétiques et les modèles produits par injection de neurotoxine. Les modèles génétiques ont essentiellement été développés chez la souris et porte sur la surexpression ou au contraire l'absence d'expression (knock-out) du gène codant pour l'alpha-synucléine, impliqué dans les formes génétiques de la MP. Parmi les neurotoxines employées pour induire un déficit dopaminergique on trouve :

- le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) qui est utilisé dans de nombreuses espèces (souris, singe, chien, chat, mouton et poisson (Gerlach et Riederer, 1996) possédant une sensibilité différente à cette molécule. Les rongeurs sont moins sensibles que les primates et la quantité nécessaire pour intoxiquer une souris est environ 30 fois supérieure à celle utilisée pour le singe. Le rat est quant à lui insensible au MPTP administré en périphérie, probablement du fait de l'importante activité MAO-B présente dans l'endothélium des capillaires cérébraux qui métabolise le MPTP avant que celui-ci n'ait pu passer la barrière hémato-encéphalique (Schmidt et Ferger, 2001). De ce fait, chez le rat, le MPTP est généralement administré par voie intracérébrale directement dans le striatum.

Le modèle d'intoxication au MPTP est majoritairement utilisé chez la souris et le primate.

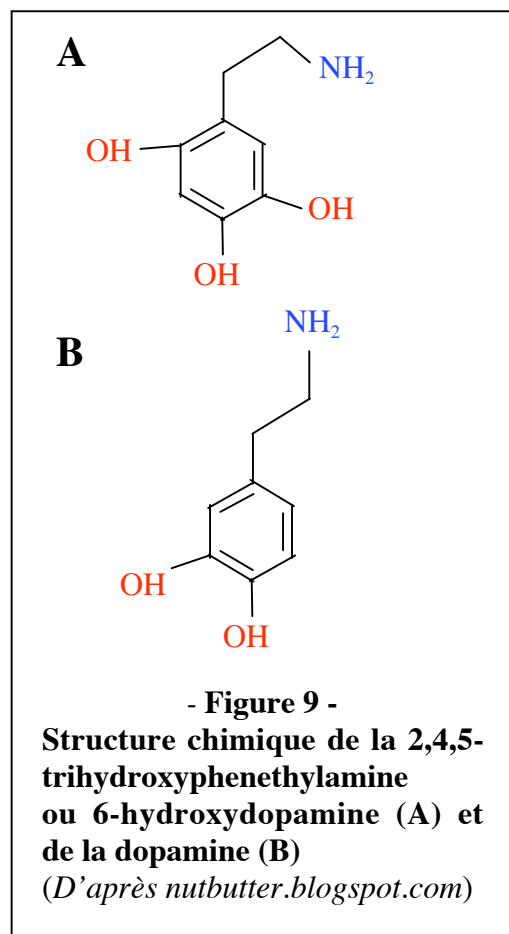
- la 6 hydroxy-dopamine (6-OHDA) et plus récemment la roténone, utilisées chez le rat. Cependant, compte tenu du manque de spécificité d'action de la roténone sur les neurones dopaminergiques (car elle n'utilise pas le DAT pour s'accumuler dans les neurones) et de la grande variabilité interindividuelle de la susceptibilité à cette molécule, les lésions du système dopaminergique induites dans ce modèle ne sont pas reproductibles (Ferrante et al., 1997 ; Betardet et al., 2000). Enfin, seul le MPTP est clairement relié à des cas de parkinson humain (Langston et al., 1983).

Nous avons choisi de rappeler ici quelques données sur les modèles de rat 6-OHDA et de singe MPTP qui sont les modèles animaux de la MP les plus fréquemment utilisés, et qui correspondent à ceux dont nous nous sommes servis pour réaliser notre travail.

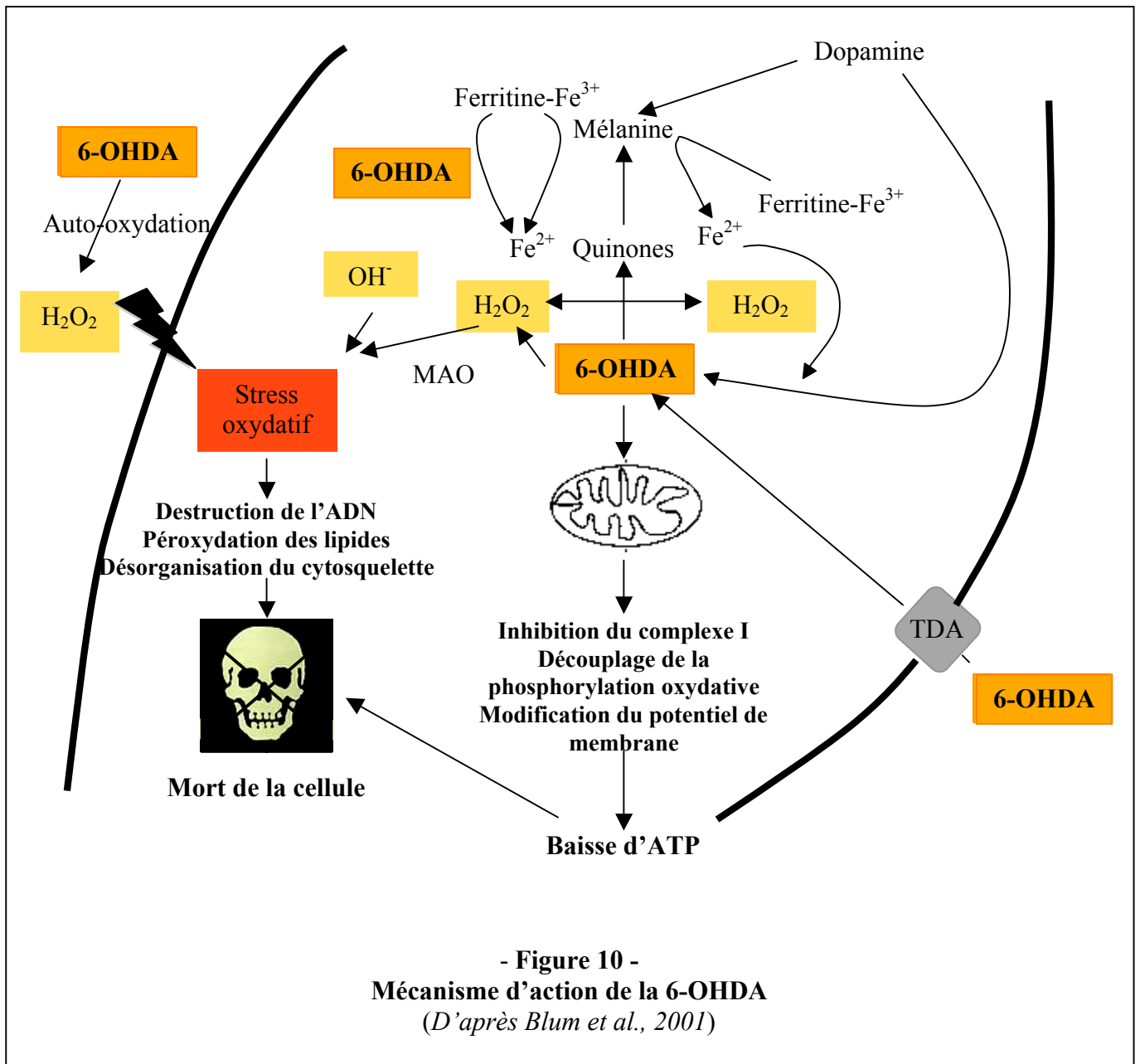
II.1. Le rat 6-OHDA

II.1.1. Mécanisme d'action de la 6-OHDA

Le premier modèle de rat 6-OHDA fut mis au point en 1968 par Ungerstedt (Ungerstedt, 1968). La 6-OHDA est, comme son nom l'indique, une forme hydroxylée de la dopamine (Fig 9A). Sa structure chimique, très proche de celle de la DA (Fig 9B) et de la noradrénaline, lui permet d'être spécifiquement captée par les transporteurs catécholaminergiques (Blum et al., 2001) et explique ainsi sa spécificité pour ces mêmes neurones. Afin de restreindre la sélectivité d'action de la 6-OHDA aux seuls neurones dopaminergiques, les animaux peuvent être traités avec un inhibiteur des transporteurs catécholaminergiques, la désipramine, qui possède une haute affinité pour les transporteurs noradrénergiques (Blum et al., 2001). Une fois dans les neurones, la 6-OHDA, par un mécanisme d'auto-oxydation, induit un stress oxydatif via la



production de composés réactifs de l'oxygène, comme le peroxyde d'hydrogène (H2O2) et la



- Figure 10 -
 Mécanisme d'action de la 6-OHDA
 (D'après Blum et al., 2001)

6-OHDA quinone (Hastings et Zigmond, 1997), qui provoque des altérations structurales et fonctionnelles des protéines, lipides membranaires et acides nucléiques (Fig 10).

II.1.2. Site d'injection de la 6-OHDA

La 6-OHDA ne passe pas la barrière hémato-encéphalique, et doit donc être injectée *in situ* au niveau du faisceau médian du télencéphale basal (MFB), de la SNc ou du striatum.

La lésion dopaminergique par injection de 6-OHDA dans le MFB entraîne une dégénérescence totale des corps cellulaires dopaminergiques de la SNc et de l'aire tegmentale ventrale (ATV), dépassant ainsi l'atteinte lésionnelle observée chez les patients parkinsoniens. En effet, même si une dégénérescence des neurones dopaminergiques de l'ATV est observée dans les stades les plus avancés de la MP, elle n'est que partielle (45-60 %) (Jellinger, 1991).

Le protocole de lésion par injection de 6-OHDA au sein de la SNc permet d'obtenir une dégénérescence plus spécifique de cette structure (90%) et ainsi un modèle animal plus proche de la maladie. Différentes atteintes lésionnelles peuvent être produites avec ce modèle en fonction du site d'injection choisi. Une lésion très latérale (+ 2.3 mm par rapport à la ligne médiane) permet d'éviter une atteinte de l'ATV alors qu'une lésion plus médiane (+ 1.2 / 1.5) entraîne la perte de 30% des cellules de l'ATV, mimant ainsi un stade avancé de la MP (Jellinger, 1991). La lésion par injection de 6-OHDA dans la SNc est assez reproductible (voir pour revue Schwarting et Huston, 1996 a ,b).

Enfin, le protocole de lésion par injection de 6-OHDA dans le caudé-putamen a été développé plus récemment et permet une atteinte rétrograde spécifique des différentes afférences dopaminergiques de cette structure (Sauer et Oertel, 1994). En effet, il est possible de sélectionner les sous-territoires striataux au sein desquels l'injection de toxine est faite et ainsi d'étudier l'implication de chacun de ces sous-territoires dans les processus sensori-moteurs dans lesquels interviennent les ganglions de la base (voir pour revue Deumens et al., 2002). De plus, la réalisation de lésions partielles au sein du complexe caudé-putamen permet d'obtenir des modèles animaux mimant la phase précoce de la MP. Cependant, comme pour l'ensemble des lésions partielles, la lésion sélective des différents territoires fonctionnels du striatum par injection de 6-OHDA semble difficilement reproductible.

II.1.3. Mode de lésion : unilatérale versus bilatérale, totale versus partielle

Les lésions bilatérales présentent l'avantage de mimer au plus près la dégénérescence observée chez les patients parkinsoniens dans les stades avancés de la maladie et préviennent la survenue de possibles effets compensatoires induits par le côté intact contralatéral. Cependant, elles sont moins utilisées que les lésions unilatérales car elles entraînent une aphagie et une adipsie sévères chez les animaux et ainsi un taux de perte élevé (Ungerstedt, 1971). De plus, elles n'induisent pas d'asymétrie comportementale et ne permettent donc pas l'évaluation de l'efficacité de la lésion par des tests comportementaux de rotations pharmacologiquement induites (voir matériel et méthodes). Enfin, elles ne permettent pas à chaque animal d'être son propre contrôle. Cependant, l'utilisation du côté non lésé comme témoin du côté lésé doit se faire avec précaution. En effet, la lésion unilatérale d'une partie du système dopaminergique peut entraîner des modifications d'activité des structures controlatérales saines (White-Cipriano et Waszczak, 2005).

L'utilisation de protocoles de lésions totales évite la variabilité du taux de dénervation, observée chez les animaux partiellement lésés, due au manque de reproductibilité, mais aussi aux mécanismes compensatoires existant dans ce type de lésions (Blanchard et al., 1996 ; Finkelstein et al., 2000). Ainsi la majorité des travaux menés sur les variations de l'activité des ganglions de la base utilisent des animaux porteurs d'une lésion dopaminergique totale et présentant une déplétion dopaminergique striatale supérieure à 90%

II.1.4. Aspects comportementaux des lésions à la 6-OHDA

Les déficits comportementaux développés suite à l'injection de 6-OHDA peuvent nous informer sur l'étendue de la lésion produite.

Ainsi, dans les modèles unilatéraux, les rotations induites par des drogues, telles que les agonistes dopaminergiques, peuvent être utilisées comme indicateur de la déplétion en DA. En effet, l'injection intra-péritonéale d'apomorphine entraîne l'apparition de rotations controlatérales au côté lésé alors que l'injection d'amphétamine induit des rotations ipsilatérales. On considère qu'une lésion des neurones dopaminergiques de la SNc supérieure à 50 %, correspondant à une perte de la densité des fibres dopaminergiques striatales supérieure à 90 %, est nécessaire pour induire des rotations après injection de faibles doses d'apomorphine (Hudson et al., 1993). Cependant, les mécanismes à l'origine de ces rotations

ne sont pas compris et beaucoup d'expérimentateurs critiquent la fiabilité de ce test comme indicateur de la perte neuronale (Chang et al., 1999).

Différents tests comportementaux ont été développés pour permettre l'analyse des composantes motrices de la symptomatologie parkinsonienne (Lindner et al., 1999). Ainsi, le 'stepping test' permet d'évaluer l'akinésie du membre antérieur, le Rotarod permet d'analyser l'initiation du mouvement et la coordination motrice et le test de l'escalier permet l'étude du contrôle fin du mouvement.

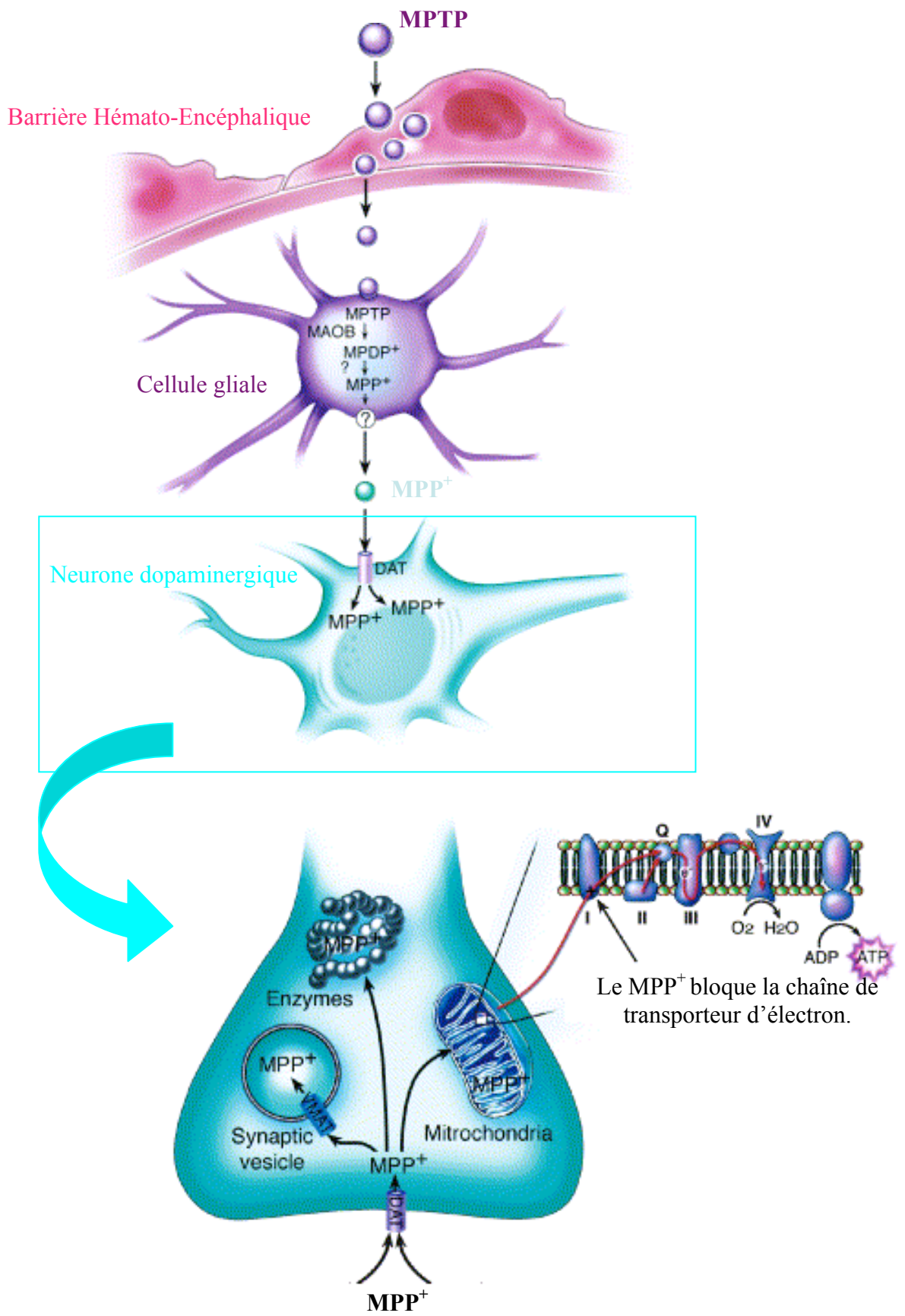
En conclusion, le modèle 6-OHDA possède de nombreux avantages dus notamment à l'espèce utilisée et à la bonne reproductibilité de la lésion. Toutefois, ce modèle présente des différences majeures avec la pathologie humaine. La lésion n'affecte que les neurones dopaminergiques, la mort des neurones n'est pas progressive, ni corrélée à la présence de corps de lewy. Enfin, les modifications comportementales ne sont comparables qu'en partie avec la symptomatologie parkinsonienne.

II.2. Le singe MPTP

II.2.1. Mécanismes d'action du MPTP

La découverte de la toxicité du MPTP s'est faite par hasard, lorsque, après s'être injectés accidentellement cette molécule, de jeunes toxicomanes ont développé un syndrome parkinsonien sévère (Langston et al., 1983).

Le MPTP traverse aisément la barrière hémato-encéphalique pour être oxydé en un intermédiaire instable, le 1-méthyl-4-phenyl-1,2-dihydropyridinium (MPDP⁺) par une monoamine oxydase B surtout présente au niveau des astrocytes (Takada et al., 1990 ; Di Monte et al., 1991) et des neurones sérotoninergiques (Fig11). Le MPDP⁺ s'oxyde ensuite spontanément en 1-méthyl-4-phenylpyridine (MPP⁺) qui représente le composé neurotoxique (Castagnoli et al., 1985). Le MPP⁺ est ensuite libéré dans l'espace extracellulaire par l'intermédiaire de transporteurs des monoamines présents sur les cellules gliales (Russ et al., 1996) puis capté au niveau des terminaisons dopaminergiques via le transporteur membranaire de la dopamine (DAT) (Fig 11) (Javitch et al., 1985). Cette étape conditionne la spécificité d'action du MPP⁺ sur les neurones dopaminergiques. Une fois dans les neurones dopaminergiques, le MPP⁺ peut être séquestré dans des vésicules synaptiques par



- Figure 11 -
Mécanisme d'action du MPTP

l'intermédiaire du transporteur vésiculaire de la DA (VMAT), ce qui l'empêche d'exercer son action neurotoxique (Fig 11). Il peut également former des dépôts intracellulaires dans les neurones dopaminergiques en se fixant à la neuromélanine (D'Amato et al., 1986). Ce phénomène expliquerait la sensibilité particulière des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta (contenant de la mélanine) aux effets du MPP⁺ par rapport aux neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale ou de l'aire rétro-rubrale (Herrero et al., 1993).

Enfin, le MPP⁺ non séquestré s'accumule dans les mitochondries où il inhibe le complexe I de la chaîne respiratoire induisant ainsi un déficit énergétique, une perte de l'homéostasie calcique et une augmentation de la production de radicaux libres, menant à la mort de la cellule (Fig 11).

Dans la suite de ces rappels bibliographiques qui concernent le protocole d'intoxication utilisé, les déficits moteurs et la dénervation dopaminergique induits par le MPTP, nous nous sommes limités au cas du singe, sur lequel nous avons réalisé notre travail.

II.2.2. Protocoles d'intoxication au MPTP

Différents protocoles d'intoxication au MPTP ont été utilisés avec des doses, fréquences et modes d'injection (intraveineux, intramusculaire, intrapéritonéale) très variables. Les premières études mises en place employaient des intoxications aiguës à fortes doses sur de courtes périodes (1 à 4 mg/kg/jour pendant 4 jours consécutifs) (Jenner et al., 1986), provoquant une atteinte des neurones dopaminergiques rapide et sévère pouvant conduire à la mort de l'animal. Actuellement, les équipes tentent de développer des protocoles plus chroniques afin d'obtenir une dégénérescence plus progressive du système dopaminergique nigro-strié. Ces protocoles chroniques utilisent, pour une même dose totale de MPTP, des doses plus faibles et des injections espacées sur de plus longues périodes. L'équipe de Schneider a en effet montré que pour un traitement chronique ne provoquant pas de symptômes moteurs chez les animaux intoxiqués, la dose totale de MPTP injectée pouvait être deux fois supérieure à celle utilisée pour un traitement aigu générant des symptômes moteurs (Schneider et al., 1988 ; Schneider et Kovelowski, 1990). Certains de ces protocoles chroniques utilisent des doses relativement fortes de MPTP (0,5 à 2,5 mg/kg) mais injectées une seule fois par semaine sur des durées pouvant aller jusqu'à 21 mois (Perez-Otano et al., 1991; Hantraye et al., 1993 ; Varastet et al., 1994 ; Wullner et al., 1994). D'autres protocoles

utilisent des doses beaucoup plus faibles (0,01 à 0,175 mg/kg) injectées trois fois par semaine (Schneider et Kovelowski, 1990). Néanmoins, probablement pour des contraintes de temps, de nombreuses équipes utilisent des protocoles semi-chroniques avec des doses de MPTP de 0,15 à 0,5 mg/kg injectées 3 à 5 fois par semaine (Elsworth et al. 1987 ; Song et Haber, 2000). Enfin, des injections unilatérales intracarotidiennes de MPTP ont également été effectuées afin de développer des modèles « hémiparkinsoniens » (Schneider et Dacko, 1991).

II.2.3. Déficits moteurs induits par un traitement MPTP

Le MPTP est particulièrement utilisé chez les primates non humains et les sub-primates. Il est généralement injecté par voie intramusculaire ou intraveineuse ce qui conduit à une lésion bilatérale du système dopaminergique mésencéphalique.

L'injection de MPTP (à partir de 0,3 mg/kg) entraîne, dans la demi-heure qui suit, des comportements moteurs aigus qui se caractérisent par des mouvements anormaux et une dystonie des membres et du tronc.

Les symptômes assimilés à ceux de la MP apparaissent dans les trois à quatre jours qui suivent l'injection. Le tableau clinique développé par les animaux intoxiqués au MPTP est très proche de celui de la MP idiopathique avec la présence d'une akinésie, d'une bradykinésie, d'une rigidité, d'une flexion caractéristique du dos (posture voûtée), d'un ralentissement des mouvements et enfin l'existence de 'freezing' (arrêts brutaux au cours du mouvement) (Burns et al., 1983 ; Degryse et Colpaert, 1986). Le tremblement de repos est le symptôme moteur le plus difficile à obtenir. Il n'est observé que chez le singe vert, à une fréquence de 4 à 6 Hz, proche de celle existante chez le malade parkinsonien (François et al., 1999) et ne semble pas corrélérer avec le niveau de dénervation dopaminergique (Herrero et al., 1993). Chez d'autres espèces comme le marmouset, le babouin ou le macaque, des tremblements d'action similaires à des secousses musculaires ont également été décrits.

Outre les troubles moteurs, les singes intoxiqués au MPTP développent également des symptômes cognitifs dont l'apparition peut précéder celle des symptômes moteurs (Schneider et Kovelowski, 1990 ; Schneider et Pope-Coleman, 1995 ; Slovin et al., 1999). Comme chez le patient parkinsonien, ces singes présentent des déficits de mémoire visuospatiale, de planification et de changement de stratégie au cours des tâches (Schneider et Pope-Coleman, 1995).

II.2.4. Topographie de la perte dopaminergique

L'intoxication au MPTP produit chez le singe une dégénérescence neuronale qui touche inégalement les différentes aires dopaminergiques du mésencéphale. L'atteinte préférentielle de la SNc (A9) a été montrée chez différentes espèces de singes intoxiqués (Jacobowitz et al., 1984 ; Langston et al., 1984 ; Chiueh et al., 1985 ; German et al., 1988 ; Elsworth et al., 1990). La lésion de la substance noire prédomine dans les parties latérale et ventrale chez les singes traités de façon chronique (Schneider, 1990 ; Hantraye et al., 1993 ; Varastet et al., 1994), les aires tegmento-ventrale (A10), péri- et rétro-rubrale (A8) étant moins atteintes (Jenner et al., 1986 ; German et al., 1988 ; Herrero et al., 1993). L'atteinte différentielle de ces aires dopaminergiques par le MPTP est probablement corrélée à l'expression de l'état symptomatique des animaux. En effet, une atteinte de l'aire A10 n'est observée que chez les animaux développant des symptômes moteurs et elle est d'autant plus importante que les symptômes développés sont sévères (Elsworth et al., 1990 ; Pifl et al., 1992).

Dans le striatum, on note une perte importante et non homogène en DA et fibres dopaminergiques. Néanmoins, chez les singes intoxiqués de façon aiguë, la topographie de dénervation dopaminergique n'est pas similaire à celle des malades parkinsoniens. En effet, chez l'homme, l'atteinte prédomine dans le putamen postérieur alors que chez le singe MPTP, la perte est équivalente dans le putamen et le noyau caudé avec une prédominance dans les parties caudales et dorsolatérales (Elsworth et al., 1987, 1989 ; Pifl et al., 1988). Une perte plus faible de DA est également observée dans les parties ventrales du striatum (noyau accumbens et parties ventrales du putamen et du noyau caudé) chez le singe (Elsworth et al., 1987, 1989 ; Pifl et al., 1991 ; Graybiel et al., 1993 ; Parent et Lavoie, 1993). Les protocoles d'intoxication chronique induisent une atteinte plus représentative de celle observée chez l'homme avec une perte préférentielle de l'innervation dopaminergique du putamen par rapport au noyau caudé et une relative préservation des parties ventrales (Hantraye et al., 1993 ; Wullner et al., 1994). Cette différence de topographie de la perte dopaminergique selon les protocoles d'intoxication a été confirmée dans une étude de Pérez-Otano (Pérez-Otano et al., 1994).

Enfin, bien que des inclusions cytoplasmiques aient été décrites dans des modèles de singes MPTP, celles-ci ne présentent pas les caractéristiques des corps de Lewy (Forno et al., 1986).

Nous pouvons donc conclure que le tableau clinique et anatomo-pathologique du singe MPTP est très représentatif de celui observé dans la MP, faisant ainsi du singe MPTP le modèle le

plus adapté à l'étude de la MP. Néanmoins, ce modèle présente quelques limites. En effet, quel que soit le protocole d'injection utilisé, une variabilité de la sensibilité des animaux au MPTP est observée, et se traduit par le développement de symptômes moteurs plus ou moins sévères pour une même dose injectée. D'autre part, on observe souvent chez ces animaux des phénomènes de récupération motrice qui prennent place malgré une perte importante des neurones dopaminergiques au sein du mésencéphale et une baisse des concentrations en DA dans le striatum (Eidelberg et al., 1986 ; Smith et al., 1993), alors qu'une telle récupération n'est jamais observée chez le malade parkinsonien. Cette récupération semble essentiellement liée à la sévérité de l'état symptomatique développé par l'animal. En effet, il a été montré que des animaux atteints sévèrement dès le début du traitement ne récupéraient pas alors que ceux ayant développés des symptômes modérés présentaient tous la capacité à récupérer (Taylor et al., 1997, Elsworth et al., 2000).

III. LE SYSTEME DES GANGLIONS DE LA BASE CHEZ LE RONGEUR ET LE PRIMATE

Les ganglions de la base constituent un ensemble de structures sous-corticales anatomiquement interconnectées et impliquées dans le contrôle de la posture et du mouvement par l'intégration d'informations sensorielles, cognitives et motivationnelles (Mink, 1996). Ces structures sont au nombre de cinq : le striatum (ou caudé-putamen) se positionne comme l'entrée de ce circuit ; la substance noire pars reticulata (SNr) et le globus pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat) en sont les structures de sortie; le globus pallidus (GP ou partie externe du globus pallidus chez l'homme et le singe) et le noyau subthalamique (NST) sont considérés comme des structures de relais entre le striatum et les structures de sorties. L'association du thalamus à ce complexe explique la dénomination de noyau gris centraux (NGC).

Ces structures sont connectées pour former plusieurs boucles cortico-sous-corticales. De nombreuses aires corticales (frontales, pariétales, temporales et limbiques) envoient des projections vers les ganglions de la base qui sont en retour connectés au cortex frontal, incluant le cortex pré-frontal, pré-moteur et les aires motrices supplémentaires, via le thalamus (Alexander et Crutcher, 1990 ; Alexander et al., 1990).

Parallèlement à ce rôle des ganglions de la base dans la motricité, il existe aussi un circuit limbique impliqué dans des fonctions cognitives et mnésiques. Ainsi, les ganglions de la base intègrent-ils des informations sensorimotrices, associatives et limbiques pour produire des

comportements contexte-dépendants. Bien que les études anatomiques montrent que la topographie des entrées corticales est conservée à chaque niveau des ganglions de la base (Fig 12) à l'intérieur des différentes boucles motrice, oculomotrice, préfrontale et limbique (Alexander et Crutcher, 1990), suggérant ainsi une ségrégation du traitement des informations, des passerelles existent entre ces boucles. Nous reviendrons sur l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base dans le paragraphe III.2.

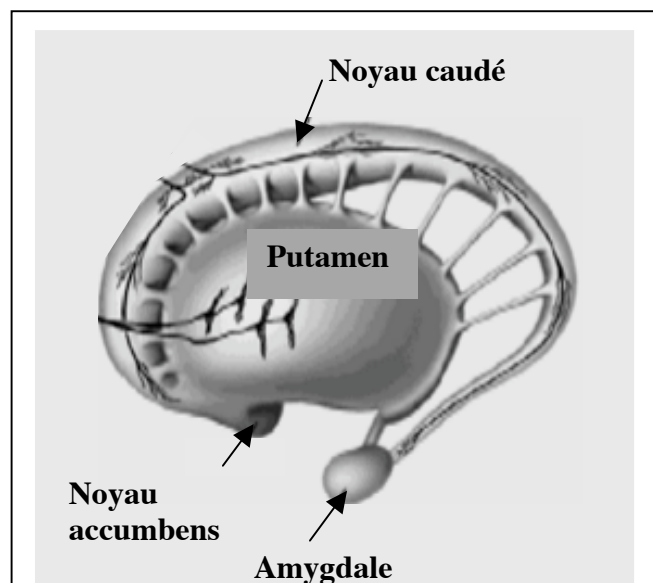
Le dysfonctionnement des ganglions de la base engendre de profonds désordres moteurs qui peuvent être de deux types : hyperkinétiques, comme dans la chorée de Huntington (caractérisée par la dégénérescence des neurones efférents du striatum) ou encore dans l'hémiballisme (manifestation clinique d'un hypofonctionnement ou d'une lésion du NST), ou hypokinétiques comme dans la MP.

Au cours de ce chapitre, chaque structure appartenant aux ganglions de la base sera présentée séparément. Nous terminerons cette partie en présentant l'organisation anatomo-fonctionnelle de l'ensemble de ces structures d'abord selon le modèle 'classique' proposé par Albin en 1989 (Albin et al., 1989) puis, en tenant compte des remises en question récentes apportées à celui-ci. Enfin, compte tenu des différences fonctionnelles existant entre les espèces, les rappels bibliographiques présentés ici concerneront uniquement le rat et le singe, les deux modèles utilisés au cours de ce travail.

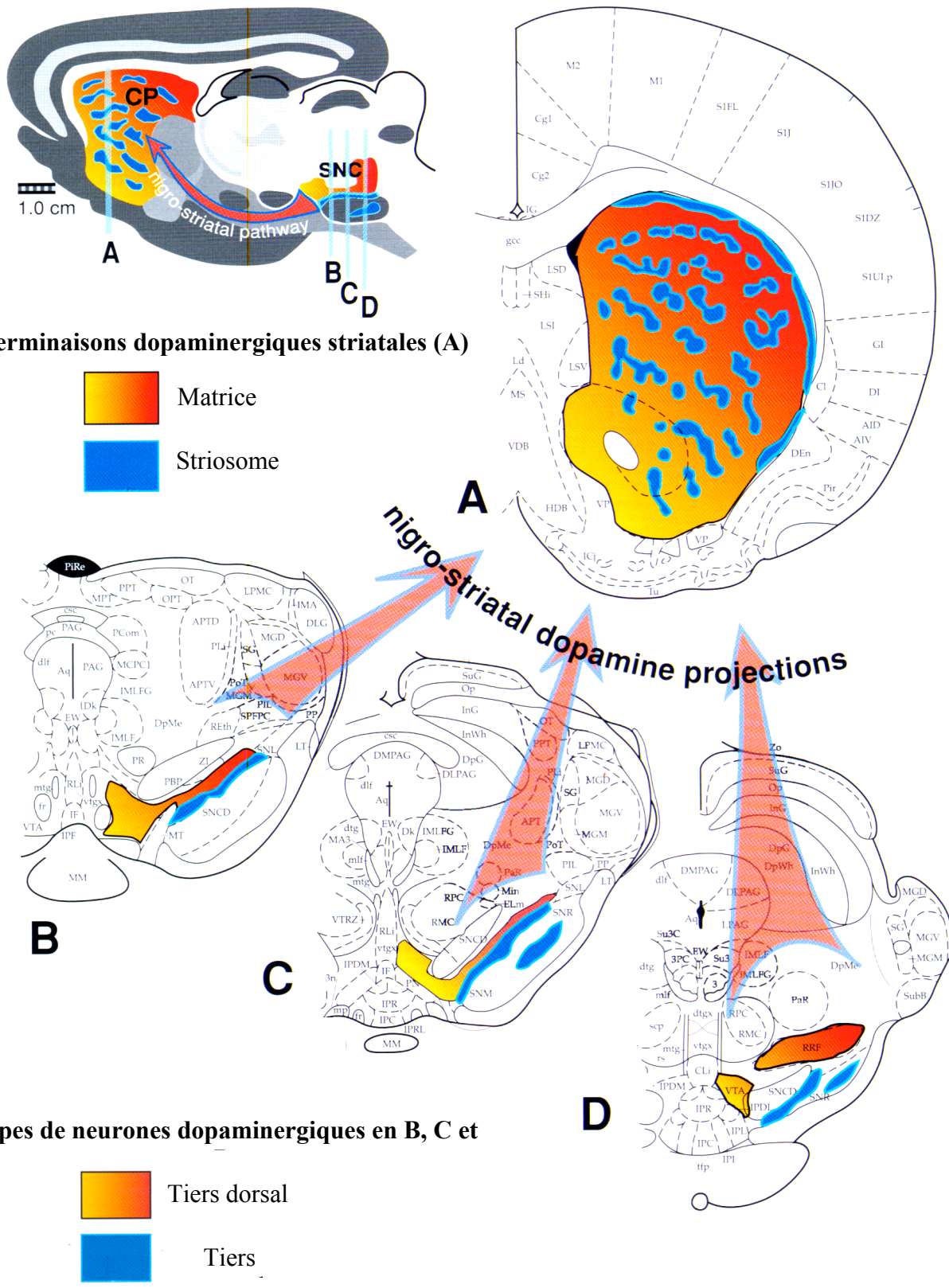
III.1. Anatomie descriptive et connectivité

III.1.1. Le Striatum

Le striatum est composé de trois parties : le noyau caudé, le putamen et le noyau accumbens. Chez les primates, le caudé et le putamen sont séparés par une cloison dans laquelle le réseau cortico-fugal fusionne avec la capsule interne (Fig 13). Chez les rongeurs, et notamment le rat, les fibres cortico-fugales sont dispersées et il n'existe pas de séparation entre ces deux noyaux.



- **Figure 13** -
Schéma en trois dimensions d'un striatum de singe
(D'après <http://www.biocfarm.unibo.it>)



-Figure 14 -

Schéma illustrant l'innervation dopaminergique des striosomes et de la matrice du striatum (A) à partir des différentes structures dopaminergiques du mésencéphale (B, C et D).

Les neurones dopaminergiques qui se projettent sur la matrice proviennent de la partie dorsale de la SNc, de l'ATV et de l'aire rétro-rubrale (B, C et D). Ceux se projetant sur les striosomes proviennent de la partie ventrale de la SNc et des îlots dopaminergiques présents dans la SNr (B, C et D).

CP: caudé-putamen; **SNC**: Substance Noire Compacte; **VTA**: Aire Tegmentale Ventrale; **RRF**: Aire Rétro-Rubrale

(D'après 'the rat nervous system' third edition, G. Paxinos, Elsevier Academic Press, 2004).

C'est pourquoi le terme caudé-putamen ou striatum est souvent utilisé. Chez le rat et le singe, comme dans la plupart des espèces, le noyau accumbens est situé ventralement. Le noyau caudé et le putamen sont respectivement situés médialement et latéralement chez le singe et forment la partie dorsale du striatum chez le rat.

Le striatum présente une hétérogénéité neurochimique qui a été décrite pour un grand nombre de neuropeptides, de neurotransmetteurs et d'enzymes participant au métabolisme de ces neurotransmetteurs (Graybiel et Ragsdale, 1978 ; Herkenham et Pert, 1981). Cette hétérogénéité neurochimique confère au striatum une organisation régionale dite "en mosaïque" qui permet de différencier deux compartiments: la matrice et les striosomes.

Les striosomes, pauvres en acétylcholine estérase mais riches en substance P, neurotensine et tyrosine hydroxylase se différencient de la matrice, riche en acétylcholine estérase (AChE), somatostatine et calbindine (Fig 14A) (Gerfen 1985; Graybiel, 1990 ; Gerfen et Wilson 1996). La matrice occupe plus de 85% de la surface striatale alors que les striosomes ne constituent que 10 à 20% de ce volume au sein duquel ils forment un labyrinthe tridimensionnel.

Par ailleurs, il faut noter que cette compartimentation neurochimique est étroitement liée à la topographie des afférences et des efférences striatales (Graybiel et Ragsdale 1978; Divac, 1983; Gerfen, 1984, 1989, 1992 ; Gerfen et Young, 1988; Gerfen et al., 1985, 1987a, 1987b; Herkenham et Pert 1981). En effet, la matrice reçoit plutôt les afférences dopaminergiques provenant de la partie dorsale de la SNc (aire A9), de l'aire tegmentale ventrale (aire A10) et du noyau rétrobulbaire (aire A8) (Fig 14 A, B, C et D), et les afférences corticales sensorimotrices et cingulaires, alors que les striosomes reçoivent les projections issues de la partie ventrale de la SNc, des îlots dopaminergiques présents dans la SNr et des cortex limbique et pré-limbique (Fig 14 A, B, C et D). De plus, la matrice projette préférentiellement dans la SNr et l'EP alors que les sites de projection des striosomes sont situés dans la SNc (Jimenez-Castellanos et Graybiel, 1987). Cette voie striato-nigrique est d'ailleurs considérée comme une boucle de retour de l'innervation dopaminergique nigrostriée, assurant une sorte de feedback régulateur (Domesick, 1981).

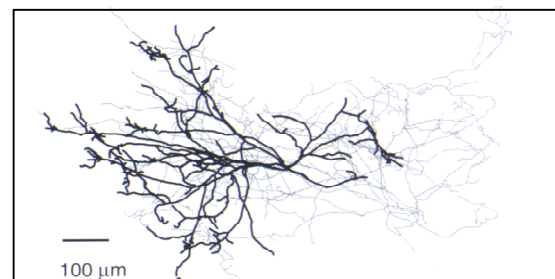
Cependant, les neurones striataux à projection pallidale ou nigrale ne semblent pas être répartis selon l'organisation des compartiments patch/matrix (Gerfen et Young, 1988). Enfin, les neurones thalamiques provenant des noyaux intralaminaires et qui se projettent sur le striatum obéissent à la répartition patch-matrix (Beckstead 1985 ; Berendse et al. 1988 ; Herkenham et Pert 1981 ; Xu et al. 1991). Les afférences provenant des noyaux parafasciculaires (PF)/centro-médian (CM) fournissent des entrées directes dans la matrice

alors que les patchs reçoivent des projections issues de zones plus restreintes des noyaux intralaminaires du thalamus.

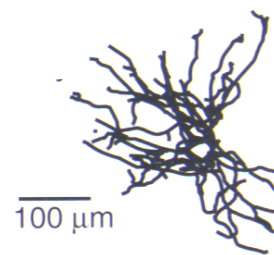
III.1.1.1 Les neurones striataux

On distingue principalement deux types de neurones striataux : les neurones intrinsèques au striatum, encore appelés interneurons et les neurones de projection dits neurones épineux, car riches en épines dendritiques (Chang et al., 1981 ; voir pour revue Gerfen et Wilson, 1996 ; Kawagushi, 1997).

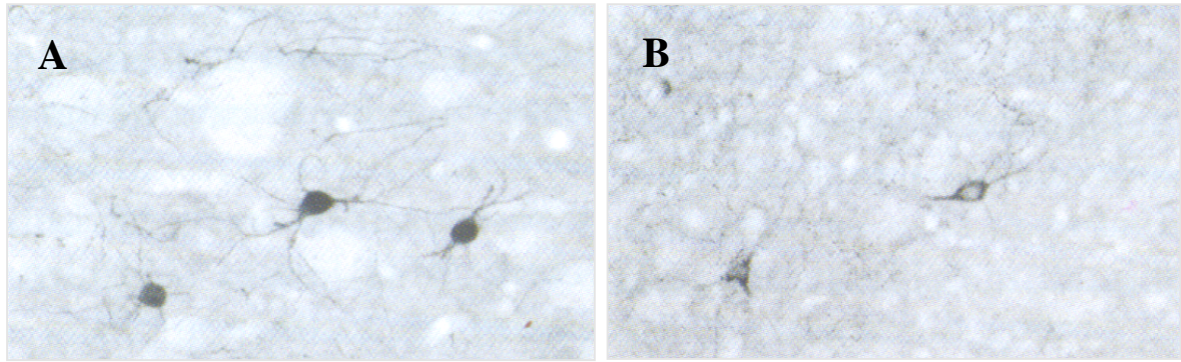
Les neurones épineux représentent 90 à 95 % des neurones du striatum. Ce sont des neurones de taille moyenne qui possèdent un soma ovoïde ou polygonal (10 à 20 μm de diamètre) dont les dendrites sont couvertes d'épines sauf sur leurs parties proximales. Les neurones épineux sont essentiellement GABAergiques et co-expriment des peptides différents selon le territoire sur lequel ils se projettent. Les neurones striataux qui expriment la dynorphine et la substance P en plus du GABA, innervent préférentiellement la SNr et l'EP ou GPi alors que les neurones co-localisant le GABA et l'enképhaline innervent préférentiellement le GP (voir pour revue Heimer et al., 1995 ; Gerfen and Wilson, 1996). Cependant, cette répartition semble plus complexe. Des études neurochimiques ont montré qu'il existait une population de neurones co-exprimant la substance P, l'enképhaline et la dynorphine (Besson et al., 1990) et que certains neurones striataux projetaient à la fois sur le complexe pallidal et la SNr (Loopuijt et Van Der Kooy,



- **Figure 15 -**
Représentation de l'étendue des dendrites (noir) et des axones collatéraux (gris) d'un interneurone cholinergique striatal.
(D'après Paxinos, 2004)

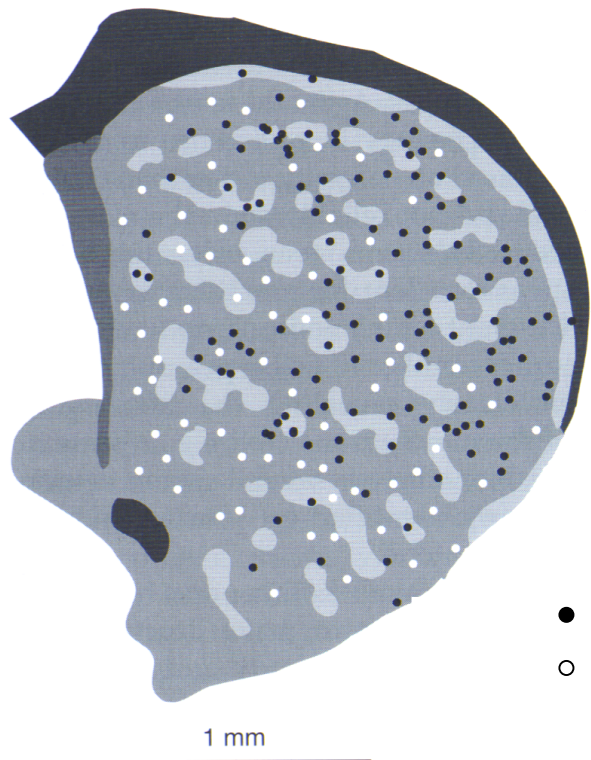


- **Figure 16 -**
Représentation de l'étendue de l'arbre dendritique d'un interneurone GABAergique striatal
(D'après Paxinos, 2004)



- Figure 17 -

Photographies d'interneurones GABAergiques Striatox immunoréactifs pour la parvalbumine (A) ou la somatostatine (B)



- Neurones immunoréactifs à la parvalbumine
- Neurones immunoréactifs à la somatostatine

- Figure 18 -

Représentation schématique de la distribution des interneurones striataux GABAergiques co-exprimant la parvalbumine (●) ou la somatostatine (○). Remarquez le gradient de répartition inversé de ces deux types d'interneurones striataux: les neurones à parvalbumine sont plus nombreux dans la partie dorso-latérale du striatum alors que ceux à somatostatine sont plus nombreux dans la région ventrale.

(D'après 'the rat nervous system' third edition, G. Paxinos, Elsevier Academic Press, 2004).

1985 ; Kawagushi et al ; 1990 ; Parent et al., 1995 ; Wu et al., 2000 ; Levesque et al., 2003). De plus, des interactions entre ces deux voies de projection ont également été mises en évidence au niveau de colatérales d'axone du striatum (Yung et al., 1996).

Les interneurons striataux représentent entre 5 et 10 % de la totalité des neurones du striatum. Ils constituent une population hétérogène parmi laquelle on distingue deux populations : les neurones cholinergiques et les GABAergiques (Kawagushi et al., 1995).

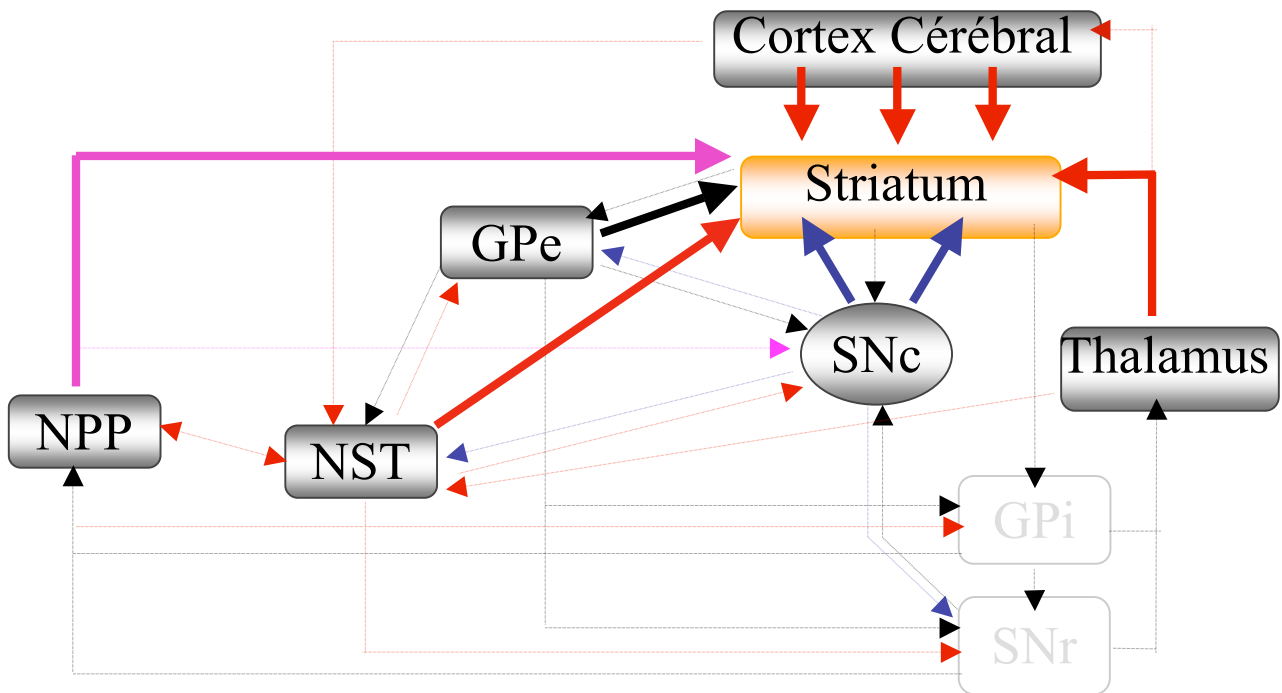
Les neurones cholinergiques ou cellules non épineuses de type II sont les plus gros des neurones striataux (20 à 50 μm) et sont caractérisés par une arborisation dendritique et axonale étendue (500-700 μm) (Fig 15) (Bolam et al., 1984 ; Phelps et al., 1985 ; DiFiglia, 1987 ; Kawaguchi et al., 1997). Ils représentent 1 à 2 % de la population totale des neurones striataux, et sont repartis de façon homogène au sein du striatum.

Les interneurons GABAergiques sont des cellules de taille moyenne (10 à 30 μm) fusiformes ou polygonales (Fig 16). On en distingue trois types selon qu'ils co-expriment la parvalbumine (Fig 17 A) (Cowan et al., 1990 ; Kita et al., 1990), la calrétinine (Bennett et Bolam, 1993) ou la somatostatine (Fig 17 B). Les neurones à calrétinine sont essentiellement localisés dans la partie dorso-médiane du striatum tandis que les neurones à parvalbumine (Fig 18), bien que distribués sur l'ensemble du striatum, sont plus nombreux dans la région dorso-latérale. Ces derniers présentent une arborisation dendritiques rayonnante, localisée à proximité du corps cellulaire et leur arborisation axonale est dense. Les neurones à somatostatine ou cellules non épineuses de type I et III, forment une population minoritaire de cellules de petite taille (12-25 μm) co-localisant également le neuropeptide Y (Smith et Parent, 1986 ; Béal et al., 1987 ; Rushlom et al., 1995 ; Figueredo-Cardenas et al., 1996) et dont la répartition au sein du striatum suit une gradient dorso-ventral (Fig 18).

Bien qu'en faible proportion, les interneurons striataux participent activement à la circuiterie locale au sein du striatum du fait de leur dense arborisation dendritique.

III.1.1.2. Les afférences striatales

Les projections cortico-striatales (Fig 19) représentent la principale source d'afférences du striatum. Elles sont de nature glutamatergique et proviennent de l'ensemble du cortex cérébral et en particulier des cortex sensorimoteur et pré-moteur (voir pour revue Gerfen et Wilson, 1996). Différentes régions corticales convergent vers un même territoire du striatum,



- ➔ Projections Glutamatergiques

➔ Projections GABAergiques
- ➔ Projections Dopaminergiques

➔ Projections Acétylcholinergiques

- Figure 19 -

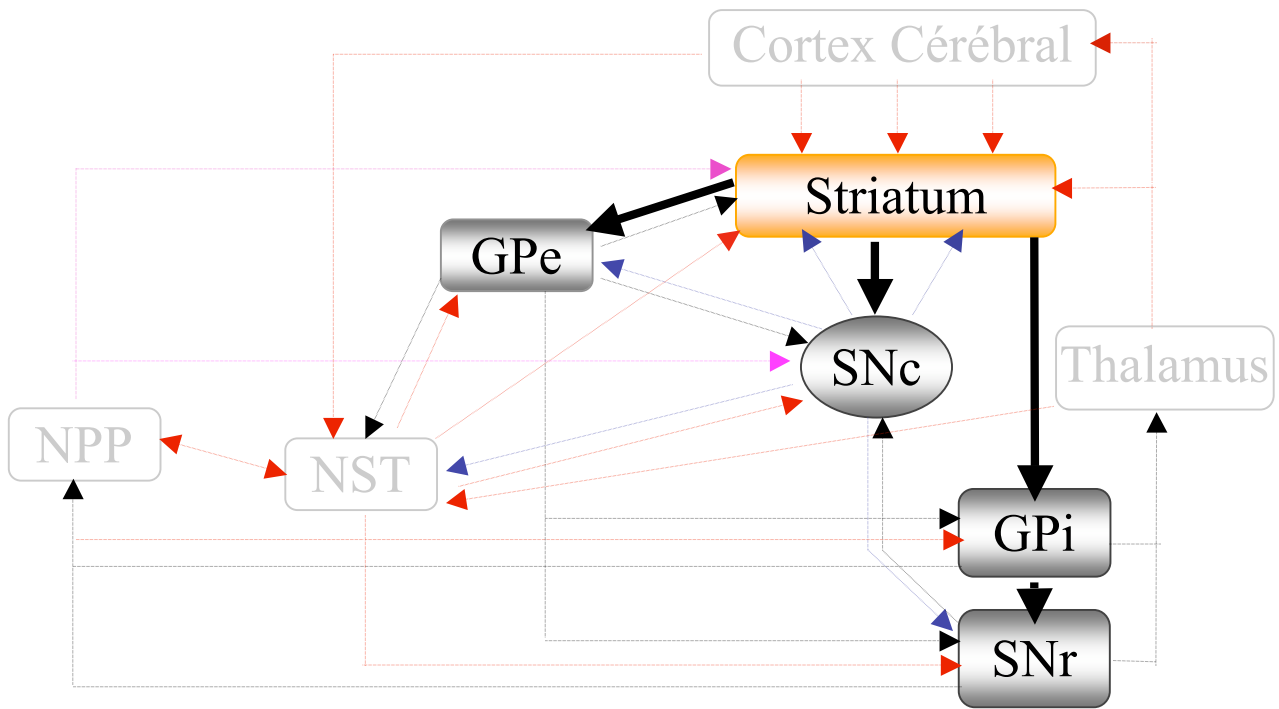
Représentation schématique des principales afférences du striatum

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi**: Globus Pallidus interne (noyau entopédunculaire chez le rat); **NST**: Noyau Subthalamique; **NPP**: Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc**: Substance Noire pars compacta; **SNr**: Substance Noire réticulée.

suggérant un rôle intégratif de celui-ci, mais selon une somatotopie bien précise (voir pour revue, McGeorge et Faull, 1989). Brièvement, les régions dorsale et latérale du striatum sont massivement innervées par le cortex sensorimoteur (avec conservation de l'organisation somatotopique rostro-caudale) alors que la région ventrale, en particulier le noyau accumbens, reçoit des afférences de l'hippocampe (Kelley et Domesick, 1982), du cortex préfrontal, des cortex insulaire, périrhinal et entorhinal (Krayniak et al., 1981; Sorensen et Witter, 1983) et intervient plutôt dans les fonctions limbiques des ganglions de la base. L'organisation topographique des projections corticostriatales respecte donc une régionalisation fonctionnelle. Cette organisation particulière a permis de proposer différents modèles de fonctionnement des ganglions de la base pour le traitement des informations corticales, toutefois, aucun d'entre eux ne semble pleinement satisfaisant. Il est à noter que ces projections cortico-striatales forment des synapses de type asymétrique sur la tête des épines dendritiques des neurones de projection (Somogyi et al., 1981 ; Dube et al., 1988 ; Smith et al., 1994) et sur les prolongements dendritiques des interneurones (Lapper et Bolam, 1992 ; Bennett et Bolam, 1994).

Les projections thalamo-striatales (Fig 19) proviennent des noyaux intralaminaires du thalamus et plus particulièrement du complexe centromédian parafasciculaire (CM/PF) (Deschenes et al., 1995). De nature glutamatergique, elles représentent des entrées striatales similaires aux afférences corticales et sont organisées topographiquement selon les axes antéro-postérieur et médio-latéral (Van Der Kooy et Carter, 1979). Il est à noter que les neurones striataux recevant les afférences thalamiques semblent appartenir à une population neuronale distincte de celle recevant les afférences corticales (Dube et al., 1988; Smith et al., 1994).

Les projections nigro-striatales. (Fig 19). Le striatum reçoit une importante afférence dopaminergique, principalement originaire de la substance noire compacte (SNc) qui innerve le striatum dorsal et qui forme le système dopaminergique nigro-strié (Faull et Carman, 1968). Il reçoit aussi, dans une moindre mesure, des afférences dopaminergiques provenant de l'ATV, qui innerve principalement le striatum médian et ventral, ainsi que de l'aire rétro-rubrale (voir pour revue Joel et Weiner, 2000). Les axones des neurones du système nigro-strié se divisent en quatre ou cinq branches principales qui s'étendent à l'intérieur du striatum dorsal, puis se ramifient en une multitude de prolongements fins portant de nombreuses varicosités (Gauthier et al., 1999). Cette innervation divergente est organisée



- Projections Glutamatergiques
- Projections GABAergiques
- Projections Dopaminergiques
- Projections Acétylcholinergiques

- Figure 20 -
Représentation schématique des principales efférences du striatum

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi:** Globus Pallidus interne (noyau entopédunculaire chez le rat); **NST:** Noyau Subthalamique; **NPP:** Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc:** Substance Noire pars compacta; **SNr:** Substance Noire réticulée.

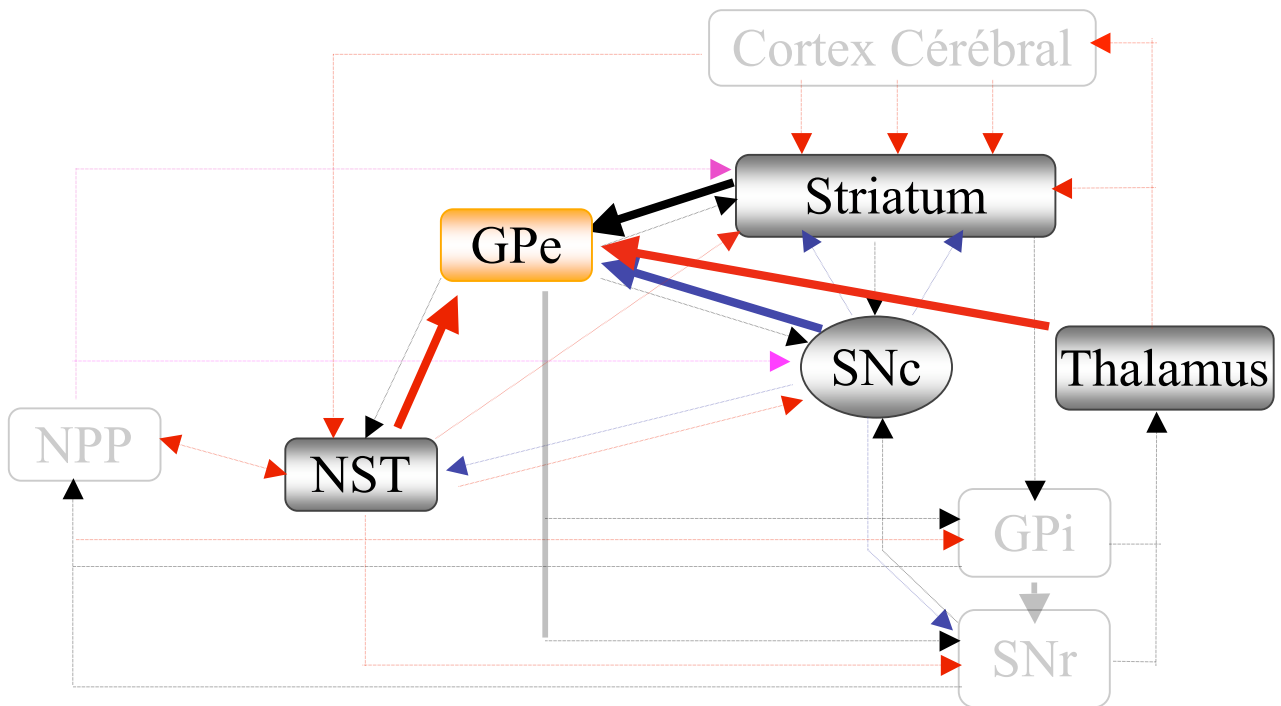
selon une topologie précise: les fibres originaires de la région médiane de la SNc innervent la partie médiane du striatum alors que celles partant de la partie antérieure de la SNc se projettent dans le striatum postérieur (Faull et Mehler, 1978). Les terminaisons dopaminergiques issues des neurones dopaminergiques mésencéphaliques établissent des contacts synaptiques symétriques de type "en passant" (voir pour revue Gerfen et Wilson, 1996 ; Bolam et al., 2000) localisés au niveau du cou des épines dendritiques, des troncs dendritiques proximaux et parfois même des corps cellulaires de ces neurones.

La SNc, le cortex et le thalamus constituent l'origine des trois principales voies afférentes striatales. Cependant d'autres projections, quantitativement mineures, ont été mises en évidence et proviennent notamment du pallidum, du noyau basolatéral de l'amygdale, du noyau subthalamique, du noyau dorsal du raphé, de la formation réticulée et du noyau pédonculopontin (Veening et al., 1980 ; Mori et al., 1985; Parent, 1990) (Fig 13).

III.1.1.3. Les efférences striatales

Le striatum projette massivement des efférences GABAergiques vers les deux segments du pallidum (GPe (ou GP chez le rat), et GPi (ou EP chez le rat)) et la SNr (Fig 20). Ces projections sont organisées topographiquement de telle sorte que la compartimentation fonctionnelle du striatum demeure préservée dans les noyaux de sortie des ganglions de la base et au niveau du GP (Brann et Emson, 1980 ; Mogenson et al., 1983 ; Gerfen, 1985 ; Parent, 1990 ; Hazrati et parent, 1992 ; Parent et Hazrati, 1994 ; Deniau et al., 1996). Ainsi, au niveau de la SNr, chaque région striatale projette sur toute la longueur de la SNr en respectant les relations topographiques dans le sens médiolatéral mais en les inversant dans le sens dorsoventral (Deniau et al., 1996). De plus, étant donné la forte densité cellulaire du striatum par rapport à celle des structures cibles, il existe probablement un très haut degré de convergence des projections striatales sur ces structures (voir pour revue, Smith et al., 1998).

Enfin, des projections striatales ont également été décrites au niveau de la SNc. Ces neurones, dont les terminaisons neuronales co-localisent le GABA, la dynorphine et la substance P, sont localisés au sein des striosomes (Kawagushi, 1997) (Fig 20).



- Projections Glutamatergiques
- Projections GABAergiques
- Projections Dopaminergiques
- Projections Acétylcholinergiques

- Figure 21 -
Représentation schématique des principales afférences du globus pallidus

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi**: Globus Pallidus interne (noyau entopédunculaire chez le rat); **NST**: Noyau Subthalamique; **NPP**: Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc**: Substance Noire pars compacta; **SNr**: Substance Noire réticulée.

III.1.2. Le Globus Pallidus

Chez le primate, le pallidum est séparé par la lame médullaire en deux segments, le segment médian ou interne (GPi) et le segment latéral ou externe (GPe). Chez les rongeurs, le segment interne du pallidum, appelé noyau entopédonculaire, se restreint à un groupe cellulaire situé dans le pédoncule cérébral.

III.1.2.1. Les neurones pallidaux

Les segments pallidaux se composent principalement de neurones de projection qui utilisent le GABA comme neurotransmetteur. Ils s'individualisent en deux populations neuronales différenciables sur la base de leur arborisation dendritique.

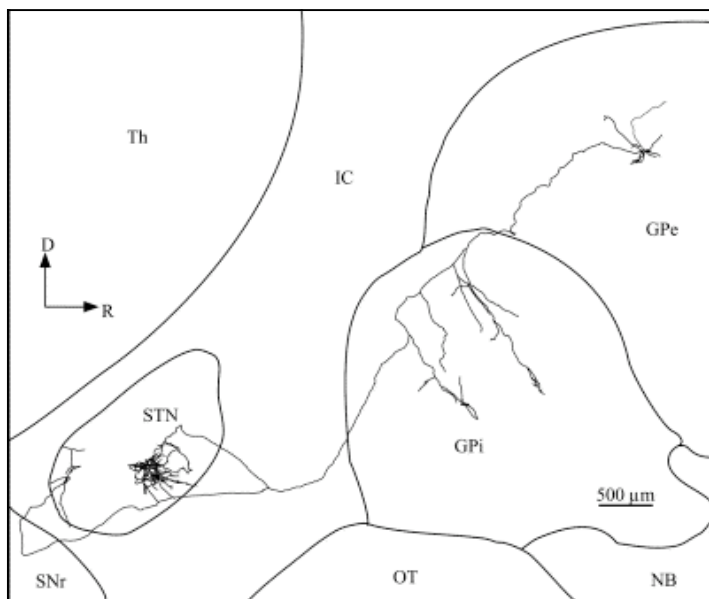
La première population est caractérisée par des neurones possédant un arbre dendritique discoïde orienté perpendiculairement aux afférences striatales (Kita et Kitai, 1994 ; Nambu et Linas, 1997). Ce type cellulaire est observé dans toute l'étendue de la structure (Kita et Kitai, 1994 ; Nambu et Linas, 1997). Du corps cellulaire de ces neurones de taille moyenne (100 à 300 μm^2) à grande (>300 μm^2) partent 2 à 5 dendrites primaires longues et de gros diamètre se ramifiant assez peu et dépourvues d'épines dendritiques (Kita et Kitai, 1994).

La seconde catégorie cellulaire est composée de neurones présentant un arbre dendritique radial (Kita et Kitai, 1994 ; Nambu et Linas, 1997). Ces neurones, moins nombreux que les premiers, présentent un corps cellulaire de petite taille (<100 μm^2) ou de taille moyenne (100 à 300 μm^2) d'où partent 3 à 5 dendrites primaires courtes et fines recouvertes plus ou moins densément d'épines dendritiques (Kita et Kitai, 1994 ; Nambu et Linas, 1997).

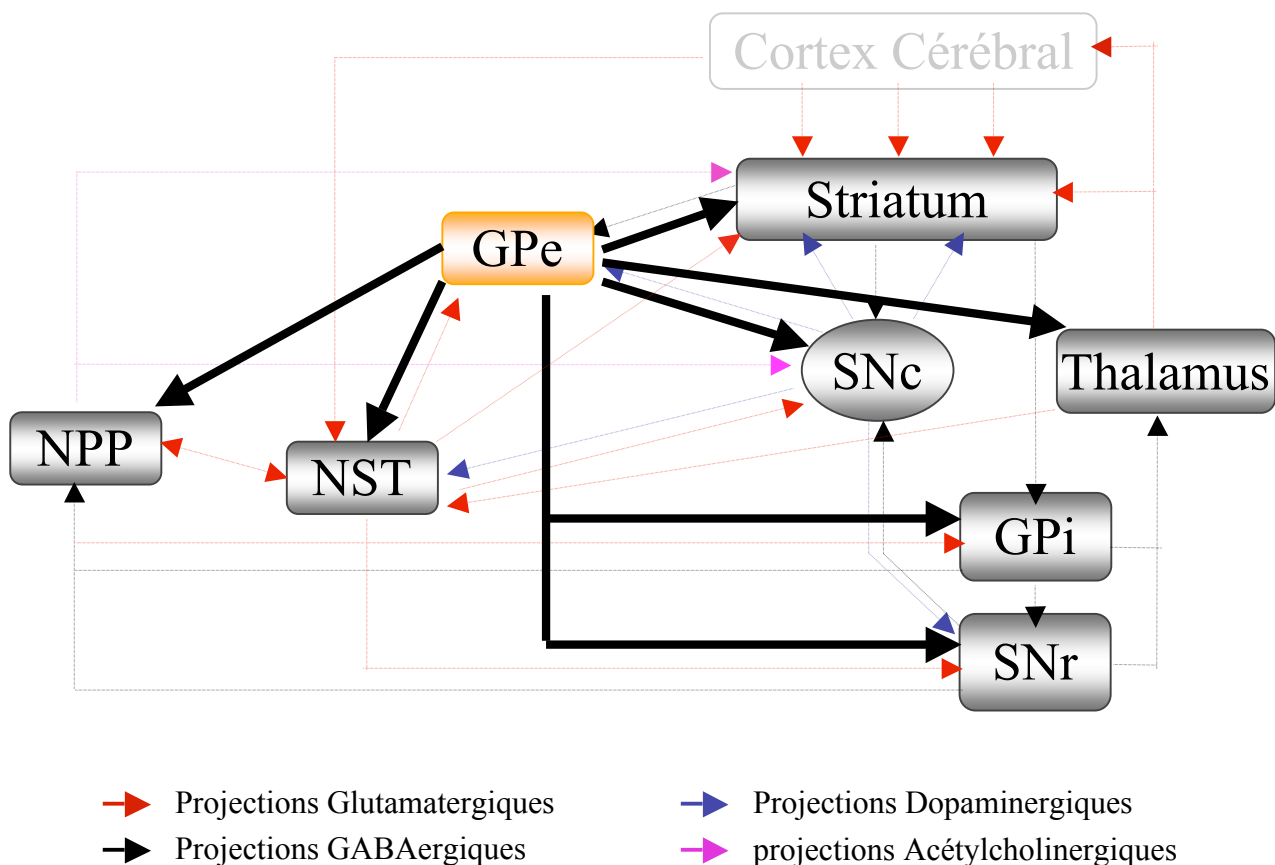
La taille et la diffusion du champ dendritique apparaissent similaires quel que soit le type cellulaire considéré avec des collatérales présentes au sein même du pallidum et se ramifiant pour innover le striatum, la capsule interne, le NST, la SNr et l'EP ou GPi.

III.1.2.2. Les afférences pallidales

Le striatum représente, tant chez le singe que chez le rat, la principale afférence du GP au niveau duquel la topographie fonctionnelle de la mosaïque striatale est conservée (Brann et Emson, 1980 ; Chang et al., 1981 ; Mogenson et al., 1983) (Fig 21). Ces projections forment une arborisation diffuse établissant des synapses symétriques avec les neurones pallidaux (Parent et Hazrati, 1995 a,b; Smith et al., 1998) sur toute la longueur de leurs dendrites. Chez



- Figure 22 -
Vue parasagittale d'une reconstruction des projections d'un neurone du GPe sur le NST et le GPI.
 Notez l'innervation dense et précise du NST. (D'après Parent et al., 2001).



- Figure 23 -
Représentation schématique des principales efférences du globus pallidus

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi:** Globus Pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat); **NST:** Noyau Subthalamique; **NPP:** Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc:** Substance Noire pars compacta; **SNr:** Substance Noire réticulée.

le singe, les boutons terminaux des fibres striatales représentent plus de 80 % des contacts synaptiques s'établissant sur les neurones du GP (Shink et Smith, 1995).

Le pallidum (GP et GPi/EP) reçoit également des afférences glutamatergiques provenant du NST (Kita et Kitai, 1987; Van Der Kooy et Hattori, 1980 ; Robledo et Féger, 1990) et des noyaux intralaminaire du thalamus (Mouroux et al., 1997) (Fig 21). Des afférences dopaminergiques provenant notamment des collatérales des fibres de la voie nigro-striée ont été également décrites chez le rat, le singe, et chez l'homme (Gauthier et al., 1999; Jan et al., 2000 ; Prensa et al., 2000) (Fig 21). Le GP est aussi innervé par l'EP ou GPi (Fink-Jensen et Mikkelsen, 1991) et le noyau pédunculopontin (NPP) (Scarnati et al., 1987).

III.2.2.3. Les efférences pallidales

III.2.2.3.1. Les efférences du GPe ou GP

Un double marquage rétrograde a permis de mettre en évidence que les axones des neurones pallidaux se projettent sur les neurones de la SNr et du noyau EP (GPi) (Fig 22, 23) à la fois chez le rat et le singe (Hazrati et al., 1990; Smith et Bolam 1990, 1991; Bolam et Smith, 1992; Kita et Kitai, 1994; Shink et al., 1996). Des études ultrastructurales ont permis de préciser que ces projections pallidales établissent de larges contacts symétriques répartis de façon relativement égale sur le soma (30 %) et sur la partie proximale (39 %) ou distale (31 %) des dendrites (Smith et Bolam, 1990).

Les neurones pallidaux projettent massivement, par le biais de collatérales d'axones, sur le NST (Fig 22, 23) et établissent des contacts synaptiques sur l'ensemble de ces neurones (Smith et al., 1990 ; Kita et Kitai, 1994). Ces projections pallidales sur le NST respectent une topographie médiolatérale et rostrocaudale (Parent et Hazrati, 1995b). Les neurones situés dans la partie latérale du GP se projettent préférentiellement dans les deux tiers latéraux du NST, alors que ceux situés dans la région médiane du GP et dans le pallidum ventral sous commissural se terminent respectivement dans les parties ventromédiane et dorsomédiane du tiers médian du NST (Parent et Hazrati, 1995a ; Smith et al., 1998). La réciprocity de ces projections pallido-subthalamiques a également été montrée (Groenewegen et Berendse, 1990 ; Shink et al., 1996). La majorité des neurones du GP projette à la fois sur le NST et les structures de sorties des ganglions de la base, SNr et GPi/EP par des collatérales d'axone

(Kita et Kitai, 1994). L'activité des neurones pallidus influence donc fortement celle des neurones du NST (Ryan et al. 1992) mais ne suffit pas à expliquer à elle seule l'activité électrique du NST (Hassani et al. 1996).

Il existe également des projections du GP sur le striatum (Fig 23), dont la présence a été confirmée chez le rat, le chat et le singe (Beckstead, 1983 ; Staines et al., 1981; Kita et Kita, 2001). Ces projections pallido-striatales finissent par représenter une entrée importante vers le striatum depuis que l'on sait que chaque neurone du GP se projetant sur la SNr envoie une collatérale vers le striatum (Staines et Fibiger 1984).

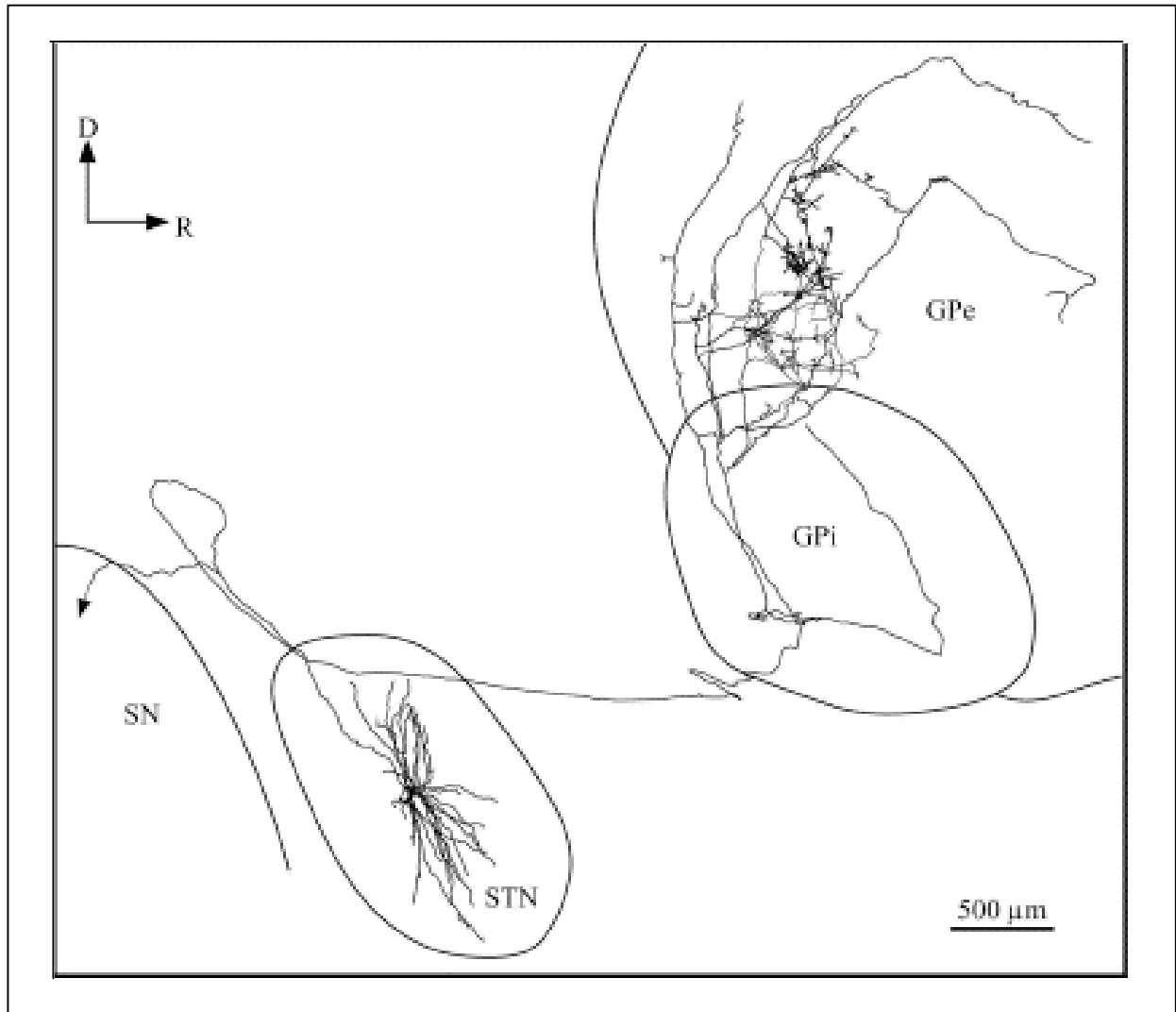
Enfin, le GP projette également sur les neurones de la SNc (Smith et Bolam, 1990 ; Bevan et al., 1996) et sur plusieurs noyaux thalamiques : le noyau réticulé (Shammah-Lagnado et al., 1996 ; Kayahara et Nakano, 1998) et le noyau paraventriculaire (Sugimoto et Hattori, 1984) mais aussi sur les colliculi inférieurs (Yasui et al., 1990) et sur le NPP (Moriizumi et Hattori, 1992) (Fig 23).

III.2.2.3.2. Les efférences du GPi ou EP

Les neurones de l'EP/GPi projettent essentiellement sur le thalamus, plus particulièrement sur les noyaux ventrolatéral et ventro-antérieur (voir pour revue Parent et Hazrati, 1995a). Ils se projettent également sur le noyau pédoculopontin et l'habénula avec un faisceau de projections beaucoup plus important chez le rongeur que chez le singe (Van Der Kooy et Carter, 1981, voir pour revue Parent et Hazrati, 1995a).

III.1.3. Le Noyau Subthalamique

Le NST est un petit noyau fortement vascularisé et contenant une population neuronale dense, localisée dans la portion caudale du diencephale, entre la partie ventrale de la zona incerta et la partie dorsale des pédoncules cérébraux. Tout comme le striatum, le NST présente des territoires fonctionnels distincts, reflétés par l'organisation topographique de ses nombreuses afférences. Ainsi, la partie médiane du NST est interconnectée avec des structures appartenant à la partie limbique du circuit des ganglions de la base, tandis que la partie latérale du NST est plutôt liée à des structures impliquées dans le circuit moteur des ganglions de la base (Groenewegen et Berendse, 1990 ; Smith et al., 1990). Les études morphologiques réalisées avec de récentes méthodes de traçage semblent montrer que le NST était plus qu'un simple



- Figure 24 -

Projection d'un neurone du NST sur le GPi, GPe et la SN, vue dans un plan parasagittal. Dans ce cas on remarque une arborisation abondante et étendue au niveau du GPe. (D'après Parent et al., 2001).

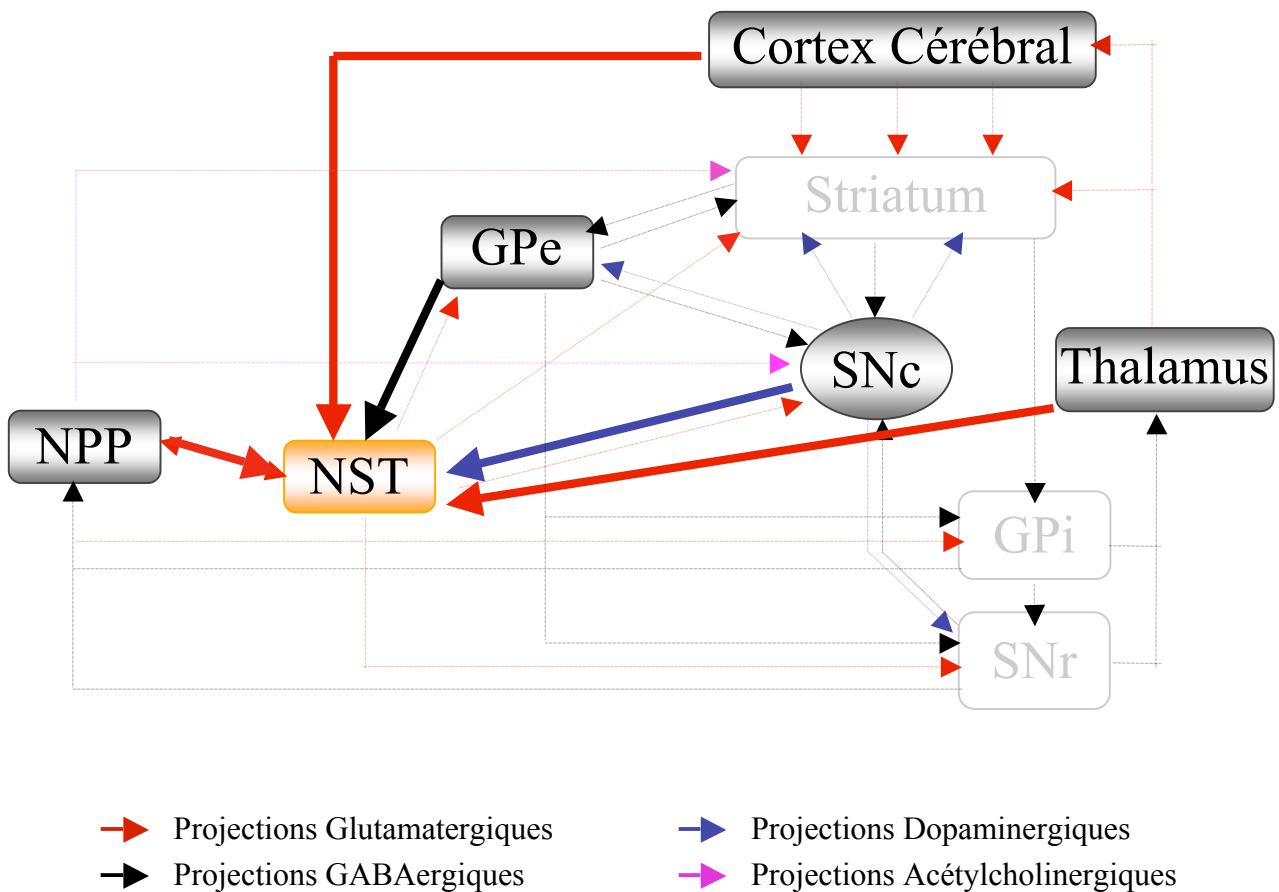
relais des informations pallidales. Sa relation étroite avec les principales structures des ganglions de la base indique que le NST joue probablement un rôle pivot dans l'organisation fonctionnelle des noyaux gris centraux (Kitai et Kita, 1987; Levy et al., 1997).

III.1.3.1. Les neurones subthalamiques

Chez le rat, le NST apparaît comme une structure homogène, composée essentiellement, si ce n'est exclusivement, d'un seul type de neurones de projection utilisant le glutamate comme neurotransmetteur (Robledo et Féger 1990). À l'inverse, chez le singe, cinq types distincts de neurones de projection ont pu être identifiés sur la base de leurs structures cibles (Sato et al., 2000).

Des corps cellulaires fusiformes, polygonaux ou ovoïdes des neurones du NST (25 à 50 µm de diamètre) partent 3 à 4 dendrites primaires qui se ramifient ensuite en prolongements fins partiellement recouverts d'épines dendritiques (Hammond et Yelnik, 1983 ; Kita et al., 1983). Les dendrites du NST peuvent présenter jusqu'à 6 ramifications successives et s'étendent principalement dans le plan du noyau. Le champ dendritique épouse la forme et les dimensions du NST, cependant, chez le rat, certaines dendrites sortent des limites ventrale, rostrale et dorsale pour se terminer respectivement dans le pédoncule cérébral, la capsule interne et la zona incerta (Hammond et Yelnik, 1983). On parle de 'noyau ouvert'. Chez le primate, le noyau est dit 'fermé' car limité dorsalement par un faisceau de fibres. L'axone des neurones du NST se divise en deux branches principales dont l'une part dorsolateralement dans le pédoncule cérébral pour se terminer dans le complexe pallidal alors que la deuxième branche innerve la substance noire réticulée (Fig 24) (Hammond et Yelnik, 1983 ; Kita et al., 1983). Le marquage intracellulaire à la HRP montre que, chez le rat, la branche subthalamo-pallidale est plus fine que la branche subthalamo-nigrale (Kita et al., 1983). Cette différence de diamètre axonal entre les projections ascendantes et descendantes n'est pas retrouvée chez le singe (Sato et al., 2000).

Enfin, les données de la littérature divergent quant à la présence d'interneurones au sein du NST. Quelques études ont identifié des interneurones chez le rat (Chang et al., 1983) et le singe (Rafols et Fox, 1976) alors que d'autres ne les ont pas observés (Yelnik et Percheron, 1979).



- Figure 25 -

Représentation schématique des principales afférences du noyau subthalamique

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi**: Globus Pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat); **NST**: Noyau Subthalamique; **NPP**: Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc**: Substance Noire pars compacta; **SNr**: Substance Noire réticulée.

III.1.3.2. Les afférences subthalamiques

Le NST reçoit des projections massives du cortex (Kitai et Deniau, 1981 ; Canteras et al., 1990) et du GP/GPe (Carter et Fibiger, 1978) (Fig 25). La SNc, (Campbell et al., 1985; Hassani et al., 1997), l'aire tegmentale ventrale (Hassani et al., 1997), le noyau pédonculopontin (PPN), le complexe centro-médian et le noyau parafasciculaire du thalamus et le raphé dorsal projettent également sur le NST (Gerfen et al., 1982 ; Groenewegen et Berendse, 1990; Parent et Hazrati, 1995) (Fig 25).

Les projections cortico-subthalamiques: sont massives, ipsilatérales et de nature glutamatergique. Chez le singe, la principale projection corticale du NST provient du cortex moteur primaire. Ces projections se terminent dans la partie dorsolatérale du noyau et présente une organisation somatotopique (Nambu et al., 1996). Le NST reçoit également des projections en provenance du cortex pré-moteur, de l'aire motrice supplémentaire (AMS) et de la pré-AMS qui se localisent également sur de larges régions dorsales du noyau mais plus ventralement que celles provenant du cortex moteur primaire (Nambu et al., 1997b). La région ventro-médiane du NST reçoit quant à elle des projections des aires oculomotrice et oculomotrice supplémentaire (Stanton et al., 1988). Chez le rat, les cortex moteur et somato-sensoriel primaires, préfrontal, cingulaire médian et dans une moindre mesure le cortex insulaire (Canteras et al., 1990) représentent la source majeure des afférences corticales du NST. La majorité de ces afférences corticales proviennent de la couche V (Kitai et Deniau, 1981) et certains neurones corticaux projettent à la fois sur le NST et le striatum via des collatérales d'axone (Féger et al., 1994). Le cortex moteur primaire projette largement sur toute l'étendue du NST selon une organisation rostro-caudale et médio-latérale précise (Afsharpour, 1985).

Les projections pallido-subthalamiques ont été décrites plus haut dans le paragraphe concernant les afférences pallidales (III.1.2.3.1.).

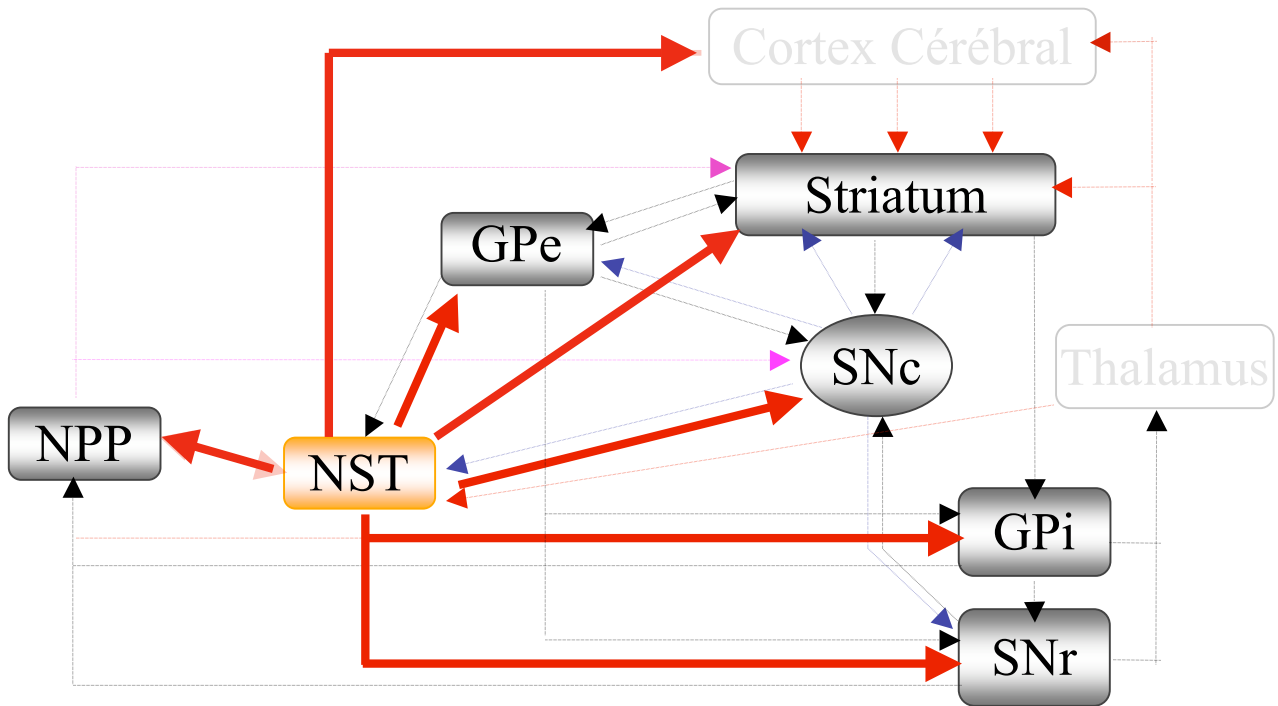
Les projections thalamo-subthalamiques provenant du CM/PF ont été décrites à la fois chez le rat (Gerfen et al., 1982 ; Sugimoto et Hattori, 1983 ; Féger et al., 1994; Groenewegen et Berendse, 1990) et le singe (Sadikot et al., 1992). Chez le rat, ces projections proviennent principalement de la partie médiane du PF (Gerfen et al., 1982 ; Sugimoto et Hattori, 1983 ; Groenewegen et Berendse, 1990). Des expériences de double marquage rétrograde chez le rat

indiquent que ces projections thalamo-subthalamiques proviennent de neurones différents de ceux qui projettent dans le striatum (Féger et al., 1994). Ces neurones thalamo-subthalamiques se terminent sur les neurones du NST qui projettent sur le GP (Sugimoto et Hattori, 1983). Des études neurochimiques, pharmacologiques et électrophysiologiques suggèrent fortement que ces projections thalamo-subthalamiques sont excitatrices et utilisent le glutamate (Glu) comme neurotransmetteur (Mouroux et al., 1995). L'organisation topographique médiolatérale du noyau parafasciculaire est relativement bien conservée au niveau du NST (Groenewegen et Berendse, 1990, Bevan et al., 1995). Cependant, un recouvrement des projections du PF médial et latéral est observé dans le quart rostral du NST, ce qui pourrait constituer une zone de convergence entre les canaux d'informations limbique et sensorimoteur (Bevan et al., 1995).

L'innervation dopaminergique nigro-subthalamique est principalement issue de la SNc. Cette innervation directe des neurones du NST n'a été établie de façon claire que très récemment, d'abord chez le rat puis chez le primate et l'homme (Hassani et al., 1997 ; Gauthier et al., 1999 ; Hedreen, 1999 ; François et al., 2000). Chez le rat et l'homme, la SNc projette sur l'ensemble du NST avec une certaine correspondance topographique puisque les parties dorsolatérale et ventrolatérale de la SNc innervent préférentiellement les régions dorsolatérale et ventrolatérale du NST (Hassani et al., 1997). Chez le singe, il semblerait que la partie ventrolatérale du NST ne reçoive pas d'innervation dopaminergique (Lavoie et al., 1989).

Le noyau pédonculo-pontin (NPP) envoie des projections bilatérales denses sur toute l'étendue du NST et lui fournit sa principale afférence cholinergique (Hammond et al., 1983 ; Canteras et al., 1990 ; Lavoie et Parent, 1994). En plus des terminaisons cholinergiques, des terminaisons glutamatergiques et GABAergiques en provenance du NPP ont également été mises en évidence dans le NST (Bevan et Bolam, 1995). Plus récemment, il a été montré que la plupart des terminaisons cholinergiques au sein du NST présentaient une forte immunoréactivité au glutamate (Clarke et al., 1997).

Chez le rat, la partie rostrale du raphé dorsal projette de façon diffuse et bilatérale sur le NST (Mori et al., 1985 ; Canteras et al., 1990). Les fibres sérotoninergiques innervent plus particulièrement les parties ventrales et médianes du NST chez le singe (Mori et al., 1985).



- ➔ Projections Glutamatergiques
- ➔ Projections Dopaminergiques
- ➔ Projections GABAergiques
- ➔ Projections Acétylcholinergiques

- Figure 26 -

Représentation schématique des principales efférences du noyau subthalamique

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi:** Globus Pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat); **NST:** Noyau Subthalamique; **NPP:** Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc:** Substance Noire pars compacta; **SNr:** Substance Noire réticulée.

III.1.3.3. Les afférences subthalamiques

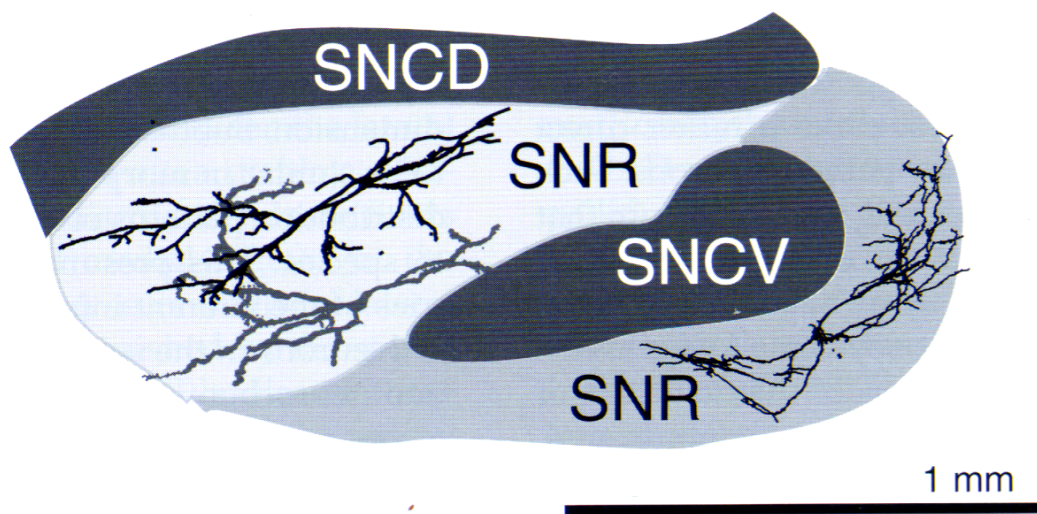
La nature glutamatergique excitatrice des terminaisons des neurones du NST sur chacune de ses structures cibles est aujourd'hui bien établie. Elle repose sur des observations immunohistochimiques (Kita et Kitai, 1987 ; Parent et Smith, 1987 ; Smith et Parent, 1988) et électrophysiologiques (Nakanishi et al., 1987, 1991 ; Robledo et Féger, 1990).

Les principales structures cibles du NST

Les afférences du NST se projettent principalement sur le GP (GPe chez le primate) l'EP ou GPi et la SNr (Fig 26) (Van Der Kooy et Hattori, 1980 ; Hammond et Yelnik, 1983). Chez le rat, les neurones du NST émettent de nombreuses collatérales. Des marquages intracellulaires (Hammond et Yelnik, 1983 ; Kita et al., 1983), des études électrophysiologiques (Hammond et al., 1983) et l'utilisation de traceurs (Bevan et al., 1994) ont montré qu'un même neurone du NST envoyait des collatérales dans le GP, l'EP et la SNr (Fig 24) (Deniau et al. 1978 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980). Chez le singe, le degré de collateralisation est plus faible (Carpenter et al., 1981 ; Smith et al., 1990) et les neurones du NST envoyant des collatérales sur les trois cibles principales du noyau ne représentent que 20% de la population totale (voir pour revue Hamani et al., 2004). L'utilisation de technique de double marquage avec des traceurs antérogrades a permis de montrer que les neurones de la SNr et de l'EP/GPi qui reçoivent des afférences en provenance du NST sont également les cibles des neurones du striatum et du GP/GPe (Bolam et al., 1993 ; Bevan et al., 1994 ; Smith et al., 1998). Néanmoins, les fibres subthalamiques projettent sur un grand nombre de neurones pallidaux où elles forment des contacts sur les corps cellulaires alors que les fibres striatales projettent de façon plus restreinte sur quelques neurones en formant des contacts sur les dendrites distales (Hazrati et Parent, 1992a, b, c).

Somatotopie des projections

L'organisation topographique dorso-ventrale et médio-latérale du NST est parfaitement conservée au niveau de ces structures cibles (Van Der Kooy et Hattori, 1980 ; Kita et Kitai, 1987 ; Bevan et al., 1994) sauf pour le GP où une inversion de la topographie dorso-ventrale est observée. De plus, il a été montré chez le primate que les neurones des territoires sensorimoteur, associatif et limbique du NST sont réciproquement connectés avec les neurones des mêmes territoires fonctionnels dans le GPe (GP chez le rat) et innervent les



-Figure 27 -

Schéma d'une coupe sagittale de substance noire montrant l'organisation des neurones dopaminergiques de la SNc et des neurones GABAergiques de la SNr.

Notez les dendrites de la partie ventrale de la SNc qui s'étendent au niveau de la SNr. Notez également que le champ dendritique des neurones de la partie dorsale de la SNr s'étend dans les 3 dimensions de l'espace, alors que les dendrites des neurones de la partie ventrale restent confinées dans le plan ventral du noyau.

SNCD: Substance Noire Compacte Dorsale; **SNCV:** Substance Noire Compacte Ventrale; **SNr:** Substance Noire Réticulée.

(D'après 'the rat nervous system' third edition, G. Paxinos, Elsevier Academic Press, 2004).

neurones des territoires fonctionnels correspondant dans le GPi (EP chez le rat) (Shink et al., 1996).

Les autres efférences

D'autres projections du NST, plus discrètes, ont été décrites sur la SNc (Kita et Kitai, 1987; Smith et al., 1990), le striatum (Kita et Kitai, 1987), le NPP (Hammond et al., 1983 ; Kita et Kitai, 1987), la moelle épinière (Kita et Kitai, 1987 ; Takada et al., 1987) et le cortex (Jackson et Crossman, 1981) (Fig 26).

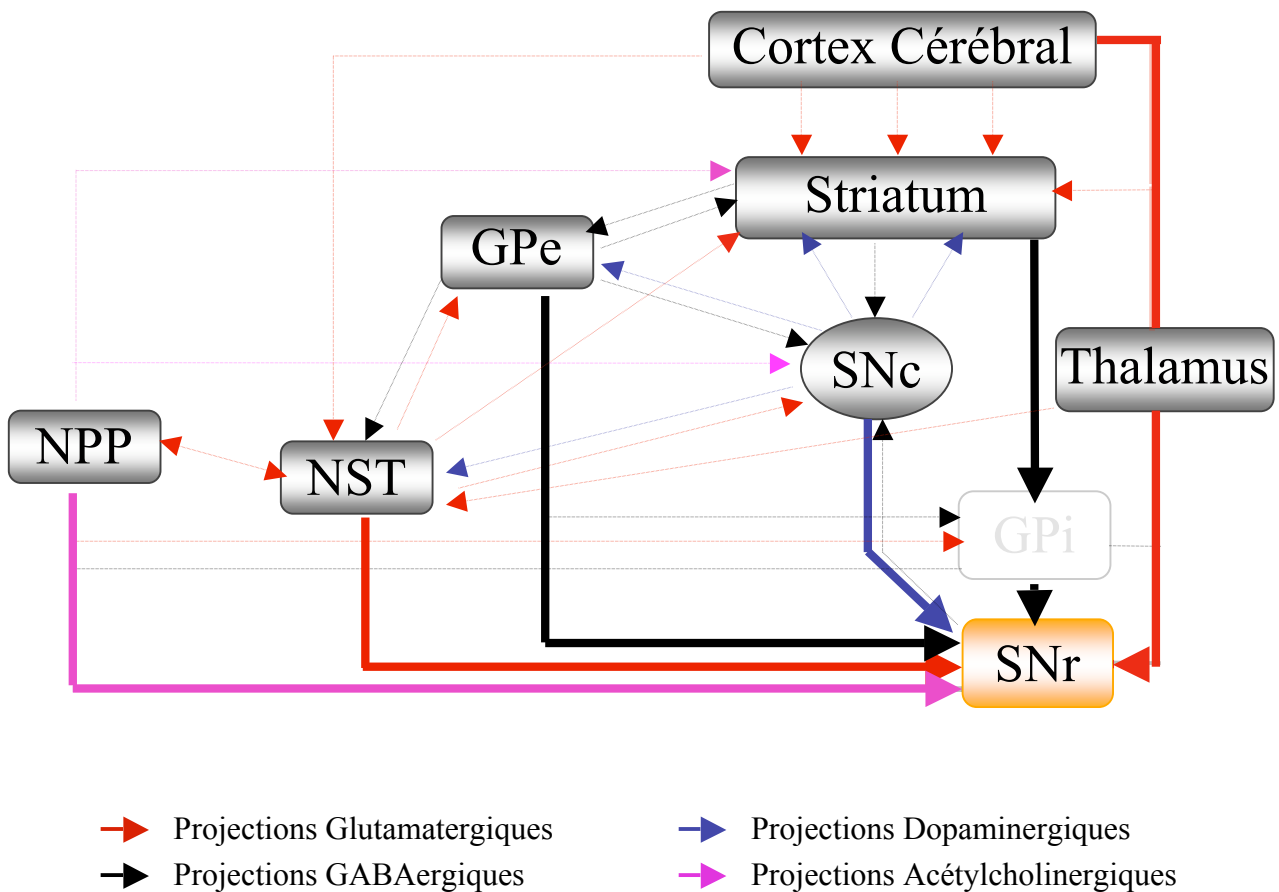
III.1.4. La Substance Noire

III.1.4.1. Les neurones nigraux

La Substance Noire (SN), située dans le mésencéphale ventral, se divise en deux parties :

- La SN compacte (SNc), dense, située dorsalement, contient de nombreux corps cellulaires dopaminergiques. Elle représente, avec l'ATV et l'aire rétro-rubrale, l'une des 3 régions dopaminergiques du mésencéphale. La répartition de l'arborisation dendritique de ces neurones permet de les classer en deux groupes : l'un constitué des neurones situés dans la partie dorsale de la SNc, dont les dendrites restent principalement dans cette structure ; l'autre représenté par des neurones situés dans la partie ventrale de cette SNc et dont les dendrites s'étendent ventralement dans la SNr (Fig 27) (François et al., 1987; Tepper et al., 1987).

- La Substance Noire réticulée (SNr) est plus volumineuse et caractérisée par une faible densité de corps cellulaires. Elle est essentiellement constituée de neurones multipolaires GABAergiques présentant des corps cellulaires de taille variable et de forme particulièrement irrégulière (16 à 50 μm sur leur grand axe et de 8 à 32 μm sur leur petit axe) (voir pour revue Gerfen et Wilson, 1996). L'arbre dendritique de ces neurones peut s'étendre jusqu'à 1,5 mm dans l'axe rostro-caudal, 700 μm en medio-latéral et 400 μm dans l'axe dorso-ventral. Il peut ainsi couvrir 50 à 80 % de la longueur de la SNr et 70 % de sa largeur. (François et al., 1987; Grofova et al., 1982). L'orientation du champ dendritique d'un neurone dépend de la position de celui-ci à l'intérieur de la structure. Les neurones de la partie dorsale ont des dendrites qui s'étendent suivant les 3 axes alors que les neurones de la partie ventrale ont des dendrites qui restent confinées dans le plan ventral du noyau (Fig 27).



- Figure 28 -

Représentation schématique des principales afférences de la substance noire réticulée

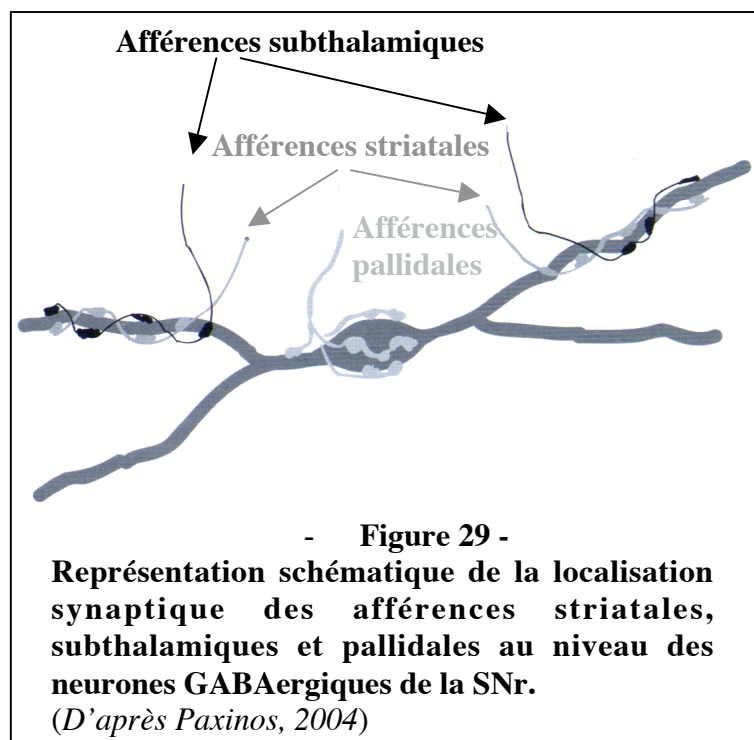
GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi**: Globus Pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat); **NST**: Noyau Subthalamique; **NPP**: Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc**: Substance Noire pars compacta; **SNr**: Substance Noire réticulée.

La SNr contient aussi quelques neurones dopaminergiques (Gerfen, 1985) et des interneurons GABAergiques (François et al., 1994). La SNr est considérée avec l'EP/GPi comme une des principales structures de sortie du réseau des ganglions de la base.

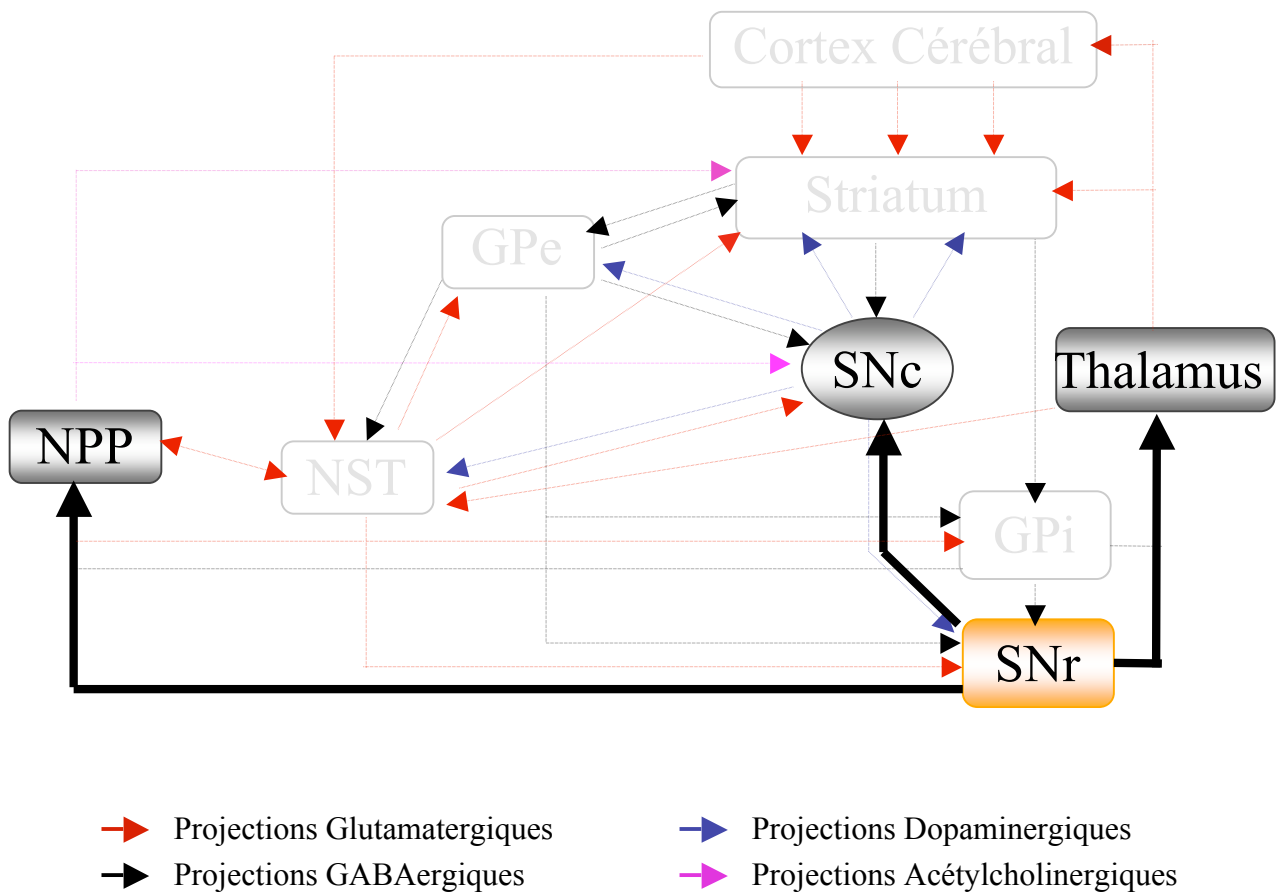
III.1.4.2. Les afférences nigrales

La SNc reçoit des afférences GABAergiques inhibitrices du striatum, du GP/GPe, et de la SNr (Hajos et Greenfield, 1994; Smith et Bolam, 1990; Smith et al., 1998), des afférences excitatrices glutamatergiques du NST (Kita et Kitai, 1987; Parent et Hazrati, 1995a) et du cortex cérébral ainsi que des afférences excitatrices cholinergiques du NPP. Des afférences sérotoninergiques provenant du raphé (Corvaja et al., 1993; Moukhles et al., 1997) et des afférences inhibitrices provenant de l'habenula latérale (Herkenham et Nauta, 1979) ont également été décrites.

La SNr présente des connexions similaires à celles du EP/GPi. Elle reçoit des afférences GABAergiques du striatum (Fig 28 ; Fig 29) avec une organisation topographique très précise où la somatotopie des projections corticales sur le striatum est conservée au niveau de la SNr (Deniau et al., 1996 ; Mailly et al., 2001). Cette organisation fonctionnelle en sous-territoires sensorimoteur, associatif et limbique a été mise



en évidence au sein des noyaux de sortie des ganglions de la base par des études utilisant la HRP injectée dans les sous-territoires fonctionnels du striatum. Deniau et al. (1996) ont ainsi décrit la conformation en pelure d'oignon de la SNr montrant que la partie la plus ventrale de cette structure reçoit les projections striatales à caractère extéroceptif, la partie intermédiaire, les projections issues des régions striatales sensorimotrices alors que les enveloppes dorsale et ventrale sont innervées par les régions striatales connectées aux aires corticales préfrontales.



- Figure 30 -

Représentation schématique des principales efférences de la substance noire réticulée

GPe: Globus Pallidus externe (GP chez le rat); **GPi**: Globus Pallidus interne (noyau entopédonculaire chez le rat); **NST**: Noyau Subthalamique; **NPP**: Noyau Pédonculon-Pontin; **SNc**: Substance Noire pars compacta; **SNr**: Substance Noire réticulée.

La SNr reçoit également des afférences GABAergiques du GP et du noyau accumbens (Smith et al., 1998 ; Deniau et al., 1994) (Fig 28). Ces projections forment des synapses symétriques sur les parties distales et proximales des dendrites des neurones GABAergiques de la SNr (Fig 29). Les afférences glutamatergiques issues du NST (Fig 28) forment des contacts synaptiques asymétriques sur la partie distale de ces mêmes dendrites (Fig 29) (Kita et Kitai, 1987). Des afférences du cortex moteur, de l'amygdale, du raphé dorsal, du noyau parafasciculaire, des noyaux pédonculopontin ipsi- et contro-latéraux (Gerfen et al., 1982) ont également été mises en évidence (Fig 28). Enfin, la SNr reçoit également une afférence dopaminergique qui résulte de la libération de DA par les dendrites de la SNc (Fig 28) (Gauthier et al., 1999).

III.1.4.3. Les efférences nigrales

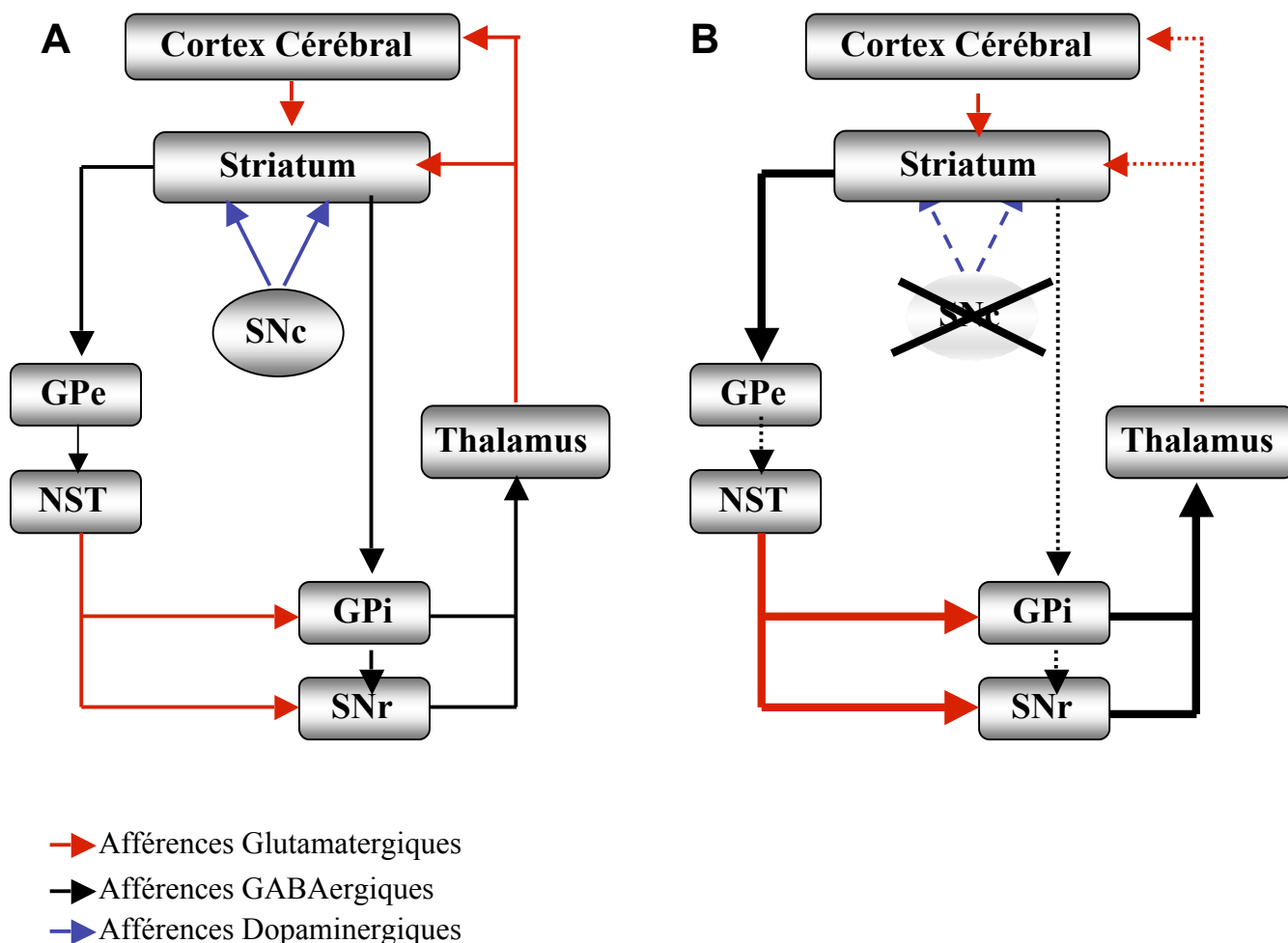
Les principales efférences de la **SNc** sont le striatum, le NST et le GP. La voie nigro-striale a déjà été décrite plus haut paragraphe 1.3 . D'autres projections moins nombreuses partent vers le cortex cingulaire antérieur et suprarhinal, le septum latéral, l'amygdale, les tubercules olfactifs et le locus coeruleus.

Les projections de la **SNr** sont similaires à celles de l'EP/GPi. Elle projette des efférences GABAergiques, essentiellement vers le thalamus plus précisément les noyaux ventro-médian chez le rat et les noyaux antéro-ventral, ventro-latéral et dorso-médian chez le primate. Les neurones efférents de la SNr se projettent également sur la SNc (Deniau et al., 1982; Tepper et al., 1995), le NPP (Kang et Kitai, 1990) et le colliculus supérieur (Parent et Hazrati, 1995a) (Fig 30). La topographie de ces efférences conserve l'organisation lamellaire de la SNr.

III.2. Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base

III.2.1. Le modèle classique

Sur la base de données anatomiques, pharmacologiques et physiologiques, obtenues chez l'animal et chez l'homme, un modèle d'organisation anatomo-fonctionnelle des noyaux gris centraux comprenant deux circuits parallèles a initialement été proposé par Albin et collaborateurs en 1989 (Fig 31A). Repris par Alexander et Crutcher (1990) et DeLong (1990), et considéré comme modèle de référence de l'organisation des noyaux gris centraux, il fournit une explication concernant le contrôle du mouvement au sein des ganglions de la base à l'état



- Figure 31 -

Représentation schématique de l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base, basée sur le modèle courant, chez un individu sain (A) et chez un patient parkinsonien (B). Dans les conditions pathologiques (B), les flèches épaisses et pointillées représentent respectivement les voies hyperactives et hypoactives. (D'après Albin et al., 1989).

normal et a permis de conceptualiser les modifications fonctionnelles induites par la dégénérescence de la voie dopaminergique nigro-striée dans la MP (DeLong, 1990).

Selon le modèle proposé par Albin et collaborateurs (1989), le striatum, qui reçoit une afférence excitatrice massive de l'ensemble du cortex, constitue l'entrée du circuit des ganglions de la base. Il est connecté aux structures de sorties, la SNr et le GPi (EP chez le rat), par l'intermédiaire de 2 voies dites 'directe' et 'indirecte'. La voie directe, mono-synaptique et inhibitrice, est composée de neurones striataux GABAergiques qui colocalisent la substance P et/ou la dynorphine et qui projettent directement sur les structures de sortie. La voie indirecte, poly-synaptique, est globalement excitatrice puisque composée de deux connexions inhibitrices et une excitatrice. La première connexion est représentée par les neurones striataux, exprimant le GABA et les enképhalines, qui projettent sur le GPe (GP chez le rat). La seconde connexion se fait par la projection des neurones GABAergiques pallidaux sur le NST. Enfin, la dernière connexion correspond à la projection des neurones glutamatergiques du NST sur les structures de sortie. Ces structures envoient ensuite des projections GABAergiques inhibitrices sur le thalamus qui exerce un effet excitateur sur le cortex cérébral, activant les sorties motrices (Fig 31A).

Selon ce schéma d'organisation, les propriétés fonctionnelles du double circuit direct-indirect proviennent des influences opposées que possède chaque voie sur les structures de sortie des ganglions de la base. Ainsi, l'activation de la voie directe, qui inhibe les structures de sorties des ganglions de la base, désinhibant ainsi la voie thalamo-corticale, a un effet permissif sur l'expression des activités corticales. Ce processus de désinhibition est considéré comme central dans la physiologie des ganglions de la base et participerait à l'initiation du mouvement. A l'inverse, la mise en jeu de la voie indirecte aura un effet répressur sur l'expression des programmes moteurs par renforcement de l'inhibition des voies thalamo-corticales. Ce processus participerait au contrôle de l'amplitude du mouvement et de l'inhibition de programmes moteurs inappropriés.

Dans des conditions physiologiques normales, il s'établit donc au niveau des structures de sortie des ganglions de la base, un équilibre subtil entre l'action inhibitrice de la voie directe et l'action excitatrice de la voie indirecte.

Cet équilibre est sous le contrôle des neurones dopaminergiques de la SNc. Comme nous l'avons déjà indiqué dans les rappels anatomiques du striatum (cf paragraphe III.1.1), de nombreux travaux tendent à indiquer que les récepteurs dopaminergiques de type D1 sont préférentiellement localisés au niveau des corps cellulaires des neurones appartenant à la voie directe, tandis que les récepteurs D2 sont préférentiellement localisés sur les neurones striato-

pallidiaux appartenant à la voie indirecte. L'activation des récepteurs D1, couplés à une protéine Gs, induit une stimulation de l'adénylate cyclase et conduit à une excitation des cellules sur lesquelles ils sont localisés (Jensen et al., 1996). La mise en jeu des récepteurs D2, couplés à une protéine Gi, aboutit à une réduction de l'activité neuronale (Huff, 1996). La DA nigrale, libérée au niveau striatal, induit donc l'activation des neurones de la voie directe et l'inhibition des neurones de la voie indirecte.

La perte progressive des neurones dopaminergiques, observée dans la MP, entraîne l'installation d'un déséquilibre entre ces deux voies : la voie directe deviendrait 'hypoactive' tandis que la voie indirecte serait 'hyperactive'. Ces phénomènes ayant tous deux pour conséquences une augmentation de l'activité des structures de sortie des ganglions de la base (Fig 31B).

III.2.2. Remise en cause du modèle classique

Le schéma conceptuel d'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base en deux circuits parallèles, initialement proposé par Albin et collaborateurs (1989), a apporté une aide précieuse dans la compréhension des troubles moteurs associés aux pathologies affectant cet ensemble de structures. Toutefois, ce modèle ne prend pas en compte toute la complexité des ganglions de la base, notamment l'existence de certaines voies anatomiques (Chesselet et Delfs, 1996). Ainsi, les études biochimiques et électrophysiologiques sont de plus en plus nombreuses à remettre en cause ce schéma classique (voir pour revue, Albin et al., 1995 ; Levy et al., 1997 ; Parent et Cicchetti, 1998 ; Obeso et al., 2000).

III.2.2.1. La remise en cause du concept de voie directe et indirecte

Des études ont mis en évidence que les neurones efférents du striatum, à l'origine des voies directe et indirecte, possédaient de nombreuses collatérales conduisant à une interconnection de ces deux voies initialement décrites comme totalement ségréguées. En effet, certaines terminaisons striatales du GPe/GP sont immuno-positives pour la substance P, suggérant que des neurones de la voie 'directe' émettent également des collatérales sur le GPe/GP. De façon symétrique, des terminaisons immuno-positives pour l'enképhaline sont retrouvées dans le GPi/EP et la SNr (Kawagushi et al., 1990 ; Wu et al., 2000).

Le concept de ségrégation de l'expression des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 au niveau striatal en fonction des voies de projection est également remis en cause. En effet, des

études d'hybridation *in situ* ont montré qu'il existait une colocalisation des ARNm des récepteurs D1 et D2 dans de nombreux neurones striataux (Surmeier et al., 1996 ; Aizman et al., 2000), même si le niveau d'expression de chaque type de récepteur était différent selon les neurones observés, striato-pallidaux ou striato-nigraux (Gerfen et Young, 1988 ; Gerfen et al., 1990 ; Lemoine et Bloch, 1995).

Par ailleurs, la remise en cause des concepts de voie directe et indirecte est attestée par des données anatomiques qui montrent l'existence de projections directes du GPe/GP sur les structures de sortie des ganglions de la base (Parent et Hazrati, 1995b). Ainsi, le GPe/GP peut interagir directement avec la SNr et le GPi/EP sans passer par un relais anatomique représenté par le NST. De plus, les relations existant entre le GPe/GP et le NST, les deux structures de la voie indirecte, semblent plus complexes qu'une simple fonction de relais entre le striatum et les voies de sortie. En effet, les neurones du NST, qui reçoivent des afférences du GPe/GP projettent en retour sur les neurones du GPe/GP, donnant ainsi naissance à une boucle de contrôle rétroactif de l'activité de la voie indirecte (Robledo et Féger, 1990 ; Parent et Hazrati, 1995 ; Smith et al., 1998). De même, il a été montré que les neurones du GPe/GP projetaient sur les noyaux réticulaires du thalamus, suggérant que cette structure pourrait influencer les fonctions motrices indépendamment des structures de sortie (Shammah-Lagnado et al., 1996). Enfin, dans le modèle d'Albin et collaborateurs (1989), la voie cortico-subthalamique est sous-représentée. Aujourd'hui, de nombreuses études ont pu montrer l'existence de projections directes du cortex sur le NST (Féger et al., 1994 ; Bevan et Bolam, 1995 ; Smith et al., 1998), remplaçant ainsi le NST comme une structure d'entrée des ganglions de la base au même titre que le striatum. Cette afférence au NST assure ainsi un transfert rapide des informations corticales aux structures de sortie des ganglions de la base.

III.2.2.2. Remise en question de l'hypoactivité du GPe/GP en situation parkinsonienne

Selon le schéma classique des ganglions de la base, l'hyperactivité du NST, observée après déplétion dopaminergique, est due à une diminution de l'activité des neurones du GPe (GP chez le rat) (Albin et al., 1989 ; DeLong, 1990). Cependant, cette hypoactivité du GPe/GP est aujourd'hui remise en cause (Obeso et al., 1997). Bien que des études relatent la baisse de fréquence de décharge des neurones du GPe/GP aussi bien chez le singe traité au MPTP, que chez le rat 6-OHDA (Filion et Tremblay, 1991 ; Pan et Walters, 1988), d'autres travaux plus récents, réalisés chez le singe et l'homme, ne montrent pas de variation d'activité

GABAergique (ARNm de la GAD) ou métabolique (ARNm codant pour la sous-unité I de la cytochrome oxydase) de ces mêmes neurones (Levy et al., 1997 ; Vila et al., 1997). Des études similaires suggèrent même une hyperactivité de cette structure chez le singe MPTP et le rat 6-OHDA (Kincaid et al., 1992 ; Soghomonian et Chesselet, 1992 ; Herrero et al., 1996). Enfin, des études électrophysiologiques ont montré qu'une lésion du GPe/GP n'induisait qu'une faible augmentation (20%) de l'activité de décharge des neurones du NST en comparaison avec l'augmentation induite par une lésion de la SNc (Hassani et al., 1996). L'ensemble de ces données suggère que l'activité anormale du NST dans la MP n'est pas seulement due à une hypoactivité du GP. Compte tenu de la réciprocité d'innervation entre le NST et le GPe/GP (Parent et Hazrati, 1995b ; Smith et al., 1998), l'absence de modification d'activité du GP pourrait s'expliquer fonctionnellement par la double influence du striatum, inhibitrice, et du NST, excitatrice, dont les effets s'antagonisent.

III.2.2.3. Origine de l'hyperactivité du NST après dénervation dopaminergique

De nombreuses études montrent une augmentation de l'activité du NST après lésion dopaminergique (Hollerman et Grace, 1992 ; Hassani et al., 1996 ; Kreiss et al., 1997 ; Ni et al., 2000). Outre les projections du GPe/GP, le NST reçoit des afférences excitatrices d'un certain nombre de structures extrinsèques aux ganglions de la base (cortex, thalamus, NPP). Des études de traçage rétrograde couplées à l'hybridation 'in situ' mesurant les niveaux d'expression des ARNm de la sous-unité I de la cytochrome oxydase (CoI), ont montré, de façon intéressante, qu'une lésion dopaminergique induisait une augmentation de l'activité des neurones du NPP et des noyaux CM/PF du thalamus projetant sur le NST (Orioux et al., 2000) ainsi qu'une baisse d'activité des neurones cortico-subthalamiques. Ces résultats suggèrent que ces modifications pourraient jouer un rôle important dans la genèse du patron d'activité anormale du NST, en situation parkinsonienne. La suppression de l'innervation dopaminergique du NST participerait également à la mise en place de son hyperactivité. En effet, la perte des neurones de la SNc entraînerait une levée du contrôle inhibiteur exercé par ces afférences dopaminergiques au travers des récepteurs D1 et, de façon moindre, des récepteurs D2 (Kreiss et al., 1997 ; Hassani et Féger, 1999).

III.2.3. Proposition de nouveaux schémas d'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base

L'une des évolutions majeures du schéma classique d'organisation fonctionnelle des ganglions de la base est de placer le NST au même niveau fonctionnel que le striatum. Jusqu'ici considéré comme un simple relais, le NST devient une 'structure d'entrée' des ganglions de la base capable d'intégrer directement les informations d'origine corticale. Dès lors, les ganglions de la base sont considérés comme un circuit à double entrée : une entrée 'inhibitrice', le striatum, et une entrée 'excitatrice', le NST, premier maillon d'un ensemble de boucles cortex-ganglions de la base-cortex dont l'activité est régulée par des circuits internes de modulation.

III.3. NST et troubles du mouvement

III.3.1. NST, hémiballisme et dyskinésies

La mise en évidence de l'implication du NST dans les pathologies liées au mouvement s'est faite grâce à des observations cliniques qui montraient que certains patients présentaient des mouvements hémiballiques après avoir subi un accident vasculaire cérébral affectant le NST (Martin, 1927; Whittier, 1947; Lee et Marsden, 1994). Ces mouvements anormaux ont pu être reproduits chez le primate non humain en lésant le NST par injection d'acide kaïnique ou par électrocoagulation (Whittier et Mettler, 1949 ; Hammond et al, 1979), permettant ainsi de corréler clairement la lésion du NST à la génération de mouvements anormaux de type hémiballique. Paradoxalement, l'injection locale d'antagonistes GABAergiques au niveau du NST était capable de reproduire l'apparition de ces mêmes mouvements hémiballiques chez le singe (Crossman et al., 1980 ; Crossman, 1987) et chez le rat (Perier et al., 2002).

De façon intéressante, la stimulation électrique du NST peut également conduire à l'apparition de mouvements anormaux. Ainsi, des troubles dyskinétiques et des ballismes ont pu être observés chez certains patients stimulés à haute fréquence au niveau du NST (Krack et al., 1999) notamment lors du réglage des paramètres de stimulation (Benabid et al., 2000) ou lors de l'application d'une stimulation de trop forte intensité. De tels effets secondaires ont également été observés chez le rat 6-OHDA (Salin et al., 2002) et le singe sain (Beurrier et al., 1997) lors de l'application, au niveau du NST, d'un courant de forte intensité.

Finalement, le rôle précis joué par le NST dans l'apparition de mouvements hémiballiques reste encore à ce jour un sujet de débat.

III.3.2. NST et MP

Durant ces vingt dernières années, les études expérimentales conduites dans des modèles animaux de la MP (rat 6-OHDA ou singe MPTP) ont permis de mieux comprendre les conséquences induites par la dégénérescence de la voie dopaminergique nigro-striée. Plusieurs de ces études ont démontré récemment que le NST était impliqué dans la physiopathologie de la MP. Ainsi l'étude menée par Bergman et collaborateurs a montré qu'une lésion neurotoxique de cette structure supprimait les symptômes moteurs parkinsoniens induits par l'injection de MPTP chez le singe (Bergman et al., 1990 ; Aziz et al., 1991). Par la suite, de nombreux travaux menés chez le rat 6-OHDA, le singe MPTP et chez l'homme ont montré que le NST était le siège de multiples altérations à l'état parkinsonien. Ces altérations se caractérisent d'un point de vue électrophysiologique par une augmentation de la synchronisation et de la fréquence de décharge des neurones du NST et la mise en place d'une activité en 'bouffées' (Bergman et al., 1994; Hassani et al., 1996; Kreiss et al., 1997). D'un point de vue métabolique, on observe une surexpression des ARNm codant pour la sous-unité I de la cytochrome oxydase (Vila et al., 2000; Orioux et al., 2000) attestant d'une hyperactivité métabolique. De plus, des études, menées chez le rat 6-OHDA, ont montré qu'une lésion du NST abolissait les comportements rotatoires induits par l'apomorphine (Burbaud et al., 1995; Blandini et al., 1997), normalisait la fréquence et le profil de décharge des neurones de la SNr (Burbaud et al., 1995; Murer et al., 1997) et prévenait, au niveau du striatum, de l'EP et du GP, les modifications d'expression de la GAD (acide glutamique décarboxylase) induites par la lésion de la SNc (Delfs et al., 1995).

Ainsi, sur la base de ces observations, l'hyperactivité du NST s'est révélée comme un élément clé dans l'apparition des symptômes moteurs observés dans la MP. L'inhibition de cette hyperactivité sous thalamique ou du moins ses conséquences ont fait l'objet d'un enjeu thérapeutique majeur dans le traitement de la MP notamment par le développement d'approches neurochirurgicales que nous avons déjà évoqué plus haut (cf paragraphe I.6.2.2).

III.3.3. NST et stimulation électrique à haute fréquence: un traitement de la MP

La SHF du NST représente à ce jour le traitement le plus efficace des différents types de perturbations motrices du malade parkinsonien (Benabid et al. 1991, Krack et al. 1997) et des dyskinésies tardives induites par la L-DOPA (Limousin et al., 1995; Krack et al., 1997). Toutefois, les mécanismes par lesquels la SHF du NST contribue à la restauration fonctionnelle des processus moteurs impliquant les ganglions de la base sont encore mal connus et suscitent de nombreuses discussions dans la littérature internationale (Benabid et al., 1994, 2002; Lozano et al., 2002; Vitek, 2002 ; McIntyre et al., 2004 ; Garcia et al., 2005).

La similitude des effets produits par la lésion et la stimulation du NST a initialement mené à penser que la SHF induisait une inhibition des neurones du NST via un phénomène de blocage de dépolarisation (Benazzouz et al., 1995 ; Beurrier et al., 2001; Magarinos-Ascone et al., 2002). Cette hypothèse a été renforcée par des études métaboliques et électrophysiologiques qui ont montré une diminution de l'expression des ARNm du CoI dans le NST (Salin et al., 2002 ; Tai et al., 2003) et une baisse de l'activité de la SNr et de l'EP chez le rat après stimulation subthalamique (Benazzouz et al., 1995). Cependant, compte tenu des artefacts liés à la stimulation, ces données ont été obtenues immédiatement après l'arrêt de celle-ci et ne rendent donc compte que des post-effets liés à cette stimulation électrique. Ainsi, des questions subsistent quant aux mécanismes induits par la SHF du NST pendant qu'elle se pratique et non pas après son interruption. Par ailleurs, de récentes études électrophysiologiques menées sur des tranches de cerveau de rat ont montré que les neurones du NST pouvaient être activés par dépolarisation à des fréquences bien supérieures à celle utilisée en clinique humaine (Bevan et Wilson, 1999).

Ces arguments, qui ont conduit à la remise en question de la théorie du 'blocage de dépolarisation', ont rapidement été renforcés par d'autres données. Tout d'abord, une étude réalisée sur des tranches de cerveau de rat a montré que la SHF (100-140 Hz) du NST induisait une excitation des neurones du NST (Lee et al., 2003). Ensuite, des données électrophysiologiques obtenues chez le singe ont montré que la SHF du NST induisait une augmentation de l'activité des neurones du GPi, structure de projection du NST (Hashimoto et al., 2001). Enfin, des études de microdialyse réalisée chez le rat sain ont permis d'observer une augmentation des taux de Glu et de GABA au niveau de la SNr au cours de la SHF du NST (Windels et al., 2000), suggérant ainsi l'implication de mécanismes à la fois inhibiteurs et excitateurs.

Au final, la question de l'effet inhibiteur ou excitateur de la SHF du NST ne semble pas posséder une réponse simple. Au niveau du NST, un consensus s'accorde à dire que la SHF supprimerait l'activité spontanée et pathologique de celui-ci pour la remplacer par un patron d'activité plus régulier calqué sur la stimulation elle-même (Garcia et al., 2003, 2005). Cependant, la SHF n'affecte pas de la même façon le soma et les axones, de même que les fibres passant à travers ou à proximité de la structure stimulée (McIntyre et al., 2004 a et b). De plus, des études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques montrent que les effets de la SHF sont largement dépendant des paramètres de stimulation utilisés. À basse fréquence (10-50Hz), la stimulation du NST n'améliore pas, voire aggrave les symptômes moteurs parkinsoniens (Rizzone et al., 2001 ; Moro et al., 2002) et ne permet pas de normaliser l'activité pathologique du NST, quelles que soient la valeur des autres paramètres de stimulation (Garcia et al., 2005). Cette absence d'effet s'accompagne d'une absence de modifications des taux de Glu et de GABA dans la SNr et le GP chez le rat (Windels et al., 2003). Enfin, Maurice et collaborateurs ont montré qu'au cours de la SHF du NST, l'activité des neurones de la SNr de rats anesthésiés dépendait de l'intensité de stimulation. Pour des fortes intensités ($> 80 \mu\text{A}$) les neurones étaient activés alors qu'ils étaient inhibés pour de faible intensité (20-80 μA) (Maurice et al., 2003). Ainsi, pour des paramètres classiquement utilisés en clinique humaine (130-185 Hz, 60-100 μs , 1-3 mA), il est aujourd'hui admis que la résultante des mécanismes de la SHF du NST correspond à une inhibition des voies de sortie des ganglions de la base (GPi/EP et SNr) dans laquelle l'activation de la transmission GABAergique semble jouer un rôle primordial. Les résultats d'un nombre croissant d'études vont dans ce sens. En effet, des données électrophysiologiques obtenues chez le rat anesthésié ont montré que l'application iontophorétique de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A, au sein de la SNr permettait d'abolir l'inhibition d'activité initialement induite au sein de cette structure par la SHF du NST (Maurice et al., 2002). D'autres parts, des études de microdialyse réalisées chez le rat 6-OHDA ont permis d'observer qu'une SHF du NST d'une heure induisait une augmentation des taux de GABA au sein de la SNr (Windels et al., 2005). La voie GABAergique pallido-nigrale semble directement impliquée dans l'inhibition de l'activité des voies de sortie induite par la SHF du NST. En effet, la lésion du GPe permet de prévenir l'augmentation des taux de GABA observés dans la SNr de rats anesthésiés durant la stimulation du NST (Windels et al., 2005). De même, le blocage de l'activité du GPe par une application locale de gabazine, un antagoniste des récepteurs GABA_A permet de bloquer l'inhibition des neurones du GPi induite par la SHF du NST chez le singe (Kita et al., 2005).

De façon intéressante, les récentes recherches réalisées sur les mécanismes de la SHF du NST portent un intérêt particulier à la synchronisation des activités électriques au sein des ganglions de la base. En effet, il a été montré que des activités pathologiques synchrones de fréquence 3-7 Hz se développaient dans le GPi et le NST de singe traité au MPTP ainsi que chez des patients parkinsoniens présentant des tremblements de repos. Une activité oscillatoire de haute fréquence (15-25 Hz) a également été observée dans le NST et le GP de ces mêmes malades (Hutchison et al., 2004). Bien que l'existence de relations directes entre ces activités et la MP ne soit pas encore démontrée, la capacité de la SHF à induire une désynchronisation de l'activité des neurones présents au sein du NST et d'autres structures des ganglions de la base pourrait expliquer en partie son efficacité thérapeutique (Meissner et al., 2005 ; Foffani et al., 2006).

IV. NEUROTRANSMETTEURS ETUDIÉS

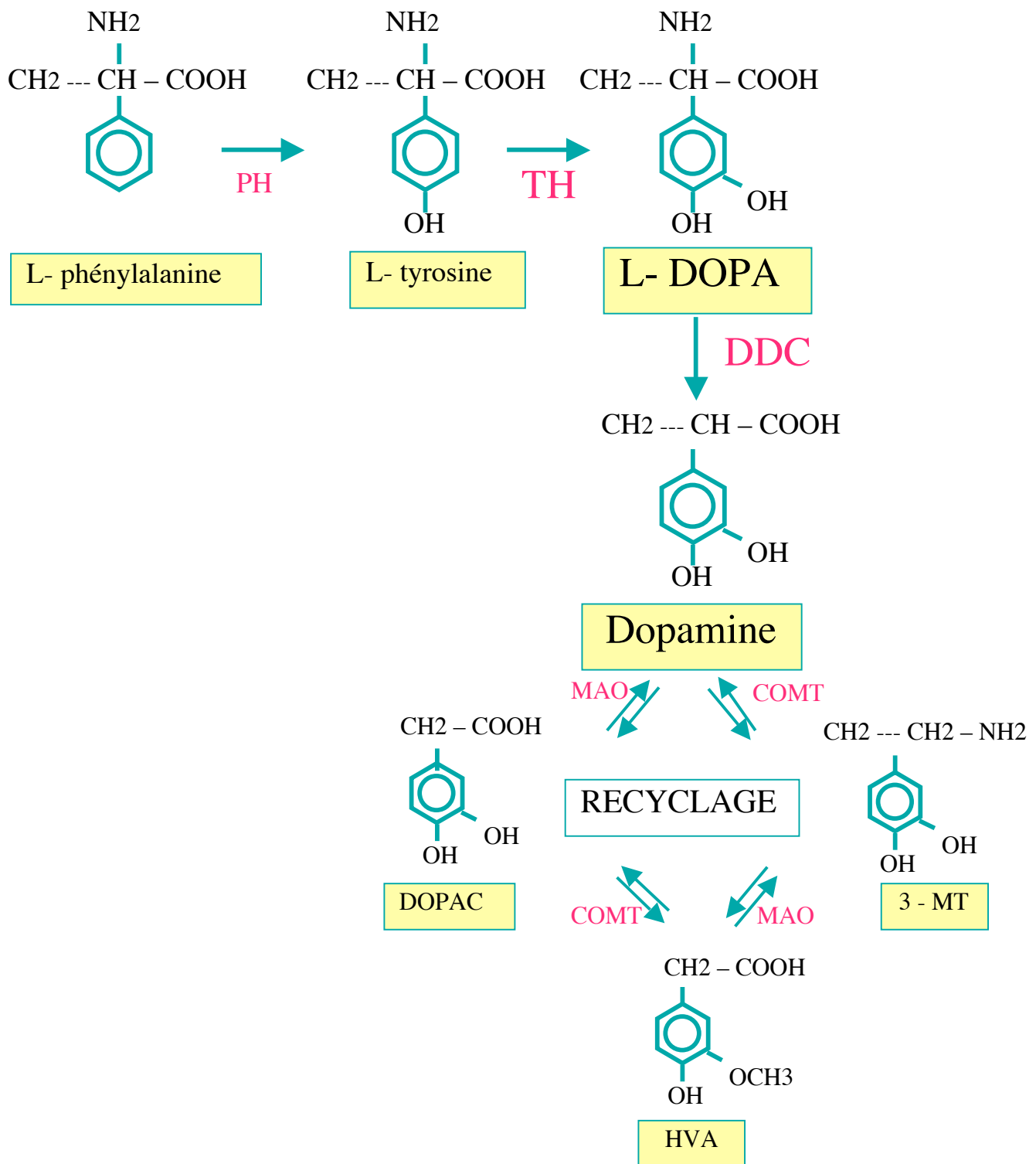
Le but de ce chapitre est de rappeler brièvement quelques généralités concernant le métabolisme des différents neurotransmetteurs étudiés dans le cadre de notre travail chez le rat et chez le singe.

IV.1. La dopamine

La DA est connue comme neurotransmetteur depuis sa découverte dans les années 50 par Arvid Carlsson (Carlsson et al., 1958). Outre son implication dans le contrôle du mouvement, les phénomènes de récompense et d'addiction, la DA est également impliquée dans des pathologies telles que les désordres attentionnels et l'hyperactivité, la schizophrénie et d'autres désordres psychiatriques.

IV.1. Le métabolisme de la dopamine

La DA est essentiellement synthétisée au niveau des terminaisons neuronales, bien qu'une part non négligeable de la synthèse se déroule aussi dans le corps cellulaire, le trajet axonal et ses dendrites. Le précurseur de la DA est la L-tyrosine. Celle-ci est d'abord transformée au niveau du cytosol de la cellule en L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) par la tyrosine hydroxylase, enzyme limitante de la synthèse de DA. La L-DOPA est ensuite transformée en DA par décarboxylation grâce à la L-DOPA décarboxylase ou décarboxylase des acides



- Figure 32 -
 Représentation schématique du métabolisme de la dopamine

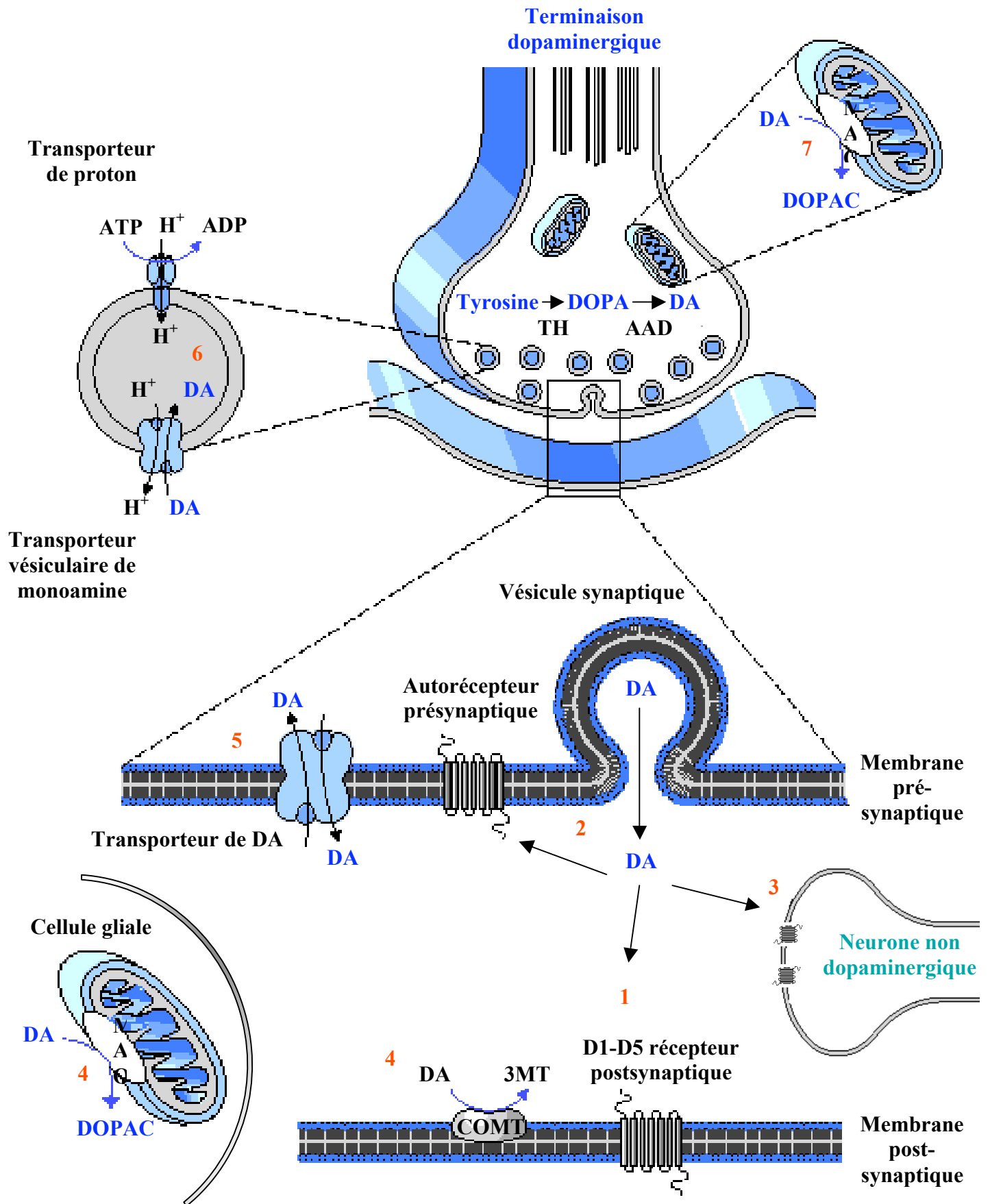
COMT: catéchol-O-méthyltransférase; MAO: monoamine oxydase; DOPA: dihydrophénylalanine; DOPAC: acide 3,4-dihydroxyphénylacétique; HVA: acide homovanilique.

PH: Phénylalanine Hydroxylase; TH: Tyrosine Hydroxylase; DDC: DOPA Décarboxylase; MAO: Monoamine Oxydase; COMT: Catéchol-O-Méthyl-Transférase.

aminés aromatiques (Elsworth et Roth, 1997) (Fig 32). Cette enzyme est également d'origine cytosolique mais n'est pas limitante. C'est la raison pour laquelle l'administration de L-DOPA permet d'accroître la synthèse de DA. L'essentiel de la DA synthétisée est stockée dans des vésicules synaptiques situées au niveau des terminaisons neuronales. Cependant, il existe également une faible quantité de DA cytoplasmique libre, régulée en permanence par une enzyme de dégradation de ce neurotransmetteur au niveau intracellulaire : la monoamine oxydase (MAO). Malgré une libération permanente de DA, les concentrations intracellulaires de ce transmetteur au niveau des terminaisons restent relativement stables.

La libération de DA se fait par exocytose au niveau des terminaisons pré-synaptiques. Quelle que soit l'origine intracellulaire de la DA, sa libération dépend de la présence d'ions Ca^{2+} , de la dépolarisation membranaire et de son intensité. Ainsi, la stimulation électrique des neurones dopaminergiques induit une libération de DA, fonction de l'activité des cellules dopaminergiques. Néanmoins, il existe vraisemblablement une libération non vésiculaire. Ce type de libération s'effectue par le biais du transporteur membranaire de la DA (DAT) qui, habituellement, assure la re-capture du neuromédiateur. Ce DAT peut, en effet, selon le gradient de DA, fonctionner en sens inverse et permettre la sortie de ce neurotransmetteur. Une libération dendritique Ca^{2+} -dépendante de DA a également été mise en évidence. Comme nous l'avons développé dans la partie concernant le NST, elle semble avoir un rôle physiologique important (Rosales et al., 1997). La DA ainsi libérée va :

- 1) se fixer sur les récepteurs dopaminergiques post-synaptiques (Fig 33).
- 2) stimuler les récepteurs dopaminergiques pré-synaptiques portés par les neurones dopaminergiques eux-mêmes (auto-récepteurs) (Fig 33) modulant l'activité électrique des neurones pré-synaptiques et leur capacité à synthétiser et à libérer le neurotransmetteur.
- 3) se fixer sur des récepteurs dopaminergiques portés par des neurones non-dopaminergiques (hétéro récepteurs pré-synaptiques) (Fig 33).
- 4) être libérée dans la fente synaptique où elle sera dégradée en 3-méthoxytyramine (3-MT) par les enzymes catéchol-O-méthyl transférase (COMT) présentes sur les membranes des neurones du striatum, ou en DOPAC par les mono-amine-oxydase (MAO) contenues dans les cellules gliales (Fig 33).
- 5) être recaptée (80%) par les terminaisons dopaminergiques qui l'ont libérée, mettant ainsi un terme à la stimulation des récepteurs pré- ou post-synaptiques (Fig 33). Cette DA est alors soit recyclée, i.e. "restockée" dans les vésicules en attente



- Figure 33 -
 Représentation schématique d'une synapse dopaminergique
 (D'après Sinauer Associates, Inc Feldman)

d'une nouvelle dépolarisation (6) (Fig 33), soit catabolisée en DOPAC par les MAO neuronales (7) (Fig 33).

Il existe deux types de MAO : la MAO-A et la MAO-B. La DA est désaminée majoritairement par la MAO A chez le rat et par la MAO B chez l'homme (Glover et al. 1977). La MAO B prédomine dans la glie où elle est responsable de l'effet toxique du MPTP en le transformant en MPP⁺.

IV.2. Les récepteurs dopaminergiques

Cinq types de récepteurs dopaminergiques ont été clonés (Bunzow et al., 1988 ; Sokoloff et al., 1990; Sunahara et al., 1990,1991 ; Van Toll et al., 1991), ils sont regroupés en deux familles: la sous-famille des D1, regroupant le récepteur D1 et le D5, et la sous-famille des D2 contenant les récepteurs D2, D3 et D4. Ces récepteurs appartiennent à la super famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires. Ce sont des récepteurs métabotropiques couplés à une protéine G. Les récepteurs "D1-like" sont couplés positivement à l'adénylate cyclase ; les "D2-like" le sont négativement ou sont indépendants de cette activité.

Les récepteurs D1 et D2 sont fortement exprimés dans le cerveau et particulièrement au niveau du striatum (noyau caudé, putamen, noyau accumbens). Initialement, une ségrégation de ces deux types de récepteurs a été décrite aussi bien chez le singe que chez le rat avec une localisation des récepteurs D1 sur les neurones épineux du striatum exprimant la substance P et la dynorphine, et les récepteurs D2 sur les neurones striataux exprimant l'enképhaline (Gerfen et al., 1990 ; Le Moine et al., 1990, 1991 ; Aubert et al., 2000). Néanmoins, des études plus récentes rapportent la colocalisation de ces deux types de récepteurs dans tous les neurones de projection du striatum (Surmeier et al., 1992, 1993 ; Aizman et al., 2000). Toutefois, les récepteurs D1 seraient plus fortement exprimés dans les neurones exprimant la substance P par rapport à ceux exprimant l'enképhaline et inversement pour les récepteurs D2 (Aizman et al., 2000). Les récepteurs D2 sont aussi présents sur les terminaisons nigro-striées en tant qu'auto-récepteurs et sur les terminaisons axonales cortico-striatales en tant que récepteurs pré-synaptiques (Schwarcz et al., 1978). A ce titre, la DA peut ainsi moduler la libération de Glu par les terminaisons corticales.

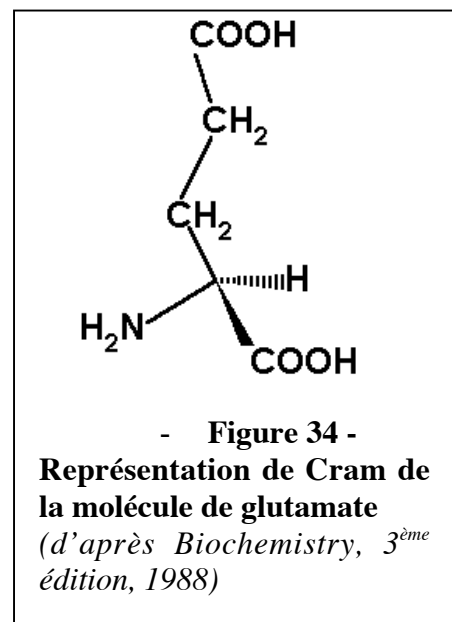
L'existence d'une innervation dopaminergique du NST n'a été démontrée chez le rat qu'en 1997 (Hassani et al., 1997) et chez l'homme qu'en 1999 (Hedreen, 1999). Les études ayant entrepris de déterminer les types de récepteurs dopaminergiques présents dans le NST et leur localisation sont arrivées à des résultats contradictoires. Cette question n'est donc pas résolue

à ce jour. Néanmoins, plusieurs études récentes ont montré que les récepteurs D1, D2, D3 et D5 seraient présents au niveau du NST du rat (Flores et al., 1999 ; Hassani et Féger, 1999 ; Zhu et al., 2002 ; Baufreton et al., 2003).

La SNr présente également une forte densité d'expression des récepteurs D1. Ceux-ci semblent principalement localisés au niveau des afférences striatales (Harrison et al., 1990 ; Caille, 1996). Enfin, les récepteurs D1 sont également présents dans le cortex cérébral alors que les récepteurs D2 présentent une forte densité au niveau de la SNc. Les récepteurs D3 et D4 sont préférentiellement localisés au niveau du système limbique (Sokoloff et al., 1990).

IV.2. Le glutamate

Le glutamate (Glu) est le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central (Fig 34). Il est impliqué dans de nombreux processus physiologiques complexes tels que la mémoire (LTP), l'apprentissage, la plasticité au cours du développement, et la mort neuronale. Il intervient également dans de nombreuses pathologies telles que l'épilepsie, l'ischémie cérébrale, la sclérose latérale amiotrophique, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la schizophrénie.



IV.2.1. Métabolisme du Glu

La synthèse du Glu se fait principalement selon deux voies :

- 1) par désamination de la glutamine.
- 2) par transamination de l' α -cétoglutarate.

La glutamine, d'origine gliale, représente le précurseur majeur de la synthèse du Glu. Elle est synthétisée dans les cellules gliales par la glutamine synthétase (GS) à partir du glutamate recapté de la fente synaptique. La glutamine est ensuite captée par les terminaisons axonales et transformée en glutamate par la glutaminase (G), enzyme mitochondriale. La recapture de la glutamine par les neurones glutamatergiques est une étape limitante de la synthèse du Glu. L'activité de la glutaminase est soumise à un rétrocontrôle négatif du Glu. L' α -cétoglutarate

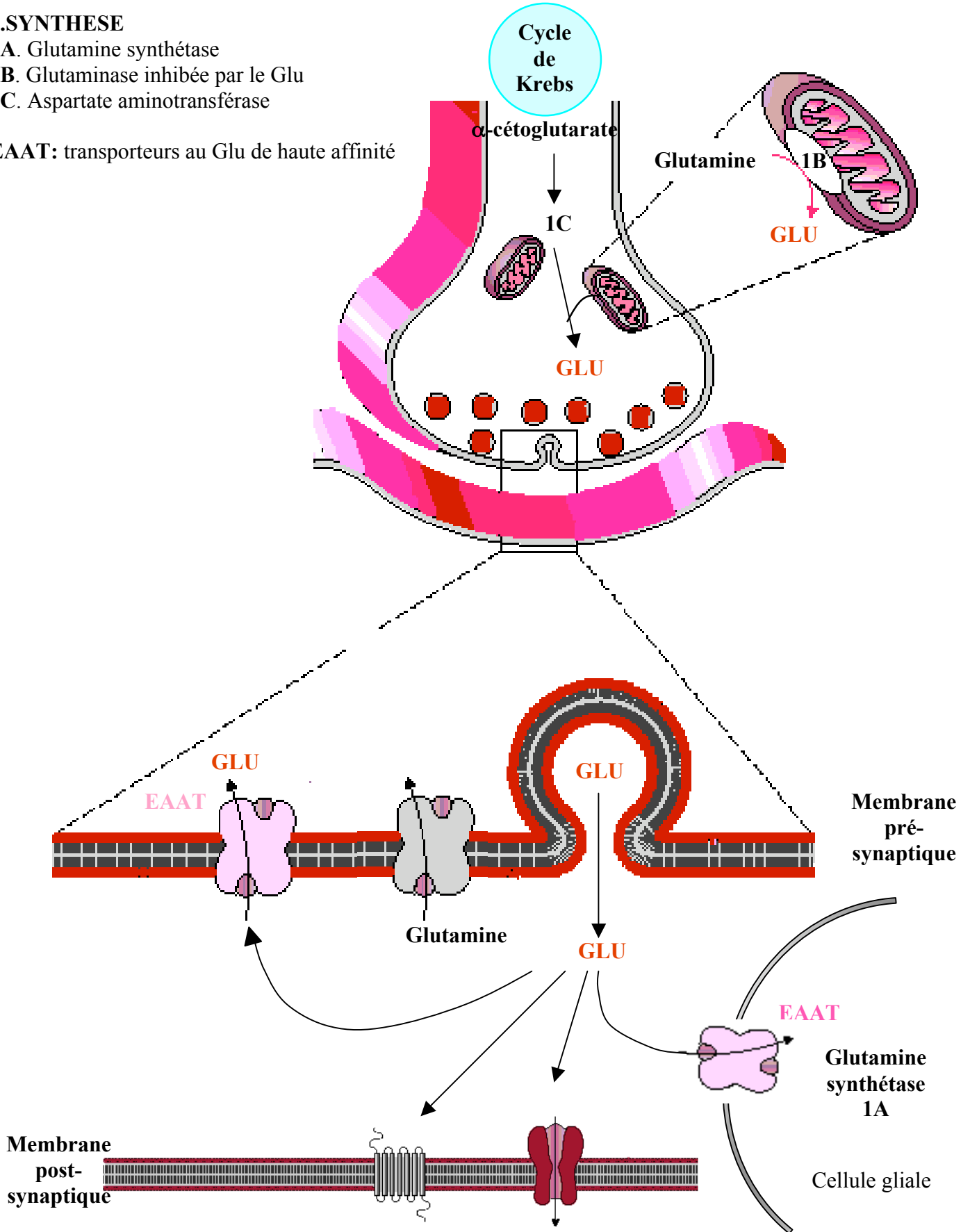
1.SYNTHESE

1A. Glutamine synthétase

1B. Glutaminase inhibée par le Glu

1C. Aspartate aminotransférase

EAAT: transporteurs au Glu de haute affinité



- Figure 35 -

Représentation schématique d'une synapse glutamatergique
(D'après Sinauer Associates, Inc Feldman)

est un produit de dégradation du glucose par le cycle de Krebs. Sa transamination par l'aspartate aminotransférase permet la production de Glu (Fig 35).

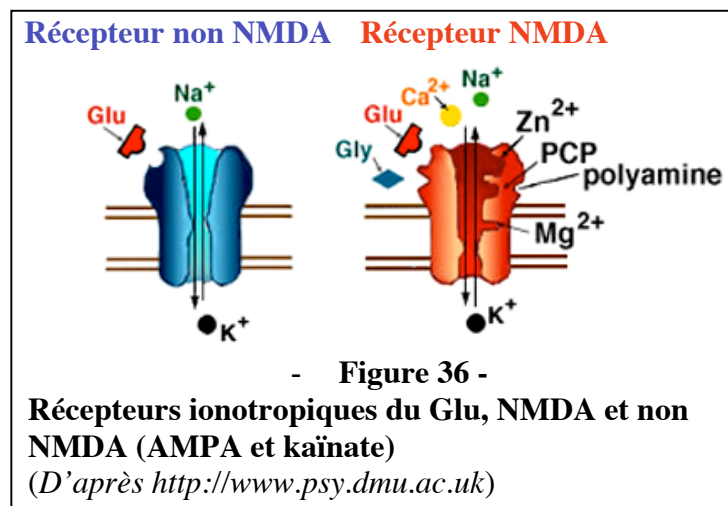
Le Glu peut ensuite être libéré selon deux modes : 1) la libération vésiculaire, dépendante du calcium et du potentiel de membrane ; 2) la libération non vésiculaire, moins bien connue. Cette dernière s'effectuerait par l'intermédiaire de l'antiport cystine-Glu qui échange une molécule de cystine extracellulaire contre une de Glu intracellulaire. Cet antiport serait préférentiellement localisé sur les cellules de la glie (Baker et al., 2002).

Après avoir été libéré, le Glu est éliminé de la fente synaptique par recapture par les transporteurs de haute affinité du Glu (EAATs), localisés au niveau des neurones et des cellules gliales (Fig 35) (Robinson, 1999). A l'intérieur des cellules gliales, le Glu est ensuite transformé en glutamine par la glutamine synthétase. Dans les neurones, le Glu est changé en α -cétoglutarate. Ces processus ont pour but de restituer aux neurones les précurseurs de la synthèse du Glu sous des formes qui ne peuvent pas se lier aux récepteurs.

IV.2.2. Les récepteurs du Glutamate

Il existe deux types de récepteurs au Glu. Les récepteurs ionotropiques (voir pour revue Ozawa et al., 1998), qui contiennent un canal ionique, et les récepteurs métabotropiques, couplés à une protéine G qui modulent la production de messagers intracellulaires.

Les récepteurs ionotropiques sont subdivisés en 3 groupes, en fonction de la spécificité de l'agoniste qui se lie au récepteur : les récepteurs NMDA, AMPA et kaïnate (Fig 36). Ces trois types de récepteurs sont retrouvés dans tout le système nerveux central. Cependant, les récepteurs NMDA, qui sont essentiellement



post-synaptiques, possèdent une densité très importante dans la région CA1 de l'hippocampe. Les récepteurs AMPA, également préférentiellement post-synaptiques, sont présents surtout au niveau de l'hippocampe, des couches moléculaires du gyrus denté et des couches cellulaires du cortex cérébral. Enfin, les récepteurs kaïnate, présents en pré et post-synaptique,

sont largement distribués dans la partie CA3 et les fibres moussues de l'hippocampe et dans les couches granulaires du cervelet.

Les récepteurs métabotropiques se divisent en 8 sous types, classés en 3 groupes en fonction de leur homologie de séquence, de leur couplage au second messager et de leur sélectivité par rapport à l'agoniste. Le groupe I comprend les récepteurs mGluR1 et 5. La stimulation de ces récepteurs conduit à l'activation d'une phospholipase C et à la production de phosphoinositol. Le groupe II comprend les récepteurs mGluR2 et 3. Le groupe III comprend les récepteurs mGluR4, 6, 7 et 8. L'activation des deux derniers groupes de récepteurs entraîne l'inhibition d'une adénylate cyclase (AC). Les récepteurs métabotropiques sont distribués dans tout le système nerveux central et sont largement exprimés au sein des ganglions de la base. On observe notamment que les récepteurs mGluR2 sont présents dans toutes les structures des ganglions de la base et que l'ensemble des récepteurs du groupe I et II ainsi que les récepteurs mGluR4 et 7 sont retrouvés au sein du striatum. La localisation propre des autres sous-types de récepteurs au sein des différentes structures des ganglions de la base est plus hétérogène et est résumée dans le tableau ci-dessous.

Récepteur métabotropique	Animal	Localisation
mGluRI (Stephan et al., 1996)	homme	cervelet, cortex, striatum , NST , SN , thalamus, amygdale, hippocampe
mGluR5 (Shigemoto et al., 1993)	rat	cortex, striatum , noyau accumbens , NST , colliculus inférieur, bulbe olfactif, hippocampe
mGluR2 (Phillips et al., 2000)	homme	cortex, ganglions de la base , thalamus, cortex cérébelleux, hippocampe
mGluR3 (Malakoff et al., 1996)	homme	cortex, striatum , SNc , thalamus, cervelet,
mGluR4 (Malakoff et al., 1996)	homme	cortex, striatum , SNr , thalamus, cervelet
mGluR7 (Malakoff et al., 1996)	homme	cortex, striatum , cervelet, hippocampe
mGluR6		rétine
mGluR8		

Tableau 5: Régions majoritaires d'expression des récepteurs métabotropiques du Glu de type I, II et III.

V.2.3. Les transporteurs du Glu

Il existe de nombreux types de protéines capables de transporter le Glu (Danbolt, 2001). Parmi, les principaux transporteurs on retrouve les EAATS, transporteurs de la membrane plasmique de haute affinité sodium dépendants, et les VGLUTs (ou transporteurs vésiculaires) transporteurs de basse affinité (100 à 1000 fois inférieure à celle des EAATs).

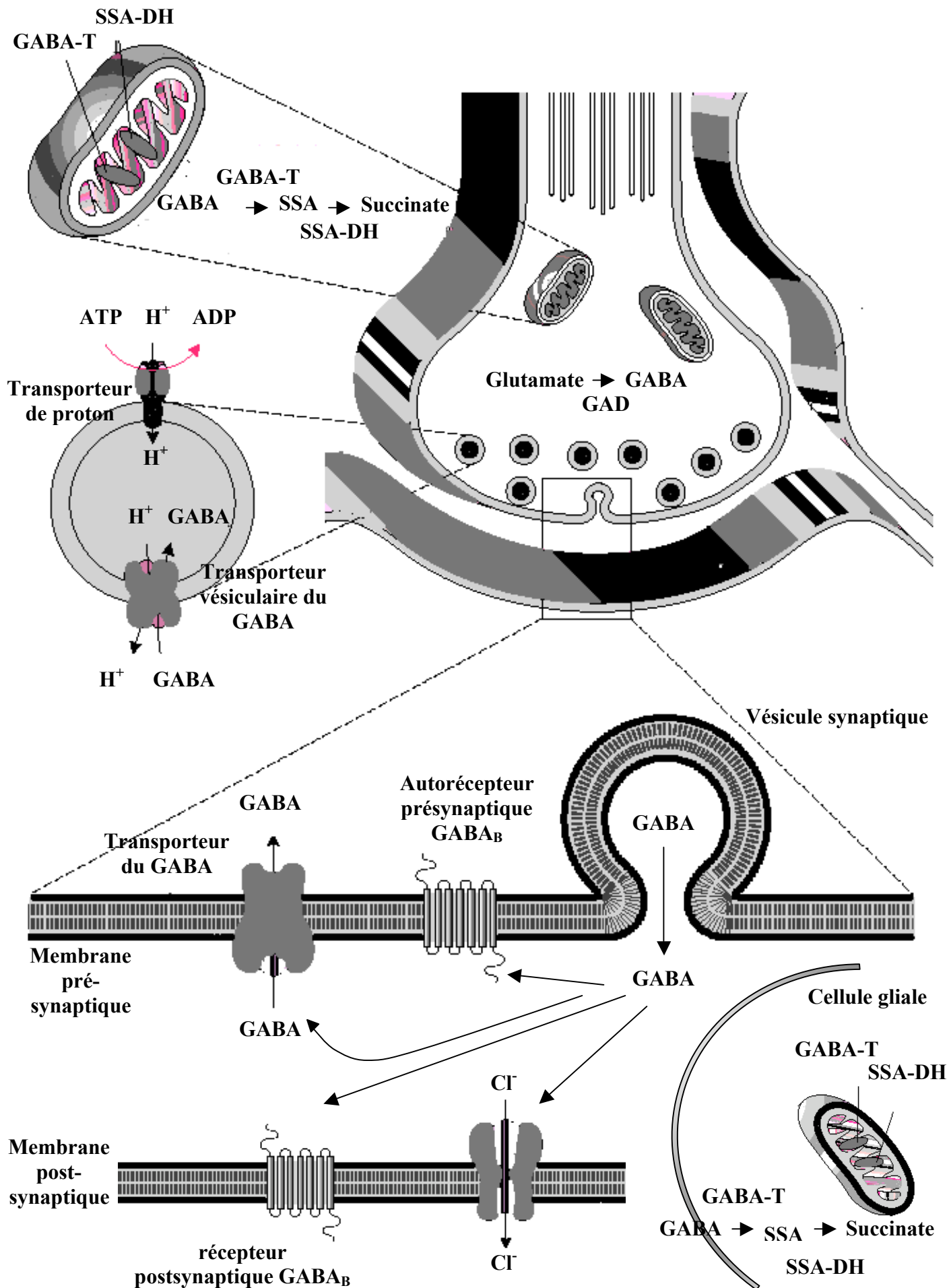
On dénombre cinq types d'EAATs: GLT, GLAST, EAAC, EAAT-4 et EAAT-5. Chaque type de transporteurs possède une localisation cérébrale et cellulaire spécifique (Rothstein et al., 1994 ; Robinson, 1999) résumée dans le tableau ci-dessous.

Transporteur	GLAST	GLT	EAAC	EAAT4	EAAT5
Localisation cellulaire	gliale	gliale	gliale et neuronale	neuronale	neuronale
Localisation cérébrale	cervelet	ubiquitaire	hippocampe, cortex	cellules de Purkinje	rétine
Localisation périphérique	Cœur, poumon, placenta, moelle osseuse, muscle squelettique	placenta, moelle osseuse	intestin, foie, rein	placenta	cœur, muscle

Tableau 6 : localisation cérébrale et périphérique des différents transporteurs du Glu.

Les transporteurs gliaux (GLAST, GLT) possèdent un rôle prépondérant dans le maintien des concentrations extracellulaires de Glu à un niveau faible afin d'éviter les phénomènes de toxicité dus à une exposition prolongée des neurones au Glu (Rothstein et al., 1996). Les transporteurs neuronaux (EAAT4, EAAT5) semblent posséder des effets plus subtiles au niveau de la neurotransmission.

À ce jour, trois types de transporteurs vésiculaires au Glu ont été clonés : VGLUT1, VGLUT2, VGLUT3. Ces 3 transporteurs possèdent une localisation complémentaire. VGLUT1 et 2 sont tous deux situés sur les synapses glutamatergiques au niveau de l'hippocampe, du striatum (Hartig et al., 2003) du cortex cérébral et cérébelleux pour VGLUT1 et au niveau du di- (Hartig et al., 2003 ; Bacci et al., 2004) et du rhomb-encéphale, pour VGLUT2. VGLUT3, quant à lui, a été localisé au niveau de neurones non glutamatergiques (interneurones cholinergiques du striatum, interneurones gabaergiques de

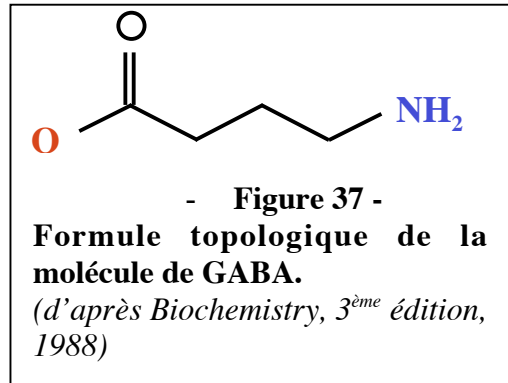


- Figure 38 -
 Représentation schématique d'une synapse GABAergique
 (D'après Sinauer Associates, Inc Feldman)

l'hippocampe et du cortex, neurones sérotoninergiques) ainsi que sur des tissus périphériques (foie et rein) (Shigeri et al., 2004).

IV.3. Le GABA

Le GABA est le neurotransmetteur inhibiteur majeur du système nerveux central, avant la glycine (Fig 37). Il est présent dans 30 % des synapses centrales des vertébrés et est spécifique du tissu nerveux où il se localise au niveau neuronal et glial.



IV.3.1. Métabolisme du GABA

Le précurseur du GABA est le glutamate. Le GABA est synthétisé par décarboxylation du glutamate grâce à une enzyme, la glutamate décarboxylase (GAD) présente dans la fraction cytosolique des terminaisons axonales GABAergiques (Fig 38). Il existe deux isoformes de la GAD. : la GAD 65 et la GAD 67. Issues de deux gènes différents, elles diffèrent par leur localisation cellulaire. En effet, la GAD 65 possède une localisation préférentiellement axonale alors que la GAD 67 est plutôt somato-dendritique. De plus, le GABA est étroitement lié au cycle de Krebs par l' α -cétoglutarate et l'aldéhyde semi-succinique, via la GABA transaminase.

Après libération dans la fente synaptique, le GABA est recapté par des transporteurs sélectifs neuronaux et gliaux. Il en existe 4 types (voir pour revue Borden, 1996) : GAT-1 (Guastella et al., 1990 ; Nelson et al., 1990 ; Liu et al., 1993), GAT-2 (Borden et al., 1992), GAT-3 (Liu et al., 1993 ; Borden et al., 1994) et BGT-1(ou GAT-4) (Yamauchi et al., 1992). Ces transporteurs sont couplés au Na^+ et au Cl^- , ces deux ions étant co-transportés avec le substrat, ce qui leur permet de réaliser le transport du GABA contre le gradient électrochimique de concentration. Les différentes études d'hybridation *in situ* (Ratray et Priestley, 1993 ; Brecha et Weigmann, 1994 ; Durkin et al., 1995 ;) et d'immunohistochimie (Ikegaki et al., 1994) réalisées chez le rat ont permis de déterminer la localisation cérébrale de ces différents transporteurs. GAT-1 est le plus abondant des quatre types de transporteurs et il est exprimé de façon ubiquitaire dans tout le cerveau (Durkin et al., 1995). Il a été montré que la distribution des ARNm de GAT-1 était similaire à celle des neurones GABAergiques déterminée par localisation du GABA ou de son enzyme de synthèse la GAD (Patray et

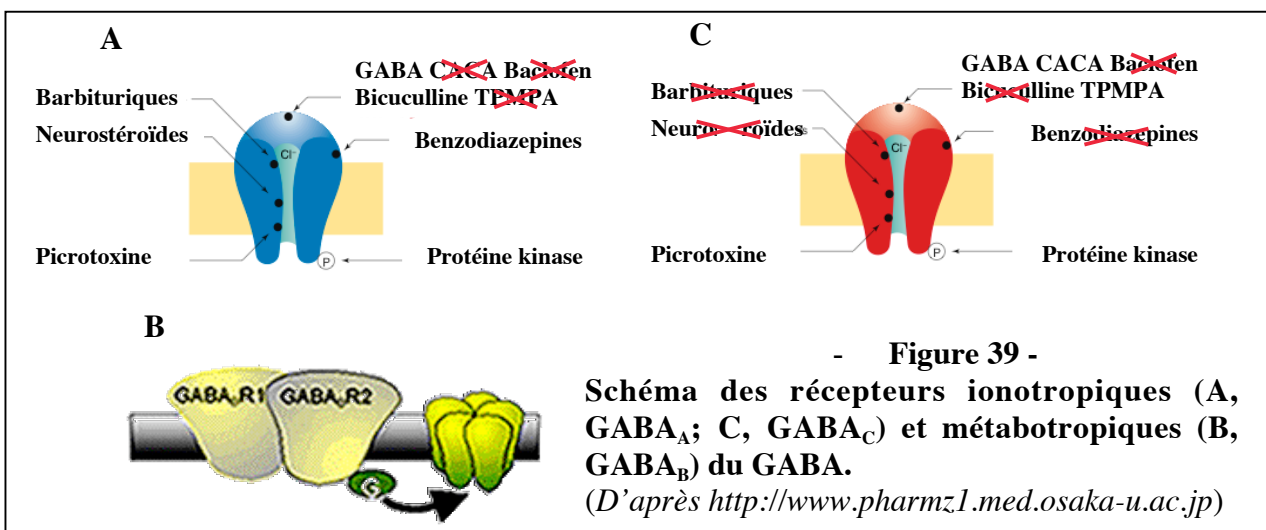
Priestley, 1993). De plus, la majorité des cellules qui contenaient des ARNm de GAT-1 avait l'apparence morphologique de neurones. Ceci a conduit à penser que les transporteurs GAT-1 étaient exprimés par les neurones GABAergiques et qu'ils étaient localisés sur la membrane post-synaptique. Par la suite, des ARNm GAT-1 ont également été observés dans certaines cellules gliales spécialisées telles que les cellules de Müller de la rétine (Brecha et Weigmann, 1994) et les cellules de Bergmann dans le cervelet (Rattray et Priestley, 1993) ainsi qu'au niveau de cellules gliales de l'hippocampe et de la SN (Radian et al., 1990). L'ensemble de ces données indique donc que GAT-1 est localisé préférentiellement sur les neurones, mais pas uniquement. De façon surprenante, des études d'hybridation *in situ* réalisées chez le rat n'ont pas permis de mettre en évidence un signal ARNm GAT-2 au niveau du parenchyme cérébral (Rattray et Priestley, 1993). Seules les leptoméninges (pie-mère et arachnoïde) ont présenté un marquage ARNm GAT-2 (Durkin et al., 1995). Le même type de résultat a été obtenu lors d'études immunohistochimiques utilisant des anticorps anti-GAT-2 (Ikegaki et al., 1994). Ces données suggèrent que GAT-2 agirait indirectement sur la transmission GABAergique en régulant le niveau de GABA du liquide céphalo-rachidien (Conti et al., 2004). De plus, des études réalisées chez la souris semblent montrer que GAT-2 est plus abondamment exprimé dans les méninges de l'embryon que dans celles de l'adulte (Liu et al., 1993), ce qui suggère que ce transporteur jouerait un rôle dans le développement (Jursky et Nelson, 1999). GAT-3 est exprimé dans de nombreuses régions du cerveau, mais toujours en quantité moins importante que GAT-1 (Clark et al., 1992 ; Durkin et al., 1995). Observé majoritairement au niveau des cellules astrocytaires, il est également retrouvé à la surface de quelques populations neuronales (Durkin et al., 1995). Enfin, BGT-1 a été détecté dans l'ensemble des régions cérébrales avec un marquage plus important au niveau de l'hypothalamus antérieur (Borden et al., 1995a). Cependant, sa localisation cellulaire reste encore un sujet de débat. En effet, des études d'hybridation *in situ* réalisées chez la souris ont montré que seuls les neurones étaient marqués (Borden et al., 1995a). Ces résultats n'ont pas été confirmés *in vitro* puisque aucun marquage ARNm BGT-1 n'a été retrouvé au sein de culture de neurones de rat (Borden et al., 1995b) alors qu'un marquage abondant a été observé au niveau des cultures de cellules gliales (Borden et al., 1995b).

Après sa recapture, le GABA est dégradé en succinate par l'intervention successive de deux enzymes : la GABA transaminase mitochondriale (GABA-T), qui transforme le GABA en acide succinique semi-aldéhyde et la semi-succinique aldéhyde déshydrogénase (SSA-DH), qui transforme l'acide succinique semi-aldéhyde en succinate. Le succinate formé réintègre le cycle de Krebs (Fig 38). Ces étapes de dégradation du GABA sont étroitement associées au

compartiment glial. L'inactivation du GABA présent au niveau de la fente synaptique est essentiellement liée au mécanisme de la re-capture. En effet il n'existe pas, à ce niveau, d'enzyme de dégradation du GABA.

IV.3.2. Les récepteurs du GABA

Trois types de récepteurs GABAergiques, indexés A, B et C, ont été identifiés dans le système nerveux central des vertébrés (voir pour revue Bowery, 1989; Chebib et Johnston, 1999; Bormann, 2000). Les récepteurs GABA_A et GABA_C sont ionotropiques et couplés au canal chlore. Le récepteur GABA_A est un hétéro-oligomère de sous-unités α , β et γ (Macdonald et Olsen, 1994 ; McKernan et Whiting, 1996) largement répandu dans le système nerveux central. Il est bloqué par la bicuculline (antagoniste compétitif) et la picrotoxine (antagoniste du canal Cl⁻) et est stimulé par le muscimol (agoniste) (Macdonald et Olsen, 1994) (Fig 39A). Il possède également des sites de liaison aux stéroïdes, aux barbituriques, aux benzodiazépines, aux convulsivants et à l'alcool (Macdonald et Olsen, 1994) (Fig 39A). La fixation du GABA sur son site de reconnaissance provoque l'ouverture d'un canal chlore (Cl⁻) qui conduit à l'entrée de ces ions à l'intérieur de la cellule et provoque son hyperpolarisation. Le récepteur GABA_C est un homo-oligomère de sous-unités ρ (Enz et Cutting, 1998) sélectivement activé par l'acide cis-4-aminocrotonique (CACA) (Bormann et Feigenspan, 1995 ; Feigenspan et Bormann, 1998) et inhibé par la 1,2,5,6-tetrahydropyridine-4-yl (TPMPA) (Fig 39C) (Ragozzino et al., 1996). De plus, il est insensible à la bicuculline et au baclofen (Bormann et Feigenspan, 1995 ; Cherubini et Strata, 1997) ainsi qu'aux différentes drogues qui modulent l'activité des récepteurs GABA_A (benzodiazépines, barbituriques) (Feigenspan et Bormann, 1998) (Fig 39C). Enfin, il diffère fonctionnellement et de par sa



localisation spatiale du récepteur GABA_A (Feigenspan et Bormann, 1998). En effet, les récepteurs GABA_A, majoritairement post-synaptiques, sont fortement exprimés dans le cortex cérébral, les noyaux thalamiques et la couche granulaire du cervelet (Bowery et al., 1984) alors que les récepteurs GABA_C sont plutôt concentrés au niveau de la rétine (Bormann et Feigenspan, 1995 ; Enz et al., 1996).

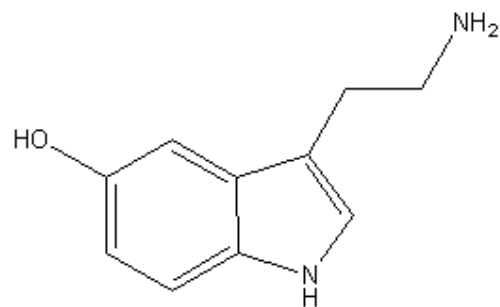
Le récepteur GABA_B est un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à une protéine G activant des canaux calcique et potassique (Fig 39 B) (Bowery et al., 1990). Son agoniste spécifique est le baclofène et son antagoniste, le CGP 56119 (Bowery, 1989 ; Marshall et al., 1999). Les récepteurs GABA_B qui peuvent être situés au niveau pré ou post-synaptiques, sont présents en fortes concentrations dans les couches I-III du cortex cérébral, le striatum, le thalamus, les colliculus supérieurs, l'hippocampe, le gyrus denté, la couche moléculaire du cervelet et la corne dorsale de la moelle épinière (Bowery et al., 1984 ; Möhler et al., 2001).

IV.4. La sérotonine

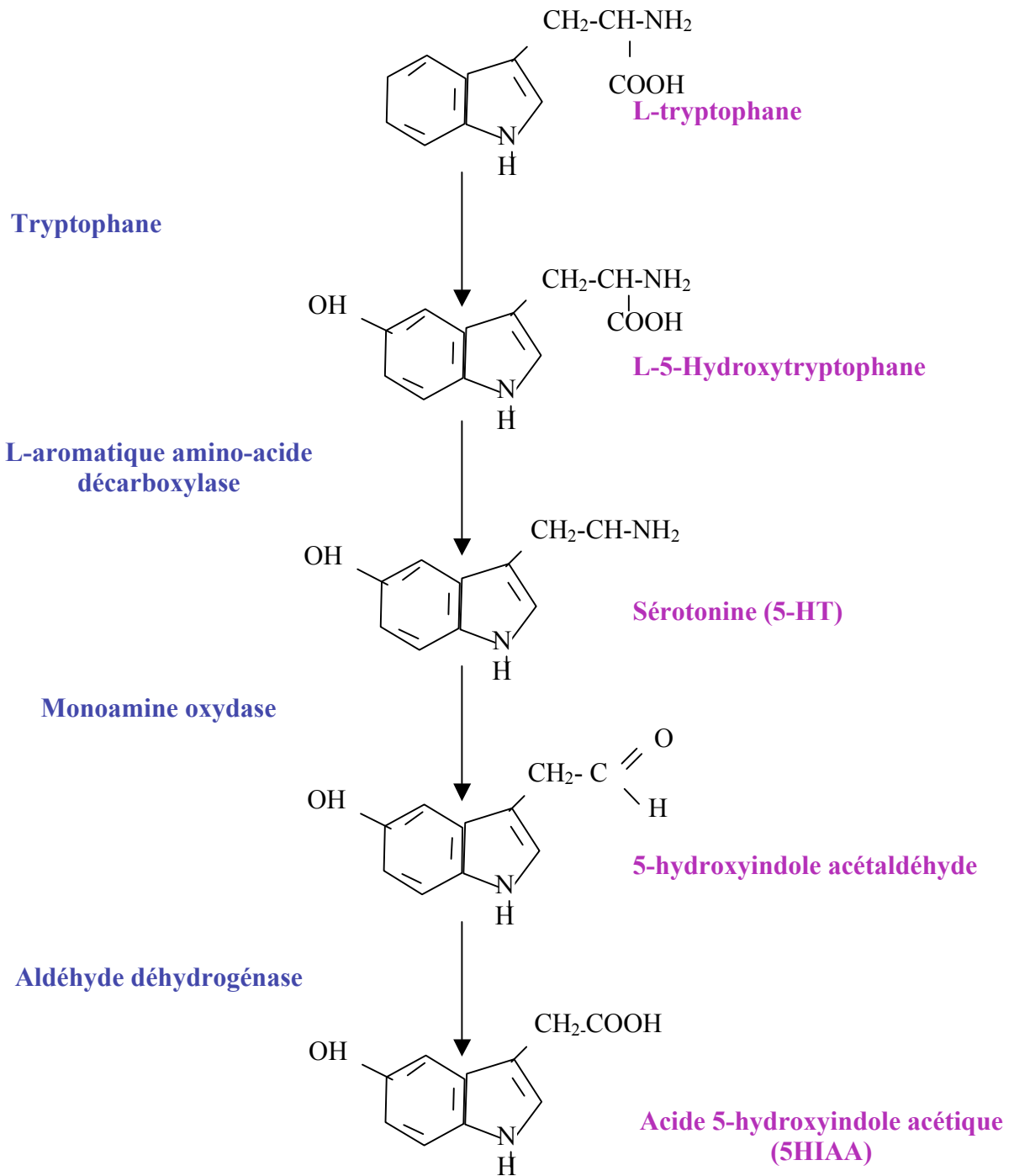
Les effets de la sérotonine au niveau du système nerveux central sont nombreux et complexes. La sérotonine est notamment impliquée dans l'étiologie de nombreuses maladies mentales telles que la dépression, l'anxiété, la phobie sociale, la schizophrénie et les troubles obsessionnels compulsifs. (Aghajanian, 1994 ; Hoyer et al., 2002 ; Lanfumey et Hamon, 2004). Mais elle est également impliquée dans la genèse des migraines, l'hypertension, les désordres de l'alimentation et les vomissements (Leibowitz, 1990 ; Hoyer et al., 2002).

IV.4.1. Métabolisme de la sérotonine

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) (Fig 40) est synthétisée à partir du L-tryptophane. Celui-ci est d'abord hydroxylé en 5-hydroxytryptophane sous l'influence de la tryptophane hydroxylase, cette transformation est une étape limitante de la synthèse. Le 5-



- **Figure 40** -
Formule topologique de la molécule de sérotonine (5-HT).
(d'après *Biochemistry*, 3^{ème} édition, 1988)



- Figure 41 -
Métabolisme de la sérotonine
(D'après Biochemistry, 3ème édition, 1988)

hydroxytryptophane est ensuite décarboxylée en sérotonine par la décarboxylase des acides aminés L-aromatiques (Fuller, 1980) (Fig 41). Au niveau cérébral, la synthèse de sérotonine dépend de la quantité de tryptophane qui passe la barrière hémato-encéphalique. Seul le tryptophane plasmatique libre, c'est-à-dire non lié à l'albumine, pénètre dans le cerveau (Tissot, 1975).

La sérotonine libérée dans la fente synaptique est en grande partie recaptée par les terminaisons présynaptiques grâce à un transporteur spécifique qui présente un assez grand polymorphisme génétique (Lotrich et al., 2001 ; Glatt et Reus, 2003). Elle est ensuite transformée en molécules inactives par désamination oxydative de sa chaîne aminée latérale sous l'influence de la monoamine oxydase, ce qui conduit au 5-hydroxy-indol-acétaldéhyde qui est ensuite oxydé en acide 5-hydroxy-indol-acétique (5-HIAA) (Fig 41).

IV.4.2. Les récepteurs de la sérotonine

14 sous-types de récepteurs sérotoninergiques ont été découverts chez les mammifères (Martin et Humphrey, 1994 ; voir pour revue Hoyer et al., 2002). Ces récepteurs sont regroupés en 3 sous-groupes.

- Les récepteurs des sous-groupes 5HT1 et 5HT2 sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à des protéines G inhibitrices (Beer et al., 1993). Chacun de ces sous-groupes contient de nombreux isoformes. Ainsi, le récepteur 5HT1 en possède au moins 5 (5HT1A à 5HT1F) et le récepteur 5HT2 au moins 3 (5HT2A à 5HT2C) (Elhwuegi, 2004). Les récepteurs 5HT1 sont principalement localisés au niveau de l'hippocampe, de l'amygdale et des aires de projection du cortex frontal et les 5HT2 au niveau du cortex préfrontal (Elhwuegi, 2004). Les récepteurs 5HT1A, B et D semblent impliqués dans la régulation de la libération de sérotonine par les neurones sérotoninergiques (Crespi et al., 1990 ; Pineyro et Blier, 1999), ce qui n'apparaît pas être le cas des récepteurs de type 5HT2 (Pineyro et Blier, 1999).
- Le récepteur 5HT3 est un récepteur canal qui possède une structure similaire à celle de la sous-unité alpha du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (Elhwuegi, 2004). Il est largement exprimé au niveau du tractus solitaire et participerait aux propriétés émétiques de la sérotonine (Elhwuegi, 2004).
- Enfin, les récepteurs 5HT4 à 5HT7 sont tous couplés à des protéines Gs et leur activation conduit à la production d'AMP cyclique (voir pour revue Hoyer et al., 2002). Au niveau du système nerveux central, les récepteurs 5HT4 semblent

- moduler la libération de neurotransmetteurs et pourraient jouer un rôle important dans les performances mnésiques (Barnes et Barnes, 1998). Les récepteurs 5HT6 interviendraient dans le contrôle des fonctions cholinergiques centrales (Woolley et al., 2001) et les récepteurs 5HT7 seraient impliqués dans la physiopathologie des désordres affectifs (Roth et al., 1994).

PREMIERE PARTIE

EXPERIMENTALE :

*Modifications neurochimiques au sein
des ganglions de la base et
comportements moteurs associés lors
d'une SHF du NST chez le rat
hémiparkinsonien*

MATERIELS ET METHODES
PARTIE I

I. ANIMAUX

La totalité des expériences conduites sur des animaux dans ce travail de thèse ont été réalisées en accord avec la Directive Européenne de 1986 (86/609/EEC) et le ministère de l'agriculture (autorisation numéro 38-R 1001).

Les rats utilisés au cours de ce travail étaient des mâles Sprague Dawley (Janvier, Le Genest St Ile, France) pesant entre 280 et 360 g (sauf pour les lésions où les animaux pesait 180 g). Ces animaux étaient maintenus dans une animalerie à température constante (24°C), avec un cycle lumière-obscurité 12h-12h. L'eau et la nourriture étaient fournies *ad libitum*. Après leur livraison, les animaux bénéficiaient d'une période d'adaptation d'une semaine avant d'être intégrés dans un protocole expérimental.

II. CHIRURGIE

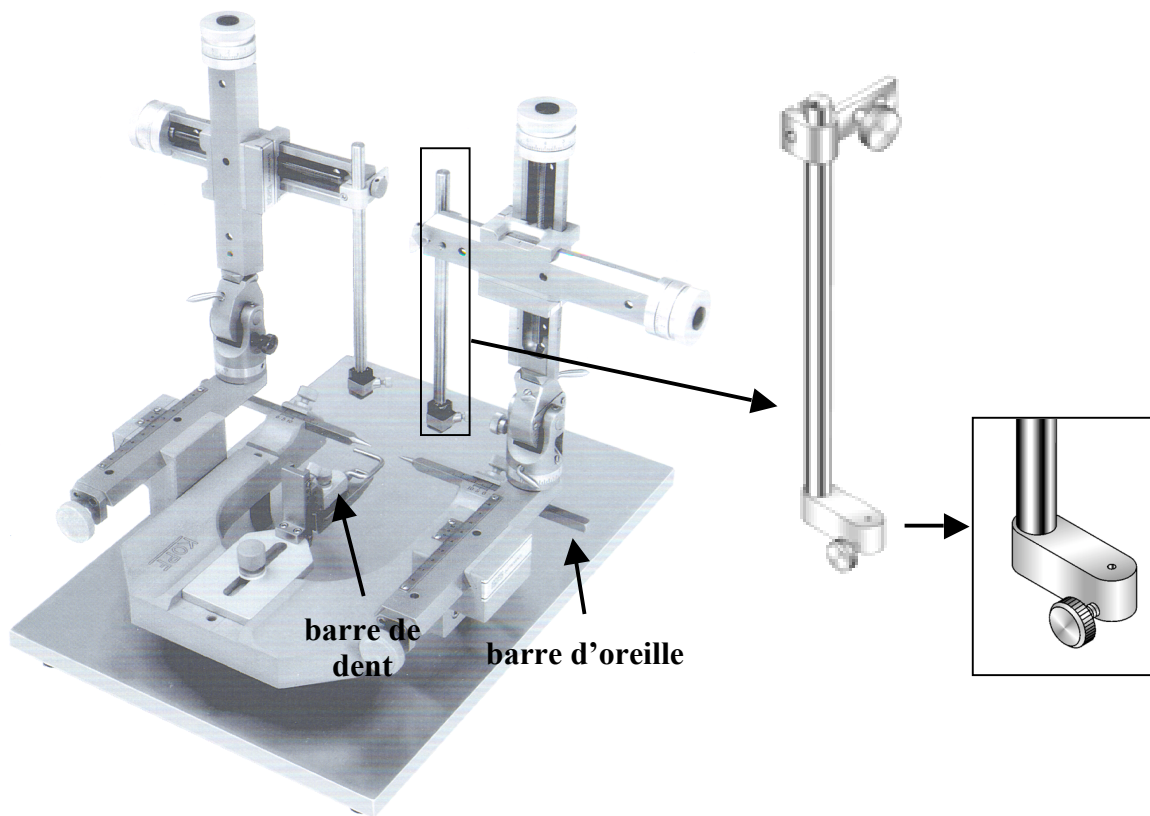
II.1 Principe de la chirurgie stéréotaxique

La stéréotaxie cérébrale permet, à l'aide d'un cadre stéréotaxique de repérer une structure cérébrale dans les trois dimensions de l'espace. Les coordonnées des structures cérébrales sont regroupées au sein d'atlas stéréotaxiques spécifiques à chaque espèce. Ces coordonnées sont déterminées pour une gamme d'individus (d'animaux) de poids ou de stade d'évolution défini.

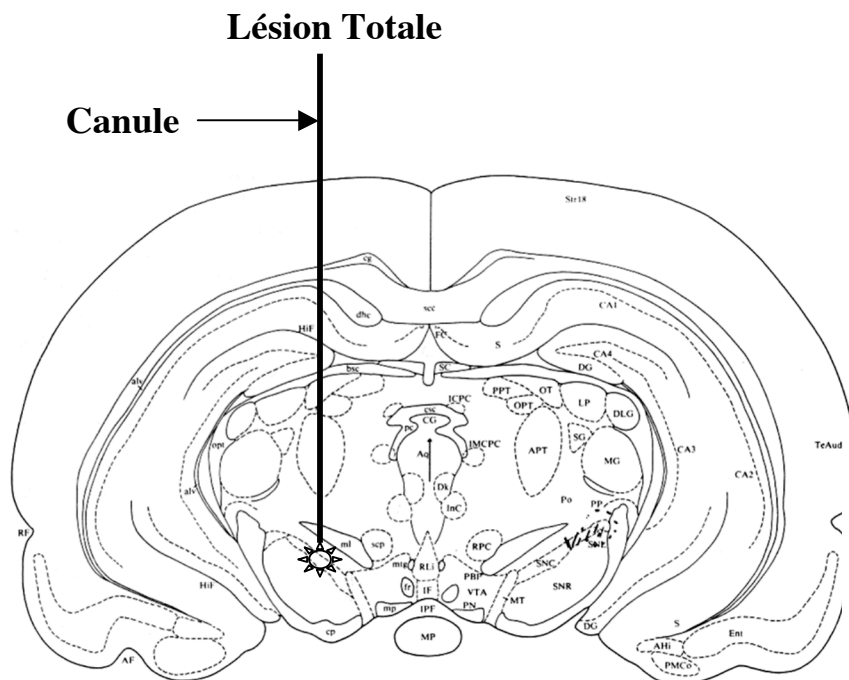
Les coordonnées que nous utilisons pour le repérage de la SNc, du NST et de la SNr chez le rat sont celles données par la 4^{ème} édition de l'atlas de Paxinos et Watson (1986). Nous avons choisi de déterminer ces coordonnées en fonction d'un repère osseux, le bregma ou d'un repère virtuel, le zéro interaural (lésion de la SNc). Ces deux repères présentent l'avantage d'être fiables et facilement repérables et pour des animaux entrant dans une gamme de poids déterminée.

II.2. Lésion unilatérale de la Substance Noire pars compacta (SNc)

Les différents groupes de rats hémiparkinsoniens, encore appelés "rats 6-OHDA", utilisés dans cette étude ont tous subi une lésion totale unilatérale (côté gauche) de la substance noire



- Figure 42 -
Cadre stéréotaxique David Kopf pour rat et accessoires stéréotaxiques associés



- Figure 43 -
Coupe coronale d'un cerveau de rat montrant la position de la canule d'injection de la 6-OHDA au niveau nigral (d'après l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson, 1986) pour une lésion totale (LT) de la SNc.

pars compacta (SNc). Les lésions de la SNc, induisant une dénervation dopaminergique, sont réalisées par injection *in situ* de 6 hydroxy-dopamine (6-OHDA).

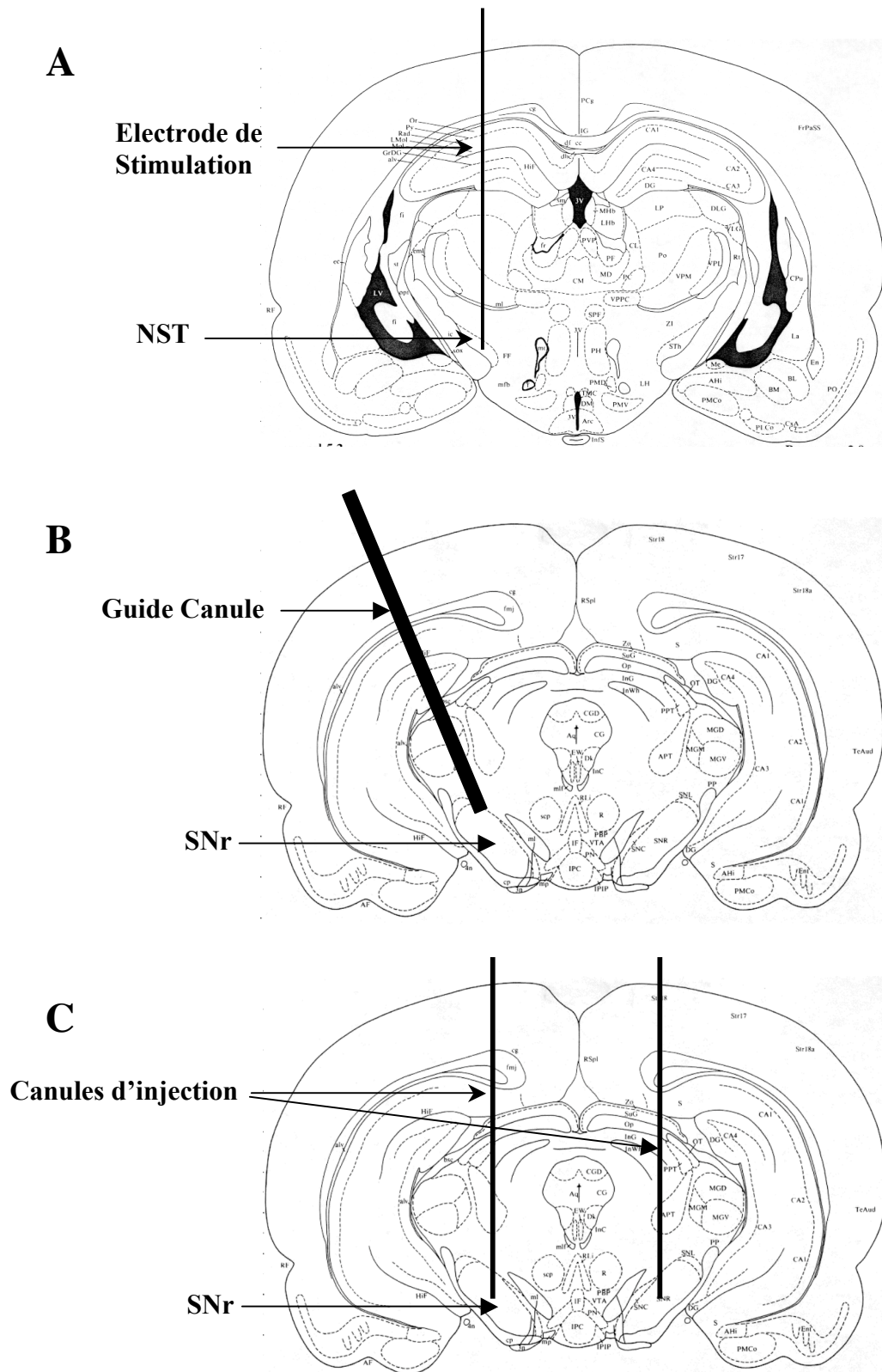
Les rats sont d'abord anesthésiés par injection intra-péritonéale d'hydrate de chloral (400 mg/kg) puis sont placés sur un cadre stéréotaxique (David Kopf Instruments, Tujunga, USA) (Fig 42). La peau du crâne est incisée sur sa longueur et les aponévroses sont écartées à l'aide de cotons tige. L'os du crâne est perforé avec une micro-perceuse au niveau des coordonnées calculées pour l'injection. La canule d'injection (acier inoxydable, $D_{\text{ext}} = 250 \mu\text{m}$), reliée au cadre stéréotaxique par un bras stéréotaxique (côté droit), et fixée perpendiculaire à l'axe horizontal (Fig 42), est descendue dans le parenchyme cérébral selon les coordonnées suivantes (barre d'incisives placée à 3 mm sous le plan interaural) (Fig 43) :

Coordonnées lésion totale (par rapport au zéro interaural)	
<i>Antéro-postériorité</i>	3,0 mm
<i>Latéralité</i>	2,1 mm
<i>Hauteur</i>	2,5 mm

Chaque animal reçoit une injection unilatérale (côté gauche) de 3 μl de 6-OHDA (Sigma, St Quentin-Fallavier, France) à 3 mg/ml diluée dans du NaCl stérile 0,9 % contenant 0,2 % d'acide ascorbique. La vitesse d'injection est de 0,5 $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$.

Après l'injection, la canule est laissée en place pendant quelques minutes pour permettre une bonne diffusion tissulaire de la neurotoxine. Enfin, la canule est retirée délicatement afin d'éviter les phénomènes d'aspiration. La peau de l'animal est ensuite suturée à l'aide d'agrafes chirurgicales et désinfectée avec de la Bétadine[®] (Polyvidone iodée, Viatrix Manufacturing, Merignac, France).

Un délai de 3 à 4 semaines post-injection est respecté avant d'intégrer ces animaux au protocole de microdialyse. Cette période est nécessaire pour atteindre une dégénérescence maximale et stable de la voie dopaminergique nigro-striée.



- Figure 44 -

Coupes coronales de cerveau de rat montrant le positionnement de l'électrode de stimulation dans le NST (A), du guide canule dans la SNr avec un angle de 17°(B) et des canules d'injection dans la SNr (C) (d'après l'atlas stéréotaxique Paxinos et Watson, 1986)

NST: Noyau Subthalamique; SNr: Substance Noire pars réticulata.

II.3. Implantation de l'électrode de stimulation, du guide canule de la sonde de dialyse et des canules d'injection d'agents pharmacologiques

Les animaux sont endormis dans une enceinte où circule un mélange d'air médical (22 % O₂, 78 % N₂ ; 1 L/min) contenant 5 % d'halothane (Halothane vétérinaire, Belamont, Boulogne Billancourt, France). Les animaux sont ensuite maintenus anesthésiés pendant toute la durée de l'intervention grâce à un système de masque fixé au cadre stéréotaxique qui permet de délivrer de façon continue le même mélange d'air médical contenant une concentration d'halothane réglable de 1 à 5 %.

Le tableau ci-dessous indique les coordonnées stéréotaxiques utilisées (en mm par rapport au bregma) pour l'implantation unilatérale (côté gauche) de l'électrode de stimulation (ES) au niveau du NST (*Fig 44A*), du guide canule de la sonde de dialyse (GCD) dans la SNr (*Fig 44B*), et pour l'implantation bilatérale des canules d'injection pharmacologique (CinjP) au sein de la SNr (*Fig 44C*).

Coordonnées des structures (par rapport au bregma)	NST (ES)	SNr	
		GCD	CinjP
		<i>(Inclinaison de 17°)</i>	
<i>Antéro-postériorité (mm)</i>	-3,7	-5,3	-5,3
<i>Latéralité (mm)</i>	2,4	5,0	+/- 2,4
<i>Hauteur (mm)</i>	-7,8	-7,3	- 8,0

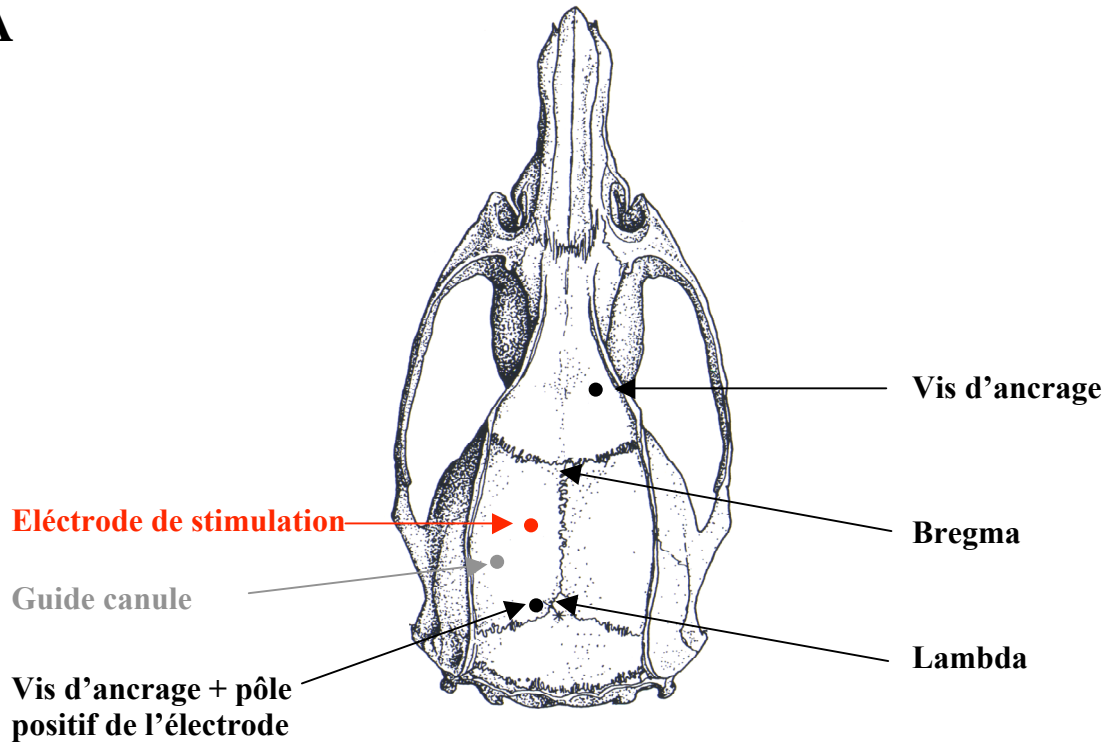
Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'implantation de l'électrode de stimulation (ES) au niveau du NST, du guide canule de la sonde de dialyse (GCD) dans la SNr et des canules d'injections pharmacologiques (CinjP) au sein de la SNr.

Les implantations de l'électrode de stimulation, du guide canule de la sonde de dialyse et des canules d'injection pharmacologique ont été réalisées 3 à 4 jours avant les expériences de microdialyse intracérébrale ou d'injections d'agents pharmacologiques.

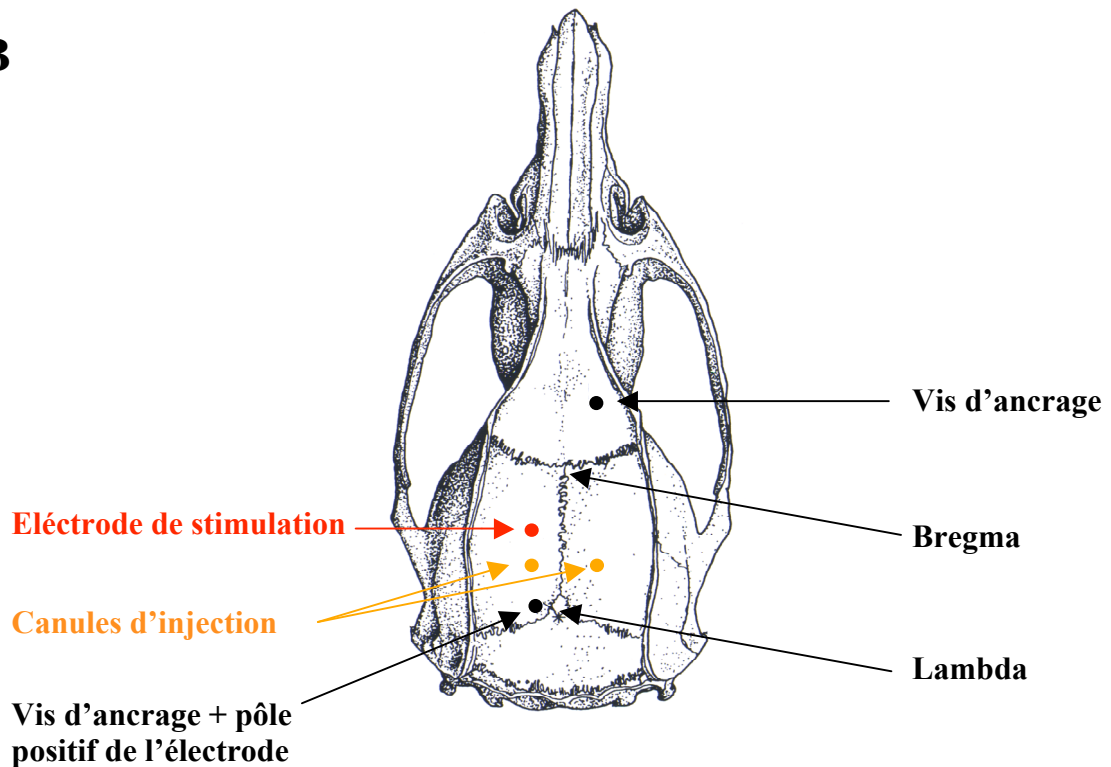
Après avoir été anesthésiés, les animaux sont placés sur un cadre stéréotaxique (*Fig 42*), barre d'incisives placée à 3,2 mm sous la plan interaural. Leur température est maintenue constante à 37°C à l'aide d'une couverture chauffante (Harvard Apparatus, Holliston, USA). La peau du crâne est ouverte longitudinalement et les aponévroses sont écartées.

Les procédures d'implantation que nous avons ensuite suivies ont été les suivantes :

A



B



- Figure 45 -

Schéma de crâne de rat permettant de repérer la localisation du dispositif expérimental utilisé pour la stimulation (A et B), la dialyse (A) et les injections pharmacologiques (B) chez l'animal éveillé.

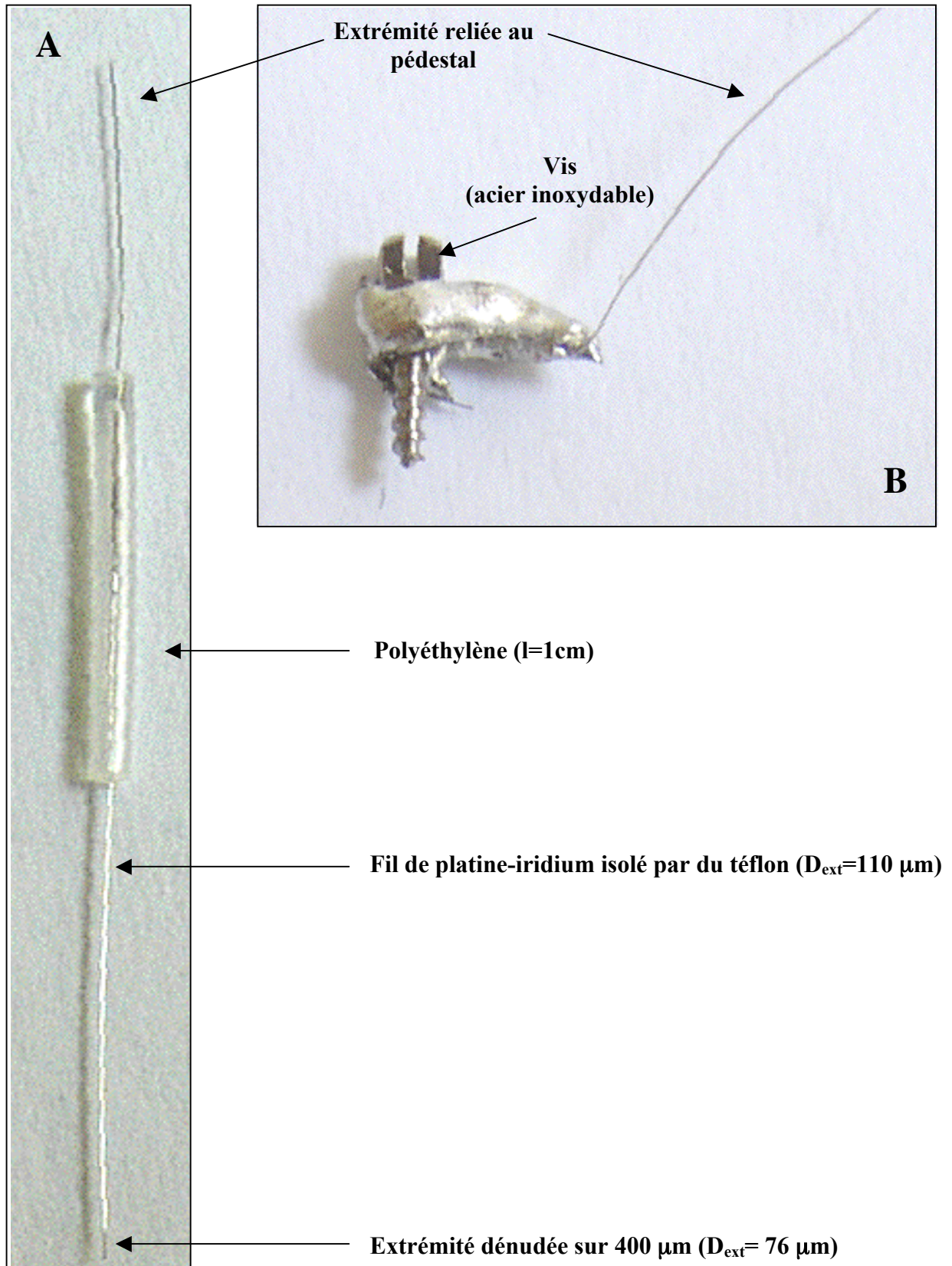
1) Pour l'électrode de stimulation (Fig 45A et 45B) :

Après avoir repéré les coordonnées du bregma avec la pointe de l'électrode de stimulation, les coordonnées de son site d'implantation sont déterminées et positionnées et un trou est réalisé dans l'os du crâne à l'aide d'une mini-perceuse. Avant d'être descendue au niveau du NST, l'électrode de stimulation, correspondant à un fil de platine-iridium isolé par du téflon ($D_{\text{ext}} = 110 \mu\text{m}$, Phymep, Paris, France) et dénudé à une extrémité sur une longueur de $400 \mu\text{m}$ (D_{ext} de la pointe de l'électrode = $76 \mu\text{m}$), est soudée à une des deux branches d'un pédestal (Phymep, Paris, France) qui permettra la connection électrique avec le stimulateur. Deux vis chirurgicales (Perrigot, Grenoble, France) sont ensuite fixées sur l'os du crâne, l'une en avant de l'électrode de stimulation et l'autre en arrière. Ces deux vis permettront de mieux sceller l'ensemble du dispositif avec du ciment dentaire (Meliodent self repair, Perrigot, Grenoble, France). De plus, sur la vis positionnée en arrière de l'électrode est soudé un fil de platine ($L = 3 \text{ cm}$) qui sera utilisé comme pôle positif de l'électrode de stimulation et connecté à la seconde branche du pédestal. Une fois l'électrode de stimulation descendue délicatement et positionnée au niveau du NST, l'ensemble est scellé sur la surface du crâne à l'aide de ciment dentaire. Plusieurs minutes d'attente sont nécessaires pour permettre au ciment dentaire de sécher et de durcir.

2) Pour le guide canule de la sonde de microdialyse (Fig 45A) :

Le guide canule à travers lequel sera descendue la sonde de dialyse est mis en place avec une inclinaison à 17° par rapport à la verticale. En effet, compte tenu de l'encombrement stérique induit par l'électrode de stimulation déjà en place dans le NST, cette inclinaison à 17° facilite l'implantation du guide canule. De plus, elle permet d'optimiser la surface de contact entre la membrane de dialyse et le parenchyme de la SNr en traversant la structure sur toute sa longueur, alors qu'une implantation verticale ne permettrait de la traverser que sur sa hauteur. Les coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'implantation unilatérale de ce guide canule au niveau de la SNr sont précisées dans le tableau 1. Une fois le guide canule positionné, l'ensemble du dispositif électrode + guide canule est recouvert de couches successives de ciment dentaire jusqu'au niveau du pédestal. A noter que ces guides canules sont constitués de polyuréthane biocompatible (CMA12, Phymep, Paris, France).

Après l'intervention, l'animal est placé dans une cage spécifiquement réservée aux expériences de dialyse sur animal éveillé, afin qu'il s'habitue à son nouvel environnement. La dialyse est réalisée 3 à 4 jours après l'intervention 1) pour permettre à l'animal de récupérer



- Figure 46 -

Photographies du pôle négatif (A) et positif (B) de l'électrode de stimulation monopolaire utilisée chez le rat éveillé libre de ses mouvements.

de son opération, 2) pour s'affranchir de toute interférence avec l'anesthésique utilisé lors de l'implantation chirurgicale.

3) Pour les guides canules d'injections d'agents pharmacologiques (Fig 45B) :

Pour les expériences d'injections intranigrales d'agents pharmacologiques, deux guides canules d'injection en inox ($D_{ext} = 0,40$ mm, $D_{int} = 0,30$ mm, $L = 12$ mm ; Cortat, Courrentlin, Suisse), implantés de façon bilatérale au sein de la SNr, ont permis de descendre les canules d'injections jusqu'à cette structure. Le choix d'une injection bilatérale s'est basé sur le fait que nous voulions éviter tout déséquilibre d'action droite/gauche de l'agent pharmacologique et être sûrs que l'effet comportemental observé était bien lié uniquement à la stimulation électrique du NST. Les coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'implantation de ces guides canules sont précisées dans le tableau 1.

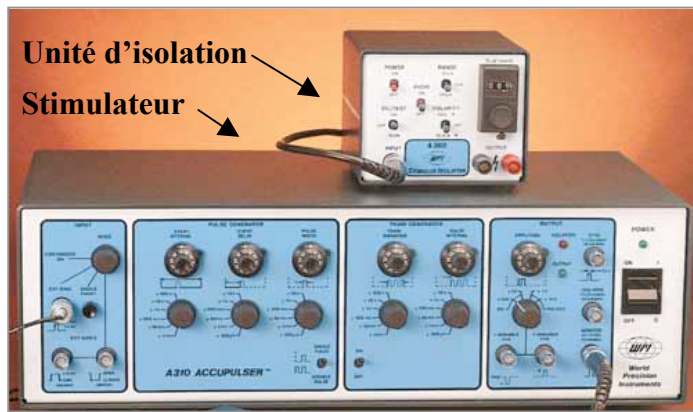
III. STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE

III.1. Matériel et connection électrique

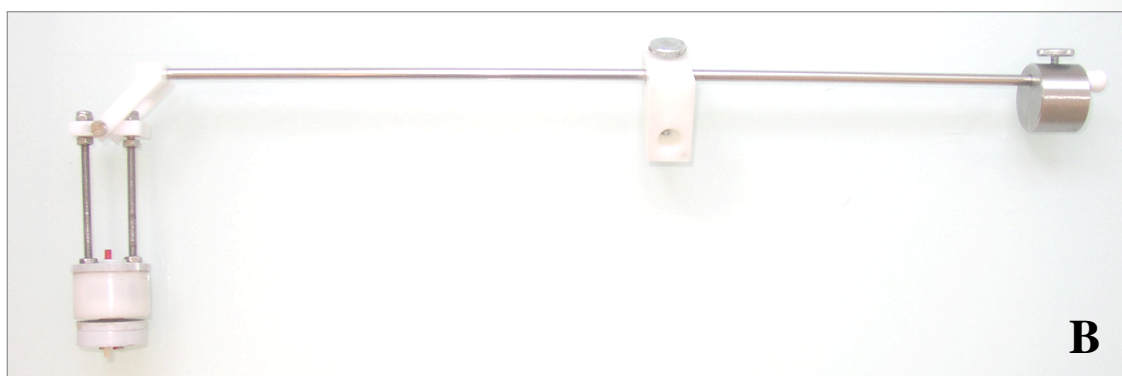
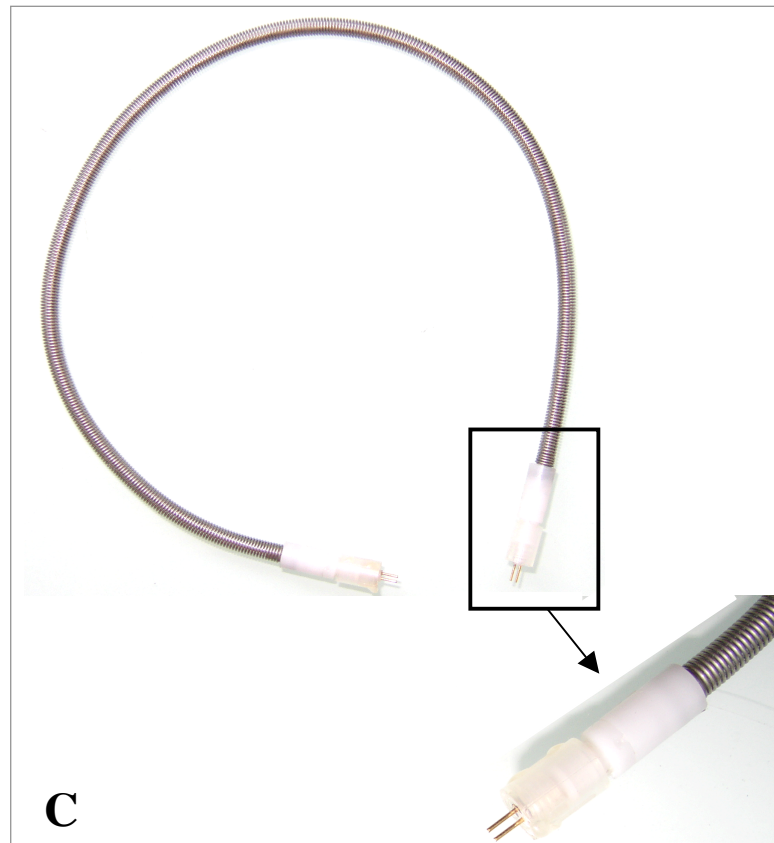
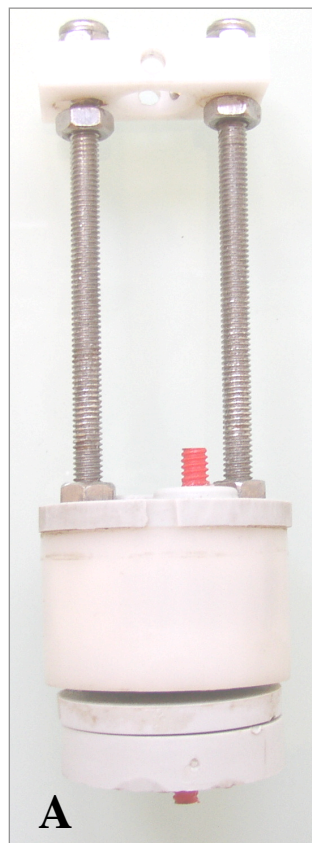
Les stimulations électriques du NST ont été réalisées avec une électrode monopolaire. Comme précisé plus haut, cette électrode est constituée d'un fil de platine iridium isolé par du téflon. Son extrémité servant de pôle négatif a été dénudée sur une longueur de 400 μ m et son impédance a été mesurée à 5 k Ω (Fig 46A). Le pôle positif de l'électrode était constitué d'une vis fixée sur la surface du crâne (Fig 46B).

Au cours de nos expériences de stimulation du noyau subthalamique chez le rat éveillé libre de ses mouvements, nous avons utilisé un signal électrique délivré par un générateur d'impulsions (Acupulser A310, WPI, Stevenage, Angleterre) relié à un isolateur (Stimulus Isolator A360, WPI) (Fig 47). Ce système a permis de générer un signal "carré" de fréquence (F en Hz), largeur d'impulsion (d en μ s) et intensité (I en μ A) réglables.

Pour relier l'animal au générateur, nous avons choisi d'employer un matériel électrique 1) résistant afin qu'il subisse les tensions induites par les mouvements répétitifs de l'animal sans être détérioré; 2) léger et maniable afin de ne pas entraver les déplacements de l'animal dans sa cage. Le connecteur tournant électrique à deux voies (SL2C, Plastic one, Virginia, USA) (Fig 48A) rassemble l'ensemble de ces qualités. Fixé sur un système de bras articulé (MAB32) (Fig 48B), il permet, en plus de la connexion électrique de l'animal, le passage de



- Figure 47 -
Générateur d'impulsion
Acupulser A310 et unité
d'isolation associée (World
Precision Instrument)
produisant un signal carré
monopolaire utilisé durant
la stimulation du NST chez
le rat éveillé libre de ses
mouvements.



- Figure 48 -
Photographies du système de connection électrique utilisé chez le rat éveillé libre de ses mouvements. Le connecteur tournant électrique à deux voies (SL2C) (A), le système de bras articulé (MAB32) (B), et le câble électrique gainé (C).

la tubulure nécessaire à la microdialyse. Il est relié au stimulateur par un câble électrique gainé de type 305-SL/2 (Plastic one) (Fig 48C) et à l'animal via un câble gainé de type 305-305 (Plastic one) qui vient se fixer au niveau du pédestal implanté sur l'animal au cours de la chirurgie.

III.2. Choix de l'électrode de stimulation

Le choix de notre électrode de stimulation repose principalement sur deux critères :

- 1) Le souhait d'avoir une méthodologie la plus proche possible de celle utilisée en clinique humaine. Or, chez les malades Parkinsoniens, les électrodes implantées sont en platine (Medtronic, USA) et le plus souvent utilisées en stimulation mono-polaire.
- 2) Au cours des études précédentes réalisées au laboratoire chez l'animal anesthésié, nous avons utilisé une électrode de type SNEX 100 ($D_{ext} = 250 \mu m$; Phymep, Paris, France). Cette électrode nous a paru inadaptée pour une implantation chronique du fait de sa difficulté de fixation mais également à cause des dommages tissulaires qu'elle induit au niveau de la zone stimulée après plusieurs heures de stimulation (Harnack et al., 2004; Temel et al., 2004).

III.3. Paramètres de stimulation chez le rat éveillé

III.3.1. Etude des comportements moteurs induits par la stimulation électrique du NST en fonction des paramètres utilisés

Nous avons étudié, chez des rats normaux et hémiparkinsoniens, l'influence des paramètres de stimulation sur le comportement moteur induit par la SHF du NST au cours de deux séries d'expériences. Dans la première série, la fréquence et la largeur d'impulsion de la stimulation ont été maintenues constantes à des valeurs respectives de 130 Hz et de 60 μs et seule l'intensité de stimulation a été progressivement augmentée de 0 à 1000 μA . Le comportement moteur des animaux a été observé tout au long de cette incrémentation.

Dans la deuxième série d'expériences, des stimulations de fréquence (10, 60, 130, 150 ou 200Hz) ou de largeur d'impulsion (20, 40, 60, 80 ou 100 μs) variables ont été appliquées aux animaux. Lorsque la fréquence variait, la largeur d'impulsion a été maintenue constante à une valeur de 60 μs . A l'inverse, lorsque la largeur d'impulsion variait, la fréquence a été stabilisée à 130 Hz. Au cours de ces stimulations, l'intensité a été progressivement augmentée

jusqu'à la valeur 'seuil' induisant l'apparition d'un mouvement dyskinétique de la patte avant située du côté controlatéral à la stimulation du NST. Au cours de ces études de fréquence et de largeur d'impulsion de la stimulation, nous avons également modifié la polarité de l'électrode de stimulation et nous avons étudié les comportements moteurs à la fois avec une polarité négative et positive. En effet, la majorité des patients parkinsoniens étant stimulés avec une électrode de polarité négative, il nous a paru important de mesurer l'influence de la polarité de l'électrode sur les autres paramètres de stimulation.

III.3.2. Paramètres utilisés au cours des expériences de dialyse ou de microinjections intranigrales d'agents pharmacologiques

Comme dit précédemment, nous avons choisi nos paramètres de stimulation afin qu'ils soient les plus proches possibles de ceux utilisés en clinique. Ainsi, la fréquence de 130 Hz et la largeur d'impulsion de 60 μ s sont identiques à celles couramment appliquées aux malades Parkinsoniens (Limousin, 1995, 1998 ; Volkmann et al., 2000; Moro et al. 2002). L'intensité de stimulation a dû être adaptée à la taille de l'animal. Les études comportementales que nous avons réalisées ont permis de montrer que l'apparition d'un mouvement dyskinétique de la patte avant située du côté contralatéral à la stimulation représentait un bon critère de stimulation 'effective' du NST comme décrit précédemment chez l'homme (Guridi et Obeso, 2001 ; Postuma et Lang, 2003).

Ainsi, pour nos expériences de microdialyse, nous avons utilisé deux valeurs d'intensité de stimulation. La première, que nous avons appliquée à un premier groupe expérimental (rats intacts, n = 12; rats hémiparkinsoniens, n = 14) a été fixée à une valeur I_1 correspondant à une intensité 'seuil' évoquant l'apparition de dyskinésies de la patte avant controlatérale au côté stimulé. Cette intensité I_1 sera souvent dénommée dans notre texte intensité dyskinésiante.

La deuxième intensité, appliquée à un deuxième groupe expérimental (rats intacts, n = 13; rats hémiparkinsoniens, n = 17) a été fixée à une valeur I_2 correspondant à une intensité non dyskinésiante. La valeur I_2 a été arbitrairement fixée à la moitié de la valeur I_1 , et a été définie pour chaque animal. Le choix d'utiliser deux valeurs d'intensité pour notre étude neurochimique s'est appuyé sur les études électrophysiologiques rapportées par Maurice et collaborateurs (Maurice et al., 2003). Ces auteurs ont effectivement montré que l'activité des neurones de la SNr pouvait être différente (activation ou inhibition) sous l'effet de la SHF du NST selon l'intensité de stimulation utilisée. Il était donc important pour nous de vérifier si ces modulations de l'activité de la SNr sous l'effet de la SHF du NST pouvaient être corrélées

à des variations de contenus ou de ‘libération’ de neuromédiateurs excitateurs comme le glutamate ou inhibiteurs comme le GABA.

Les intensités I_1 et I_2 étaient spécifiques à chaque animal et respectivement comprises entre 60-200 μA et 30-100 μA .

<i>Fréquence (Hz)</i>	<i>Largeur d’impulsion (μs)</i>	<i>Intensité (μA)</i>
130	60	$60 < I_1 < 200$ $30 < I_2 < 100$

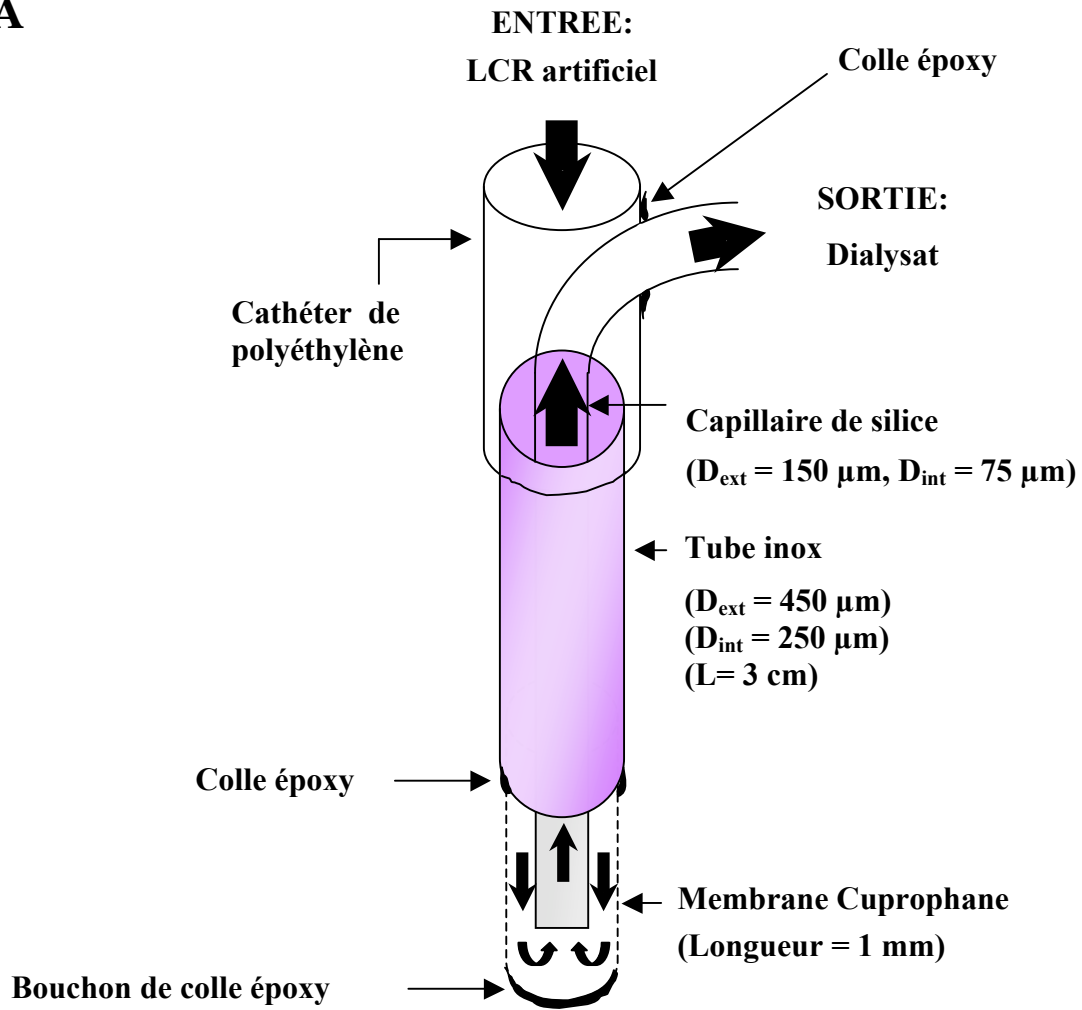
IV. MICRODIALYSE INTRACEREBRALE CHEZ LE RAT EVEILLE

La microdialyse intracérébrale est un outil qui permet une analyse dynamique et temporelle des variations d’une ou de plusieurs substances présentes dans le milieu extracellulaire cérébral (neurotransmetteurs, ...) et ceci dans des conditions proches des conditions physiologiques puisqu’elle peut être réalisée *in vivo* sur animal anesthésié ou vigile. C’est une technique invasive qui implique l’implantation d’une sonde de microdialyse où circule en permanence un liquide de perfusion (liquide céphalo-rachidien artificiel) qui, recueilli de façon fractionnée à la sortie de la sonde, est appelé dialysat. Les dialysats sont utilisés pour mesurer la concentration des substances d’intérêt. Cette mesure, souvent réalisée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) peut se faire directement au fur et à mesure de la collecte des dialysats (mesure ‘on line’) ou de façon retardée (mesure ‘off line’). Dans ce cas, une fois collectés, les dialysats sont conservés à - 80° C.

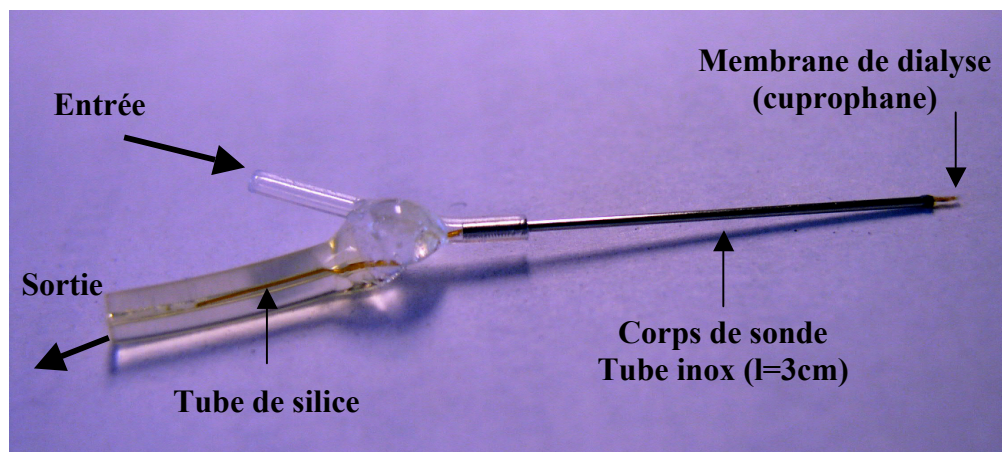
IV.1. Principe de la microdialyse

La microdialyse repose sur une diffusion simple des substances de faible poids moléculaire à travers une membrane semi-perméable en fonction de leur gradient de concentration. La microdialyse permet ainsi soit de recueillir des molécules au sein d’une structure cérébrale ou autre, soit d’injecter des drogues au niveau de cette structure via la sonde. Dans ce dernier cas, la drogue étant plus concentrée dans le liquide de perfusion, elle passera naturellement au niveau de la structure par diffusion.

A



B



- Figure 49 -

Schéma (A) et photographie (B) d'une sonde de dialyse fabriquée au laboratoire et utilisée chez le rat.

IV.2. Les sondes de microdialyse

IV.2.1. Fabrication des sondes

Les sondes de microdialyse que nous utilisons sont réalisées au laboratoire. Un tube de polyéthylène d'un centimètre de long environ ($D_{int}= 0,38$ mm, $D_{ext}= 1,09$ mm ; Biotroll Diagnostic, chenivière les louvres, France) est emboîté à l'extrémité d'un tube en inox de longueur adaptée à la structure à dialyser ($D_{int} = 24$ gauges ; Phymep, Paris, France). Une encoche est réalisée dans le tube de polyéthylène, juste au-dessus du tube en inox afin de pouvoir glisser un cathéter de silice ($D_{int}= 75$ μ m, $D_{ext}= 150$ μ m ; Phymep) jusqu'à l'extrémité du tube en inox. Cette encoche est ensuite étanchéifiée par une pointe de colle époxy 5 minutes (Devcon, Wellingborough, Angleterre). Au niveau de l'extrémité libre du tube inox, la longueur du tube de silice est adaptée à la structure à dialyser et une membrane dialysante semi-perméable préalablement fermée à une extrémité par un bouchon de colle époxy 30 minutes vient recouvrir le tube de silice. La membrane est rendue solidaire de l'ensemble par une pointe de colle époxy 5 minutes (*Fig 49A et 49B*).

IV.2.2. Spécificité rat

Les sondes utilisées chez le rat ou le singe sont conçues selon le même principe de fabrication et avec les mêmes matériaux, seules la taille du tube inox, la longueur de la membrane dialysante et sa nature changent. Ces modifications ont été nécessaires afin de s'adapter à la taille des cerveaux des animaux et des structures dialysées. Le tableau ci-dessous résume les particularités des sondes utilisées chez le rat.

<i>Animal</i>	<i>Structure dialysée</i>	<i>Longueur tube inox(cm)</i>	<i>Membrane dialysante</i>	
			<i>Longueur (mm)</i>	<i>Nature</i>
Rat	SNr	3	1	Cuprothane

IV.2.3. Rendement des sondes *in vitro*

Avant leur utilisation, les sondes de dialyse sont testées *in vitro*, leur débit est vérifié et leur rendement est calculé de la manière suivante : $\text{Rendement} = [C_{\text{dialysat}}] / [C_{\text{b cher}}] * 100$. Ceci permet d'écarter les sondes non fonctionnelles et de vérifier l'homogénéité des lots utilisés. Pour ce faire, les sondes sont placées dans un b cher contenant une solution standard d'acides aminés ou de catécholamines de concentration connue (Glu= 0,2ng/ μl ; GABA= 0,05ng/ μl ; DA, DOPAC, HVA et 5-HT = 0,1ng/ μl) et perfusées en continu avec du liquide céphalo-rachidien artificiel (LCR)   un débit de 1 $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$. Après 1h30 d'équilibrage, des micro-fractions sont recueillies et dos es dans des conditions identiques à celles des expérimentations *in vivo*.

IV.3. Protocole de dialyse

IV.3.1. Importance et choix des paramètres de dialyse

De nombreux paramètres rentrent en compte dans la reproductibilité et l'optimisation des résultats d'une dialyse réalisée sur un animal vivant. Ainsi il est important de bien choisir la composition du milieu de perfusion, le débit de perfusion, la longueur et la nature de la membrane dialysante et de les adapter aux structures à dialyser.

Composition du milieu de perfusion :

La nature du liquide de perfusion entre en jeu dans la récupération des molécules d'intérêt présentes dans le milieu intracérébral. Pour optimiser cette récupération, la composition du liquide de perfusion doit être la plus proche possible du milieu perfusé. Dans nos expériences (rat et singe), nous avons donc utilisé du liquide céphalorachidien artificiel de composition identique à celle déterminée par Benveniste et Huttemeier (1990) : NaCl 149 mM ; KCl 2,8 mM ; MgCl₂ 1,2 mM ; CaCl₂ 1,2 mM, Glucose 5,4 mM.

Le pH était ensuite ajusté à 7,3   l'aide d'un tampon phosphate (Na₂HPO₄ / NaH₂PO₄) et le LCR filtré sur un filtre millipore 0,22 μm .

Vitesse de perfusion

Le taux de récupération des molécules est aussi largement influencé par la vitesse de perfusion du milieu. Un débit trop élevé peut induire des forces de convection importantes autour de la sonde et ainsi augmenter la résistance au niveau des pores de la membrane



- Figure 50 -

Photographie du système de connection électrique et de microdialyse utilisé chez le rat éveillé libre de ses mouvements

dialysante. Des études ont permis de déterminer que la vitesse de perfusion optimale d'une expérience de dialyse se situait entre 1 et 2,5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ (Khan et Shuaib, 2001; De Lange et al., 2000). Au cours de nos expériences, nous avons utilisé un débit de perfusion de 1 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ chez le rat. Le débit a été adapté en fonction de la taille de la structure dialysée (le volume de diffusion du LCR étant d'autant plus grand que le débit est élevé) et du volume de dialysat nécessaire, qui dépend de la concentration des molécules analysées par la suite par chromatographie.

Nature et longueur de la membrane dialysante :

Enfin, le taux de récupération des molécules présentes dans le milieu extracellulaire cérébral est aussi dépendant de la surface de la membrane dialysante entrant en contact avec le tissu dialysé. Il faut donc que cette surface soit la plus grande possible tout en respectant la taille et l'homogénéité du tissu dialysé. Ainsi, pour la dialyse de la SNr dont le volume ne représente qu'environ 2,5 mm^3 ($L \approx 2 \text{ mm}$, $l \approx 1,5 \text{ mm}$, $H \approx 0,8 \text{ mm}$) chez le rat, nous utilisons des membranes de 1 mm de long.

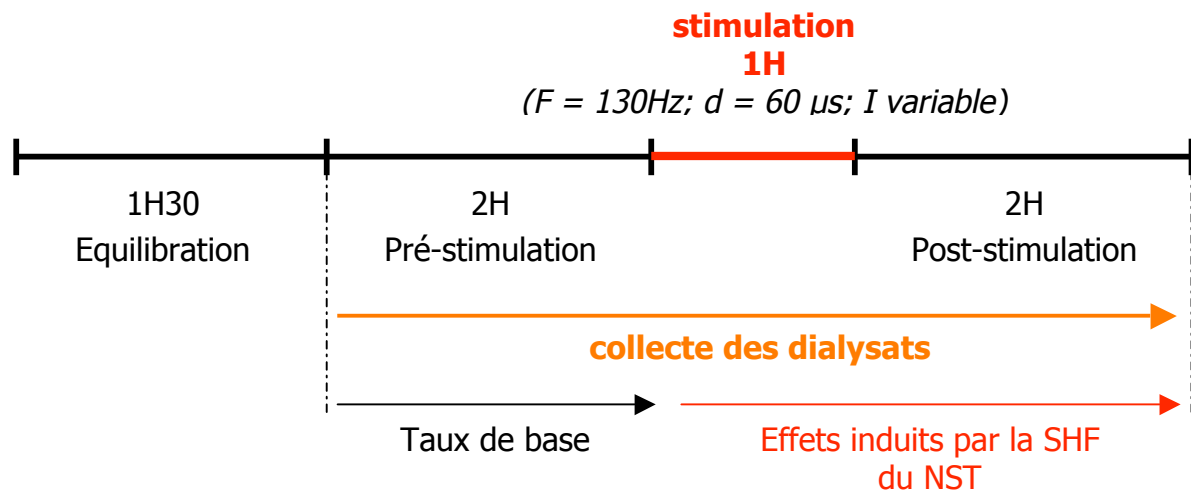
Enfin, le matériau utilisé pour la membrane dialysante doit être biocompatible, avec une taille de pores adaptée au passage des molécules qu'on souhaite étudier. Chez le rat, nous avons utilisé du Cuprophane, une membrane de cellulose biocompatible (Hospal Industry, Meyzieu, France). Sa limite de perméabilité de 10 kD est adaptée au passage des acides aminés que nous étudions dont le poids moléculaire est d'une centaine de Daltons.

IV.3.2. Déroulement de la dialyse

Les sondes de dialyse sont préparées quelques jours avant l'expérience de dialyse. La veille de l'expérience, elles sont perfusées toute la nuit avec une solution de LCR artificiel afin d'être équilibrées. Le flux continu de LCR est assuré par une pompe pousse seringue (CMA/100, Phymep, Paris, France) dont le débit est réglé à 1 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Le jour de la dialyse, le débit à la sortie du système de dialyse sur animal éveillé est vérifié, l'animal est connecté au connecteur fluide tournant et la sonde de dialyse est glissée dans le guide canule (*Fig 50*). Les dialysats obtenus durant l'heure et demie qui suit l'implantation de la sonde de dialyse dans la SNr sont écartés afin d'éliminer les perturbations parenchymateuses provoquées par l'implantation de la sonde. Les fractions sont ensuite collectées durant 5h selon le schéma suivant : 2h avant l'application de la SHF du NST, cette période permettant de déterminer les valeurs des taux de base des neurotransmetteurs étudiés ;

1h pendant la durée de la stimulation et encore 2h après l'arrêt de la stimulation afin de déterminer l'effet post-stimulation. Les fractions sont recueillies toutes les 15 minutes par un micro-collecteur réfrigéré à 4°C (Microsampler 820, Univentor, Phymep, Paris, France). Le volume final collecté par échantillon étant de 15 µl.



L'ensemble des tubes collectés est conservé à -80°C pour être dosé plus tard par CLHP. Le volume minimal de liquide extracellulaire à recueillir est conditionné par la sensibilité de la technique de CLHP utilisée pour doser les neurotransmetteurs.

IV.4. Dosage des neurotransmetteurs étudiés par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)

La chromatographie est une technique analytique permettant la séparation, l'identification et la quantification des composés d'un mélange. Elle est basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases non miscibles : la phase stationnaire et la phase mobile. Chacun des composés du mélange est soumis à une force de rétention (phase stationnaire) et une force d'entraînement (phase mobile). L'équilibre qui en résulte aboutit à une migration différentielle des composés à analyser à travers la phase stationnaire, ce qui permet leur séparation.



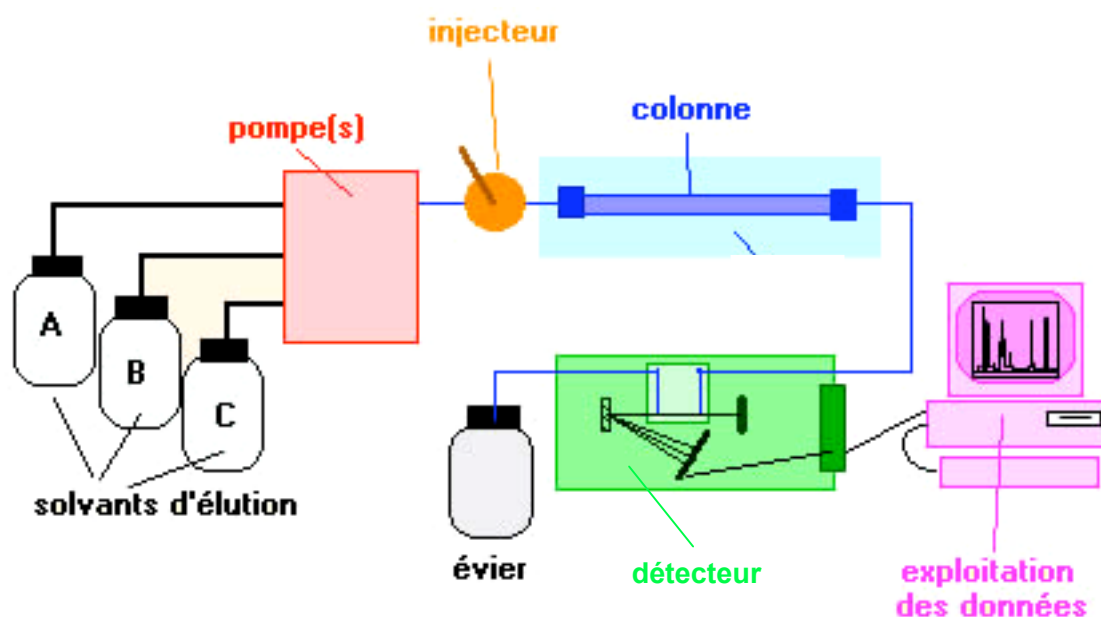
- Figure 51 -

Photographie d'une chaîne de chromatographie liquide à haute performance

1: Ecran de contrôle; 2: Système de pilotage informatique; 3: Solvants;
4: Pompe; 5: Injecteur; 6: Détecteur.

IV.4.1. Matériel nécessaire à la technique de CLHP

Toute installation de CLHP comporte un certain nombre de modules aux fonctions bien définies : le solvant ou phase mobile, la pompe, l'injecteur, la colonne ou phase stationnaire, et le détecteur (Fig 51). L'ordre de ces différents éléments dont nous rappèlerons brièvement le rôle ci-après est représenté par le schéma suivant:



L'injecteur, généralement automatique, est une vanne haute pression à plusieurs voies, assurant une injection très brève d'un volume précis d'échantillon en tête de colonne.

La colonne, tube en acier, calibré, contient la phase stationnaire, siège de la séparation. En CLHP, la séparation étant basée sur le principe de la polarité, la colonne sera choisie en fonction du caractère polaire ou apolaire des molécules à analyser. En effet, une phase stationnaire polaire aura plus d'affinité pour les composés polaires, tandis qu'une phase apolaire retiendra plus facilement les composés apolaires. Il existe sur le marché une grande quantité de phases stationnaires afin de répondre à la séparation du plus grand nombre de molécules. Cependant, les phases les plus utilisées restent les phases stationnaires à base de gel de silice (matériau polaire) sur lequel a été greffées des molécules organiques apolaires de taille variable, de 2 à 18 atomes de carbone (C2 à C18), entraînant ainsi une modification de la polarité de départ. Ces phases sont appelées RP 2 ou RP 18 pour 'reverse phase' ou phase inverse par rapport à la polarité initiale du gel de silice (polaire) et s'appliquent bien à la séparation de petites molécules apolaires comme les acides aminés et les catécholamines.

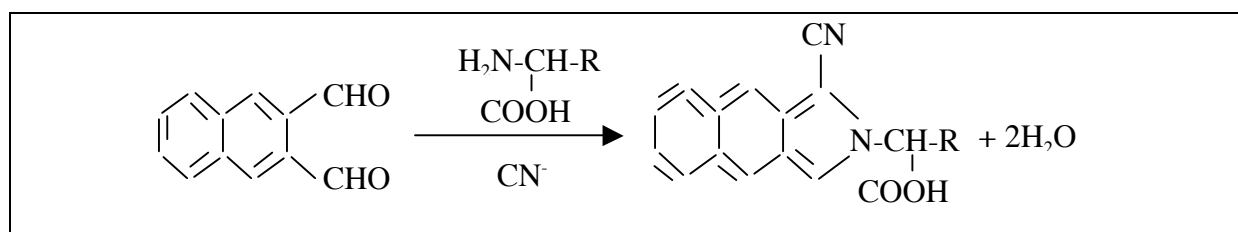
La pompe assure le passage de la phase mobile dans tout le système, pompe-injecteur-colonne-phase stationnaire, de façon continue et à débit constant. La phase mobile peut être constituée d'un ou de plusieurs solvants dont le pouvoir éluant dépend de leur propre polarité. La phase mobile devra présenter une affinité plus forte que la phase stationnaire pour le composé à analyser de manière à le faire migrer le long de la colonne. La colonne est suivie du détecteur, choisi en fonction des propriétés physico-chimiques de la molécule à analyser. Dans nos analyses, nous avons utilisé des détecteurs spectrochimique et spectrofluorométrique.

IV.4.2. Dosage des acides aminés

Le dosage des acides aminés est assuré par une CLHP couplée à une détection spectrofluorimétrique induite par laser.

IV.4.2.1. Principe de la détection

Une fluorescence est évoquée lorsque des atomes ou des molécules, excités par l'absorption d'un rayonnement électromagnétique, reviennent à leur état fondamental en libérant l'excès d'énergie sous forme de photons. Les acides aminés n'étant pas naturellement fluorescents, un réactif fluorophore, le naphthalène-2,3-dicarboxaldehyde (NDA) doit être greffé sur leur structure moléculaire. Cette réaction se fait en présence d'ion cyanide (CN^-) et en milieu alcalin (tampon borate, $\text{pH}=8.7$). Ce processus est appelé "dérivation" ou "dérivatisation" et s'effectue avant l'injection de l'échantillon sur la colonne, selon la réaction suivante :



IV.4.2.2. Matériel

Le système chromatographique utilisé se compose d'un dégazeur (DG 1310, Shimadzu, Champs-sur-Marne, France), d'un sélecteur de solvant (FCV 10 AL, Shimadzu), de deux pompes (LC 10-AT, Shimadzu), d'un injecteur automatique réfrigéré (Triathlon, Polymer

Laboratories, Marseille, France) et d'un détecteur fluorimétrique à induction laser (Zelatif, Picométrics, Toulouse, France). Un logiciel spécifique (Class LC 10, Shimadzu) pilote le système analytique et traite les données.

IV.4.2.3. Paramètres analytiques appliqués

Tous les solvants utilisés sont de qualité extrapure, spécifiques pour l'analyse chromatographique. Toutes les solutions sont filtrées sur des filtres Millipore aréactifs de porosité : 0,22 µm.

La phase mobile (A) est constituée de NaH₂PO₄ 40 mM ajustée à un pH 6 avec une solution de NaOH 10N et additionnée de 12 % d'acétonitrile. Le débit de la phase mobile est fixé à 0.35 mL/min. Afin d'améliorer la séparation des acides aminés et également de diminuer le temps d'analyse, un gradient d'acétonitrile (phase B) est réalisé selon le protocole suivant :

Temps (en min)	0	3	4	7	11	13
Concentration phase mobile (A) en %	84	80	60	50	84	84
Concentration acétonitrile (B) en %	16	20	40	50	16	16

La préparation des standards est réalisée à partir de solutions mères stockées à -80°C et gardées 2 mois maximum. Ces dernières contiennent séparément le glutamate et le GABA à la concentration de 1 mg/mL dans du tampon borate. L'intensité de fluorescence étant proportionnelle à la quantité d'acides aminés injectée, la quantification des acides aminés dans les dialysats se fait par rapport à une "solution standard" de la molécule d'intérêt, de concentration connue et injectée dans les mêmes conditions. Cette solution standard est préparée quotidiennement et correspond à une dilution de la solution mère dans du tampon borate. La concentration finale est adaptée en fonction des exigences expérimentales ou de la structure dialysée.

La dérivation est réalisée automatiquement par l'auto-injecteur thermostaté à 20°C : 2 µl d'échantillon sont mélangés à 2 µl de mélange borate/NaCN et 1 µl de solution NDA 2.5 mM. Après 10 min de contact, 2 µl de produit dérivé et dilué selon les besoins sont injectés sur la colonne. Tous les paramètres de la dérivation ont été ajustés pour optimiser la fluorescence.

La colonne est une colonne RP 18 de 100 mm de long, 2,1 mm de diamètre interne et 3,5 μm de granulométrie.

Le détecteur de fluorescence est équipé d'un laser hélium-cadmium. La longueur d'onde d'excitation est de 442 nm et celle d'émission de 490 nm.

Dans ces conditions analytiques, les limites de détection du glutamate et du GABA sont respectivement de 2 et 100 fentogrammes sur colonne (ou 6,8 et 480 pmoles).

Récapitulatif des paramètres analytiques appliqués pour le dosage des acides aminés

Phase mobile	NaH ₂ PO ₄ 40 mM, pH 6, 12 % ACN
Débit	0,35 mL/min
Dérivation	2 μL d'échantillon + 2 μL de mélange borate/NaCN + 1 μL NDA
Volume injecté	2 μL
Colonne RP 18	100 mm x 2,1 mm, 3,5 μm
Détecteur	λ_{ex} 442 nm λ_{em} 490 nm

IV.4.3. Validation de la techniques analytique

La méthode analytique utilisée pour le dosage des acides aminés a été chaque fois validée par trois tests: la répétabilité, la reproductibilité et la linéarité.

La répétabilité intra-essais est testée en effectuant des injections répétées (n=9) de la même solution de standards. Elle est représentée par le coefficient de variation, exprimé en pourcentage, et correspondant aux erreurs de répétabilité. Celles-ci ne doivent pas dépasser 5%.

La reproductibilité inter-essais est estimée en effectuant des injections répétées (n=9) de différentes solutions standards d'acides aminés sur 3 jours. Ce paramètre est représenté par un coefficient de variation, exprimé en pourcentage et ne doit pas dépasser 5%.

Et enfin, la linéarité est la capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de l'acide aminé présent dans l'échantillon. Elle est représentée par le coefficient de corrélation, pour un intervalle de concentration défini (6,8-3400 nM pour le Glu et 0,48-48 nM pour le GABA), et doit être le plus proche possible de 1.

	Glutamate	GABA
Répétabilité: coefficient de variation	4,1 %	1,9 %
Reproductibilité: coefficient de variation	3,2 %	2,7 %
Linéarité: coefficient de corrélation	0,999	0,999

V. INJECTIONS INTRANIGRALES D'AGENTS PHARMACOLOGIQUES CHEZ LE RAT EVEILLE LIBRE DE SES MOUVEMENTS

La corrélation que nous avons pu établir entre variations neurochimiques et apparition ou non de dyskinésies, nous a permis d'établir l'implication spécifique du Glu et du GABA dans ces comportements moteurs. Dans une dernière partie expérimentale de ce travail, nous avons voulu vérifier fonctionnellement *in vivo* les rôles exercés par le Glu et le GABA en étudiant l'effet d'injections *in situ* d'agonistes et d'antagonistes de ces deux acides aminés, sur les comportements moteurs observés.

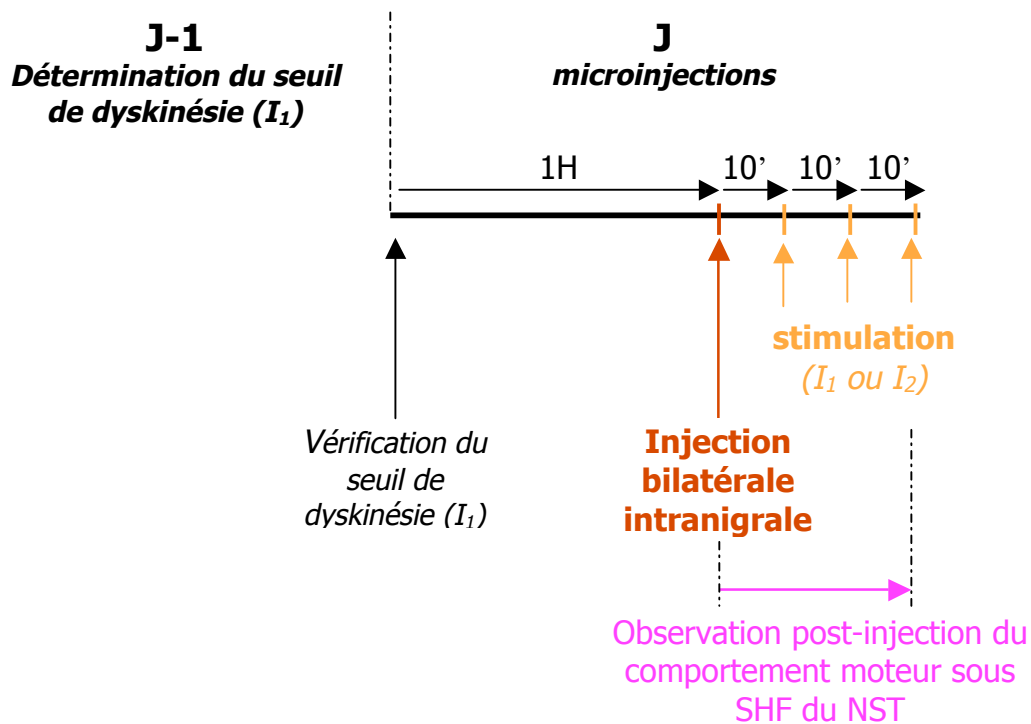
V.1. Substances pharmacologiques injectées

Nous avons testé 3 types de substances pharmacologiques spécifiques des acides aminés sur 3 groupes d'animaux : 1) l'acide kynurénique, un antagoniste glutamatergique à large spectre; 2) le muscimol, un agoniste des récepteurs GABA_A et 3) un mélange 50/50 de NMDA (acide N-méthyl-D-aspartique) + AMPA (acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique), agonistes des récepteurs du même nom. Toutes les substances ont été achetées chez Sigma-Aldrich (St Louis, USA) et dissoutes dans du NaCl 0.9 %. Les doses injectées bilatéralement au sein de la SNr ont été respectivement : 0,5 ou 1 nM ; 0,8, 1,5 ou 3 nM et 1 ou 2 nM. Chaque groupe a reçu 2 ou 3 concentrations différentes d'une même substance ainsi qu'une injection de véhicule. Ces injections ont été espacées au minimum de 2 jours.

V.2. Injections pharmacologiques et études comportementales réalisées

Les injections ont été réalisées à l'aide d'une canule en inox ($D_{ext} = 0,28$ mm, $D_{int} = 0,18$ mm, $L = 13,5$ mm ; Cortat, Courrentlin, Suisse) reliée à une seringue de 10 μ l (Hamilton, Bonaduz, Suisse) par un cathéter de polyéthylène ($D_{ext} = 1,09$ mm, $D_{int} = 0,38$ mm; Phymep, Paris,

France). Le volume injecté était de 0,5 µl par côté et le débit, assuré par une pompe pousse seringue (CMA/100, Phymep, Paris, France), de 0,25 µl/min. Les canules ont été laissées en place durant la minute qui a suivi l'injection afin de permettre une bonne diffusion de la substance injectée. L'injection achevée, l'animal a été replacé dans sa cage et connecté électriquement au stimulateur. 10, 20 et 30 minutes après la fin de l'injection, une stimulation de deux minutes, d'intensité I_1 ou I_2 a été appliquée à l'animal et ses réactions motrices ont été observées et filmées. Deux groupes de 15 rats ont été utilisés pour ces expériences : un groupe de rats intacts (n=15) et un groupe de rats hémiparkinsoniens (n=15). Chaque groupe a été séparé en 3 sous-groupes de 5 animaux chacun. Deux de ces 3 sous-groupes ont été stimulés avec une intensité I_1 , intensité dyskinésiante, et ont respectivement reçus des injections d'acide kynurénique (n=5) ou de muscimol (n=5). Les animaux du troisième sous-groupe, stimulés avec une intensité I_2 , non dyskinésiante, ont été injectés avec un mélange NMDA+AMPA (n=5). Le protocole d'injection utilisé est résumé ci-dessous.



V.3. Evaluation qualitative et quantitative du comportement moteur induit par les injections pharmacologiques pratiquées

Les effets des injections pharmacologiques sur les comportements moteurs induits par la SHF du NST ont été évalués à l'aide d'une échelle arbitraire définie comme suit :

0 : Absence de comportements moteurs spécifiques.

1 : Existence d'un comportement de 'sniffing'.

2 : Présence d'une dystonie au niveau du tronc et de la tête.

3 : Apparition de mouvements dyskinétiques sur la patte avant située du côté controlatéral à la stimulation.

D'un point de vue quantitatif, nous avons également compté le nombre de mouvements répétés observés pour chaque type de dyskinésie.

VI. CONTROLES HISTOLOGIQUES

VI.1. Evaluation de l'étendue de la lésion dopaminergique

Classiquement, l'étendue de la lésion dopaminergique induite par la 6-OHDA peut-être évaluée par deux approches.

La première est une approche *in vivo* réalisée environ deux semaines après la lésion. Elle consiste à observer des comportements rotatoires sous l'effet d'agents agonistes dopaminergiques. En effet, l'injection d'agonistes dopaminergiques chez un animal ayant subi une lésion totale de la SNc induit un comportement rotatoire du côté controlatéral à la lésion. Ce comportement apparaît quand environ 90 % des neurones ont été détruits (Ungerstedt, 1968 ; Schwarting et Huston, 1996). Il serait dû au développement d'une hypersensibilité à la DA des récepteurs dopaminergiques post-synaptiques du striatum (essentiellement D2) du côté ipsilatéral à la lésion (Ungerstedt, 1971). Les animaux sont ainsi placés dans un cylindre transparent en plexiglas (diamètre 31 cm) pendant environ 15 minutes (période d'habituation) et subissent une injection d'une solution d'apomorphine (0,05 mg/kg/ip), agoniste dopaminergique mixte D1 et D2, diluée dans une solution de NaCl 0,9 % avec acide ascorbique. Les rotations complètes de l'animal (360°) sont comptabilisées pendant 15 minutes à partir de leur apparition. Toutefois, ces agonistes dopaminergiques peuvent avoir des interférences à long terme sur la transmission dopaminergique et les systèmes de neurotransmission associés tels que les systèmes glutamatergique et GABAergique. Aussi,

afin de prévenir ces interférences, nous avons préféré réaliser des vérifications *post-mortem* de l'étendue de la lésion.

La deuxième approche que nous avons utilisée est une approche 'post-mortem' qui consiste en une vérification anatomique basée sur une approche immuno-histochimique visant à marquer les neurones dopaminergiques par détection de la Tyrosine Hydroxylase (TH), enzyme de synthèse des catécholamines. Cet immunomarquage est réalisé au niveau de la SNc et du striatum, principale structure de projection de la SNc, sur des coupes de cerveaux post-fixés.

VI.2. Protocole d'immunohistochimie de la Tyrosine Hydroxylase (TH)

Seuls les animaux traités à la 6-OHDA ont subi cet immunomarquage à la TH. Dans ce cas, les animaux ont été sacrifiés par perfusion intracardiaque de 200 ml d'une solution de NaCl 0,9 % suivie de 200 ml d'une solution contenant 4 % de paraformaldéhyde (PFA, Sigma, St Quentin Fallavier, France). Leurs cerveaux ont ensuite été prélevés et conservés une nuit à 4°C dans la PFA afin d'assurer une post-fixation efficace des tissus. Ils ont ensuite été placés 24h dans une solution de sucrose 20 % (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Allemagne) pour permettre la cryoprotection des tissus, avant d'être congelés dans une solution d'isopentane (VWR International, Fontenay sous bois, France) refroidie à l'azote liquide (-40°C). Des coupes coronales de 20 µm d'épaisseur ont alors pu être réalisées à l'aide d'un cryostat (HM 500M, Microm, France) et conservées dans une solution d'antigel à - 20°C (glycérol 20 %, éthylène glycol 20 %, eau distillée 37,5 % dans du tampon phosphate pH 7,3). Ainsi traitées, elles pourront être utilisées ultérieurement pour réaliser l'immunomarquage de la TH.

La technique d'immunohistochimie est basée sur l'interaction anticorps-antigène, le complexe anticorps-antigène étant ensuite révélé par un marquage spécifique fluorescent ou par réaction enzymatique.

Le protocole d'immunohistochimie de la TH que nous avons utilisé s'est déroulé comme suit. Les coupes de cerveaux conservées dans l'antigel ont été prélevées et rincées deux fois 10 minutes dans du tampon Tris Hcl 0,1M (TBS) afin d'ôter toutes traces d'antigel. Les coupes ont ensuite été incubées 1h dans une solution de sérum de chèvre 3 % (Gpi, Sigma-Aldrich, St Louis, USA) préparée dans du tampon TBST (TBS + Triton 0,3 %). Cette étape permet d'induire la perméabilisation des membranes (TBST) et de saturer les sites non spécifiques du tissu (sérum de chèvre). Les coupes ont ensuite été placées à incuber une nuit à 4°C dans une

solution de TBST à 1 % de Gpi contenant un anticorps primaire monoclonal anti-TH réalisé chez la souris (Chemicon, Temecula, CA, USA) et dilué au 500^e. Le lendemain, les coupes ont été rincées deux fois 10 minutes dans une solution de TBST puis incubées 1H30 dans une solution de TBST à 1 % de Gpi contenant un anticorps secondaire biotinilé dilué au 100^e et réalisé chez la chèvre (Jackson Immuno Research Laboratories, Baltimore, USA). Après deux nouveaux rinçages de 10 minutes dans du TBST, les coupes ont été incubées 1H30 dans le complexe streptavidine - peroxydase biotinylé préparé 30 minutes avant son utilisation (8 µl streptavidine + 8 µl biotine dans 1 ml TBST ; ABC Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Le marquage de l'anticorps secondaire a ensuite été révélé par une réaction enzymatique avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de Di-Amino-Benzidine (DAB ; peroxydase substrat kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Cette réaction permet la formation d'un complexe marron-brun (ou noir en présence de Nickel) stable, non hydrosoluble. Enfin, la réaction a été neutralisée par de l'eau distillée.

Les coupes ainsi marquées ont été étalées sur des lames superfrost afin de sécher. Pour finir, elles ont été déshydratées par passages successifs dans des bains d'alcool de concentration croissante (35 % : 2min, 70 % : 5 min, 95 % : 2 min et 100 % : 5 min). Un dernier bain de 10 min dans une solution de LMR-SOL (Labo-Moderne, Paris, France) a permis de parfaire cette déshydratation. Les lames ont finalement été recouvertes de lamelles collées à l'aide d'un milieu de montage (DPX, BDH Laboratory Supplies, England).

VI.3. Localisation de l'électrode de stimulation, de la sonde de dialyse et des canules d'injection d'agents pharmacologiques

Les vérifications histologiques concernant les implantations d'électrode de stimulation au sein du NST, des sondes de dialyse au sein de la SNr ou encore des canules d'injection d'agents pharmacologiques dans la SNr ont été systématiquement réalisées sur chaque animal de chaque groupe expérimental étudié.

Tous les animaux intacts n'ayant pas subi de lésion dopaminergique ont été sacrifiés par décapitation. Comme décrit précédemment pour les rats parkinsoniens, les cerveaux des rats sains ont été prélevés et congelés dans une solution d'isopentane à - 40°C. Des coupes coronales de 20 µm d'épaisseur ont été réalisées grâce à un cryostat réfrigéré à - 18°C (HM 500M, Microm, Allemagne) et déposées sur des lames superfrost.

Toutes les coupes cérébrales, issues des animaux intacts (non fixées) ou hémiparkinsoniens (fixées), ont par la suite été colorées au crésyl violet afin de procéder aux vérifications

d'implantation. Le protocole de coloration utilisé a été le suivant : les lames ont d'abord été plongées 5 minutes dans un bain de crésyl violet avant de passer successivement dans des bains d'éthanol à 70, 95 et 100 % pendant 15 à 45 secondes. Puis, les lames ont été maintenues deux fois 10 minutes dans un bain de LMR-SOL. Enfin, elles ont été montées entre lame et lamelle. Après observation au microscope optique (Zeiss, Allemagne) au grossissement 2,5, les animaux dont l'électrode de stimulation, la sonde de dialyse ou les canules d'injection étaient mal localisées ont été écartés des groupes expérimentaux.

VII. ANALYSE DES DONNEES EXPERIMENTALES

VII.1. Estimation des surfaces nigrales et striatales affectées par la lésion dopaminergique

La perte des neurones dopaminergiques au niveau nigral a été déterminée en estimant le nombre de neurones immuno-réactifs pour la TH présents dans la SNc du côté lésé et du côté sain puis en comparant ces deux quantités. Ce nombre a été évalué avec un microscope Zeiss Axiophot couplé à un système d'analyse d'image informatisé utilisant le programme IPS 32 (SAMBA 2005, SAMBA Technologies, Meylan, France). Pour chaque animal, le nombre de neurones immuno-réactifs pour la TH a été compté sur trois niveaux de coupes coronales (planche 38, 39 et 40 de l'atlas de Paxinos et Watson (1982)) du côté lésé et du côté non lésé. Le nombre de cellules a été exprimé comme un nombre moyen par section et la perte de cellules immuno-marquées pour la TH a été exprimée en pourcentage relatif par rapport au côté controlatéral.

La perte de l'innervation striatale, révélée par l'immunomarquage TH, a également été observée sur 3 niveaux de coupes correspondant au niveau 13, 14 et 15 de l'atlas de Paxinos et Watson (1982). Les coupes marquées ont été digitalisées en utilisant une camera (CCD monochrome CP-9003, Tokina Optical Co., Tokyo, Japon) et la densité optique moyenne du striatum a été calculée en utilisant le programme Autoradio V4.03 (SAMBA Technologies, Meylan, France). Les valeurs de densité optique ont été mesurées au niveau du striatum du côté lésé et ont été comparées aux valeurs du côté non lésé. La densité a été exprimée en pourcentage relatif par rapport au côté contralatéral.

Pour toutes les mesures quantitatives réalisées, des masques des régions nigrales et striatales analysées, correspondant à chaque plan anatomique étudié, ont été dessinés avec l'aide du système d'analyse informatisé. Ces masques ont ensuite été utilisés pour tous les groupes expérimentaux afin d'assurer une comparaison adéquate des régions anatomiques homologues.

VII.2. Analyse statistique des données neurochimiques et comportementale

Pour faciliter la compréhension et l'interprétation de nos résultats neurochimiques, nous avons choisi de standardiser leur présentation, assurant ainsi une comparaison plus aisée des variations de concentration en acides aminés dans chaque situation expérimentale. Cette standardisation a consisté à exprimer les résultats en pourcentage de variation par rapport aux taux de base de Glu et de GABA. La valeur de ce taux de base de référence, ramenée à 100% a été établie en moyennant les valeurs des concentrations de Glu et de GABA obtenues durant les recueils de la période de pré-stimulation. La durée de ces recueils a été de 2 heures, soit 8 recueils de 15 minutes. Chaque histogramme présenté reflète la variation des taux extracellulaires de Glu et de GABA, par rapport à 100% du taux de base détecté chronologiquement au cours de l'expérimentation. Les résultats sont donc exprimés en pourcentage par rapport à la valeur moyenne des taux de base ramenée à 100 %. L'ensemble de ces valeurs est exprimé en moyenne \pm SEM. Ces données neurochimiques ont ensuite été traitées par un test de Mann et Whitney. Ce test nous a permis d'évaluer la significativité des variations observées à partir de pourcentage de variation. Chaque animal a été son propre contrôle pour apprécier les modifications des contenus de neurotransmetteurs induites par la SHF du NST. Deux degrés de significativité ont été définis $p < 0,05$ et $p < 0,01$. Pour les études comportementales, les résultats obtenus chez les rats sains et les rats 6-OHDA ont été comparés avec un test de Mann et Whitney. Les effets dus à la variation des paramètres de stimulation à l'intérieur d'un même groupe ont quant à eux été traités avec un test de Wilcoxon.

RESULTATS: PARTIE I

I. VERIFICATIONS PRELIMINAIRES

I.1. Stabilité des taux d'acides aminés dans nos conditions expérimentales

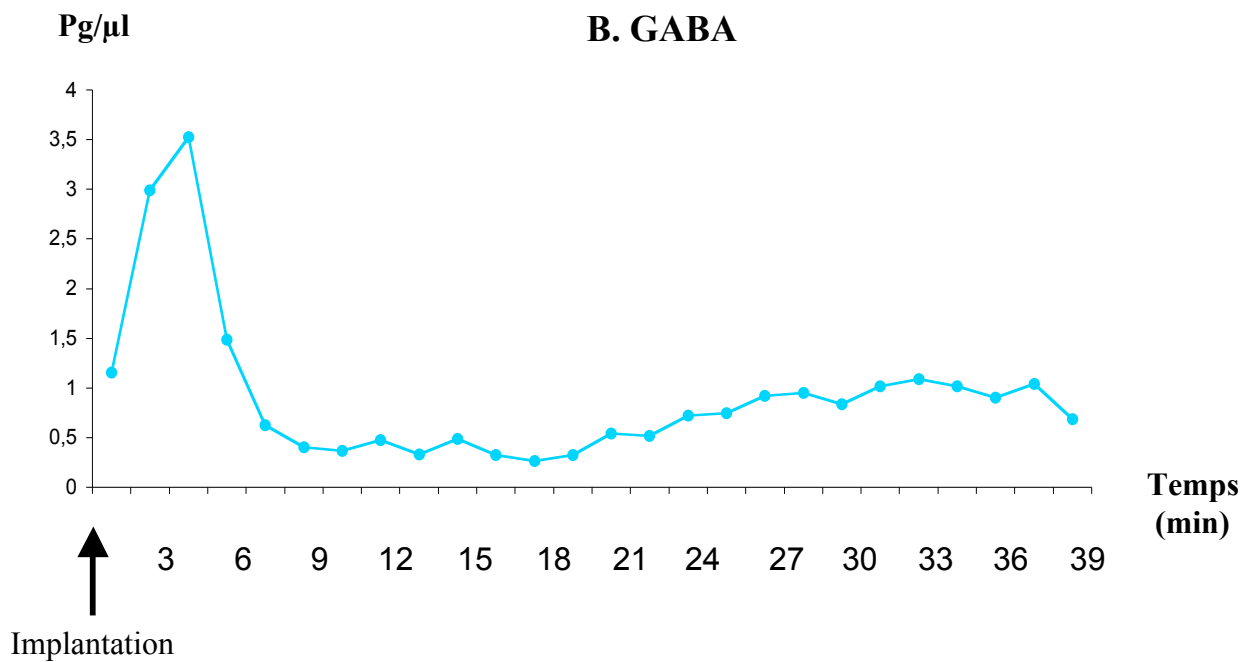
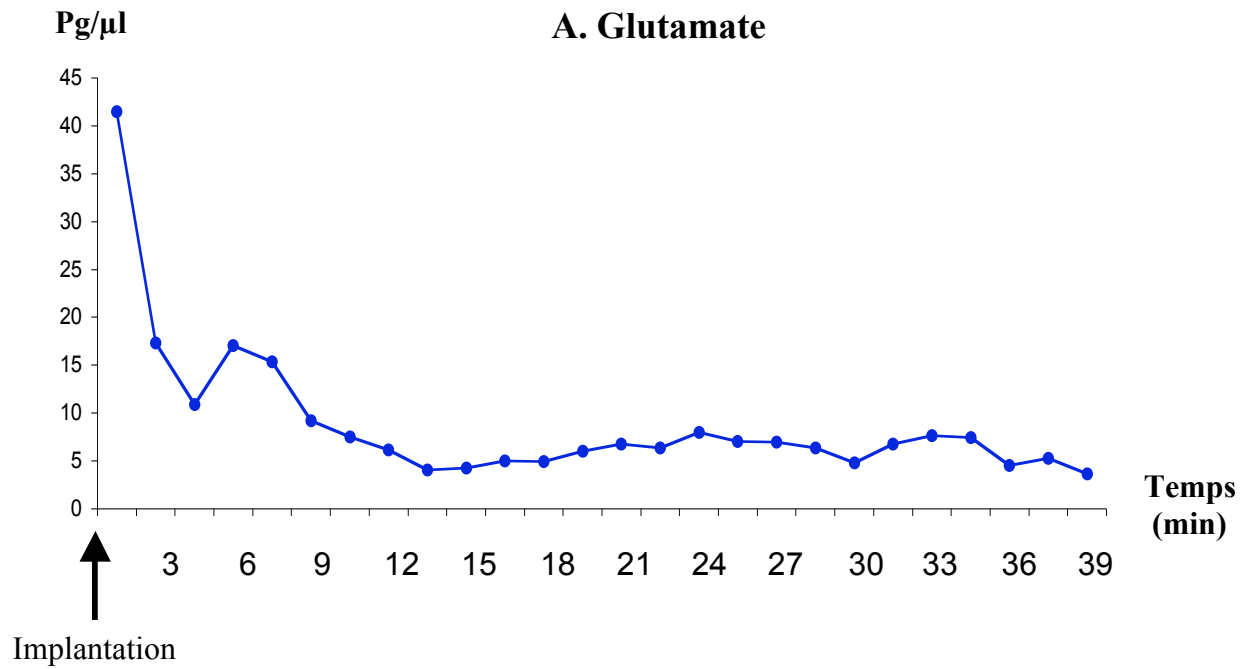
Afin de s'assurer de la reproductibilité de nos résultats et que les variations neurochimiques observées au cours de la stimulation électrique du NST étaient bien liées à celle-ci, nous avons vérifié que, dans nos conditions expérimentales, les concentrations des neurotransmetteurs étudiés restaient stables sur toute la durée de l'expérimentation.

Pour ce faire, nous avons réalisé des expériences de microdialyse intra-nigrale (SNr) d'une durée de 6h30 pendant laquelle nous avons observé les variations des contenus extracellulaires de Glu et de GABA. Les conditions expérimentales utilisées sont similaires à celles décrites dans le chapitre 'Matériels et Méthodes', paragraphe IV.3.2., mais sans jamais appliquer de stimulation du NST au cours de la dialyse. Ces expériences ont été pratiquées uniquement sur des animaux sains (n=5).

La figure 52 présente, de façon représentative, les résultats obtenus sur un rat et montre les fluctuations des concentrations extracellulaires de Glu et de GABA au niveau de la SNr durant 6h30 de dialyse effectuée. On note que les concentrations de Glu et de GABA mesurées immédiatement après l'implantation de la sonde de dialyse au sein de la SNr étaient respectivement de 41,46 pg/ μ l et de 1,15 pg/ μ l dans les dialysats recueillis. On remarque que ces concentrations fluctuent globalement pendant les 90 premières minutes de la dialyse : celles de Glu diminuent rapidement et se stabilisent autour de 5,98 pg/ μ l à la 90^{ème} minute, alors que pour le GABA, après une augmentation importante atteignant 3,52 pg/ μ l, ses concentrations diminuaient progressivement pour se stabiliser autour de 0,66 pg/ μ l à la 75^{ème} minute.

Les valeurs moyennes des concentrations de Glu et de GABA après stabilisation, obtenues sur les 5 rats étudiés, étaient de $5,66 \pm 0,32$ pg/ μ l pour le Glu et de $0,87 \pm 0,21$ pg/ μ l pour le GABA.

Ces données confirment que les perturbations mécaniques induites par l'introduction de la sonde de dialyse au niveau du parenchyme de la SNr du rat entraînent des modifications transitoires des taux d'acides aminés. Le délai nécessaire à la stabilisation des concentrations des acides aminés mesurés varie peu d'un neurotransmetteur à l'autre (1h30 pour le Glu et 1h15 pour le GABA).



- Figure 52 -

Fluctuations des concentrations extracellulaires de Glutamate (A) et de GABA (B) mesurées au sein des dialysats recueillis au niveau de la substance noire réticulée, durant 6h30 de dialyse, chez un rat éveillé libre de ses mouvements.

Ces résultats nous ont permis 1) de fixer un délai minimal de 1h30 à respecter entre l'implantation de la sonde et le début de la collecte des dialysats afin d'obtenir des taux de base stables. 2) de nous assurer qu'après cette stabilisation, les taux de Glu et de GABA restaient stables pendant au moins 5h (durée de notre protocole) et que les éventuelles variations de concentrations observées sous stimulation électrique du NST seraient bien dues à l'application de la SHF du NST.

I.2. Rendement de sondes *in vitro*

Comme nous l'avons précisé plus haut (chapitre Matériel et Méthodes, paragraphe IV.2.3), les sondes de microdialyse ont été testées *in vitro* avant leur utilisation. Ce test nous a permis de vérifier l'uniformité des rendements des sondes utilisées pour l'ensemble de nos expérimentations. Ce rendement a été calculé pour chaque acide aminé étudié, Glu et GABA. Le tableau ci-dessous donne les rendements *in vitro* exprimés en pourcentage (moyenne \pm sem).

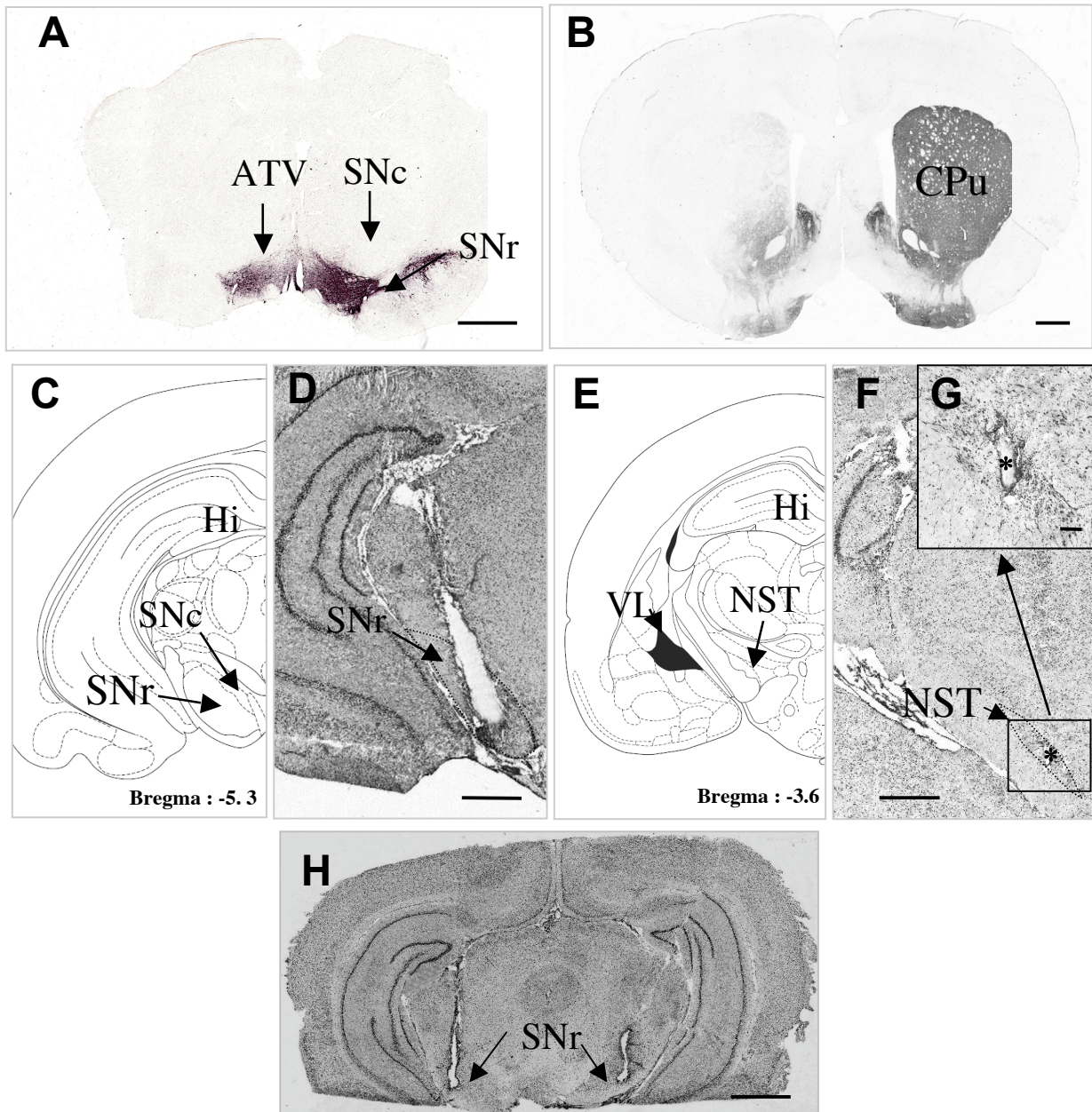
Sonde rat	
Membrane dialysante : cuprophane	
Longueur : 1 mm	
Structure dialysée : SNr	
<hr/> <hr/>	
Glutamate	$7,7 \pm 0,2 \%$
GABA	$4,6 \pm 0,2 \%$

Les rendements de sonde que nous avons obtenus sont globalement similaires à ceux obtenus par François Windels (Windels et al., 2000, 2003, 2005) qui avait utilisé le même type de sondes pour ses études chez le rat anesthésié.

I.3. Contrôles histologiques

I.3.1. Evaluation de la dénervation dopaminergique

À la fin de chaque protocole, la perte des neurones dopaminergiques de tous les animaux ayant reçu une injection unilatérale de 6-OHDA (gauche) a été vérifiée. Seuls les animaux présentant une perte quasi-totale des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) (> 95



- Figure 53 -

A, B: Photographies de coupes coronales de cerveau de rat au niveau nigral (*A*) et striatal (*B*) après immuno-marquage de la TH. **D, F, G, H:** Photographies de coupes coronales de cerveau de rat au niveau nigral (*D et H*) et subthalamique (*F et G*) après coloration au cresyl violet. **C, E:** Représentations schématiques tirées de l'atlas de Paxinos et Watson (1982) des photos *D* et *F*.

Notez la perte de cellules et de fibres DA respectivement dans la SNc (*A*) et le striatum (*B*) du côté lésé. Notez aussi la localisation correcte de la sonde de microdialyse dans la SNr (*D*), de l'électrode de stimulation dans le NST (*F, G*) et des canules d'injection dans la SNr (*H*). En *F*, l'étoile indique la pointe de l'électrode. Barre d'échelle, 1mm. *G*, localisation de l'électrode de stimulation à plus fort grossissement. Barre d'échelle, 0,1mm.

CPu: Caudé Putamen; Hi: Hippocampe; VL: Ventricule Latéral; SNc: Substance Noire pars compacta; SNr: Substance Noire pars reticulata; NST: noyau subthalamique; ATV: Aire Tegmental Ventrale.

%) avec une bonne préservation de ceux de l'aire tegmentale ventrale (ATV) ont été inclus dans les résultats. La figure 2 donne un exemple représentatif de l'immuno-marquage TH, 4 semaines après l'injection de 6-OHDA. Du côté lésé, on observe une perte massive des neurones dopaminergiques au niveau de la SNc (*Fig 53A*) et des fibres dopaminergiques au niveau striatal (*fig 53B*) caractérisée par une absence d'immuno-marquage TH. On constate également, sur ce même côté lésé, une bonne préservation du système dopaminergique méso-limbique avec un marquage maintenu au niveau de l'ATV, du noyau accumbens et des tubercules olfactifs. Du côté sain, on retrouve un immuno-marquage TH classique de l'innervation dopaminergique avec un marquage dense au niveau du striatum, du noyau accumbens, des tubercules olfactifs, de la SNc et de l'aire tegmentale ventrale.

I.3.2. Localisation de l'électrode de stimulation, de la sonde de dialyse ou des canules d'injection

Les emplacements de la sonde de dialyse ou des canules d'injection et de l'électrode de stimulation ont été vérifiés en *post-mortem* sur chaque animal. Seules les données issues des animaux possédant des localisations correctes (électrode + sonde ou électrode + canules) ont été retenues et intégrées dans les résultats.

Les figures 53D, 53F et 53H illustrent respectivement les implantations correctes de la sonde de dialyse dans le parenchyme de la SNr avec un angle de 17° par rapport à la verticale, de l'électrode de stimulation dans le NST et l'implantation bilatérale des canules d'injection. La photographie, à plus fort grossissement au niveau du NST (*fig 53G*), permet de confirmer que l'extrémité de l'électrode de stimulation (pôle négatif) est bien localisée dans la partie médio-latérale de la structure.

II. MISE AU POINT DES CONDITIONS DE STIMULATION ELECTRIQUE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, LIBRE DE SES MOUVEMENTS.

L'ensemble des données neurochimiques obtenues avant cette thèse au sein de notre laboratoire et concernant les effets de la SHF du NST a été réalisé sur l'animal anesthésié. L'électrode de stimulation alors utilisée était une électrode en acier inoxydable de type SNEX 100 ($D_{\text{ext}} = 250 \mu\text{m}$, Phymep, Paris, France) et les paramètres étaient les suivants : Fréquence = 130 Hz, largeur d'impulsion = 60 μs et intensité = 500 μA (Briet et al., 2001, 2003 ;

Windels et al., 2000, 2003, 2005). Les objectifs expérimentaux du laboratoire nous ont ensuite conduit à poursuivre ces investigations neurochimiques chez l'animal éveillé libre de ses mouvements. Le passage de l'animal anesthésié à l'animal éveillé a donc nécessité d'adapter les conditions de stimulation. En effet, après avoir mis au point le matériel et la connectique nécessaire à la pratique des stimulations électriques du NST chez l'animal éveillé, nous avons constaté que l'application de paramètres de stimulation identiques à ceux utilisés chez l'animal anesthésié entraînait une tétanie de l'animal éveillé avec l'apparition de rotations rapides controlatérales au côté stimulé. La survenue de ces comportements moteurs s'explique par la quantité trop importante de courant délivrée au sein du NST du rat par rapport à celle appliquée chez les malades parkinsoniens stimulés. En effet, d'une part, la distance entre le pôle positif et le pôle négatif de l'électrode utilisée chez le rat est bien plus petite que pour celle utilisée chez l'homme ; d'autre part, la surface du pôle négatif de l'électrode est considérablement plus petite chez le rat, induisant ainsi un rapport 'quantité de courant délivré/surface' trop élevé par rapport au volume du NST de l'animal.

C'est pourquoi j'ai été amenée au cours de cette thèse à affiner les paramètres de stimulation afin de les rendre adéquats à l'utilisation chez le rat éveillé libre de ses mouvements et de se rapprocher le plus possible des conditions de stimulation utilisées en clinique humaine. L'ensemble de cette mise au point a concerné d'abord le choix de la nature de l'électrode de stimulation puis la valeur de l'intensité de stimulation à utiliser. Enfin, nos études étant réalisées chez l'animal éveillé, il était important de bien caractériser comportementalement les effets induits par chacun des paramètres utilisés.

II.1. Choix de la nature de l'électrode et de la modalité de la stimulation, monopolaire ou bi-polaire

Le travail sur animal éveillé libre de ses mouvements nécessite une implantation chronique à demeure de l'électrode de stimulation selon un protocole précisé dans le paragraphe II.3 du chapitre 'Matériels et Méthodes'. Au cours d'un travail préliminaire chez l'animal éveillé, réalisé au laboratoire par Nicolas Bruet lors de sa thèse (Bruet et al., 2003), nous avons découvert que l'électrode utilisée chez l'animal anesthésié était inadaptée aux études chez l'animal éveillé. En effet, compte tenu de son diamètre (125 μm), son implantation à demeure pendant plusieurs jours induit des dommages tissulaires au niveau de la structure stimulée et tout au long du parcours de l'électrode. De récentes études *in vivo* menées chez le rat ont d'ailleurs montré que l'utilisation d'une telle électrode en acier inoxydable induisait des

dommages tissulaires supérieurs à ceux produits par une électrode en platine au niveau des tissus de la structure stimulée (Harnack et al., 2004; Temel et al., 2004). De ce fait et dans un souci d'avoir une méthodologie la plus proche possible de celle utilisée en clinique humaine, nous avons porté notre choix sur l'utilisation d'une électrode en platine, les électrodes implantées chez les malades parkinsoniens étant en platine (Medtronic, USA). Par la suite, nous avons voulu comparer les modalités de stimulation pour savoir si nous devons travailler en stimulation bi-polaire, comme lors de nos précédentes études chez l'animal anesthésié, ou si nous devons utiliser une stimulation mono-polaire comme cela est le cas en clinique humaine.

L'électrode bi-polaire consistait en deux fils de platine juxtaposés et placés tous deux dans le NST, chacun des deux fils représentant respectivement le pôle positif et négatif de l'électrode. L'électrode mono-polaire était constituée d'un unique fil de platine placé dans le NST correspondant au pôle négatif, le pôle positif étant relié à une vis chirurgicale fixée sur le crâne du rat.

La comparaison de ces deux modalités de stimulation a consisté à réaliser des stimulations électriques du NST à fréquence et largeur d'impulsion constantes (respectivement 130 Hz et 60 μ s, correspondant aux paramètres les plus fréquemment utilisés en clinique humaine) et à déterminer, pour les deux types d'électrode (mono ou bi-polaire), l'intensité 'seuil' de stimulation nécessaire pour induire l'apparition d'un mouvement dyskinétique de la patte controlatérale au côté stimulé. En effet, ce comportement est associé à une stimulation effective du NST (voir rappels bibliographiques, paragraphe III.3.1). Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous correspondent aux valeurs d'intensité 'seuil' induisant l'apparition de dyskinésies de faible (87 ± 15 mouvements/min) ou de forte (109 ± 19 mouvements/min) amplitude en fonction du mode de stimulation utilisé.

	Électrode	
	Mono-polaire	Bi-polaire
Dyskinésie faible (87 ± 15 mouvements/min)	60 - 190 μ A	200 - 350 μ A
Dyskinésie forte (109 ± 95 mouvements/min)	150 - 350	300 - 450 μ A

Tableau 8 : Détermination des valeurs 'seuils' d'intensité nécessaires à l'apparition des dyskinésies de la patte avant controlatérale sous l'effet d'une stimulation électrique du NST avec une électrode de stimulation mono ou bi-polaire.

Les résultats que nous avons obtenus montrent clairement que la spécificité du mouvement observé, à savoir une dyskinésie de la patte avant controlatérale, était comparable quelle que soit la modalité de stimulation utilisée, mono ou bi-polaire.

Ces résultats indiquent également que, quelle que soit l'amplitude du mouvement dyskinétique observé, la valeur de l'intensité du courant à utiliser pour stimuler le NST est toujours beaucoup plus faible avec une électrode mono-polaire qu'avec une électrode bi-polaire.

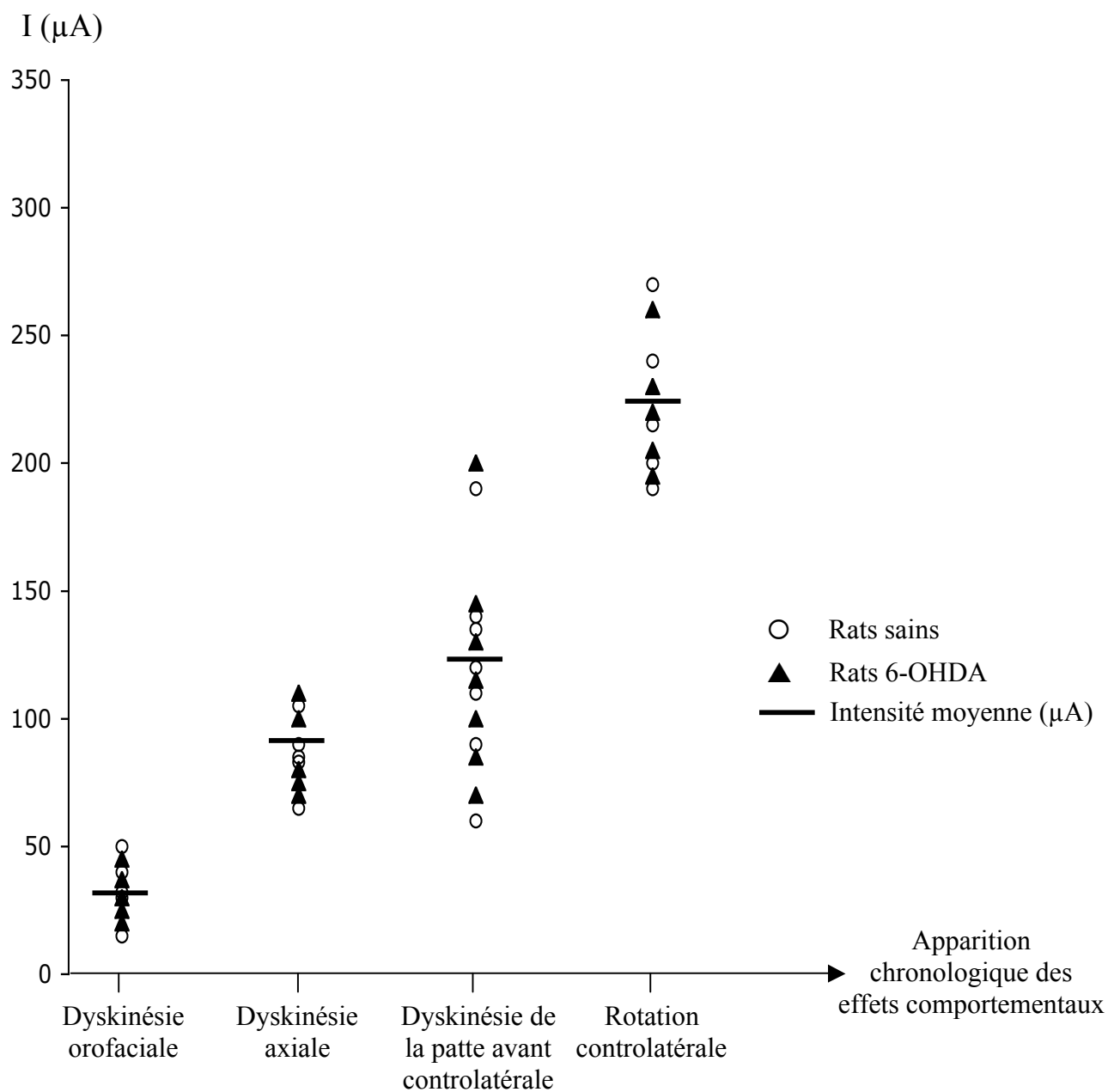
De ce fait, et compte tenu de la probabilité d'induire des dommages tissulaires moindres au niveau de la structure stimulée avec une stimulation mono-polaire, nous avons choisi d'utiliser une électrode de stimulation mono-polaire pour nos études chez l'animal éveillé. Par ailleurs, ce choix nous rapprochait encore davantage des conditions de stimulation utilisées en clinique humaine, puisque les électrodes utilisées dans ce cas sont en platine (Volkman et al., 2000).

II.2. Etude de l'effet induit par les variations des paramètres de stimulation sur le comportement moteur du rat sain et hémiparkinsonien éveillé libre de ses mouvements

II.2.1. Effets de la variation de l'intensité de stimulation

Le but de cette expérience a été d'observer les effets induits par une augmentation continue d'intensité de stimulation sur le comportement moteur chez le rat éveillé libre de ses mouvements. Cette étude a été réalisée sur des rats sains ($n = 5$) ainsi que sur des animaux ayant subi une lésion totale unilatérale (côté gauche) de la SNc ($n = 5$). Les animaux ont été implantés unilatéralement (côté gauche) avec une électrode en platine mono-polaire ($D_{ext} = 75 \mu m$), le pôle négatif étant situé dans le NST. L'intensité de stimulation était progressivement augmentée (0 à 1000 μA), les autres paramètres de stimulation restant fixes (fréquence = 130 Hz, largeur d'impulsion = 60 μs).

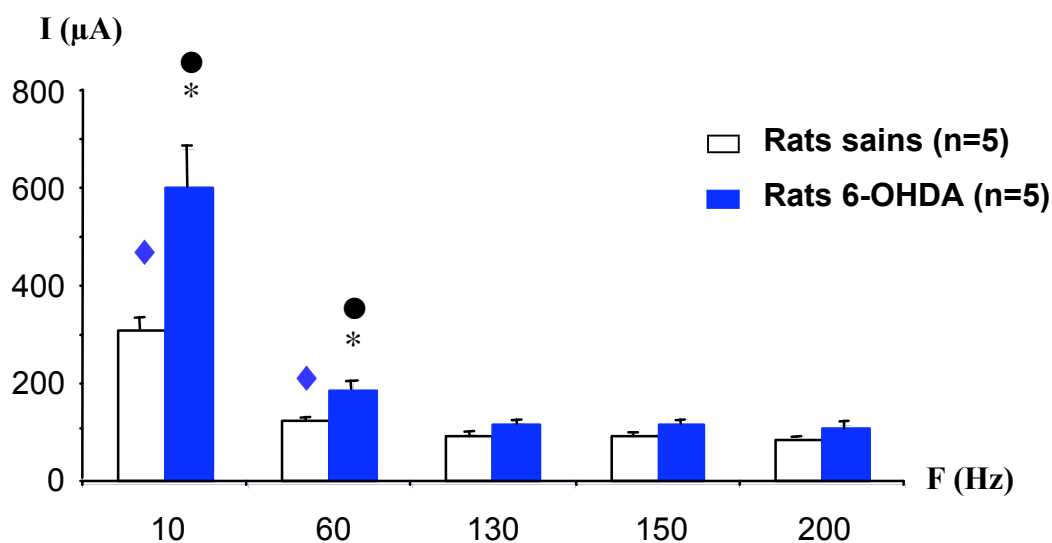
L'augmentation progressive de la valeur de l'intensité de stimulation induit l'apparition d'une séquence motrice similaire chez les rats sains et lésés à la 6-OHDA. Cette séquence est caractérisée tout d'abord par l'apparition de dyskinésies oro-faciales qui se manifestent sous la forme d'un reniflement (sniffing) et d'un mâchonnement. Ces dyskinésies sont souvent liées à une augmentation de l'état de vigilance de l'animal. Ces dyskinésies oro-faciales sont suivies de dyskinésies axiales caractérisées par un mouvement de torsion de la tête et du tronc du côté controlatéral à la stimulation. Apparaissent ensuite des dyskinésies au niveau de la



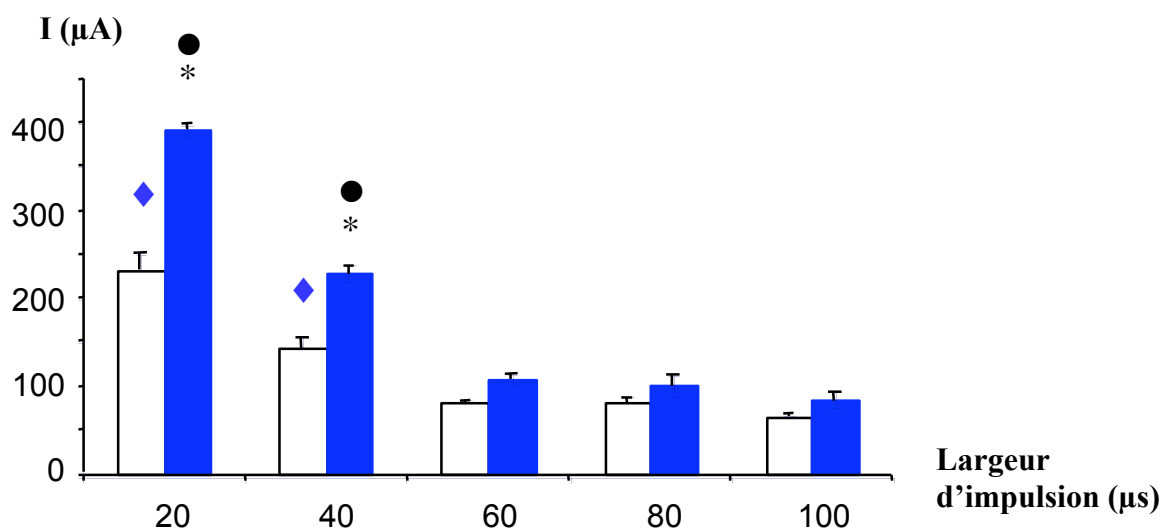
- Figure 54 -

Représentation graphique du comportement moteur observé chez des rats sains et 6-OHDA en réponse à une SHF du NST (F=130 Hz, d= 60 μs , $0 < I < 350 \mu\text{A}$).
 Chaque symbole indique la valeur seuil de l'intensité de stimulation induisant les dyskinésies. La barre horizontale représente la valeur d'intensité moyenne induisant chaque type de dyskinésie pour l'ensemble des animaux observés (n=10).

A. Largeur d'impulsion = 60 μ s



B. Fréquence = 130 Hz



- Figure 55 -

Seuil d'intensité de stimulation induisant l'apparition de mouvements dyskinétiques de la patte avant controlatérale à la stimulation pour des fréquences (A, largeur d'impulsion constante à 60 μ s) ou des largeurs d'impulsion variables (B, fréquence constante à 130 Hz).

Notez que le seuil est plus élevé pour les rats 6-OHDA que pour les rats sains pour des fréquences de 10 et 60 Hz et des largeurs d'impulsion de 20 ou 40 μ s (*, $p < 0,05$). Notez également qu'à l'intérieur d'un même groupe (sain, \blacklozenge $p < 0,05$; ou 6-OHDA, \bullet $p < 0,05$) le seuil est différent pour des fréquences de 10 et 60 Hz et des largeurs d'impulsion de 20 ou 40 μ s.

patte avant située également du côté controlatéral à la stimulation. Ce mouvement s'accélère lorsqu'on augmente l'intensité du courant pour laisser place à une rotation de l'animal, du même côté. Enfin, pour des intensités encore plus fortes, l'hémicorps de l'animal controlatéral à la stimulation se contracte donnant lieu à des rotations en tonneaux. Les intensités requises pour induire ces effets ne sont pas significativement différentes pour les rats sains et hémiparkinsoniens. Nous avons déterminé ces valeurs d'intensité individuellement pour chaque animal étudié appartenant au groupe des animaux sains (n=5) ou 6-OHDA (n=5) (Fig 54). Le tableau ci-dessous donne les valeurs d'intensités seuils en μA (moyenne \pm sem) induisant ces différents comportements chez les rats sains ou lésés à la 6-OHDA.

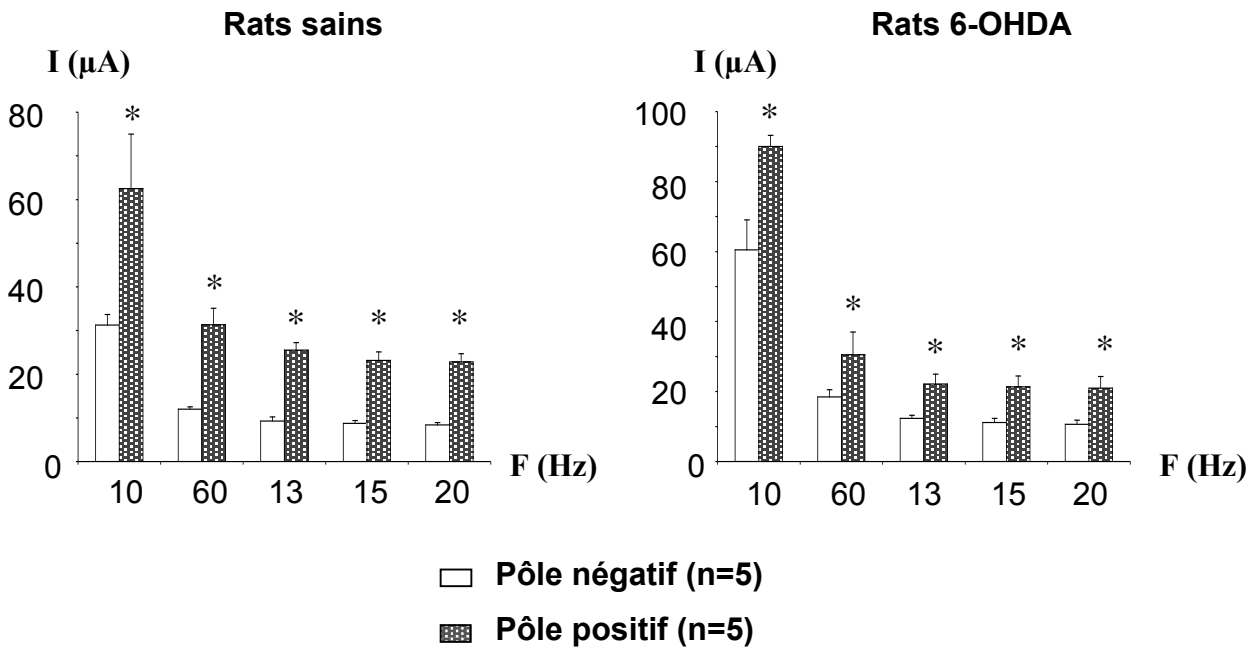
Type de dyskinésie	Oro-faciale	Axiale	Patte avant	Rotations	Tonneau
Rats	33,4 \pm 5,8 μA	85,6 \pm 6,4 μA	119 \pm 9 μA	223 \pm 14,5 μA	650 \pm 92,5 μA
Rats 6-OHDA	31,4 \pm 4,4 μA	87 \pm 7,7 μA	115 \pm 10,6 μA	222 \pm 11,2 μA	710 \pm 65,4 μA

II.2.2. Effets de la variation de la fréquence ou de la largeur d'impulsion de stimulation

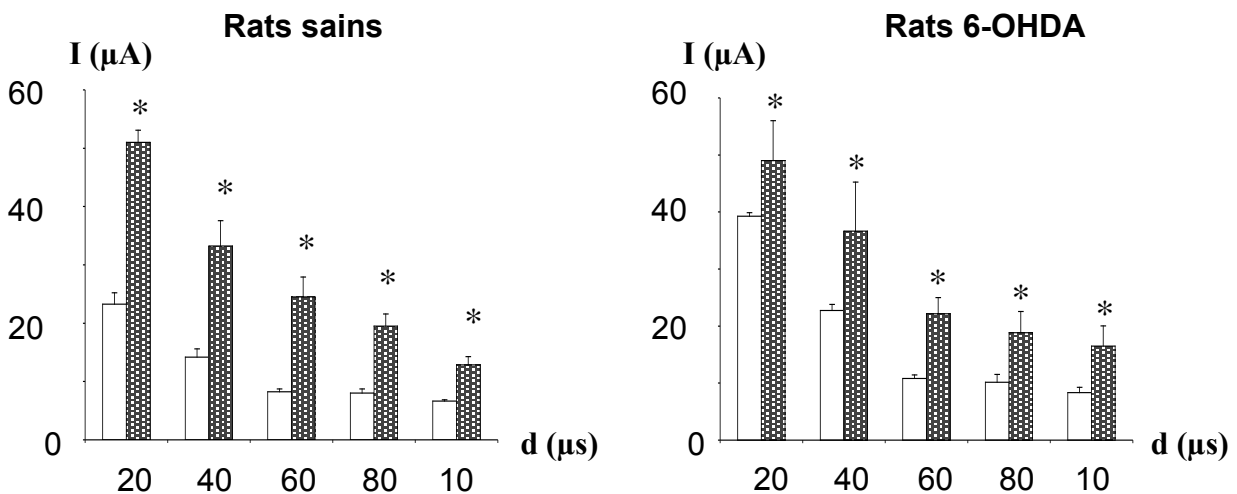
Au cours de cette étude, nous avons voulu observer l'influence de la fréquence ou de la largeur d'impulsion d'une stimulation du NST sur l'apparition de dyskinésies de la patte avant située du côté controlatéral à la stimulation. Ces expériences ont été réalisées à la fois chez des rats sains (n=5) et hémiparkinsoniens (n=5) avec une électrode similaire à celle décrite dans le paragraphe précédent. Nous avons utilisé des fréquences et des largeurs d'impulsion variables prenant successivement et respectivement les valeurs suivantes : 10, 60, 130, 150 et 200 Hz et 20, 40, 60, 80 et 100 μs . Pour l'étude de l'influence de la fréquence, la largeur d'impulsion était maintenue constante à 60 μs ; pour l'étude de l'influence de la largeur d'impulsion, la fréquence était à son tour maintenue constante à 130 Hz. Dans les deux cas, l'intensité de stimulation était progressivement augmentée jusqu'à voir apparaître un mouvement dyskinétique controlatéral de la patte avant.

Les figures 55A et 55B montrent, tant chez les rats sains qu'hémiparkinsoniens, que, plus les valeurs de la fréquence ou de la largeur d'impulsion de la stimulation sont élevées, plus la valeur de l'intensité nécessaire pour induire l'apparition de dyskinésies est faible. On note que pour des valeurs de fréquence de 10 et 60 Hz ou de largeur d'impulsion de 20 ou 40 μs , il

A. Largeur d'impulsion (d) = 60 μ s



B. Fréquence (F) = 130 Hz



- Figure 56 -

Valeur du seuil d'intensité de stimulation induisant l'apparition de mouvements dyskinétiques de la patte avant controlatérale à la stimulation pour des fréquences (A, largeur d'impulsion constante à 60 μ s) ou des largeurs d'impulsion variables (B, fréquence constante à 130 Hz) avec une polarité de l'électrode de stimulation placée dans le NST positive (n=5) ou négative (n=5) chez des rats sains et lésés à la 6-OHDA.

Notez que le seuil est toujours plus élevé lorsque la polarité de l'électrode est positive quelle que soit la valeur de la fréquence ou de la largeur d'impulsion et que ce soit chez les rats sains ou 6-OHDA (*, p < 0,05).

existe entre les groupes d'animaux sains et lésés à la 6-OHDA, des différences de sensibilité à la stimulation. En effet, les valeurs d'intensité induisant l'apparition de dyskinésies sont statistiquement supérieures chez les animaux lésés par rapport aux animaux sains ($p < 0.05$). Toutefois, à partir des valeurs de fréquence de 130 Hz ou de largeur d'impulsion de 60 μ s et au delà, ces différences entre les deux groupes d'animaux s'estompent et ne sont plus significatives.

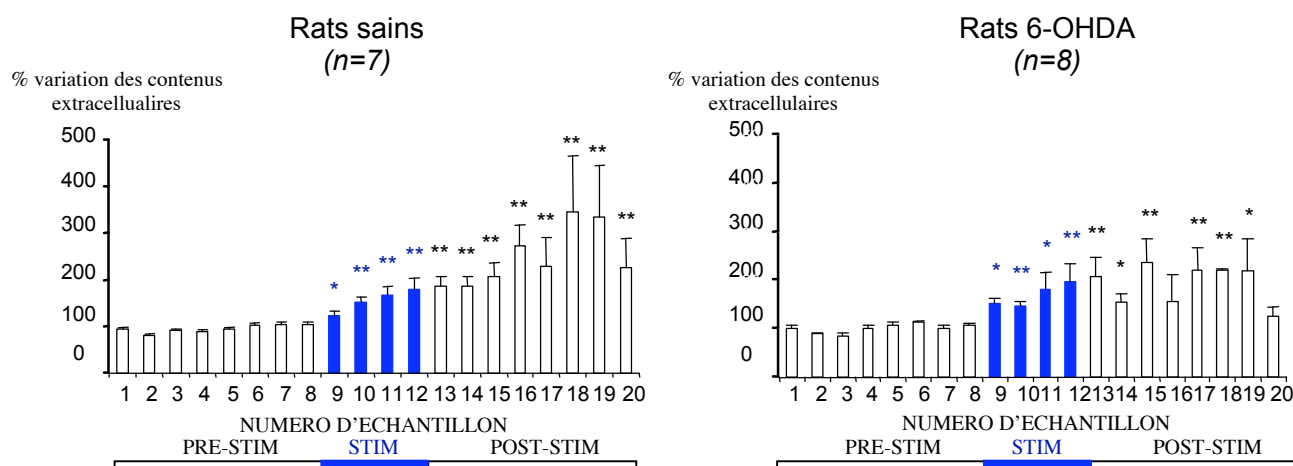
II.2.3. Importance de la polarité de l'électrode implantée dans le NST chez le rat éveillé

L'importance de la polarité négative de l'électrode positionnée dans le NST a été vérifiée. Ainsi, l'ensemble des expériences concernant l'influence de la fréquence et de la largeur d'impulsion de la stimulation sur l'intensité seuil nécessaire à l'apparition de dyskinésies sur la patte avant située du côté controlatéral à la stimulation a également été réalisé en inversant la polarité de l'électrode de stimulation placée dans le NST, c'est à dire en mettant un pôle positif. Dans tous les cas, et quelles que soient les valeurs de la fréquence (Fig 56A) ou de la largeur d'impulsion (Fig 56B), le seuil d'intensité entraînant l'apparition de dyskinésies était toujours significativement supérieur ($p < 0.05$), aussi bien chez les rats sains (Fig 56A et 56B) que les rats lésés à la 6-OHDA (Fig 56A et 56B), par rapport aux expériences utilisant un pôle négatif dans le NST.

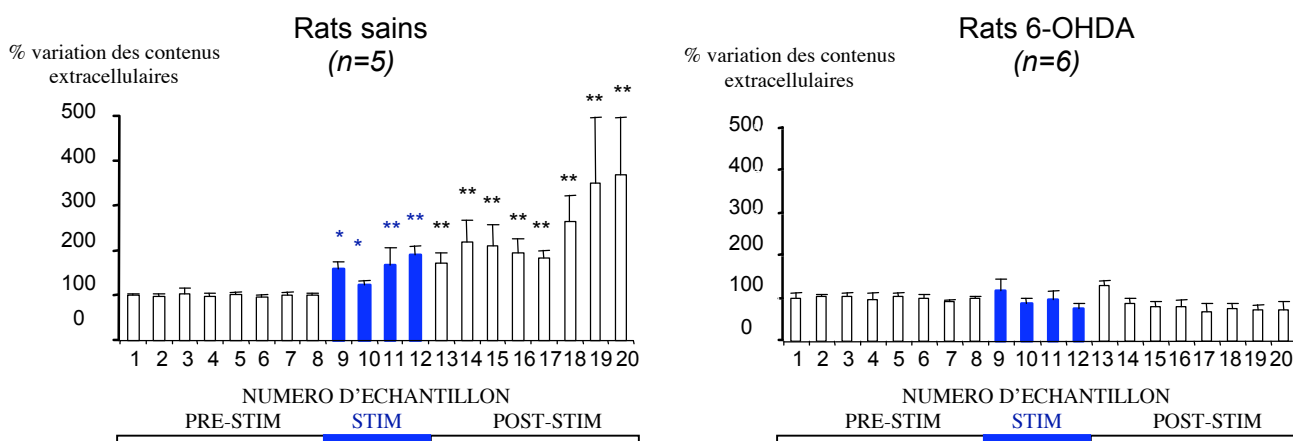
En résumé, les mises au point expérimentales que nous avons réalisées pour l'adaptation des outils de stimulation électrique chronique du NST chez le rat éveillé, nous ont permis d'affiner :

- 1- Le choix de l'électrode et de nous orienter vers une électrode en platine ;
- 2- La modalité de stimulation et de préférer une stimulation mono-polaire par rapport à une stimulation bi-polaire ;
- 3- Les effets des variations des paramètres de stimulation sur le comportement moteur observé chez l'animal éveillé. Nos études nous ont permis de déterminer pour chaque animal (sain ou lésé à la 6-OHDA) les intensités 'seuils' correspondant à l'apparition des mouvements dyskinétiques de la patte avant contralatérale que nous avons pris comme caractéristique d'une stimulation spécifique du NST pour nos études neurochimiques.

A. SNr – Glutamate



B. SNr – GABA



- Figure 57 -

Variations des taux de Glu (A) et de GABA (B) extracellulaires nigraux (SNr) chez des rats éveillés sains ou 6-OHDA, mesurés toutes les 15 min, et induites par une stimulation du NST, appliquée à une intensité dyskinésiante (I_1 , $>60 \mu A$). Les périodes de pré- et de post-stimulation comprennent chacune 8 fractions, alors que la période de stimulation en comprend 4.

La moyenne \pm SEM des 8 dialysats collectés avant la période de SHF du NST correspond à ce que nous avons fixé comme taux de base. Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par rapport à ce taux de base.

Notez que les taux de Glu sont augmentés chez les animaux sains et 6-OHDA, alors que les taux de GABA ne sont augmentés que chez les animaux sains (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

III. EFFETS DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE SUR LES TAUX DE GLUTAMATE ET DE GABA AU SEIN DE LA SNr CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN OU HEMIPARKINSONNIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS

III.1. Effets d'une SHF du NST appliquée à une intensité dyskinésiante (I_1)

III.1.1. Chez le rat sain

Les concentrations moyennes de Glu et de GABA mesurées dans les dialysats issus de la SNr des animaux sains, et correspondant à notre 100% de référence, étaient respectivement de $0,09 \pm 0,01 \mu\text{M}$ ($n=13$) et de $0,006 \pm 0,002 \mu\text{M}$ ($n=12$). Ces valeurs ont été établies en moyennant l'ensemble des concentrations basales des animaux sains ayant participé aux expériences de dialyse en condition de stimulation dyskinésiante (I_1) et non dyskinésiante (I_2). Rappelons brièvement que chaque valeur d'intensité I_1 a été définie individuellement pour chaque animal étudié et que la valeur moyenne de I_1 était de $119 \pm 9 \mu\text{A}$ et $115 \pm 10,5 \mu\text{A}$, respectivement pour le groupe d'animaux sains et lésés à la 6-OHDA. I_2 a été arbitrairement choisie à une valeur égale à la moitié de I_1 et définie également pour chaque animal. Chaque barre d'histogrammes sur la figure 57 correspond à un temps de recueil de 15 minutes. Les 8 premiers recueils ont permis d'établir les taux de base et correspondent à la période de pré-stimulation. La période de stimulation d'1h est composée des 4 recueils suivants. Enfin, les 8 derniers recueils correspondent à la période de post-stimulation.

Chez le rat sain, l'application d'une stimulation du NST à une intensité I_1 entraînant l'apparition de dyskinésies de la patte avant controlatérale au côté stimulé induit une augmentation nette et progressive des contenus extracellulaires de Glu (*Fig 57A*) et de GABA (*Fig 57B*) dans la SNr ipsilatérale à la stimulation. Ces augmentations sont observées dès le premier recueil de la SHF du NST où elles prennent des valeurs de $24 \pm 10,5 \%$ pour le Glu ($p<0,05$) et $59 \pm 16 \%$ pour le GABA ($p<0,05$). Ces augmentations se poursuivent progressivement et atteignent leur maximum en période de stimulation au 4^{ème} recueil ($81 \pm 24 \%$ pour le Glu, $p<0,01$ et $90 \pm 20 \%$ pour le GABA, $p<0,01$).

En période de post-stimulation, ces augmentations persistent et s'accroissent pour le Glu jusqu'au 19^{ème} recueil, c'est à dire 1h30 après l'arrêt de la stimulation. On constate qu'à partir du 20^{ème} recueil, soit 2h après l'arrêt de la stimulation, un retour aux valeurs basales semble s'amorcer.

Pour le GABA et pour cette même période, les taux restent significativement élevés pendant toute la durée de post-stimulation étudiée.

III.1.2. Chez le rat 6-OHDA

Chez les rats 6-OHDA, la première observation que nous avons faite concerne les taux de base de Glu et de GABA. Les taux de Glu sont très fortement augmentés par rapport à ceux observés chez les rats sains (multiplié par 20, $p < 0,05$, $n=17$). Il en est de même pour le GABA dont les taux sont multipliés par 3 ($p < 0,05$, $n=14$). Les valeurs de ces taux de Glu et de GABA atteignent ainsi respectivement $1,88 \pm 0,7 \mu\text{M}$ et de $0,02 \pm 0,004 \mu\text{M}$.

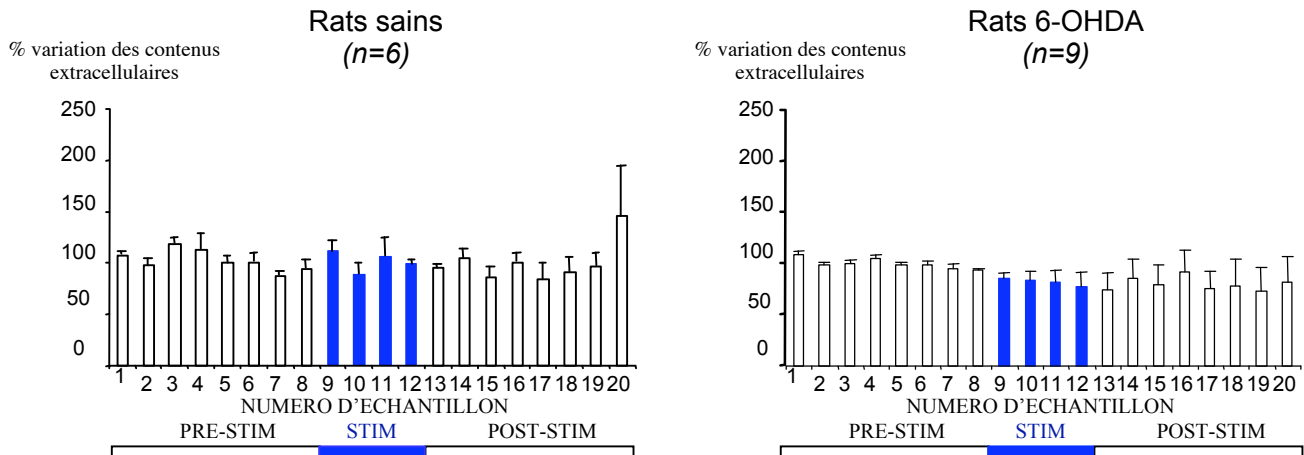
Comme observé chez le rat sain, l'application d'une SHF du NST entraîne une augmentation importante et progressive des taux de Glu dans la SNr du côté ipsilatéral à la stimulation avec un effet maximal détecté lors des 15 dernières minutes de stimulation (*Fig 57A*, $+97 \pm 37\%$, $p < 0,01$, $n=8$). Les taux restent ensuite élevés et plus ou moins stables durant toute la période de post-stimulation pour revenir au niveau basal lors du dernier recueil effectué, soit 2h après l'arrêt de la stimulation.

Enfin, la stimulation du NST à une intensité dyskinésiante (I_1) n'induit pas de modification des taux de GABA dans la SNr située du côté ipsilatéral ni pendant, ni après l'arrêt de la stimulation (*Fig 57B*).

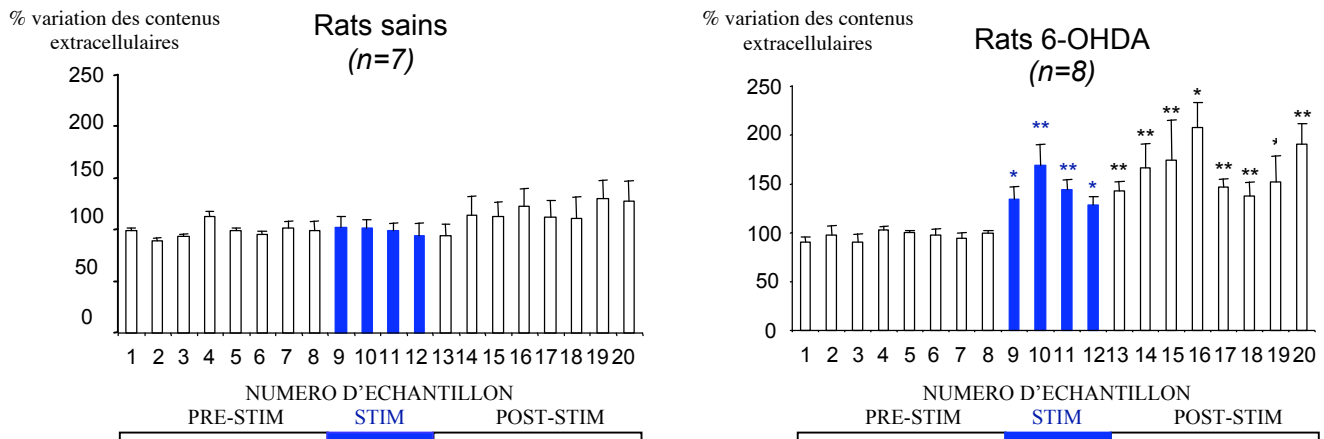
En résumé, les résultats neurochimiques obtenus montrent qu'une SHF du NST appliquée à une intensité de stimulation dyskinésiante (I_1), induit une augmentation des concentrations extracellulaires de Glu et de GABA au sein de la SNr chez le rat sain. La dénervation dopaminergique conduit à une hausse importante des taux de base de Glu mais aussi dans une moindre mesure, de ceux de GABA. La SHF du NST appliquée à une intensité I_1 entraîne chez les animaux hémiparkinsoniens une augmentation des taux de Glu mais n'affecte pas ceux de GABA.

Il est intéressant de noter que les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST sont toujours associées à une augmentation des taux de Glu dans la SNr ipsilatérale à la stimulation.

A. SNr – Glutamate



B. SNr – GABA



- Figure 58 -

Variations des taux de Glu (A) et de GABA (B) extracellulaires nigraux (SNr) chez des rats éveillés sains ou hemiparkinsoniens, mesurées toutes les 15 min, et induites par une stimulation du NST, appliquée à une intensité non dyskinésiante (I_2 , <60 mA). Les périodes de pré- et de post-stimulation comprennent chacune 8 fractions, alors que la période de stimulation en comprend 4.

La moyenne \pm SEM des 8 dialysats collectés avant la période de SHF du NST correspond à la ligne de base. Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation de ce taux de base.

Notez que les taux de Glu ne sont pas modifiés par la SHF du NST tant chez les animaux sains que 6-OHDA, alors que les taux de GABA sont augmentés uniquement chez les rats 6-OHDA (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

III.2. Effets d'une stimulation du NST appliquée à une intensité non dyskinésiante (I_2)

III.2.1. Chez le rat sain

Contrairement à ce qui a été observé avec une SHF du NST d'intensité I_1 , l'application d'une stimulation avec une intensité I_2 , n'induisant pas de mouvement dyskinétique de la patte avant controlatérale, n'entraîne pas de modification significative des taux de Glu ($n=6$) ni de ceux de GABA ($n=7$) chez le rat sain, et ceci, quelle que soit la période étudiée (stimulation ou post-stimulation) (*Fig 58A et 58B*).

III.2.2. Chez le rat 6-OHDA

Là encore, et de manière intéressante, aucune variation des taux de Glu n'est observée chez les animaux 6-OHDA au cours d'une SHF du NST appliquée avec une intensité I_2 ($n=9$, *Fig 58A*). Cependant, et contrairement à ce qui a été obtenu avec une intensité I_1 , la SHF du NST appliquée à une intensité I_2 produit une augmentation des taux de GABA dans la SNr située du côté ipsilatéral à la stimulation chez les rats 6-OHDA (*Fig 58B*). Le maximum d'augmentation atteint au cours de la stimulation est de $+69 \pm 21$ % ($p<0,01$, $n=8$), 1/2h après le début de celle-ci, c'est à dire lors du 2^{ème} recueil sous SHF du NST. Cette augmentation se maintient tout au long de la période de post-stimulation avec un maximum à $+108 \pm 25$ % ($p<0,05$, fraction 16, $n=8$), 1h après l'arrêt de la stimulation.

En résumé, il est intéressant de noter que lorsque la SHF du NST est appliquée avec une intensité n'induisant pas de mouvement dyskinétique (I_2), les augmentations des taux de Glu au sein de la SNr, observées pour une intensité dyskinésiante, ne sont plus retrouvées, et ceci tant chez les rats sains que chez les rats lésés.

Dans ce cas, seules des augmentations des taux de GABA sont observées dans la SNr des animaux hémiparkinsoniens.

V. ETUDE DE L'IMPLICATION DES SYSTEMES GLUTAMATERGIQUES ET GABAERGIQUES DANS L'APPARITION DE DYSKINESIES INDUITES PAR LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN OU HEMIPARKINSONIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS

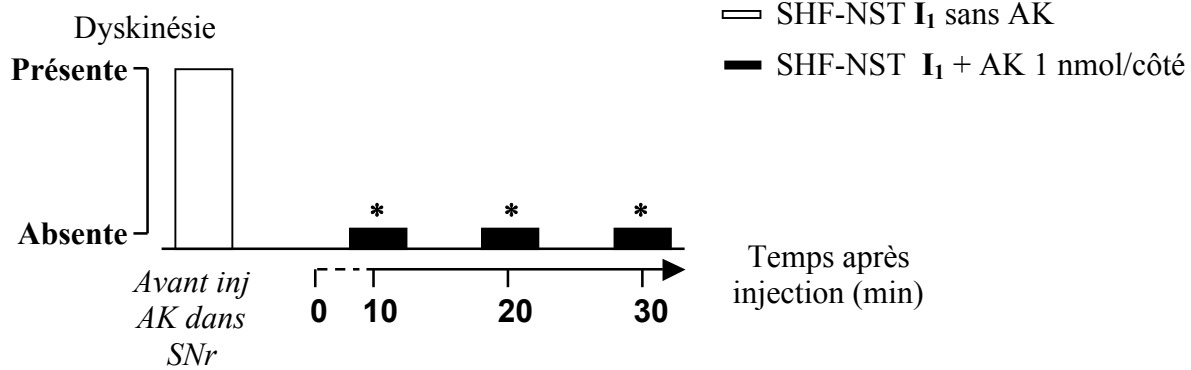
L'analyse de nos résultats comportementaux montrant la survenue de dyskinésies sous SHF du NST et de nos données neurochimiques semblait indiquer que, chez le rat éveillé libre de ses mouvements, les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST étaient corrélées à une augmentation du taux de Glu extracellulaire au niveau de la SNr. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des injections d'agonistes et d'antagonistes glutamatergiques mais aussi GABAergiques au niveau de la SNr chez le rat sain et lésé à la 6-OHDA. Les effets produits par ces agents pharmacologiques sur l'apparition de dyskinésies de la patte avant obtenues sous SHF du NST ont alors été étudiés.

Les doses injectées étaient similaires pour les deux groupes de rats (sains et 6-OHDA). Après avoir fait des essais d'injections unilatérales à gauche (côté ipsilatéral à la stimulation), nous avons finalement opté pour des injections bilatérales afin d'éviter les comportements moteurs asymétriques induits par ces drogues. Les effets propres des substances pharmacologiques utilisées sur le comportement moteur (et notamment dyskinétique) des animaux ont d'abord été testés afin de vérifier que le comportement moteur observé sous SHF n'était pas dû au seul effet de la substance injectée. Aucune des substances injectées n'était capable d'induire, par elle-même, des dyskinésies au niveau des pattes antérieures, que ce soit chez les animaux sains ou hémiparkinsoniens. Enfin, quelles que soient les doses et la substance pharmacologique considérée, les résultats obtenus ont été totalement similaires chez les animaux sains et lésés.

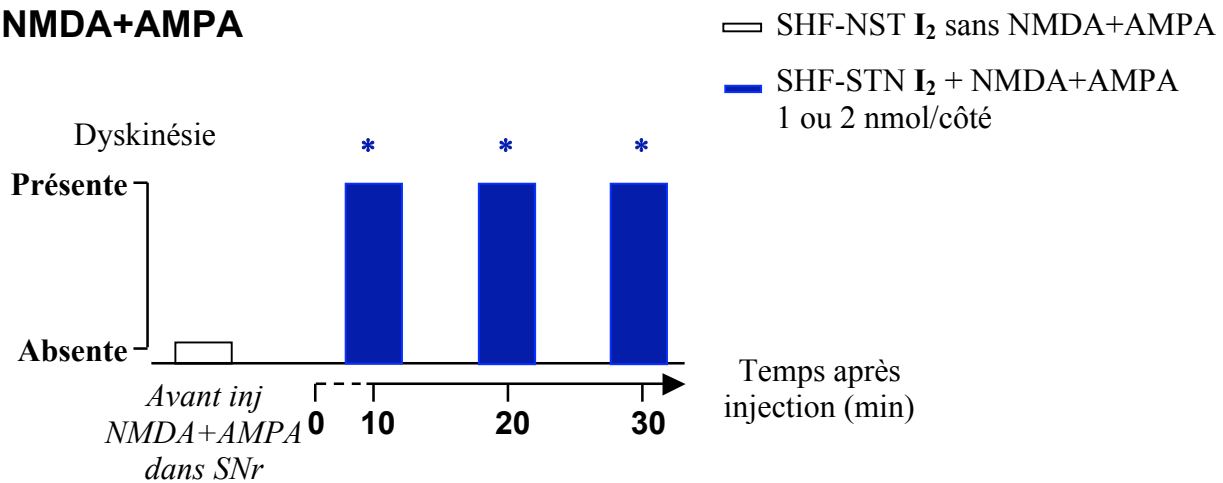
IV.1. Effets comportementaux induits uniquement par des injections unilatérales au sein de la SNr d'acide kynurénique, de NMDA+AMPA et de muscimol.

Avant d'étudier l'influence d'injections nigrales d'agonistes et d'antagonistes glutamatergiques et GABAergiques sur les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST, nous avons réalisé des tests afin de déterminer les doses efficaces à injecter. Ces essais ont initialement été réalisés avec des injections unilatérales car nous pensions injecter les substances pharmacologiques uniquement du côté ipsilatéral à la stimulation. Malheureusement, ces injections unilatérales donnaient lieu à des comportements moteurs pouvant rendre difficile l'observation du comportement moteur induit par la SHF du NST. En effet, les injections

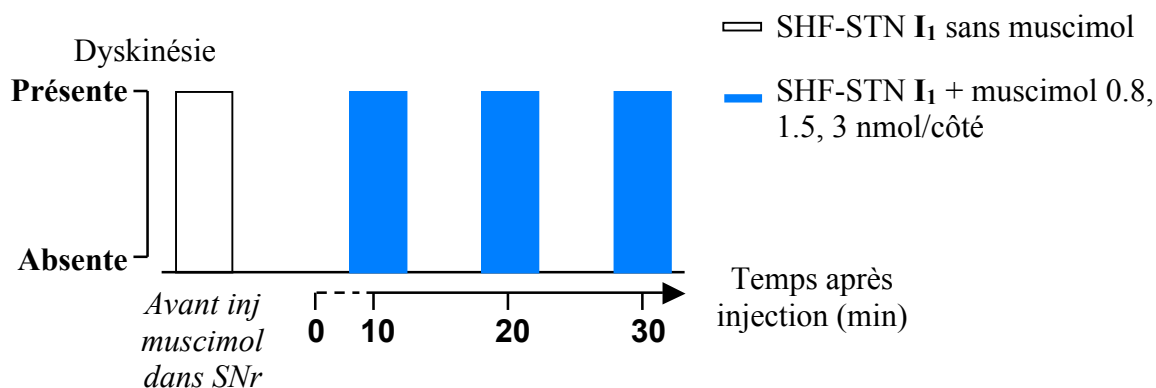
A. Acide Kynurénique (AK)



B. NMDA+AMPA



C. Muscimol



- Figure 59 -

Effet de l'injection bilatérale nigrale d'acide kynurénique (A), NMDA+AMPA (B) et muscimol (C), sur les dyskinesies de la patte avant induites par SHF du NST chez des rats sains (n=5).

Notez en A, que l'AK (1nmol/côté) prévient l'apparition des dyskinesies induites par la SHF du NST appliquée à une intensité I₁ (*p<0.05).

En B, l'application d'une stimulation du NST d'intensité I₂ n'induit pas de dyskinesie sauf après injection de NMDA+AMPA (1nmol/côté) (*p<0.05)

Notez en C que l'injection de muscimol (3 nmol/côté) ne prévient pas l'apparition des dyskinesies induites par une SHF du NST d'intensité I₁.

unilatérales de NMDA+AMPA à une dose de 1 nmol entraînaient une hyperactivité des animaux, un comportement de toilettage et de ‘sniffing’ très abondant, l’apparition de dyskinésies oro-linguales et surtout des rotations ipsi et/ou controlatérales, comportement le plus gênant pour nos observations (n=3). Ces effets étaient identiques mais plus marqués pour des doses de 2 nmol avec l’apparition également de mouvement de ‘grattage’ des pattes postérieures.

Les injections unilatérales d’acide kynurénique (AK) à des doses de 0,5 et 1 nmol induisaient également l’apparition de dyskinésies oro-linguales mais surtout des rotations du côté controlatéral à l’injection ainsi qu’une akinésie de la patte droite, d’autant plus marquée que la dose d’AK injectée était forte (n=3).

Enfin, le muscimol injecté unilatéralement dans la SNr gauche donnait naissance à des dyskinésies oro-faciales, un comportement de ‘sniffing’ marqué, associé à une agitation générale de l’animal, une dystonie axiale à droite et surtout un comportement rotatoire du côté controlatéral à l’injection très important avec un nombre de rotations par minute plus important que pour les autres substances pharmacologiques injectées ($17 \pm 1,5$ vs 12 ± 1 rotations/min) et une impression de paralysie du train arrière par rapport au train avant. Cet effet était d’autant plus long et plus marqué que les doses injectées étaient fortes (0,8, 1,5 ou 3 nmol, n=3).

Les rotations induites par l’ensemble des substances pharmacologiques injectées unilatéralement dans la SNr des animaux nous semblaient pouvoir perturber notre observation et notre analyse du comportement moteur induit par la SHF du NST. C’est pourquoi, nous avons choisi de réaliser ces injections de manière bilatérale après avoir observé que celles-ci ne donnaient lieu à aucune apparition de comportements moteurs parasitant nos observations (akinésie, dystonie, rotation).

IV.2. Effet de l’injection bilatérale d’acide kynurénique sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST

L’acide kynurénique (AK), un antagoniste glutamatergique à large spectre, a été injecté au niveau de la SNr des animaux sains et 6-OHDA à deux doses différentes : 0,5 et 1 nmol par côté. Pour des doses de 0,5 nmol/côté, l’AK n’était pas capable de prévenir l’apparition des dyskinésies de la patte avant induites par une SHF du NST avec une intensité I_1 pour 4/5 des animaux lésés à la 6-OHDA et pour la totalité des animaux sains. Par contre, à des doses de 1 nmol/côté, l’injection bilatérale d’AK a permis de prévenir l’apparition des dyskinésies normalement induites par une stimulation d’intensité I_1 (Fig 59A). L’effet était maintenu pendant toute la durée de l’expérience (30 minutes).

IV.3. Effet de l'injection bilatérale de NMDA et d'AMPA sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST

Un mélange de NMDA+AMPA a été injecté dans la SNr d'animaux sains et lésés à la 6-OHDA à des doses de 1 et 2 nmol par côté. Après injection, et pour les deux concentrations testées, la SHF du NST avec une intensité I_2 entraînait l'apparition de dyskinésies de la patte avant située du côté controlatéral à la stimulation, similaires à celles induites par une stimulation d'intensité I_1 en absence de drogue (*Fig 59B*).

Pour des doses de 2 nmol, des effets secondaires étaient observés et notamment l'apparition d'une petite paralysie des membres postérieurs ainsi qu'une akinésie des membres antérieurs.

IV.4. Effet de l'injection bilatérale de muscimol sur les dyskinésies de la patte avant induites par SHF du NST

Trois doses différentes de muscimol, agoniste des récepteurs $GABA_A$, ont été testées: 0,8, 1,5 et 3 nmol par côté. Quelle que soit la dose considérée, les mouvements dyskinétiques de la patte avant induits par une SHF du NST d'intensité I_1 n'étaient pas bloqués par l'injection préalable de muscimol dans la SNr (*Fig 59C*). Nous n'avons pas testé de dose supérieure de muscimol car sa durée d'action est longue et proportionnelle à la dose injectée. De plus l'injection d'une dose de 3 nmol/côté a entraîné l'apparition d'effets secondaires tels qu'une augmentation de l'activité locomotrice, et des mouvements incontrôlés des pattes arrières ainsi qu'un comportement d'automutilation notamment de morsure de la queue et des pattes postérieures.

En résumé, les résultats obtenus montrent clairement que les dyskinésies de la patte avant controlatérale, induites par la SHF du NST avec une intensité I_1 , peuvent être bloquées si un antagoniste glutamatergique est injecté bilatéralement au sein de la SNr. De manière comparable, l'injection bilatérale d'agents agonistes glutamatergiques au sein de la SNr de manière préalable à une SHF du NST, appliquée à une intensité I_2 , rend possible l'apparition de ces dyskinésies sous l'effet de la stimulation.

De manière gênante mais intéressante, le muscimol n'a aucun effet sur les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST.

DISCUSSION: PARTIE I

I. ETUDE DES CONDITIONS DE STIMULATION ELECTRIQUE DU NST CHEZ LE RAT EVEILLE, SAIN OU HEMIPARKINSONIEN, LIBRE DE SES MOUVEMENTS

I.1. Electrode de stimulation : monopolaire, bipolaire, platine ou tungstène ?

Les résultats que nous avons obtenus concernant l'utilisation d'une électrode mono ou bipolaire montrent clairement que la quantité de courant nécessaire pour induire un comportement dyskinétique (ici la dyskinésie de la patte avant) est beaucoup plus faible lorsque l'on stimule avec une électrode monopolaire qu'avec une électrode bipolaire. Cette observation est valable aussi en clinique humaine où les stimulations en mode monopolaire permettent de générer des bénéfiques moteurs similaires à ceux observés avec une stimulation en mode bipolaire, mais en utilisant une valeur d'intensité beaucoup plus faible, ce qui permet d'ailleurs de diminuer l'usure des piles du stimulateur (Volkman et al., 2000 ; Dowseylimousin et Pollak, 2001). Une étude de suivi au long cours des effets de la SHF du NST chez les patients parkinsoniens montre que 90 % des malades stimulés le sont en mode monopolaire, ce qui conduit, dans les cinq premières années de stimulation, au remplacement du stimulateur chez 2 % des patients (Krack et al., 2003). En stimulation monopolaire, un des contacts de l'électrode est choisi comme cathode et l'anode est localisée au niveau du générateur. Ainsi, l'anode et la cathode sont assez distantes et le courant électrique est largement distribué. En mode bipolaire, l'anode et la cathode sont au contraire proches et la diffusion du courant est donc plus localisée. Cette variation du volume de diffusion du courant électrique permet d'expliquer qu'à effet égal, les besoins en intensité sont plus faibles pour une stimulation monopolaire que bipolaire (Kuncel et Grill, 2004).

Ainsi sur la base des observations faites en clinique humaine, et compte tenu que nous voulions nous rapprocher des conditions de stimulation utilisées chez le patient parkinsonien, nous avons décidé d'utiliser des électrodes monopolaires pour nos études chez le rat éveillé. De plus, les dommages tissulaires observés chez le rat au niveau du NST suite à une stimulation électrique d'une heure (130 Hz, 60 μ s, 300 μ A) sont beaucoup moins importants avec une stimulation en mode monopolaire qu'avec une stimulation en mode bipolaire (Temel et al., 2004). Par ailleurs, Harnack et collaborateurs ont récemment montré l'influence de la nature des matériaux utilisés pour la confection de l'électrode de stimulation sur les dommages tissulaires observés au niveau du NST, suite à sa stimulation électrique (Harnack

et al., 2004). Les résultats montrent que des effets tels que le dépôt de métal, la nécrose, les hémorragies et la dégénération neuronale sont observés après une SHF du NST pratiquée avec une électrode en acier inoxydable et qu'ils ne se limitent pas uniquement à la zone stimulée. Par contre, l'étendue de ces dommages est beaucoup plus limitée lorsque l'électrode de stimulation utilisée est en platine. En effet, les phénomènes de dissolution électrolytique (dépendant des propriétés physico-chimiques du métal utilisé et conduisant à la formation de produits électrolytiques et à l'émission de métal toxique) qui sont à l'origine des dommages tissulaires observés sont moins importants avec une électrode en platine qu'avec une électrode en tungstène (Wetzel et al., 1969 ; White et Gross, 1974 ; Tomov et Tsoneva, 2000).

L'ensemble de ces observations comportementales et histologiques a également été rapporté dans une thèse précédemment soutenue au laboratoire en 2003 par Nicolas BRUET. A l'époque, ces études de mise au point des conditions de stimulation haute fréquence au sein du NST chez le rat ont fait partie d'un travail de collaboration, réalisé dans le cadre d'un programme européen de recherche (5^{ème} PCRDT), piloté par le Dr Lydia KERKERIAN.

Au cours de mon travail doctoral, j'ai donc pu bénéficier de ce développement technologique qui m'a permis d'affiner les études comportementales chez le rat en fonction des modifications des paramètres de stimulation, et de pouvoir ensuite corrélérer ces comportements moteurs à des variations neurochimiques, principalement au niveau de la SNr.

I.2. Variation des paramètres de stimulation

Des études récentes réalisées chez le patient parkinsonien ont mis en avant l'importance des paramètres de stimulation utilisés dans l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST. Ces travaux ont ainsi montré qu'il était impossible d'obtenir un effet thérapeutique de la stimulation pour des fréquences de 10 et 50 Hz et que certains symptômes moteurs dont l'akinésie pouvaient même être aggravés pour des fréquences de 5 Hz (Limousin et al., 1996; Rizzone et al., 2001; Moro et al., 2002).

Peu d'études ont été rapportées sur l'influence des paramètres de stimulation sur les comportements moteurs induits chez l'animal éveillé. Dans la majorité des cas, les études conduites chez le rat se sont limitées à l'observation des comportements de rotation contralatérale induits sous l'effet de la SHF du NST (Meissner et al., 2002; Bergmann et al., 2004) et souvent considérés comme des effets indésirables. Seule une étude publiée par Salin et collaborateurs a montré l'influence de l'intensité de stimulation, lors de la SHF du NST, sur

le comportement moteur du rat, décrivant l'apparition de mouvements dyskinétiques de la patte avant controlatérale à la stimulation (Salin et al., 2002).

Les séquences motrices rapportées au cours de cette thèse corrèlent bien avec celles décrites par Salin et collaborateurs. L'augmentation progressive de l'intensité de stimulation lors de la SHF du NST induit, en effet, l'apparition chronologique d'une 'gamme' de dyskinésies caractérisée d'abord par des dyskinésies oro-faciales (mouvements répétés de la langue), suivies de dyskinésies axiales (torsion du tronc et de la tête du côté controlatéral à la stimulation) et de dyskinésies de la patte avant controlatérale (mouvement répété de grattage) et enfin de rotations également du côté controlatéral à la stimulation pouvant conduire l'animal à rouler sur son axe antéro-postérieur.

De manière intéressante, tous ces comportements ressemblent à ceux décrits chez les animaux hémiparkinsoniens traités au long cours à la L-DOPA, en dehors de toute stimulation électrique du NST (Winkler et al., 2002). Il est également intéressant de voir que ces dyskinésies induites par la SHF apparaissent non seulement chez les animaux hémiparkinsoniens mais également chez les animaux sains. Cette dernière observation est particulièrement pertinente car elle évoque la capacité de la SHF du NST à exacerber, à elle seule, l'activité de circuits moteurs en dehors de toute dénervation dopaminergique et d'aboutir à des comportements moteurs comparables à ceux observés en situation parkinsonienne sous traitement L-DOPA.

Enfin, nous avons pu mettre en avant le fait que le niveau d'intensité nécessaire pour induire ces dyskinésies était plus important pour les rats 6-OHDA que pour les rats sains mais uniquement lorsque les fréquences et les largeurs d'impulsion étaient respectivement inférieures à 130 Hz et 60 μ s. Ces résultats montrent donc que la réactivité des circuits moteurs vis à vis de la SHF du NST peut être différente en fonction de l'état normal ou parkinsonien (Guridi et Obeso, 2001). Sur le plan physiopathologique, les dyskinésies induites par la L-DOPA peuvent être considérées comme un phénomène d'apprentissage moteur pathologique, secondaire à une altération de la transmission glutamatergique centrale, subséquente à la dénervation (Baas, 2000 ; Winkler et al., 2002 ; Paillé et al., 2004) et/ou à la stimulation dopaminergique pulsatile non physiologique (Calon et al., 2000 ; Graybiel et al., 2000 ; Bézard et al., 2001d ; Jenner, 2004 ; Obeso et al., 2004). Leur expression est liée à une diminution excessive de la fréquence de décharge des structures de sortie des ganglions de la base (Filion et al., 1991) associée à des modifications de leur mode de décharge (Boraud et al., 2001 ; Bevan et al., 2002 ; Hutchinson et al., 2004 ; Meissner et al., 2006).

Il est alors tout à fait possible que les différences que nous observons entre rats sains et hémiparkinsoniens, du moins en dessous de 130 Hz et de 60 μ s, puissent être sous tendues par des niveaux d'activité des structures de sorties des ganglions de la base différents.

A noter que d'autres données de la littérature qui traitent des comportements moteurs induits chez le rat par la SHF du NST corroborent parfaitement avec nos observations. En effet, les 'effets secondaires' décrits par Chang et al. pour des intensités de stimulation supérieures à 50 μ A et consistant en un redressement de la tête et une contraction des muscles faciaux (Chang et al., 2003) corrélient aux dyskinésies oro-faciales et axiales que nous observons aux alentours de 50 μ A. De même, les rotations contralatérales observées par Meissner et collaborateurs pour des intensités de 300 μ A sont identiques à celles que nous avons observées (Meissner et al., 2002). Enfin, l'apparition d'un mouvement dyskinétique de la patte antérieure du côté controlatéral à la stimulation a également été rapportée chez le singe normal (Beurrier et al., 1997) ainsi que chez des patients parkinsoniens stimulés à des voltages supérieurs à ceux induisant des effets antiparkinsoniens (Limousin et al., 1996).

L'intensité de stimulation apparaît donc comme un paramètre clé dans les effets induits par la SHF du NST et notamment pour les comportements moteurs observés. Il est probable que les variations d'intensité, bien plus peut-être que celles de la fréquence et de la largeur d'impulsion (qui interviennent probablement davantage dans le patron des modulations d'activités électrophysiologiques induites par la SHF du NST), puissent jouer un rôle dans la nature et le nombre de populations de cellules et/ou axones afférents et efférents recrutés par la stimulation.

Aucune étude *in vivo* chez l'animal n'a permis à ce jour de déterminer avec exactitude quel était le volume de diffusion affecté par la SHF du NST pour une intensité donnée. Seules des études de modélisation concernant l'application d'une SHF au sein du parenchyme cérébral ont permis d'estimer la distance de la diffusion du courant appliqué à plusieurs mm par rapport au site stimulé (Grill, 1999 ; Grill et al., 2004 ; McIntyre et al., 2004).

Il est clairement établi aujourd'hui que les éléments stimulés par l'électrode de stimulation concernent les axones afférents, les corps cellulaires et leurs axones efférents ainsi que les axones de passage. Ainsi, la SHF du NST a un effet indirect sur les neurones du NST via l'activation de leurs axones afférents, mais également un effet direct via l'activation directe de leurs corps cellulaires ou axones. La résultante de cet effet dépend de la nature des éléments impliqués, de l'aptitude des terminaisons afférentes à suivre la SHF et de la capacité des corps cellulaires à être dépolarisés jusqu'au seuil d'émission de potentiels d'action (Maurice et al., 2003 ; Grill et al., 2004 ; Kita et al., 2005 ; McIntyre et al., 2004; Garcia et al., 2005). Le

nombre d'axones efférents et de passage mis en jeu par la SHF et entraînant une activation antidromique de leurs corps cellulaires dépend de l'intensité appliquée. Nous reprendrons cette argumentation plus loin pour discuter des effets neurochimiques que nous avons observés.

En dehors de l'intensité, il est clair que les autres paramètres de la stimulation, comme la fréquence et la largeur d'impulsion, qui déterminent également la quantité de courant délivrée lors de la SHF du NST, jouent également un rôle important. Nos résultats montrent que l'intensité nécessaire pour induire l'apparition des dyskinésies de la patte avant est d'autant plus faible que la fréquence ou la largeur d'impulsion sont élevées, et ceci jusqu'à ce que ces deux paramètres soient fixés respectivement à des valeurs de 130 Hz et 60 μ s. Pour des valeurs de fréquence ou de largeur d'impulsion supérieures à ces deux seuils, l'intensité induisant des dyskinésies de la patte avant n'est pas statistiquement modifiée. Ces résultats concordent parfaitement avec les données cliniques obtenues par Rizzone et collaborateurs qui montrent des effets différents induits par la SHF du NST sur l'amélioration de la rigidité selon les combinaisons de paramètres de stimulation utilisées. L'augmentation de la fréquence de stimulation de 90 à 130 et 170 Hz semble, en effet, améliorer la rigidité et permet de réduire l'intensité nécessaire pour induire ces effets. Cependant, à partir de 90 Hz, cette baisse d'intensité n'est plus significative. Ces auteurs ont également montré que pour une fréquence fixe, plus la largeur d'impulsion est élevée, meilleurs sont les effets cliniques de la SHF du NST observés (Rizzone et al., 2001).

Il apparaît donc, sur le plan clinique, que la fréquence et la largeur d'impulsion sont également des facteurs clés de la qualité des améliorations motrices observées chez le malade parkinsonien stimulé. La combinaison des trois paramètres (fréquence, intensité et largeur d'impulsion) visant à optimiser les effets bénéfiques de la SHF du NST sur le plan moteur semble également être propre à chaque malade parkinsonien stimulé et probablement dépendant de la localisation de l'électrode au sein du NST.

Le rôle précis joué individuellement par chacun de ces 3 paramètres lors de la SHF du NST reste toutefois difficile à cerner. Même si la quantité de courant appliquée lors de cette stimulation reste l'élément crucial en termes de recrutement des éléments cellulaires et axonaux stimulés, il apparaît aussi évident que sur le plan qualitatif, ces 3 paramètres jouent un rôle dans l'amélioration motrice observée chez le patient parkinsonien. Nos observations motrices réalisées chez le rat restent toutefois grossières et ne permettent pas d'établir une

étude qualitative sur l'optimisation des combinaisons impliquant ces 3 paramètres lors de la SHF du NST.

En résumé, nos résultats obtenus sur l'étude des paramètres de stimulation chez l'animal éveillé, nous ont permis de mettre en évidence **une meilleure efficacité des électrodes monopolaires en platine** par rapport aux électrodes bipolaires en tungstène. Nous avons pu également évaluer l'impact de chaque paramètre de stimulation sur le comportement moteur du rat. Ces études nous ont permis de fixer les valeurs des paramètres de **fréquence** et de **largeur d'impulsion** pour nos études chez l'animal éveillé et correspondent globalement à celles utilisées en clinique humaine : **130 Hz** et **60 μ s**. Le choix de la valeur de l'intensité de stimulation utilisée pour la suite de nos études s'est basé essentiellement sur nos observations comportementales.

En effet, il nous est apparu important d'étudier les conséquences neurochimiques induites par l'application de deux valeurs d'intensité lors de la SHF du NST: l'une, pouvant être considérée comme élevée, a été fixée entre 60 et 200 μ A (**I₁**) selon l'animal considéré et induisait des dyskinésies de la patte avant controlatérale; l'autre, non dyskinésiante, a été arbitrairement fixée à la moitié de la valeur de **I₁** et oscillait selon les animaux entre 30 et 100 μ A (**I₂**).

II. ETUDE DES VARIATIONS DES TAUX DE GLUTAMATE ET DE GABA MESURES AU SEIN DE LA SNR LORS DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE INDUISANT OU NON DES DYSKINESIES DE LA PATTE AVANT

II.1. Remarques préliminaires concernant l'origine du Glu et du GABA détectés par microdialyse intracérébrale.

Les remarques que nous faisons ici sont également à prendre en compte pour la deuxième partie expérimentale de cette thèse qui concerne les expériences réalisées chez le singe.

Une des questions essentielles concernant la microdialyse est de savoir si les neurotransmetteurs recueillis et dosés sont le reflet d'une libération synaptique (et donc un bon index de la neurotransmission) ou si au contraire ils proviennent de phénomènes synaptiques non spécifiques (libération non vésiculaire) ou possèdent une origine non

synaptique (libération gliale). Pour répondre à ces questions, de nombreuses études de microdialyse, basées sur les deux critères classiques de la neurotransmission, la dépendance au calcium et l'ouverture des canaux voltage-dépendants, ont été menées. Afin de tester la dépendance au calcium des concentrations en neurotransmetteurs mesurées dans les dialysats ou encore la dépendance à l'ouverture des canaux voltage-dépendants, des liquides de perfusion dépourvus de calcium ou contenant de la tétrodotoxine (TTX), qui bloque les canaux sodiques permettant la propagation des potentiels d'action, ont été utilisés (Westerink et al., 1988).

Pour le Glu et le GABA, les résultats publiés dans la littérature restent contradictoires. En effet, certains auteurs ayant utilisé un liquide de perfusion contenant de la TTX ou encore déplété en Ca^{2+} , ont affirmé n'observer aucune incidence sur les taux de Glu mesurés dans les dialysats recueillis (Biggs et al., 1995 ; Miele et al., 1996 ; Timmerman et Westerink, 1997). A l'inverse, d'autres auteurs ont montré que l'augmentation de Glu mesurée au niveau du cortex préfrontal chez un rat soumis à un stress de contention pouvait être masquée, lors des recueils des dialysats, par l'utilisation d'un liquide de perfusion contenant du TTX (Moghaddam, 1993).

Les expériences conduites au laboratoire lors de thèses précédentes ont permis de montrer que la perfusion d'un LCR sans calcium contenant un chélateur calcique était capable de diminuer de 30 % les taux de Glu mesurés dans les dialysats recueillis au niveau de la SNr et du GP (François Windels, 2003). De même, la perfusion d'un LCR contenant de la TTX (3 μ M) a permis de montrer que les taux de base de Glu étaient beaucoup plus sensibles au blocage des canaux sodiques voltage dépendants que ceux de GABA.

Toutefois, la perfusion de LCR contenant de la TTX ou dépourvu de Ca^{2+} peut influencer tous les neurones à proximité du site de perfusion. Dès lors, une modification de la libération d'un neurotransmetteur peut résulter non seulement de l'effet spécifique du LCR perfusé mais également des effets secondaires générés par l'interaction avec d'autres neurotransmetteurs. Il semble donc envisageable que des effets différents puissent interférer, voire s'annuler entre eux, perturbant l'interprétation des données expérimentales. Biggs et collaborateurs ont montré qu'au niveau de la SN, les augmentations des taux extracellulaires de GABA évoquées par une stimulation électrique des fibres passant à proximité du NST, présentaient les caractéristiques d'une libération neuronale, contrairement aux concentrations basales, qui semblaient plutôt avoir une origine non-neuronale (Biggs et al., 1995). D'autres études ayant utilisé l' α -latrotoxine, un agent spécifique intervenant sur l'exocytose, préconisent davantage

une origine neuronale des taux de base du Glu au niveau striatal ainsi que des augmentations de ces concentrations évoquées par une stimulation potassique (Herrera-Marshitz et al., 1996). La question de l'origine neuronale ou non du Glu et du GABA collecté dans les dialysats reste une question encore ouverte à ce jour.

Un certain nombre d'arguments expérimentaux avancés plus récemment indique toutefois qu'une grande majorité du Glu mesuré par microdialyse provient d'un pool non vésiculaire (Baker et al., 2002 ; Del Arco et al., 2003) et que sa concentration extracellulaire dépend étroitement de l'équilibre entre les processus de libération et les activités de capture. Ainsi l'augmentation de Glu libéré par des processus dits 'classiques' par les terminaisons synaptiques pourrait être masquée par des mécanismes non vésiculaires impliquant des modifications métaboliques d'ordre plus général du Glu ou de son activité de capture. Dans ce contexte, la technique de microdialyse intracérébrale, de par sa nature, ne serait pas la technique la plus adaptée pour détecter des changements de libération vésiculaire du Glu.

Cependant et en conclusion, les résultats obtenus au laboratoire (Windels et al., 2000, 2003, 2005 ; Bruet et al., 2003) ou rapportés dans la littérature suggèrent qu'une partie au moins des acides aminés présents au niveau extracellulaire serait d'origine neuronale. Enfin, et pour conforter cette origine neuronale du Glu, rappelons que des lésions à l'acide iboténique du NST induisent une chute des taux de base de Glu de l'ordre de 80 % au niveau de la SNr sans affecter les taux de GABA (observations non publiées issues du travail de thèse de François Windels, dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Christelle Baunez, qui avait réalisé les lésions du NST). Enfin, pour limiter les critiques éventuelles relatives à l'utilisation des techniques de microdialyse intracérébrale pour la mesure des taux de Glu et de GABA, nous dirons que ces techniques restent à ce jour les seules réalisables in vivo. De plus quelle que soit l'origine des acides aminés mesurés, leur variation sous l'effet d'agents pharmacologiques ou encore de la SHF du NST, comme c'est le cas dans le présent travail, induit probablement des conséquences fonctionnelles non négligeables et interprétables. La question de l'origine neuronale ou non de la dopamine et de la sérotonine est évidemment moins sujette à débat et à controverse.

II.2. Comparaison des taux de base de Glu et de GABA entre le rat sain et le rat hemiparkinsonien

Selon le modèle anatomo-fonctionnel des ganglions de la base proposé par Albin et collaborateurs et repris plus tard par DeLong (Albin et al., 1989 ; DeLong, 1990), la perte des

neurones dopaminergiques de la SNc conduit à une hyperactivité des neurones glutamatergiques du NST, via une levée de l'inhibition induite par le GPe. Cependant, l'origine de cette hyperactivité semble plus complexe et l'implication exclusive de la seule voie pallido-subthalamique est aujourd'hui controversée. Des afférences subthalamiques issues du noyau pédoculopontin et/ou du noyau parafasciculaire du thalamus pourraient jouer un rôle non négligeable dans cette hyperactivité (Orioux et al., 2000), tout comme la projection dopaminergique nigro-subthalamique (Kreiss et al., 1997 ; Hassani et al., 1997). Néanmoins, cette hyperactivité du NST est actuellement bien admise dans la physiopathologie de la MP et a été confirmée par des études électrophysiologiques qui montrent que la fréquence de décharge des neurones subthalamiques est augmentée après lésion de la SNc ou encore après traitement aux neuroleptiques (Bergman et al., 1994 ; Hassani et al., 1996 ; Degos et al., 2005). Pour certains auteurs, cette augmentation de l'activité des neurones du NST serait corrélée à une augmentation du nombre de décharge en bouffées (Bergman et al., 1994 ; Hassani et al., 1996).

Nos résultats confirment clairement sur le plan neurochimique cette hyperactivité du NST à l'état basal chez les rats 6-OHDA et sont cohérents avec les données obtenues précédemment dans notre laboratoire chez le rat anesthésié (Windels et al., 2005). Cette augmentation des taux de Glu au sein de la SNr pourrait provenir des axones terminaux du NST, des cellules gliales ou des deux (Danbolt, 2001 ; Parpura et al., 2004). Cependant, comme nous l'avons précisé plus haut, la lésion du NST entraîne une diminution importante (environ 80 %) des taux de base en Glu dans la SNr (Rosales et al., 1997). Il apparaît donc probable que la majorité de l'augmentation de Glu détectée à l'état basal dans la SNr des animaux 6-OHDA soit liée à une activité accrue des neurones du NST qui est probablement corrélée à l'augmentation de la fréquence de décharge et/ou au changement de leur mode de décharge. Il a effectivement été montré qu'à fréquence égale, un mode de décharge en bouffée entraînait une libération exacerbée de neuromédiateurs par rapport à un mode de décharge régulier et tonique (Gonon et Buda, 1985).

Les taux de base de GABA sont également augmentés dans la SNr des animaux hémiparkinsoniens mais dans une moindre mesure par rapport à ceux de Glu (x 3 versus x 20). Etant donné que les projections subthalamo-nigrales sont glutamatergiques, l'augmentation des valeurs basales du GABA ne peut s'expliquer que par la mise en jeu d'interactions indirectes découlant de l'hyperactivité subthalamique. Les récents résultats obtenus au sein de notre laboratoire sur l'animal anesthésié montrent que ce GABA proviendrait majoritairement du GP, puisque la lésion de celui-ci entraîne une diminution

massive des taux de GABA dans la SNr (Windels et al., 2005). Cependant, la possibilité d'une origine différente, émanant de collatérales d'axones de la SNr ou encore du striatum, ne peut être exclue.

Enfin, il faut noter que les augmentations des taux de base de Glu et GABA dans la SNr des rats après lésion de la SNc est plus prononcée chez les animaux éveillés que celle reportée chez les animaux anesthésiés (Windels et al., 2005), les anesthésiques jouant sans doute un effet sur les concentrations d'acides aminés (Arai et al., 1990; Rozza et al., 2000, Windels et Kiyatkin, 2006). De nombreuses études *in vivo* et *in vitro* montrent que l'effet des anesthésiques volatiles passe par une dépression de l'activité du système nerveux central qui se fait majoritairement via une inhibition de la transmission excitatrice glutamatergique. Un ensemble de mécanismes pré- et post-synaptiques semblent impliqués dans cette dépression de l'activité glutamatergique. Ainsi, plusieurs études *in vitro* s'accordent à montrer que l'halothane induit un blocage ou une diminution de la libération de Glu (Kirson et al., 1998 ; Larsen et Langmoen, 1998). Ce blocage pourrait provenir d'une inhibition des canaux Ca²⁺ voltages dépendants situés sur les terminaisons pré-synaptiques, empêchant ainsi la fusion des vésicules de neurotransmetteurs avec la membrane neuronale (Pocock et Richards, 1988). Au niveau post-synaptique, l'halothane semble induire un blocage des récepteurs glutamatergiques avec une action préférentielle sur les récepteurs de type NMDA (Martin et al., 1996) et AMPA (Kirson et al., 1998). Enfin, les effets de l'halothane pourraient également interférer avec la recapture du Glu. Toutefois, les données sont plus contradictoires sur ce point. En effet, plusieurs études *in vitro* montrent une augmentation de la recapture du Glu en présence d'halothane (Miyazaki et al., 1997 ; Larsen et Langmoen, 1998) qui pourrait découler de l'activation de la protéine kinase C (Casado et al., 1993) entraînant la phosphorylation et l'activation des transporteurs aux Glu et/ou faire intervenir une recapture astrocytaire (Miyazaki et al., 1997). A l'inverse, une autre étude réalisée sur des synaptosomes de rat montre que l'halothane inhibe la recapture du Glu (Sugimura et al., 2001).

Ainsi, même si l'ensemble de ces résultats montre de façon claire l'importance de l'action de l'halothane sur la transmission glutamatergique, il est possible que l'effet dépresseur des anesthésiques halogénés sur l'activité du système nerveux central soit également médié par une action sur la transmission GABAergique. De tels effets ont été mis en évidence. Sugimura et collaborateurs ont montré que, tout comme pour le Glu, la recapture du GABA était supprimée en présence d'halothane (Sugimura et al., 2001). Ces données sont en accord avec

l'augmentation de la durée des potentiels post-synaptiques inhibiteurs hippocampiques observée in vivo chez le rat en présence d'halothane (Pearce et al., 1989).

Cet effet double de l'halothane sur les transmissions glutamatergiques et GABAergiques pourrait ainsi expliquer les divergences de résultats obtenus entre l'animal anesthésié et éveillé concernant les taux de base mesurés dans la SNr. L'existence de telles interférences entre système de transmission glutamatergique et GABAergique avec les anesthésiques nous a donc conduit à s'affranchir de ce problème en développant ici nos investigations neurochimiques chez l'animal éveillé. Toutefois, les effets des anesthésiques sont à moduler car très souvent, des effets comparables de certains agents pharmacologiques ou même de la SHF se retrouvent dans les deux conditions expérimentales, seule leur amplitude est modulée (Paul et al., 2000 ; Windels et Kiyatkin, 2006).

II.3. Effet de l'intensité de stimulation sur les modifications des taux de Glu et de GABA au sein de la SNr.

Les résultats obtenus au cours de mon travail de thèse montrent clairement que les modifications neurochimiques observées dans la SNr chez l'animal éveillé diffèrent selon la valeur de l'intensité appliquée lors de la SHF du NST :

- Lorsque la SHF du NST est appliquée avec une intensité dyskinésiante pour la patte avant contralatérale (60-200 μ A), des augmentations des contenus de Glu extracellulaire sont observées aussi bien chez le rat sain que chez le rat traité à la 6-OHDA. Dans ces mêmes conditions, seule une augmentation de GABA est observée chez le rat sain. Il est intéressant de noter que la SHF du NST appliquée à des intensités dyskinésiantes est toujours associée à des augmentations de Glu dans la SNr, et ce, aussi bien en situation normale que parkinsonienne.
- Lorsque la SHF du NST est appliquée avec une intensité non dyskinésiante pour la patte avant (30-100 μ A), les augmentations de Glu dans la SNr ne sont plus retrouvées ni chez les rats sains, ni chez les rats hémiparkinsoniens, et seule une augmentation de GABA est détectée chez les rats 6-OHDA.

Nous allons discuter ces résultats en tentant de corrélérer ces modifications neurochimiques aux comportements moteurs associés, mais aussi en essayant d'en tirer des implications fonctionnelles.

II.3.1. Modifications neurochimiques induites par une intensité dyskinésiante.

Les augmentations de Glu observées chez le rat sain et hémiparkinsonien sous l'effet de la SHF du NST avec une intensité dyskinésiante pourraient s'expliquer par une activation des projections subthalamo-nigrales qui sont de nature glutamatergique (Hammond et al., 1978). L'existence d'une influence excitatrice du NST sur la SNr mais aussi sur le GP a bien été démontrée par des approches pharmacologiques (Robledo et Féger, 1990). Lors d'une étude électrophysiologique récente, Maurice et collaborateurs ont montré que pour des intensités quasi comparables à celles que nous utilisons ($> 80 \mu\text{A}$), la SHF du NST évoque des réponses excitatrices au sein de la SNr chez le rat. Les temps de latence de ces réponses sont similaires et cohérents au temps de conduction de la voie subthalamo-nigrale (Kita et Deniau, 1981). La mise en jeu de fibres excitatrices lors de la SHF du NST a également été démontrée chez le singe par des approches pharmacologiques montrant une activité accrue du GPi, probablement médiée par l'activité des fibres subthalamo-pallidales (Hashimoto et al., 2003 ; Kita et al., 2005). Ces résultats neurochimiques obtenus chez le rat éveillé confirment également, du moins pour le rat sain, les augmentations de Glu observées chez l'animal anesthésié pour une intensité nettement plus élevée ($500 \mu\text{A}$, Windels et al., 2000). Toutefois, cette étude conduite au laboratoire chez le rat anesthésié avait été réalisée avec une électrode bipolaire. Nous essaierons de discuter plus loin les différences observées entre les modifications neurochimiques détectées chez l'animal éveillé et celles obtenues chez l'animal anesthésié, en tenant compte des différences relatives aux conditions expérimentales utilisées.

Sur le plan comportemental, nos résultats neurochimiques montrant que les dyskinésies de la patte avant controlatérale induites par la SHF du NST peuvent être associées à des augmentations de Glu dans la SNr, apparaissent en contradiction avec les mouvements hémiballiques observés après lésion du NST (Whittier et Mettler, 1949; Carpenter et al., 1950; Hammond et al., 1979; Hamada et DeLong, 1992; Guridi et Obeso, 2001). En effet, il a été montré chez l'homme comme chez le primate, que des lésions du NST, logiquement associée à une diminution de la transmission glutamatergique au niveau de la SNr, pouvaient induire des mouvements hémiballiques. Cette contradiction apparente met en exergue l'impossibilité de considérer sur le plan fonctionnel la SHF du NST comme une simple lésion. De plus, il a été montré que des SHF du NST appliquées à de fortes intensités pouvaient induire des mouvements hémiballiques chez le singe mais aussi chez le malade parkinsonien (Limousin et al., 1996 ; Beurrier et al., 1997 ; Moro et al., 2002).

Si les variations de Glu observées ici lors de la SHF du NST à des intensités dyskinésiantes sont probablement liées à des augmentations d'activité de la voie subthalamo-nigrale, les augmentations de GABA résultent quant à elles possiblement d'interactions directes et/ou indirectes entre les structures des ganglions de la base impliquées dans les mécanismes de cette SHF. Différents mécanismes peuvent être proposés pour expliquer ces augmentations de GABA qui ne s'observent ici que chez le rat sain.

D'un point de vue anatomique, il faut souligner que de nombreuses fibres GABAergiques qui se projettent sur la SNr, transitent au niveau du NST ou à proximité, notamment celles issues du striatum ou du GP (Nakanishi et al., 1987). La SHF du NST pourrait de ce fait activer directement ces fibres et provoquer une augmentation de la libération de GABA au niveau de la SNr. Toutefois, cette augmentation de GABA pourrait refléter une activation préférentielle de la voie pallido-nigrale. En effet, une activation anti-dromique de la voie pallido-subthalamique pendant la SHF du NST, entraînant une activation des neurones pallido-nigriques, est envisageable et a d'ailleurs été récemment suggérée par des approches électrophysiologiques sur des tranches de cerveau de rat (Garcia et al., 2003). Comme nous l'avons précisé dans nos rappels bibliographiques, un même neurone GABAergique du GP envoie deux axones, l'un vers le NST, l'autre vers la SNr. De ce fait, une dépolarisation anti-dromique le long des axones pallido-subthalamiques pourrait se propager de façon orthodromique sur les axones pallido-nigriques expliquant ainsi nos résultats neurochimiques. De plus l'activation directe des neurones du GP sous l'effet de la SHF du NST, via la voie subthalamo-pallidale, a déjà été décrite électrophysiologiquement, que ce soit chez l'animal ou chez l'homme (Maurice et al., 2003; Dostrovsky et al., 2002 ; Kita et al., 2005), et est en accord avec les résultats neurochimiques obtenus chez le rat anesthésié qui montrent des augmentations de Glu dans le GP au cours de la SHF du NST (Windels et al., 2000). Finalement, l'origine majoritairement pallidale des taux augmentés de GABA dans la SNr au cours de la SHF du NST semble aujourd'hui l'hypothèse la plus probable. En effet, des études conduites dernièrement au laboratoire chez le rat sain anesthésié ont montré que ces augmentations de GABA étaient abolies après lésion du GP (Windels et al., 2005). Ces résultats viennent d'être confortés par une étude électrophysiologique réalisée chez le singe qui montre que la réponse inhibitrice induite au niveau du GPi sous l'effet de la SHF du NST est supprimée après blocage pharmacologique de l'activité des neurones du GPe (Kita et al., 2005). On ne peut cependant pas écarter la mise en jeu de mécanismes indirects tels que 1) l'activation de la voie striato-nigrale par le biais d'une augmentation des taux de DA striatale sous l'effet de la SHF du NST (Bruet et al., 2001); 2) une interaction entre le Glu provenant

du NST et les neurones GABAergiques de la SNr et leurs collatérales (Mailly et al., 2003); 3) une activation du noyau parafasciculaire par l'intermédiaire des projections subthalamiques, qui pourrait en aval stimuler la voie striato-nigrique; 4) l'activation de cette voie striato-nigrique par des projections cortico-striatales, elles mêmes activées par une excitation antidromique des fibres cortico-subthalamiques induite par la SHF du NST; pourrait expliquer l'origine de ce GABA nigral.

II.3.2. Modifications neurochimiques induites par une intensité non dyskinésiante

Aucune variation des taux de Glu n'est constatée, aussi bien chez le rat sain que chez le rat parkinsonien, sous l'effet de la SHF du NST appliquée avec une intensité n'induisant pas de dyskinésies de la patte avant. Seule une augmentation des taux de GABA est observée chez les rats parkinsoniens. Le niveau d'intensité de stimulation utilisé ici semble donc ne pas être délétère puisqu'il n'induit pas de mouvements dyskinétiques. L'augmentation des taux de GABA extracellulaire observée chez les animaux lésés à la 6-OHDA confirme les résultats obtenus au laboratoire par Windels et collaborateurs (Windels et al., 2005) chez l'animal anesthésié et conforte l'hypothèse fonctionnelle que nous avons émise, suggérant que le GABA pourrait jouer un rôle clé dans les mécanismes de la SHF du NST.

En effet, les mécanismes qui sous-tendent les effets bénéfiques de la SHF du NST sur les symptômes moteurs de la MP soulèvent de nombreuses questions fondamentales d'ordre physiopathologique concernant les interactions des différents réseaux neuronaux appartenant aux ganglions de la base. Les effets bénéfiques similaires observés après lésion (Bergman et al., 1990; Patel et al., 2003) ou inactivation pharmacologique du NST (Levy et al., 2001) dans des modèles animaux de la MP, ou encore chez des patients parkinsoniens ont conduit à penser que la SHF pourrait s'apparenter à une 'lésion fonctionnelle'. Cette hypothèse, longtemps défendue, suggérait que la SHF du NST pouvait inactiver les neurones du NST par un mécanisme de blocage de dépolarisation (Benazzouz et al., 1995; Beurrier et al., 2001) ou bien remplacer leur mode de décharge anormal par une activité imposée par la SHF (Garcia et al., 2003), normalisant ainsi l'hyperactivité pathologique des structures de sorties des ganglions de la base (Burbaud et al., 1994; Benazzouz et al., 1995; Magarinos-Ascone et al., 2002; Tai et al., 2003).

Toutefois, la SHF du NST est généralement suivie d'une augmentation d'activité du GP et de la SNc (Benazzouz et al., 2000 ; Hashimoto et al., 2003). De plus, chez le rat éveillé contraint,

les neurones du NST peuvent, sous certaines conditions, décharger avec des fréquences supérieures à 130 Hz (Urbain et al., 2000). Par ailleurs, il avait été montré que la fréquence maximale de décharge des neurones du NST se situait aux alentours de 500 Hz (Kita and Kitai, 1987) et que les neurones de la SNr pouvaient suivre des stimulations du NST supérieures à 100 Hz (Hammond et al., 1978). Des données récentes obtenues chez l'homme montrent que les neurones du NST ne deviennent pas silencieux sous l'effet de la SHF du NST (Dostrovsky et Lozano, 2002) et ceci a été confirmé chez le rat (Maurice et al., 2003).

Ces observations expérimentales ont été autant de preuves allant à l'encontre de cette hypothèse de 'blocage de dépolarisation' des neurones du NST au cours de la stimulation.

De ce fait, une hypothèse proposant la réduction de l'activité excessive des neurones du NST et de la SNr chez le patient parkinsonien par le recrutement de circuits inhibiteurs impliquant le GP, la SNc et/ou le striatum a été avancée.

Les premiers résultats neurochimiques obtenus au laboratoire chez le rat sain anesthésié et visant à explorer les mécanismes de la SHF du NST, nous ont amené à défendre très précocement cette hypothèse. En effet, comme dit précédemment, François Windels avait montré lors de son travail doctoral que la SHF du NST augmentait les taux extracellulaires de Glu et de GABA dans la SNr et uniquement ceux de Glu dans le GP, suggérant ainsi la mise en jeu de fibres excitatrices et inhibitrices (Windels et al., 2000). L'hypothèse émise alors a depuis été confortée par des études électrophysiologiques chez le rat et le singe (Maurice et al., 2003 ; Kita et al., 2005) et a consisté à dire que le GABA pourrait jouer un rôle déterminant dans l'inhibition des voies de sorties des ganglions de la base sous l'effet de la SHF.

Les résultats neurochimiques obtenus chez le rat parkinsonien sous anesthésie (Windels et al., 2005) et ceux rapportés ici en situation d'éveil vont dans le même sens. En effet, on peut considérer que la SHF du NST appliquée avec une intensité non dyskinésiante, et donc non délétère, puisse être bénéfique sur les symptômes moteurs de la MP. Dès lors, cette action bénéfique pourrait être supportée par l'action du GABA au niveau de la SNr dont les taux sont augmentés. Par ailleurs, comme nous l'avons précisé plus haut, des SHF du NST appliquées à de fortes intensités entraînent l'apparition de mouvements hémiballiques chez le malade parkinsonien mais aussi chez le singe (Limousin et al., 1996 ; Beurrier et al., 1997). Or, lors de la sélection des paramètres de stimulation chez le malade parkinsonien implanté, la valeur optimale de l'intensité choisie pour les effets antiparkinsoniens attendus est toujours fixée 30 à 40 % en dessous de la valeur induisant des mouvements hémiballiques délétères. Sur la base de nos résultats neurochimiques, obtenus certes chez le rat, on peut penser que la

fixation de cette valeur d'intensité bien au dessous du seuil des mouvements hémiballiques privilégie la mise en jeu du système GABAergique se projetant sur la SNr au détriment du système glutamatergique, activé lui, pour des intensités plus élevées. L'action du GABA alors en excès dans cette structure de sorties des ganglions de la base, viendrait contrecarrer l'hyperactivité de la SNr, elle-même induite par celle du NST sous l'effet de la lésion dopaminergique. Les données électrophysiologiques obtenues chez le primate par Kita et collaborateurs privilégient également cette hypothèse (Kita et al., 2005).

La comparaison des résultats neurochimiques, obtenus chez l'animal anesthésié avec des SHF du NST de forte intensité (500 μ A) (Windels et al., 2000), avec ceux obtenus ici chez le rat éveillé avec des SHF du NST appliquée à des intensités dyskinésiantes, fait apparaître des divergences, notamment chez les rats hémiparkinsoniens, qui concernent principalement les variations des taux de Glu dans la SNr. Aucune augmentation de ces taux n'est observée chez l'animal anesthésié alors qu'elle est détectée chez l'animal éveillé. Ces différences sont probablement dues à plusieurs facteurs liés aux conditions expérimentales utilisées dans les deux cas. Ces facteurs peuvent être :

1/ l'effet de l'anesthésie ; nous avons déjà évoqué et discuté plus haut les interférences possibles entre anesthésiques et système glutamatergique.

2/ la nature de l'électrode et la modalité de stimulation utilisées ; dans le travail de François Windels et collaborateurs, l'électrode utilisée était une électrode bipolaire de type SNEX 100 en acier inoxydable (diamètre externe 250 μ m). Celle utilisée chez l'animal éveillé est une électrode monopolaire en platine (diamètre externe 75 μ m). Comme dit précédemment, il est probable que les modalités de diffusion du courant propre à chaque type d'électrode puisse expliquer les divergences de résultats observées, tout comme d'ailleurs, la localisation même de l'électrode. En effet, les électrodes bipolaires sont souvent placées juste au-dessus du NST alors que les électrodes monopolaires doivent pénétrer légèrement au sein de la structure (Salin et al., 2002).

3/ l'intensité appliquée ; même si les deux valeurs d'intensité utilisées sont élevées (500 μ A pour l'animal anesthésié ; 60-200 μ A pour l'animal éveillé), on peut penser que la diffusion du courant et donc la nature et le nombre des éléments recrutés par la stimulation sont différents. En effet, la stimulation mono-polaire conduit probablement à une diffusion plus large de ce courant. De plus, l'utilisation dans ce travail d'une électrode mono-polaire nous assure de la nature cathodique de la stimulation, cette différenciation n'est pas possible avec une électrode bipolaire. Les études de modélisation, réalisées par McIntyre et Grill sur l'effet

de la stimulation, indiquent que les stimulations anodiques activeraient préférentiellement les corps cellulaires alors que les stimulations cathodiques activeraient les fibres de passage (McIntyre et Grill, 2001). Il semble ainsi très probable que la stimulation appliquée ici chez l'animal éveillé en mode monopolaire implique plus spécifiquement une activation des fibres nerveuses.

Au total, la prise en compte de l'ensemble de ces facteurs, qui mériteraient certainement d'être analysés in fine, peut permettre d'expliquer les différences de variation des taux de Glu notées dans les deux conditions expérimentales.

En conclusion, cette étude conduite chez le rat éveillé libre de ses mouvements confirme que **la dénervation dopaminergique** induit une **hyperactivité des neurones subthalamiques** comme en témoigne l'augmentation des taux de Glu observée dans la SNr de rats hémiparkinsoniens. Cette étude montre également que **l'intensité de stimulation** joue un **rôle déterminant** dans les **effets neurochimiques induits par la SHF du NST** au sein de la SNr. En effet, lorsque la **SHF du NST** est appliquée avec des **intensités élevées (60-200 μ A)**, **produisant des dyskinésies de la patte avant controlatérale**, des **augmentations** des taux de **Glu sont détectées au sein de la SNr**. Ces intensités, pouvant être considérées comme délétères sur le plan moteur, pourraient être comparées à celles induisant des mouvements hémiballiques chez le patient parkinsonien stimulé.

Lorsque **la SHF du NST** est appliquée avec des **intensités non dyskinésiantes**, l'activation du système glutamatergique ne semble plus être prédominante, et ce sont les **taux de GABA** qui sont cette fois **augmentés au sein de la SNr**. Les valeurs d'intensité choisies dans ce cas sont situées 50 % au dessous de celles induisant des mouvements dyskinétiques. La comparaison de nos résultats avec les applications cliniques de la SHF du NST chez les patients parkinsoniens, laisse suggérer que les intensités non dyskinésiantes pourraient, par la mise en jeu préférentielle du système GABAergique au sein de la SNr, inhiber l'activité de ces neurones et ainsi être bénéfiques pour l'amélioration des symptômes moteurs chez le malade parkinsonien stimulé.

Ces résultats neurochimiques nous ont logiquement conduit à vérifier in vivo le rôle fonctionnel joué par le Glu dans l'apparition de ces mouvements dyskinétiques de la patte avant.

III. MISE EN EVIDENCE DE L'IMPLICATION DES SYSTEMES GLUTAMATERGIQUES DANS L'APPARITION DES DYSKINESIES DE LA PATTE AVANT CONTRALATERALE SOUS L'EFFET DE LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NST

Les effets thérapeutiques de la SHF du NST ont largement été explorés tant en recherche clinique que fondamentale afin de comprendre les mécanismes qui sous-tendent cette efficacité (Burbaud et al., 1994; Benazzouz et al., 1995, 2002; Beurrier et al., 2001; Dostrovsky et al., 2002 ; Magarinos-Ascone et al., 2002; Garcia et al., 2003 ; Hashimoto et al., 2003 ; Maurice et al., 2003 ; Tai et al., 2003 ; Windels et al., 2000, 2005). Cependant, à notre connaissance, aucune étude à ce jour n'a été réalisée concernant les mécanismes neurochimiques à l'origine des effets moteurs délétères de la stimulation, tels que l'apparition de mouvements anormaux involontaires ou de dyskinésies. Seules quelques études cliniques en font une analyse descriptive (Limousin et al., 1996; Rizzone et al., 2001; Moro et al., 2002). Ainsi, l'étude pharmacologique que nous avons réalisée dans le but de vérifier l'implication de la neurotransmission glutamatergique au sein de la SNr, dans l'apparition des dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST à forte intensité (I_1), constitue une approche originale.

Nos résultats montrent que ces dyskinésies sont prévenues par l'injection intra-nigrale (SNr) d'un antagoniste glutamatergique à large spectre, l'acide kynurénique. À l'inverse, l'injection de NMDA et AMPA, agonistes spécifiques des récepteurs glutamatergiques du même nom, conduit à l'apparition de ces mêmes dyskinésies lors de stimulations appliquées à faible intensité, non dyskinésiantes. Il faut noter que, ni l'injection de NMDA et AMPA, ni la stimulation à faible intensité du NST ne sont capables d'induire, à elle seule, l'apparition de ces dyskinésies de la patte avant.

Comme nous l'avons déjà mentionné, les différentes dyskinésies induites par la SHF du NST chez l'animal éveillé sont tout à fait comparables à celles observées dans des modèles animaux de la MP traités à la L-DOPA. En effet, des mastications, des mouvements saccadés de la patte antérieure, des torsions du tronc et du museau et des rotations ont été décrites chez des rats 6-OHDA ayant reçu des injections quotidiennes de L-DOPA (6 ou 100 mg/kg) pendant 20 à 28 jours (Lee et al., 2000 ; Lundblad et al., 2002 ; Winkler et al., 2002).

D'un point de vue physiopathologique, nous avons déjà mentionné que les dyskinésies induites par la L-DOPA pouvaient être considérées comme un phénomène d'apprentissage

moteur pathologique secondaire à une altération de la transmission glutamatergique et probablement aussi GABAergique, suite à la dénervation et/ou à la stimulation dopaminergique pulsatile non physiologique (Baas et al., 2000 ; Calon et al., 2000 ; Graybiel et al., 2000 ; Bezard et al., 2001d ; Winkler et al., 2002 ; Obeso et al., 2002 ; 2004 ; Jenner, 2004 ; Paillé et al., 2004 ; Brotchie, 2005). Leur expression pourrait être également liée à une diminution excessive de la fréquence de décharge des structures de sorties des ganglions de la base. Ceci a été déterminé à la fois chez le singe MPTP et le malade parkinsonien (Filion et al., 1991 ; Papa et al., 1999 ; Lozano et al., 2000 ; Borraud et al., 2001 ; Hutchinson et al., 2004 ; Meissner et al., 2006 ; Alonso et al., 2006). L'hypersensibilité de dénervation dopaminergique a clairement été mise en cause également dans l'apparition des dyskinésies L-DOPA induites (Calon et al., 2000 ; Graybiel et al., 2000). Toutefois, même si les sites de liaison des récepteurs D1 et D2 sont augmentés dans le striatum après traitement à la L-DOPA ou lésion dopaminergique, aucun lien évident n'a pu être établi entre l'expression striatale de ces récepteurs et l'apparition de ces dyskinésies sous L-DOPA (Aubert et al., 2005). Par contre, une augmentation pathologique de l'activité des neurones striataux épineux efférents de la voie directe a été mise en évidence (Picconi et al., 2003), avec notamment une hyperactivation du récepteur D1 et des protéines de la cascade intracellulaire dépendante de ce récepteur (Cd K5 et DARP-32) (Picconi et al., 2003 ; Aubert et al., 2005 ; Hakansson et al., 2004).

Au-delà des récepteurs dopaminergiques, il s'agit d'une réorganisation de la transmission cortico-striatale contrôlée par la DA. Dans le cas du système glutamatergique (Chase, 1998 ; 2004), il a été montré qu'une augmentation de l'efficacité synaptique des récepteurs NMDA, dont la phosphorylation est augmentée (en particulier la sous-unité NR2B) (Dunah et al., 2000), était impliquée dans les dyskinésies L-DOPA induites (Chase et Oh, 2000). Une augmentation de l'expression de la protéine Homer-1a, qui interagit avec les récepteurs métabotropiques du Glu, corrèle aussi avec les dyskinésies (Sgambato-Faure et al., 2005). Les mécanismes de sensibilisation ou de 'priming' permettant le développement des dyskinésies L-DOPA induites, et les mécanismes de maintien de ce 'priming', favorisant leur expression dans le temps, sont tout aussi importants. Il a été montré que la simple activation des récepteurs dopaminergiques D1 ou D2 conduit à l'expression d'un grand nombre de gènes précoces (Gerfen et al., 1990). Ce phénomène est amplifié dans un striatum déplété en DA (Berke et al., 1998) et est également associé à des modifications dans les cascades de signalisation intracellulaire, touchant notamment les MAP kinases ERK1/2 (Gerfen et al., 2002). L'étude de l'expression des précurseurs des peptides opioïdes des neurones striataux

de la voie directe (dynorphine et substance P) ou indirecte (enképhaline et neurotensine) a montré que tous ces précurseurs sont augmentés dans le striatum d'animaux dyskinétiques (Cenci et al., 1998 ; Henry et al., 1999 ; Morissette et al., 1999). De même, l'induction persistante de facteurs de transcription dans les neurones striataux de la voie directe, tels que δ FosB, un FRA 'Fos-related antigen' (Cenci, 2002 ; Tekumalla, 2001), ou CREB (Oh et Chase, 2002), a été impliquée dans le développement de ces dyskinésies L-DOPA dépendantes. L'ensemble de ces études montre donc que les dyskinésies L-DOPA induites sont sous-tendues par des modifications durables d'expression génique dans le striatum, et peut-être aussi dans d'autres structures des ganglions de la base (Calon et al., 2000 ; Graybiel et al., 2000 ; Hirsch, 2000 ; Chase, 2004).

Des données d'observations cliniques obtenues chez les malades parkinsoniens stimulés à haute fréquence dans le NST mettent en évidence la disparition progressive des dyskinésies induites par la L-DOPA au long court (Krack et al., 1999 ; Bejjani et al., 2000 ; Benabid et al., 2000 ; Fraix et al., 2000 ; Moro et al., 2002 ; Krack et al., 2003). Cette amélioration des dyskinésies serait liée surtout à la réduction du traitement dopaminergique, en moyenne de l'ordre de 60 %, le traitement médicamenteux pulsatile étant remplacé par un traitement (la stimulation) continu, non pulsatile.

De façon intéressante, la stimulation du NST peut elle-même induire des dyskinésies selon l'intensité de stimulation utilisée, que ce soit chez le malade parkinsonien ou sur un modèle de la MP. L'observation, sur un modèle de rat hémiparkinsonien éveillé, des effets d'un traitement chronique à la L-DOPA et d'une stimulation prolongée du NST à une intensité inférieure au seuil de déclenchement des dyskinésies (appliqués séparément, successivement ou en combinaison) sur l'expression striatale de différents gènes (enképhaline, dynorphine, transporteur glial du Glu, δ FosB) et sur le comportement moteur du rat, montre que la stimulation potentialise la modulation positive exercée par la L-DOPA sur tous les marqueurs examinés et tend même à exacerber les dyskinésies (Oueslati et al., en soumission). Ces données vont donc à l'encontre d'un effet bénéfique direct de la stimulation du NST sur les dyskinésies induites par la L-DOPA.

Les résultats présentés dans ce travail montrent que des dyskinésies de la patte avant peuvent être retrouvées sous SHF du NST à des intensités dyskinésiantes et sont probablement médiées par le Glu dans la SNr. Ces résultats corroborent avec des données expérimentales obtenues chez le singe éveillé montrant que l'injection de picrotoxine (antagoniste des récepteurs GABA_A) dans le NST (Crossman et al., 1980) ou encore de bicuculline (autre antagoniste des récepteurs GABA_A) (Perier et al., 2002) induit des mouvements dyskinétiques

de type hémiballique. Ces injections pharmacologiques ainsi pratiquées aboutissent à l'activation des neurones du NST et donc à celle de la voie subthalamo-nigrale, telle que le suggèrent ici nos résultats neurochimiques. Il serait donc intéressant de comparer les mécanismes neurochimiques, moléculaires et cellulaires impliqués dans les dyskinésies L-DOPA induites et celles provoquées par la SHF du NST. Ceci fait partie des axes de travail actuellement développés au laboratoire.

De même, il serait intéressant de déterminer quels sous-types de récepteurs au Glu sont impliqués dans la genèse des dyskinésies induites par la SHF du NST. De récentes études ont montré l'implication des récepteurs NMDA ou encore des récepteurs métabotropiques mGluR5 dans les dyskinésies L-DOPA induites (Papa et Chase, 1996 ; Nash et al., 2004 ; Dekundy et al., 2006).

Enfin, de manière surprenante et peut être contradictoire, les injections de muscimol n'ont pas contrecarré l'action du Glu détecté en excès dans la SNr sous l'effet de la SHF du NST dans l'apparition des dyskinésies de la patte avant. L'observation de ces résultats suggère que les mécanismes dyskinétiques induits par la SHF du NST pourraient ne pas impliquer le système GABAergique. Il est également possible que l'augmentation des taux de Glu au sein de la SNr n'affecte qu'une partie sélective des neurones glutamatergiques de la SNr et que ces neurones ne soient pas directement modulés par la transmission GABAergique.

Toutefois, ces résultats sont à restituer dans le contexte d'autres résultats décrits dans la littérature concernant les effets du muscimol au sein de la SNr. En effet, dans le cadre d'une étude sur le rôle de la SNr dans la locomotion, une augmentation de l'activité locomotrice a été observée chez le rat après injection bilatérale de muscimol (Jackson et Kelly, 1984), montrant ainsi que la transmission GABAergique nigrale est impliquée dans la locomotion. De même, une forte activation motrice a été notée chez des singes MPTP ayant reçu des injections intra-nigrales de muscimol. Cependant, cet effet n'était présent que lorsque l'injection touchait la zone médiane de la SNr. Pour une injection centro-latérale, une réduction de l'akinésie des membres et de la bradykinésie était constatée alors qu'aucun effet comportemental n'était induit par une injection postéro-latérale (Wichmann et al., 2001). Enfin, des comportements d'auto-mutilation tels que des morsures ont également été relevés chez des rats après des injections bilatérales de fortes doses de muscimol (30 ng) dans la SNr (Baumeister et Frye, 1984) montrant ainsi l'implication de la transmission GABAergique nigrale dans ces comportements.

D'autre part, dans la majorité des études pharmacologiques réalisées, les expérimentateurs utilisent des protocoles d'injections unilatérales. Dans ce cas, après injection de muscimol

dans la SNr, des comportements de rotations contralatérales à l'injection ont pu être observés tant chez le rat que chez le singe (Kozlowski et Marshall, 1980 ; Burbaud et al., 1998).

Dans le cadre de nos expériences préliminaires visant à définir les doses des agents pharmacologiques à injecter et qui ont été réalisées avec des injections unilatérales, nous avons observé ces phénomènes de rotation. C'est justement la présence de ces comportements rotatoires qui nous a poussé à choisir un protocole d'injection bilatérale afin de limiter les interactions possibles entre ces comportements 'indésirables' et celui recherché, à savoir la dyskinésie de la patte avant. L'absence de comportement rotatoire après injections bilatérales de muscimol pourrait s'expliquer par un contre-balancement de l'effet rotatoire potentiel de chaque injection par l'injection du côté opposé.

L'absence de blocage des dyskinésies induites par la SHF du NST par le muscimol reste difficile à interpréter. Il est possible que l'action du muscimol s'exerce aussi par des récepteurs pré- et post-synaptiques, mettant ainsi en jeu des actions opposées, et impliquant des circuits afférents et efférents complexes au sein du réseau neuronal de la SNr. Des investigations plus poussées, notamment par des approches électrophysiologiques, pourraient probablement élucider ces mécanismes complexes.

En conclusion, les effets induits par les injections locales au sein de la SNr d'antagonistes glutamatergiques sur les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST à forte intensité, montrent clairement **l'implication du Glu dans la genèse de ces mouvements dyskinétiques**. De plus, l'injection d'agonistes glutamatergiques provoquant l'apparition de dyskinésies identiques, lors d'une SHF du NST appliquée à des intensités qui ne devraient pas en induire, confirme de façon irrévocable ces observations.

DEUXIEME PARTIE

EXPERIMENTALE :

*Modifications neurochimiques au sein
des ganglions de la base et
comportements moteurs associés lors
de la mise en place de la dénervation
dopaminergique chez le singe*

MATERIELS ET METHODES
PARTIE II

I. ANIMAUX

La totalité des expériences menées sur des singes dans cette étude a été réalisée en accord avec la Directive Européenne de 1986 (86/609/EEC) concernant l'utilisation d'animaux dans des expériences de laboratoire.

Cinq singes verts (*Cercopithecus aethiops*) (CA21, CA23, CA33, CA34, CA37) mâles âgés en moyenne de 4 ans, pesant environ 5 kg et originaires du centre de recherche sur le primate des îles de la Barbade (Farley Hill, île de la Barbade) ont été utilisés pour cette étude. Ces animaux étaient maintenus à température constante (24°C), avec un cycle lumière-obscurité 12h-12h, dans une animalerie spécifiquement dédiée aux singes. Après leur réception, les animaux étaient soumis à une période d'adaptation d'un mois. Ces animaux ont tous subi un protocole d'intoxication progressive au MPTP et ont tous récupérés de leurs symptômes moteurs après l'arrêt du traitement.

II. MISE EN PLACE DE LA SYMPTOMATOLOGIE PARKINSONNIENNE ET EVALUATION MOTRICE

II.1. Préparation et injection intramusculaire du MPTP

Une solution à 1,67 mg/ml est préparée par dilution de 10 mg de MPTP (Sigma, St Quentin-Fallavier, France) dans 6 ml de sérum physiologique. Après agitation, la solution est répartie dans des fioles de 1 ml congelées immédiatement à -80°C, le MPTP étant très sensible à la lumière et à l'air.

L'injection de MPTP est réalisée en intramusculaire (grand fessier) à une dose de 0,4 mg/kg sur un animal préalablement anesthésié par injection intramusculaire de Kétamine (10 mg/kg). Cette anesthésie permet 1) de ne pas exposer l'expérimentateur aux dangers liés à l'injection de MPTP sur un animal mobile 2) d'éviter que l'animal ne se blesse lors de l'apparition de symptômes moteurs aigus (mouvements anormaux, dystonie des membres et du tronc, tremblements, salivation, hyperventilation) qui surviennent dans la demi-heure qui suit l'injection.

Lieu	Critères	Cotation
cage	Activité en cage	0: activité de référence (à l'état sain); 1: activité diminuée de moitié; 2: activité diminuée au 2/3; 3: Plus aucune
	Posture	0: Posture normale (à l'état sain); 1: position voûtée; 2: plus de tonus musculaire
	Bradykinésie	0: aucune; 3: lenteur sévère
Cage + Chaise	Tremblement	0: aucun; 1: tremblement de repos observé; 2: observé fréquemment; 3: quasi constant
	Alimentation	0: normale; 1: alimentation diminuée de moitié; 2: alimentation minimale; 3: plus aucune alimentation
	Freezing	0: aucun; 1: observé en chaise; 2: observé également en cage
	Rigidité	0: aucune; 1: animal tendu; 2: raideur au niveau des articulations; 3: phénomène de roue crantée
	Mouvements spontanés des yeux	0: normaux; 1: nombre de saccades diminué de moitié; 2: période supérieure à 30s sans bouger les yeux
	Chaise	Mouvements déclenchés des yeux
Mouvements des bras		0: temps nécessaire pour réaliser la tâche à l'état normal; 1: temps doublé; 2: tâche jamais exécutée en entier
Posture des bras		0: normale; 1: posture fléchie des bras; 2: posture dystonique des bras

- Tableau 8 -

Tableau récapitulatif des critères moteurs utilisés pour déterminer le niveau d'atteinte motrice d'un animal MPTP.

II.2. Intoxication progressive au MPTP

Il existe principalement deux types de protocole d'intoxication au MPTP.

Un protocole aigu qui correspond à l'administration en une seule fois d'une forte dose de MPTP (~ 2 mg/kg). Ce paradigme est utilisé pour induire l'apparition rapide d'un état parkinsonien avancé sans désir de récupération motrice après l'arrêt du traitement.

Un protocole progressif où la dose totale de MPTP injectée au final est sensiblement identique à celle du protocole aigu mais répartie sur 4 à 5 injections de 0,4 mg/kg chacune. Ce mode d'intoxication permet d'exercer un contrôle relatif 1) sur la vitesse d'apparition des symptômes moteurs caractéristiques de la maladie et 2) sur le niveau de sévérité atteint. De plus, l'arrêt de l'intoxication entraîne le retour des animaux à un état moteur asymptomatique. Nous avons donc choisi d'utiliser ce protocole d'intoxication progressive pour l'étude des mécanismes de compensation à l'origine de la récupération motrice observée après arrêt du traitement au MPTP.

II.3. Évaluation des déficits moteurs

Tout au long de l'intoxication progressive et après chaque injection de MPTP, l'évolution de l'état moteur des animaux est évaluée à l'aide de différents critères ce qui permet d'ajuster la dose de MPTP à injecter en fonction du niveau de sévérité des symptômes moteurs à atteindre. Ces critères sont regroupés dans une échelle d'évaluation motrice appelée « échelle de Schneider et Kovelowski » (Schneider et Kovelowski, 1990), adaptée à partir de celles utilisées chez l'homme (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS ; Fahn et al., 1987). Cette échelle contient 12 critères répartis en trois groupes : 1) les symptômes évalués en cage (activité motrice globale), 2) ceux évalués en chaise (rigidité, mouvements oculaires spontanés et déclenchés, mouvements et posture des bras) et enfin 3) les critères mixtes, évalués à la fois en chaise et en cage (lenteur, tremblement, alimentation, freezing, posture, vocalisation). La sévérité de chacun des symptômes est notée de 0 à 2 ou 3 (2 et 3 lorsque le symptôme moteur est fortement exprimé) ce qui permet d'obtenir un score maximal de 29. Cependant, le singe vert est une espèce de singe qui vocalise très rarement. Ceci a donc conduit à supprimer le critère de vocalisation de l'échelle, amenant ainsi le nombre de critères à onze pour un score maximum de 27 (*Tableau 8*).

II.3.1. Critères en cage

L'activité motrice globale est le seul critère évalué exclusivement en cage. Cette évaluation est rendue possible par l'utilisation de caméras reliées à un logiciel de comptage d'activité (Vigie Primates, Viewpoint, Lyon, France) qui transforme les modifications de pixels induites par les mouvements des animaux en une activité motrice à unité aléatoire. L'activité motrice de référence, à laquelle est associée le score 0, est calculée chez les animaux n'ayant pas encore été traités au MPTP. Le score évolue ensuite de la façon suivante : 1, pour une diminution de moitié de l'activité de référence ; 2, pour une diminution au 2/3 et 3, lorsque l'animal ne bouge plus du tout.

II.3.2. Critères en chaise

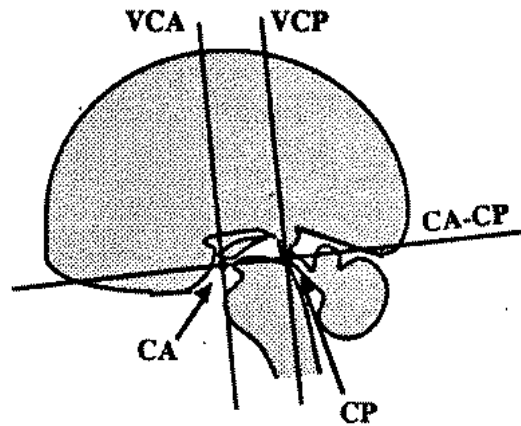
- La rigidité est déterminée par manipulation de toutes les articulations des membres supérieurs et inférieurs de l'animal. Un score de 1 correspond à un animal globalement tendu, 2, à un animal très raide au niveau des articulations des membres inférieurs et/ou postérieurs. L'attribution d'un score de rigidité de 3 est soumise à l'apparition d'un phénomène de roue crantée.

- Les mouvements des bras sont évalués par le temps nécessaire à l'animal pour effectuer une tâche à laquelle il a été auparavant entraîné, à savoir vider un présentoir de 18 puits remplis de morceaux de pommes. Le doublement du temps nécessaire par rapport à celui de référence permet l'attribution du score 1. Lorsque l'animal ne fait plus la tâche, le score est alors de 2.

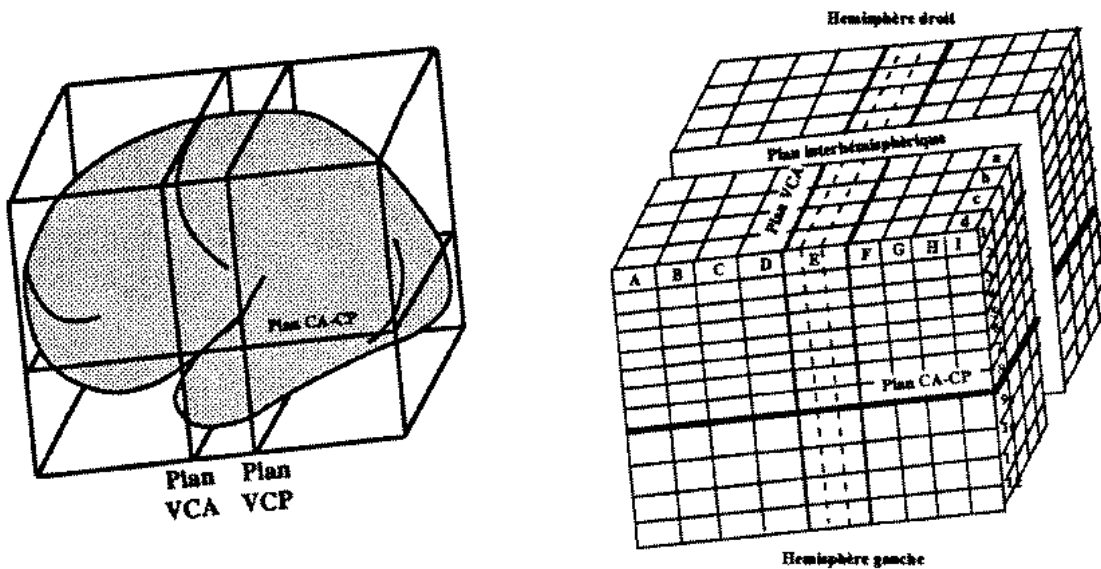
- La position des bras est déterminée en observant l'animal au repos. A l'état physiologique, l'animal a les bras généralement relâchés. 1, correspond à l'apparition du fléchissement des bras de manière continue ; 2, note une position dystonique des bras.

- Spontanément, les singes bougent énormément les yeux pour explorer leur environnement. Le score de 1 est attribué lorsque ces mouvements spontanés sont diminués de moitié par rapport à la normale. Un score de 2 dénote la présence de périodes sans mouvement oculaire supérieures à 30 secondes.

- Les mouvements déclenchés des yeux sont observés lors de la réalisation de la tâche. En effet, l'animal dirige toujours ses yeux vers la cible avant d'initialiser son mouvement pour l'atteindre. Lorsque l'animal n'anticipe plus son action avec des saccades oculaires mais que son regard peut encore suivre le doigt que l'expérimentateur déplace devant lui, le score moteur est de 1. Le nombre 2 est attribué lorsque l'animal possède un regard totalement fixe.



Repérage des commissures antérieures (CA) et postérieures (CP) sur une coupe sagittale médiane et définition de la verticale à CA-CP dans le plan inter-hémisphérique



Construction du parallélépipède dont les faces sont tangentes aux bords du cerveau et échantillonnage du parallélépipède en voxels de quelques cm^3



Une planche typique de l'atlas de Talairach (sans la grille proportionnelle)

- Figure 60 -

Principe simplifié de la méthode de repérage stéréotaxique utilisée chez l'homme et développée par Talairach.

II.3.3. Critères mixtes

- La bradykinésie ou lenteur à initier le mouvement est principalement évaluée lorsque l'animal descend de son perchoir, lorsqu'il est sorti de sa cage pour être mis en place sur la chaise à primate et lorsqu'il réalise la tâche. C'est un critère difficile à estimer. Le score de 1, représente un ralentissement général mais qui n'altère pas le déroulement normal des activités de l'animal. Pour un score de 2, l'animal a de grosses difficultés à monter et descendre de son perchoir. Enfin, un score de 3 est attribué lorsque l'animal ne monte plus sur son perchoir, qu'il faut le tirer pour le mettre dans la chaise à primate et qu'il ne réalise plus la tâche.
- Le tremblement de repos peut être rarement observé (score de 1), observé fréquemment (2) ou quasi constant (3).
- L'alimentation se fait principalement en cage, cependant, au cours de la réalisation de la tâche, la cible à atteindre correspond à des petits morceaux de pomme. L'alimentation est donc évaluée par la ration quotidienne ingérée mais aussi par le manque de motivation à prendre la récompense lors de la tâche. Le score de 1 est attribué lorsque l'animal mange moitié moins, 2 lorsqu'il se nourrit au minimum. Pour un score de 3, l'animal ne se nourrit plus seul et doit être gavé par l'expérimentateur.
- Le freezing correspond à une suspension de l'action en cours avec maintien d'une posture figée pendant plusieurs secondes. Le freezing est plus facilement observable en chaise au cours de la réalisation de la tâche, cependant, lorsqu'il est marqué, il peut aussi être observé en cage. Il peut être peu fréquent (score de 1) ou assez fréquent et facilement observé même en cage (score de 2).
- Enfin, en situation physiologique, les animaux se tiennent principalement assis sur leur perchoir dans leur cage. De même, ils maintiennent une position assise tonique dans la chaise à primate. L'installation d'une position voûtée est associée à un score de 1. Pour un score de 2, l'animal n'a plus aucun tonus. Il est couché sur le ventre au fond de sa cage et a des difficultés à se mettre et se maintenir en position assise dans la chaise.

III. IMPLANTATION STEREOTAXIQUE DE LA CHAMBRE D'ENREGISTREMENT NECESSAIRE AUX DIALYSES REPETEES

Le principe de la stéréotaxie chez le singe (Percheron et al., 1986 a,b) est adapté de la méthode développée par Talairach chez l'homme (Talairach et al., 1967) (*Fig 60*). Elle repose

sur deux repères ventriculaires, la commissure antérieure (CA) et la commissure postérieure (CP). CA et CP peuvent être visualisées *in vivo* par ventriculographie. Elles permettent de définir un plan horizontal, passant par ces deux points, et deux plans verticaux passant respectivement par CA (CA0) ou par CP (CP0) et perpendiculaires au premier. Un atlas stéréotaxique des structures cérébrales du macaque, défini dans ce système de plans, a été mis au point au laboratoire INSERM U679 dirigé par le Pr Etienne HIRSCH (François et al., 1996). Ainsi, avant chaque chirurgie, les coordonnées des structures d'intérêt sont repérées au moyen de cet atlas et sont reportées dans le repère défini par le CA et le CP (visualisés par ventriculographie) de l'animal à opérer.

III.1. Anesthésie et contrôle des fonctions vitales

La veille de l'intervention, l'animal est mis à la diète. Le jour même, il est anesthésié par injection intramusculaire d'un mélange Kétamine (10 mg/kg) + Atropine (0,05 mg/kg). Ces doses induisent une anesthésie d'environ 20 minutes. Si nécessaire, les injections peuvent être renouvelées en diminuant la dose injectée de moitié à chaque fois.

L'animal est ensuite intubé afin d'être maintenu sous anesthésie gazeuse pendant toute la durée de l'intervention. Pour ce faire, la tête du singe est inclinée vers l'arrière en direction de l'expérimentateur. La langue est soulevée à l'aide d'un laryngoscope et un anesthésique local est injecté sur la glotte (0,5 ml de Xylocaïne 2%) avant l'introduction, dans la trachée, d'une canule intra-trachéale (3 à 5,5 mm de diamètre en fonction de la taille du singe). Le positionnement correct de la canule est vérifié par le gonflement et le dégonflement suivant la respiration de l'animal d'un petit ballonnet placé devant l'entrée de la canule. Lorsque le positionnement est correct, le ballonnet de la canule permettant de la maintenir en place est gonflé et le système d'intubation est fixé avec du sparadrap à la gauche de l'animal. Il est ensuite relié au système d'anesthésie gazeuse qui libère de façon continue un mélange O₂/N₂O (50/50) et Fluothane 1 %. Le taux d'oxygénation du sang de l'animal est suivi tout au long de l'anesthésie grâce à un oxymètre. Une bonne ventilation suppose des valeurs supérieures à 80 %.

Remarque : Si l'anesthésie au Fluothane n'est pas bien supportée par l'animal, on peut travailler sous anesthésie à la Kétamine seule (7,5 mg/kg) mais en maintenant toujours une supplémentation en O₂. Si la Kétamine seule ne suffit pas à maintenir une anesthésie profonde, on peut ajouter de la Xylazine (0,25 mg/kg au début et jusqu'à 0,5 mg/kg) en injection intra-musculaire toutes les 45min à 1H.

Durant la chirurgie, plusieurs paramètres physiologiques sont suivis : la fréquence cardiaque, la température et l'hydratation. Le maintien de ces fonctions autour de valeurs physiologiques normales témoigne de conditions optimales pour la chirurgie et assure un réveil de l'animal dans de bonnes conditions.

Electro-cardiogramme :

La fréquence cardiaque est suivie immédiatement après l'induction de l'anesthésie grâce à un dispositif de surveillance du tracé électrocardiogramme (deux électrodes d'enregistrement placées au deux bras et une électrode servant de terre sur la jambe droite).

Contrôle de l'hydratation :

Avant la mise en place de l'anesthésie gazeuse continue, le maintien de l'hydratation se fait par installation d'une perfusion au niveau de la veine saphène de l'animal afin de lui injecter une solution de glucose 5 % durant toute l'intervention. En cas de complications, cette perfusion permet l'injection intraveineuse de substances.

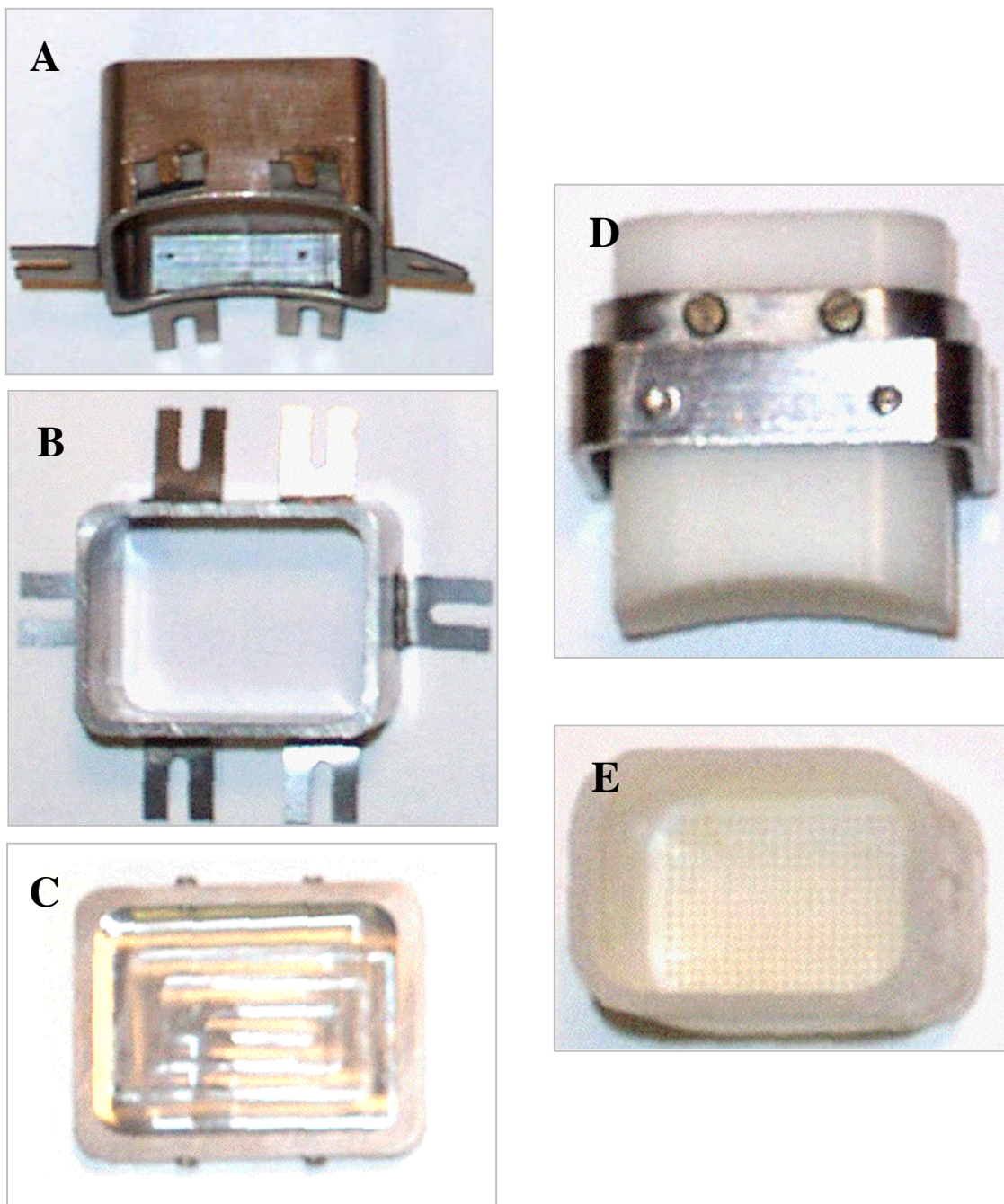
Contrôle de la température :

Après son installation dans le cadre stéréotaxique, le singe est muni d'une sonde thermique anale qui permet le contrôle de sa température. Celle-ci doit être maintenue aux alentours de 35-36°C. Pour ce faire, on place des bouillottes remplies d'eau chaude sous l'animal, on le couvre avec un gilet prévu à cet effet et avec une couverture de survie, et on place à sa proximité une lampe infrarouge.

III.2. Contention et ventriculographie

Après la mise en place de l'anesthésie gazeuse continue, l'animal est placé au niveau du cadre stéréotaxique, en position assise. Les barres d'oreille, de gueule et d'yeux sont mises en place et une radiographie est réalisée afin de contrôler la bonne mise en contention de l'animal et d'ajuster le centrage latéral. La tête de l'animal est ensuite rasée et nettoyée à la Bétadine® (Polyvidone iodée, Viatrix Manufacturing, Merignac, France). On réalise une incision de la peau de l'avant à l'arrière de la tête à l'aide d'un scalpel. Les masses musculaires temporales sont écartées et l'os est méticuleusement gratté et nettoyé avec du sérum physiologique afin d'ôter le péri-os.

Une ventriculographie (face et profil) est réalisée par injection intra-ventriculaire, à l'aide d'un trocart, d'un produit radio-opaque (Iopamiron 300, Schering France, Lys-Lez-Lannoy). Un trou est réalisé en avant du crâne à l'aide d'une fraise de dentiste. Le trocart est ensuite



- Figure 61 -

Photographies du dispositif de la chambre d'enregistrement et du système de grille utilisé chez le primate vigile.

- A: Chambre d'enregistrement vue de profil.
- B: Chambre d'enregistrement vue de dessus.
- C: Couverture de la chambre d'enregistrement.
- D: Système de grille vu de profil.
- E Système de grille vu de dessus.

descendu dans le cerveau, incliné vers l'avant afin d'éviter la région motrice corticale. Avant l'injection du produit radio-opaque, un repérage de la trajectoire du trocart est réalisé par radiographie. L'Iopamiron 300 (1 ml) est ensuite injecté et des radiographies de face et de profil sont immédiatement effectuées. Les positions de CA et de CP sont déterminées et la tête de l'animal est inclinée afin de ramener la ligne CA-CP à l'horizontale et donc parallèle au cadre stéréotaxique.

III.3. Positionnement et fixation de la chambre

La chambre d'enregistrement (32 x 26 mm, Unimécanique, Paris, France) (*Fig 61A et 61B*) maintenue par un couvercle spécial (*Fig 61C*), est positionnée sur le crâne, parallèle à la ligne CA-CP. La chambre est centrée sur CA dans l'axe antéro-postérieur et décalée de 2mm vers l'hémisphère droit dans l'axe médio-latéral. Ce positionnement permet d'avoir accès au striatum antérieur et ventral de l'hémisphère gauche et au putamen postérieur et latéral de l'hémisphère droit. Les contours de la chambre sont délimités au crayon. Un volet osseux, mettant à nu la dure-mère, est alors réalisé à l'aide d'une fraise de dentiste en suivant les contours du tracé. Les bords du volet sont adoucis et la chambre est fixée sur le crâne à l'aide de 8 vis en acier inoxydable insérées au niveau des pattes de celle-ci. Enfin, 17 autres vis sont réparties tout autour de la chambre, dont une à chaque angle, en avant et en arrière du crâne afin d'assurer un ancrage maximal de l'ensemble du dispositif. Les vis sont enduites d'une résine d'interface et des couches successives de ciment dentaire sont étalées jusqu'à recouvrement complet des vis. Des cylindres de contention (qui permettront la fixation de la tête de l'animal dans la chaise à primate) sont placés en avant et en arrière de la chambre d'enregistrement. Le cimentage est repris environ jusqu'à mi-hauteur de la chambre. Lorsque la fixation de la chambre est achevée, le système de grille (22 x 14 mm, Unimécanique, Paris, France) (*Fig 61D et 61E*) muni d'une canule en acier inoxydable (spécifiquement conçu pour coulisser avec précision à l'intérieur de l'enceinte de la chambre) est inséré dans la chambre et une radiographie est prise afin de vérifier le positionnement de la grille. Puis, La peau est ajustée et recousue et un vernis chirurgical est appliqué à l'interface ciment-peau. L'animal est sorti de l'appareil stéréotaxique et oxygéné jusqu'à son réveil partiel. Il est ensuite remis dans sa cage où il reste isolé et surveillé pendant les 2, 3 jours qui suivent l'intervention.

III.4. Contrôle de la douleur et prévention du risque infectieux : suivi opératoire et post-opératoire

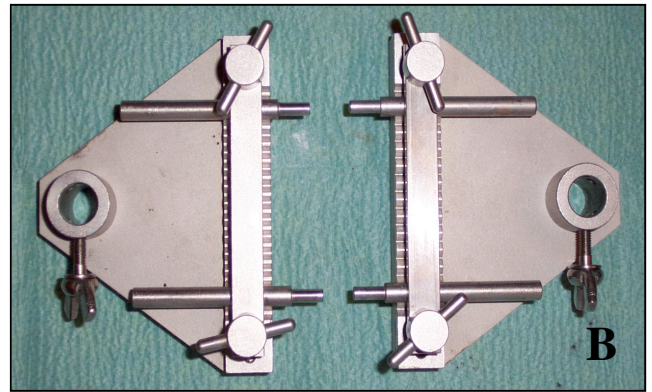
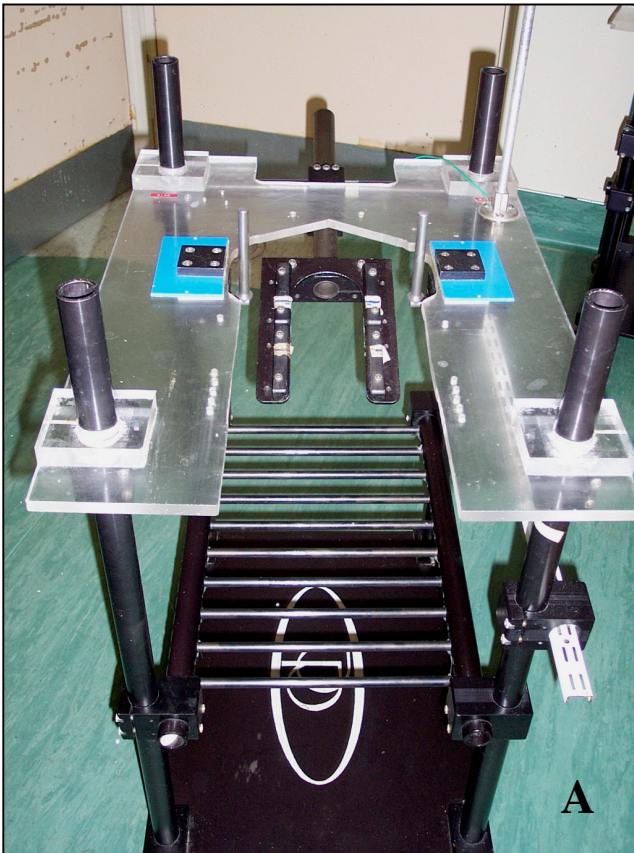
Tout au long de l'intervention chirurgicale et plusieurs jours après celle-ci, un ensemble de mesures est pris afin de réduire au maximum les risques d'infection et la douleur. Pour lutter contre le risque infectieux dès le début de la chirurgie, le tissu en contact avec la plaie est abondamment nettoyé à la Bétadine[®]. Au cours de la chirurgie, deux types d'antibiotiques sont administrés à l'animal via sa perfusion : Clamoxyl[®] (20 mg/kg, amoxicilline ; Sentravet, Plancoët, France) et Pangram[®] (4 mg/kg, gentamicine ; Sentravet, Plancoët, France). Enfin, un traitement antibiotique à base de Clamoxyl[®] et Baytril[®] (5 mg/kg, enrosloxacine ; Sentravet, Plancoët, France) est administré pendant 8 à 10 jours post-opération. Pour éviter l'apparition de la douleur, une injection de Tolfédine[®] (0,1 ml/kg ; acide Tolfenamique ; Sentravet, Plancoët, France) est faite au cours et à la fin de la chirurgie. Cette injection est renouvelée le lendemain de l'opération avec la possibilité de doubler la dose si les signes de douleur sont nombreux.

Le tableau ci-dessous donne le détail des traitements antibiotiques et anti-douleur post-opératoires appliqués avec les doses utilisées.

<i>Type de traitement</i>	Produit	Dose (mg/kg)		
		<i>Jour 1</i>	<i>Jour 2</i>	<i>Jour 3 à 10</i>
<i>(Post-opératoires)</i>				
<i>Analgésique</i>	Tolfédine	0.1	0.1	/
	Pangram	4	4	/
<i>Antibiotique</i>	Clamoxyl	20	20	20
	Baytril	/	/	?

III.5. Nettoyage de la chambre d'enregistrement

La chambre d'enregistrement doit être nettoyée quotidiennement afin de vérifier l'état général de la plaie et d'ôter le tissu de réparation qui se forme chaque jour au niveau de la dure-mère mise à nue. En effet, la prolifération de ce tissu donnerait naissance à une couche cellulaire épaisse, pouvant endommager les sondes de dialyse lors de leur descente dans le parenchyme



- Figure 62 -

Photographies du système de contention utilisé chez le primate vigile encore appelé 'chaise à primate'.

A: Chaise vide. B: Système de T et de barres permettant de fixer la tête de l'animal.

cérébral. Le nettoyage est réalisé à l'aide d'instruments stérilisés par la chaleur durant 2H dans une étuve à 200°C (pinces courbes, spatule et petits ciseaux). L'animal est d'abord fixé par son collier sur une chaise à primate (*Fig 62A*). La tête de l'animal est ensuite maintenue immobile par fixation de tiges au niveau des cylindres de contention antérieurs et postérieurs situés autour de la chambre (*Fig 62B*). Le couvercle de la chambre est ouvert à l'aide d'un petit tournevis cruciforme puis nettoyé à l'eau et placé dans un bac en verre rempli d'alcool prévu à cet effet. L'expérimentateur nettoie ensuite le sang et les sécrétions présents à l'intérieur de la chambre à l'aide d'une compresse stérile pliée en quatre. S'ensuivent trois rinçages au liquide physiologique. La couche de tissu de réparation néoformée sur la dure-mère est retirée à l'aide du côté plat d'une spatule et l'intérieur de la chambre est à nouveau rincé trois fois avec du liquide physiologique. La troisième fois, la compresse est laissée à demeure afin de procéder au nettoyage de la partie extérieure de la chambre sans risquer de faire tomber des débris à l'intérieur. Le bord de la chambre est nettoyé à l'aide du côté pointu de la spatule et frotté avec une compresse stérile imbibée de liquide physiologique. La compresse est ôtée de la chambre et le couvercle est revissé après avoir reçu quelques gouttes de Bétadine[®].

IV. MICRODIALYSE INTRACEREBRALE CHEZ L'ANIMAL EVEILLE

IV.1. Les sondes de microdialyse

Les sondes de microdialyse utilisées chez le primate éveillé en contention sont réalisées au laboratoire selon un protocole identique à celui décrit dans le chapitre V.2.1 du matériel et méthode de l'étude chez le rat. Le tableau ci-dessous résume les particularités de ces sondes.

<i>Animal</i>	<i>Structure(s) dialysée(s)</i>	<i>Longueur tube inox (cm)</i>	<i>Membrane dialysante</i>	
			<i>Longueur (mm)</i>	<i>Nature</i>
Singe	Striatum antérieur et postérieur	9	3	AN69

IV.2. Déroulement de la dialyse

Dans les expériences de microdialyse réalisées chez le singe, nous avons utilisé, tout comme chez le rat, du LCR artificiel comme liquide de perfusion. Le débit de perfusion était ici fixé à $2 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. La membrane de dialyse de 3 mm de long était constituée d'un polymère synthétique, l'AN 69 (Hospal Industry, Meyzieu, France) dont la limite de perméabilité de 40 kD était adaptée au passage des acides aminés et des catécholamines que nous voulions étudier et dont le poids moléculaire est d'une centaine de daltons. Le choix de l'AN 69 comme membrane dialysante pour les expériences chez le primate repose sur sa plus grande biocompatibilité par rapport au cuprophane.

Comme pour les études menées chez le rat, la veille de l'expérience, les sondes de dialyse sont perfusées toute la nuit avec une solution de LCR artificiel afin d'être équilibrées. Le flux continu de LCR est assuré par une pompe pousse seringue (CMA/100, Phymep, Paris, France) dont le débit est réglé à $2 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Après avoir contrôlé le débit des sondes, placé l'animal dans sa chaise à primate, fixé sa tête et nettoyé sa chambre d'enregistrement, les sondes de dialyse sont descendues au niveau du territoire sensorimoteur du striatum antérieur gauche (coordonnées par rapport à CA : Ant = 4,5 mm, Lat = 7 mm, Post = 10,5 mm) et du territoire sensori-moteur du striatum postérieur droit de l'animal (coordonnées par rapport à CA : Ant = -3,5 mm, Lat = 11 mm, Post = 6,5 mm). Comme chez le rat, la collecte des échantillons ne commence qu'une heure et demie après la descente des sondes pour éviter les effets dus aux perturbations parenchymateuses qui pourraient modifier les concentrations en neurotransmetteurs des dialysats collectés. Les dialysats sont ensuite collectés toutes les 15 minutes pendant 4h à l'aide d'un micro-collecteur réfrigéré à 4°C (Microsampler 820, Univentor, Phymep, Paris, France).

Chaque animal a subi trois dialyses espacées chacune d'un mois, au niveau des mêmes sites et dans les mêmes conditions, selon le protocole présenté figure 4. La première a été réalisée à l'état 'normal', avant même que l'animal ne soit traité au MPTP; la seconde a été réalisée lorsque l'animal présentait des symptômes moteurs 'parkinsoniens' et que le score moteur associé était maximal; enfin la troisième a été pratiquée lorsque l'animal avait totalement récupéré de ses symptômes moteurs (score = 0), c'est-à-dire plusieurs semaines après l'arrêt du traitement au MPTP. Une quatrième dialyse (contrôle) a été réalisée sur 3 animaux afin de s'assurer que les dialyses répétées dans les mêmes sites ne perturbaient pas les concentrations

en neurotransmetteurs des sites dialysés. Les sondes ont été dans ce cas placées au même coordonnées antéro-postérieures que les précédentes mais dans l'hémisphère opposé, encore inexploré. Cette dernière dialyse a été effectuée le lendemain de la troisième dialyse et les concentrations de neurotransmetteurs mesurées ont pu être ainsi comparées à celles de la veille du côté controlatéral. Compte tenu de l'emplacement de la chambre d'enregistrement, seul le striatum antérieur droit a pu être accessible. Cette vérification ne prend donc en compte que les valeurs des taux de neuromédiateurs du striatum antérieur gauche.

Enfin, comme pour les dialysats de rat, l'ensemble des tubes collectés est congelé à -80°C afin d'être conservé pour être dosé plus tard par CLHP.

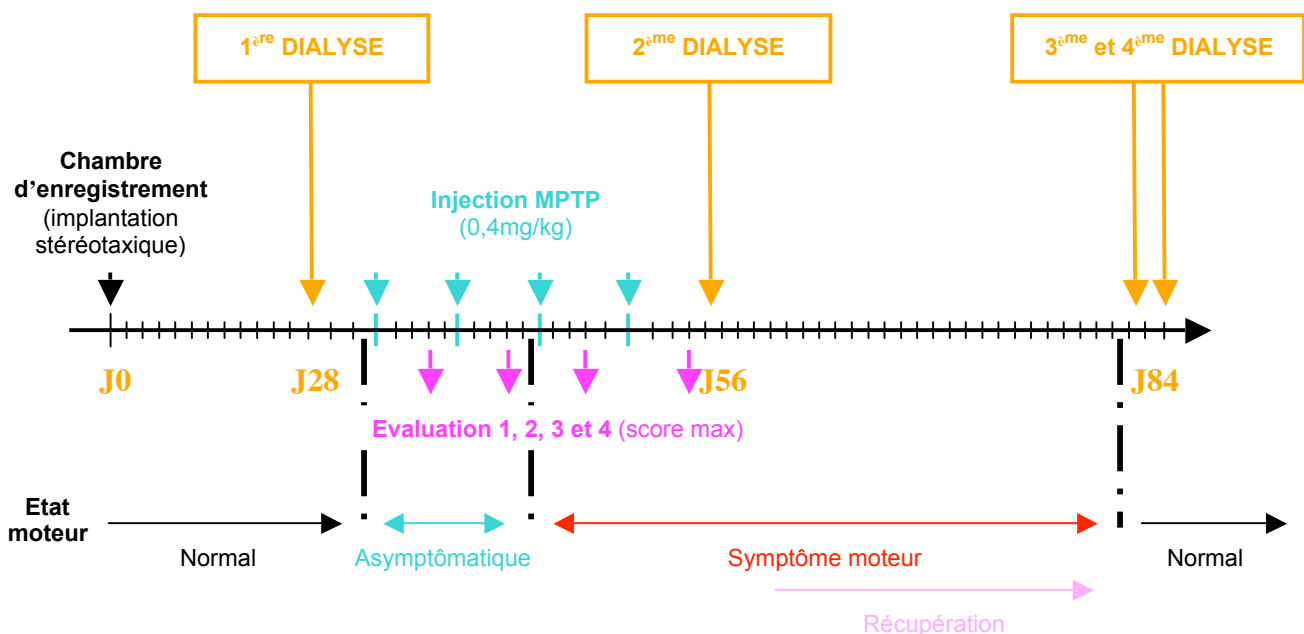


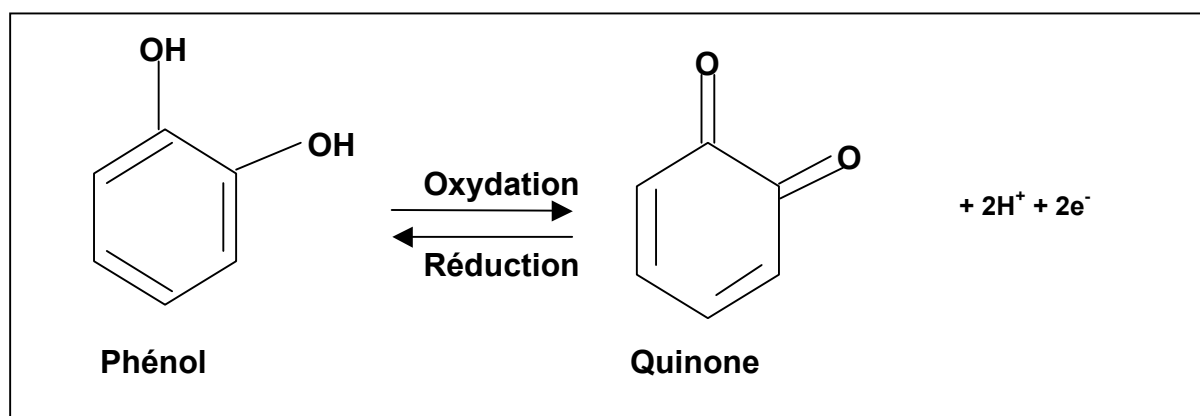
Figure 63 : Protocole expérimental conduit lors des expériences de microdialyse intracérébrale chez l'animal éveillé.

IV.3. Dosage des neurotransmetteurs cérébraux par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) : dosage des catécholamines

Dans cette étude, le dosage des acides aminés a été réalisé selon un protocole identique à celui utilisé chez le rat. Dans ce paragraphe, nous ne développerons que celui concernant le dosage des catécholamines qui a été réalisé également par CLHP, mais couplée cette fois à une détection électrochimique.

IV.3.1. Principe de la détection

La coulométrie est une détection électrochimique qui ne s'adresse qu'aux molécules dotées de propriétés oxydo-réductrices. Son principe repose sur la mesure du courant circulant dans une cellule d'électrolyse lors de l'oxydation ou de la réduction de la molécule contenue dans la phase mobile. La coulométrie se différencie de l'ampérométrie principalement par la nature de l'électrode de travail qui permet de doser la totalité de la prise essai. Les catécholamines (composés phénoliques) peuvent s'oxyder en quinone, selon la réaction :



La cellule de détection électrochimique est composée d'un système à trois électrodes :

- une électrode de travail, en carbone poreux, qui permet une oxydation ou une réduction totale de la molécule initiale.
- une électrode de référence.
- une électrode auxiliaire, qui garantit la stabilité de la différence de potentiel établie entre l'électrode de référence et la phase mobile.

De tels détecteurs ne peuvent fonctionner que si l'éluant est suffisamment conducteur. Dans ces conditions, les variations de courant enregistrées à l'électrode de travail, lors de la réaction électrochimique, sont amplifiées et enregistrées sur un intégrateur sous forme de pics chromatographiques. La surface de ces pics est proportionnelle à la quantité de substance oxydée ou réduite, donc à la quantité initiale de substance dans le milieu réactionnel.

IV.3.2. Matériel

Le système chromatographique comporte une pompe isocratique (Shimadzu, modèle LC-10AD, Shimadzu France) à doubles pistons réciproques, un amortisseur de pulsation, un injecteur automatique réfrigéré par effet Peltier (modèle Famos, Dionex, France) équipé d'une seringue Hamilton de 25 μ L et d'une vanne Valco, une colonne analytique en phase reverse RP 18 (Aquasil 150*1mm; 3 μ m, ThermoHypersil, France), un détecteur (Decade, Antec, Pays Bas) muni d'une cellule ampérométrique de type VT-03 (Antec, Pays Bas). Les données sont recueillies et traitées grâce à un logiciel d'intégration (CLAS VP, Shimadzu, France) qui calcule l'aire des pics présents sur les chromatogrammes, celle-ci étant directement proportionnelle à la concentration des molécules dans le dialysat.

IV.3.3. Paramètres analytiques appliqués

Tous les solvants utilisés sont de qualité extrapure et spécialement conçus pour l'analyse par chromatographie. Avant injection, toutes les solutions sont filtrées sur filtres Millipore 0,22 μ m.

La phase mobile est composée de NaH₂PO₄ 50 mM (Merck), d'acide octane sulfonique-1 sel de sodium 1,7 mM (Merck), d'acide éthylènedinitrilotétraacétique disodique (EDTA) 200 μ M (Merck). Le pH de cette solution est ajusté à 3 avec de l'H₃PO₄ concentré et 5% d'acétonitrile sont ajoutés à la solution finale. Le débit de la phase mobile est fixé à 60 μ l/min.

La préparation des standards consiste à réaliser des solutions mères de dopamine (3,4 dihydroxyphenylethylamine, Aldrich), de DOPAC (3,4 dihydroxyphenylacétique acide Sigma) et d'HVA (4-hydroxy-3-méthoxyphenylacétique acide, Sigma) à 1 mg/mL dans de l'HCl 0,1 M qui sont aliquotées et congelées à -80°C pendant 2 mois. Tous les jours un standard, ou solution étalon, contenant 10 pg/ μ l de dopamine, 200 pg/ μ l de DOPAC et 1000 pg/ μ l de HVA, est préparé à partir de ces solutions mères et conservé au réfrigérateur. On injecte 5 μ l d'échantillon à 4°C.

Le **détecteur** nécessite également une préparation. L'électrode de travail est fixée à +560mV. Ce potentiel correspond à un compromis entre les potentiels optimums d'oxydation de la dopamine et du DOPAC. La sensibilité du détecteur est de 1 nA pour la dopamine, 2 nA pour le DOPAC.

Les limites de détection, correspondant à un rapport signal sur bruit égal à 2, sont de 0,648 fmoles sur colonne (0,129 nM/L) et 0,594 fmoles sur colonne (0,119 nM/L) respectivement pour la DA et le DOPAC.

IV.3.4. Validation de la technique analytique

La méthode analytique utilisée pour le dosage des catécholamines a été validée, tout comme celle utilisée pour le dosage des acides aminés, par trois tests: la répétabilité, la reproductibilité et la linéarité. Les valeurs prises par chacun de ces critères sont données dans le tableau ci-dessous.

	Dopamine	DOPAC	HVA
Répétabilité: coefficient de variation	0,50 %	0,57 %	0,46 %
Reproductibilité: coefficient de variation	1,13 %	3,53 %	4,23 %
Linéarité: coefficient de corrélation	0,999	0,999	0,999

V. CONTROLES HISTOLOGIQUES : LOCALISATION DES SONDES DE DIALYSE

La localisation des sites de dialyse au niveau du striatum du singe se fait selon un protocole identique à celui employé pour vérifier l'emplacement des sondes dans la SNr du rat. Ainsi après avoir sacrifié les animaux par perfusion intracardiaque d'une solution de NaCl 0.9 % puis de paraformaldéhyde 4 % et avoir prélevé les cerveaux, des coupes frontales de 25 µm sont réalisées. Celles correspondant aux niveaux des sites de dialyse sont colorées au crésyl violet.

VI. ANALYSE DES DONNEES EXPERIMENTALES

VI.1. Estimation des surfaces nigrales et striatales affectées par la lésion dopaminergique

Après avoir réalisé un immuno-marquage TH des coupes de striatum et de SN (cf au protocole du paragraphe VI.2 du chapitre 'Matériel et Méthodes' de l'étude réalisée chez le

rat), les cellules TH positives de la SN sont comptabilisées. L'innervation dopaminergique au niveau du striatum est évaluée par densité optique.

Dans la SN, les cellules TH positives sont comptées sur 9 niveaux de coupes espacés régulièrement et sélectionnés pour être identiques entre tous les singes. Ce comptage est réalisé grâce au logiciel de comptage cellulaire Mercator (Explora Nova, La Rochelle, France). La valeur moyenne du nombre de corps cellulaires TH positifs encore présents entre deux plans de coupes et alors calculée et multipliée par la distance en mm qui sépare ces deux plans. Ce chiffre est ensuite multiplié par un facteur de 0,592 (formule d'Abercrombie), ce qui permet d'obtenir une estimation du nombre total de corps cellulaires préservés sur l'ensemble de la SN. Le pourcentage de perte neuronal dans la SN est estimé par comparaison avec des valeurs contrôles obtenues chez des singes non traités au MPTP.

Les territoires striataux ont été délimités chez un animal à 4 niveaux différents d'antéro-postériorité. Les mêmes niveaux ont ensuite été sélectionnés pour les autres animaux. Une coupe située au niveau rostral (commissure antérieure + 3,95) a permis de réaliser les mesures concernant les territoires limbique et associatif. Pour le territoire sensori-moteur, les mesures ont été effectuées à un niveau plus caudal (commissure antérieure - 4,55). Compte tenu de la forte densité de fibres TH positives chez les singes contrôles, l'innervation dopaminergique du striatum a été évaluée en mesurant la densité optique du marquage immuno-TH grâce à un système d'analyse d'image (Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France). Ces mesures de densité optique ont ensuite été complétées par une quantification visuelle du nombre de fibres, uniquement au niveau du territoire sensori-moteur des singes MPTP. Cette quantification visuelle a nécessité de compter les fibres qui coupaient le périmètre de 25 cercles distribués au hasard dans les limites définies du striatum sensori-moteur, par le logiciel du système d'analyse d'image (Explora Nova)

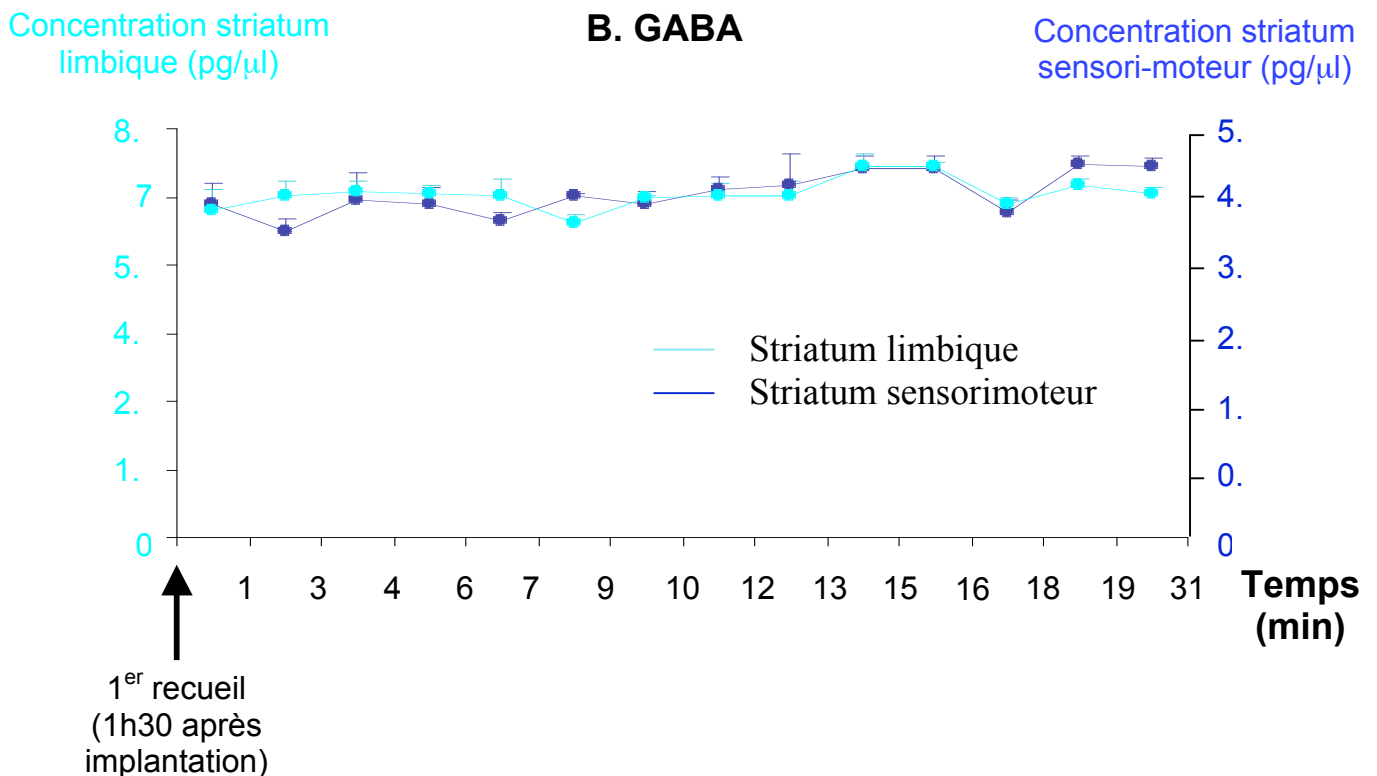
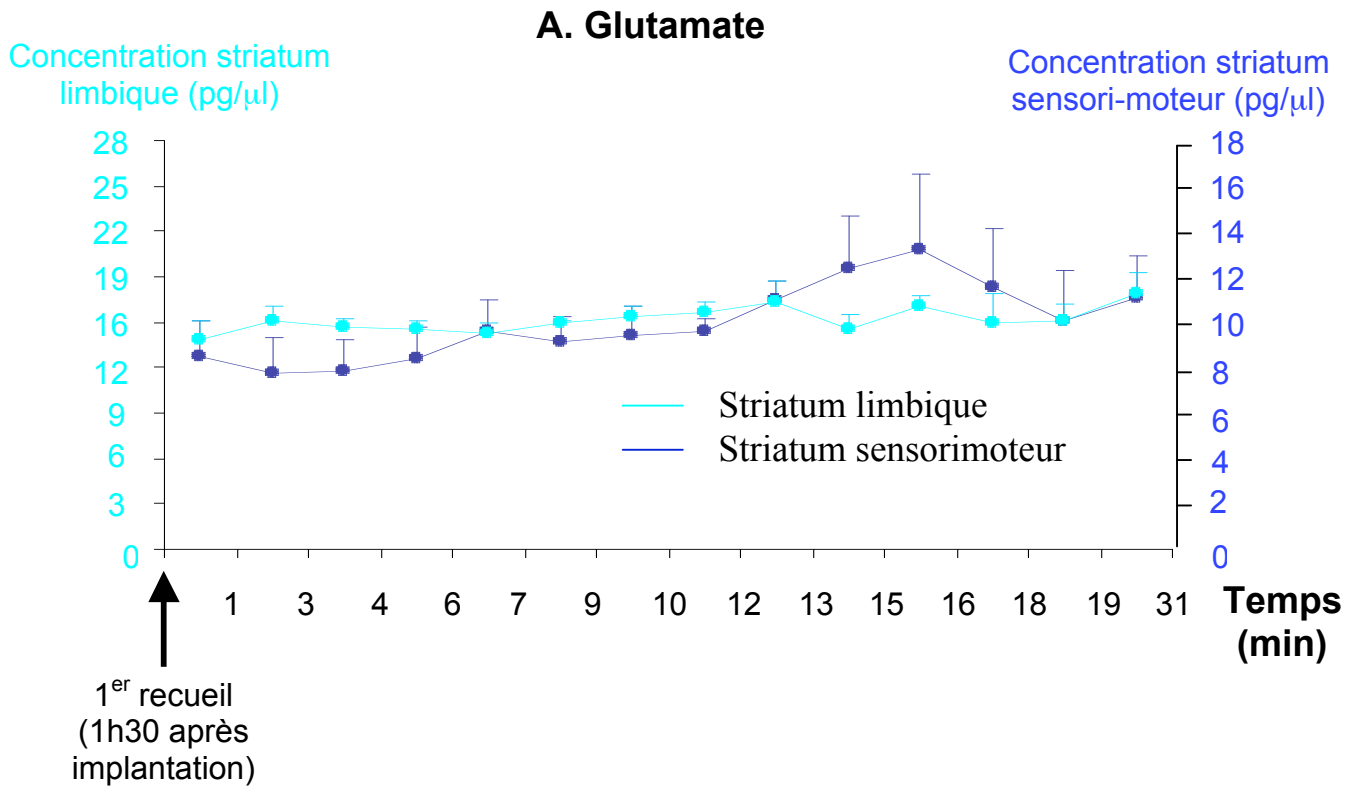
VI.2. Analyse statistique des données neurochimiques

Les données neurochimiques de cette étude ont été standardisées de façon identique à celles de l'étude conduite chez le rat. La seule différence se situe au niveau des valeurs des taux de base de référence. Ces valeurs ont été ramenées à 100 % pour chaque neuromédiateur et/ou métabolite étudié, et ont été établies en moyennant les valeurs de concentrations de Glu, de

GABA, de 5-HT, de DA et de ses métabolites obtenues durant la première dialyse à l'état normal. La durée de ces recueils a été de 4h, soit 16 recueils de 15 minutes en moyenne.

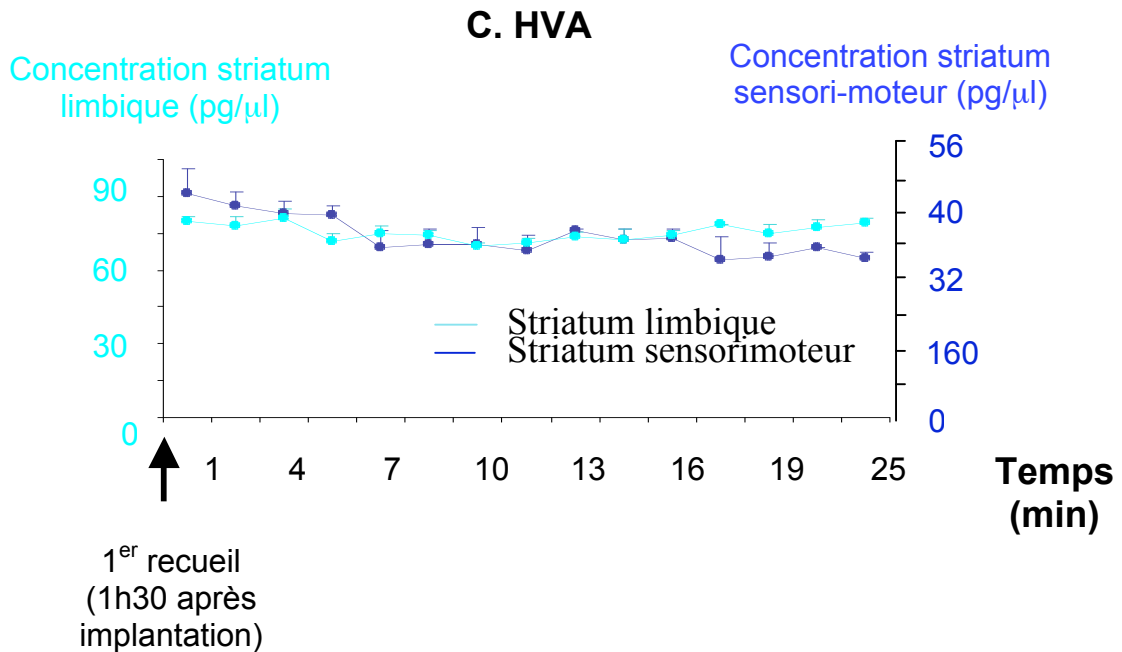
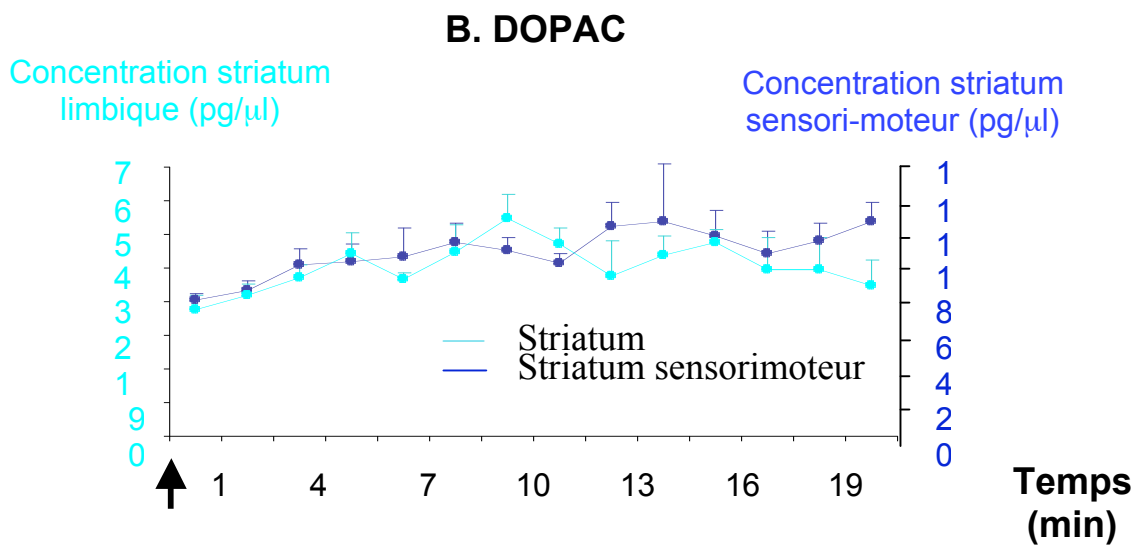
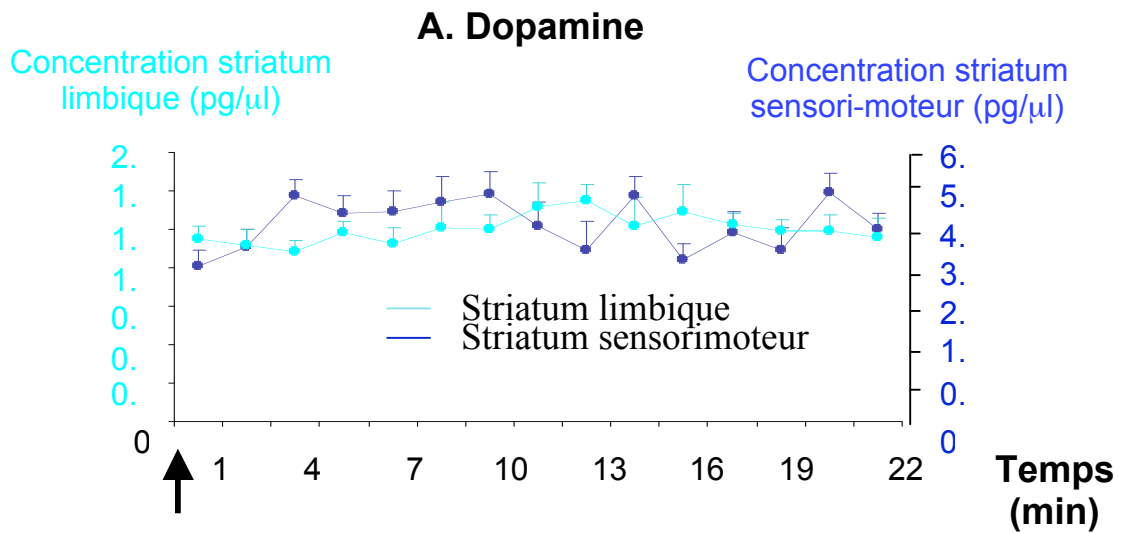
L'ensemble de ces valeurs est toujours exprimé en moyenne \pm SEM et la comparaison des données neurochimiques concernant les différents états moteurs a été réalisée par un test de Wilcoxon. Ces tests nous ont permis d'apprécier la significativité des variations observées à partir de pourcentages de variation. Deux degrés de significativité ont été définis $p < 0,05$ et $p < 0,01$.

RESULTATS: PARTIE II



- Figure 64 -

Evolution moyenne des taux de base de Glutamate (A) et de GABA (B) au niveau du striatum limbique et sensorimoteur, 1h30 après implantation d'une sonde de dialyse chez le singe éveillé sain.



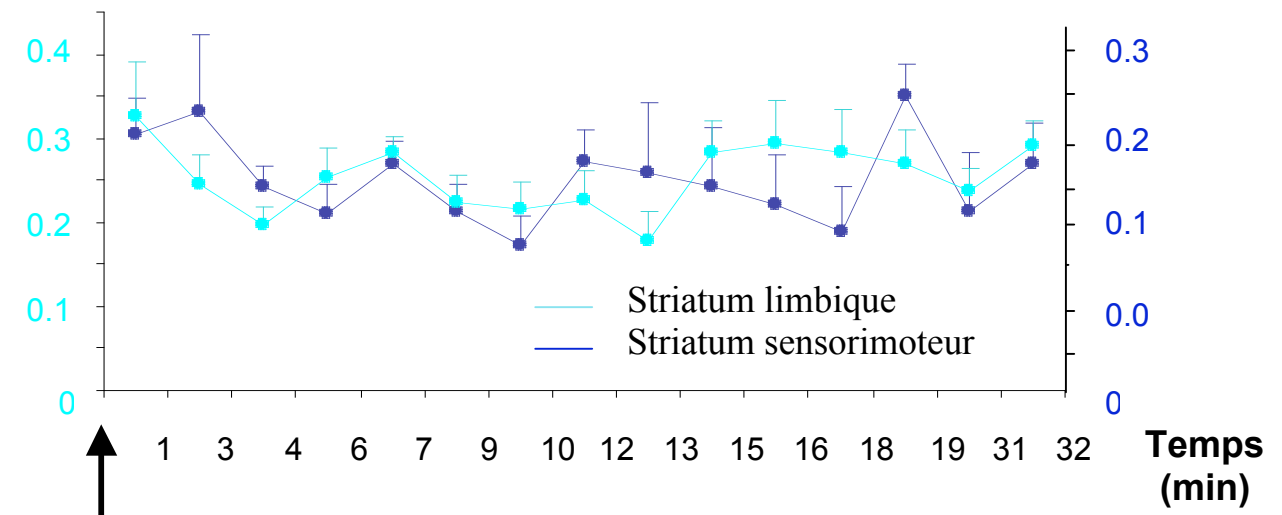
- Figure 65-

Evolution moyenne des taux de base de Dopamine (A), de DOPAC (B) et d'HVA (C) au niveau du striatum limbique et sensorimoteur, 1h30 après implantation de la sonde chez le singe éveillé sain.

Sérotonine

Concentration striatum limbique (pg/ μ l)

Concentration striatum sensori-moteur (pg/ μ l)



1^{er} recueil
(1h30 après
implantation)

- Figure 66 -

Variations moyennes des taux de base de sérotonine au niveau du striatum limbique et sensorimoteur, 1h30 après implantation de la sonde chez le singe éveillé sain.

I. VERIFICATIONS PRELIMINAIRES

I.1. Vérification de la stabilité des taux de neurotransmetteurs dans les conditions expérimentales utilisées

Pour l'expérimentation chez le singe, nous nous sommes basés sur les tests réalisés au préalable chez le rat, qui montraient que les perturbations mécaniques induites par l'implantation d'une sonde de dialyse au niveau du parenchyme cérébral entraînaient des variations transitoires des concentrations en neurotransmetteurs et que les taux devenaient stables 1h30 après l'implantation. Nous avons donc respecté ce délai d'1h30 entre l'implantation de la sonde et le début de la collecte des échantillons.

Nous avons ensuite vérifié la stabilité des taux de neurotransmetteurs sur toute la durée de l'expérimentation, soit 4h en moyenne (écourcée quand les animaux s'énervaient). Cette vérification s'est faite en observant l'évolution des concentrations de neurotransmetteurs recueillis au cours de la première dialyse (état normal).

Les figures 64 à 66 montrent l'évolution moyenne des taux de glutamate (Fig 64A), de GABA (Fig 64B), de dopamine (Fig 65A), de DOPAC (Fig 65B), d'HVA (Fig 65C) et de sérotonine (Fig 66) au niveau des territoires limbique et sensorimoteur du striatum de singes éveillés intacts (n=5) n'ayant pas encore subi de traitement au MPTP. L'utilisation d'un test ANOVA à mesures répétées a permis de montrer qu'aucun de ces taux moyens ne variait significativement durant toute la durée de l'expérimentation.

I.2. Rendement de sondes *in vitro*

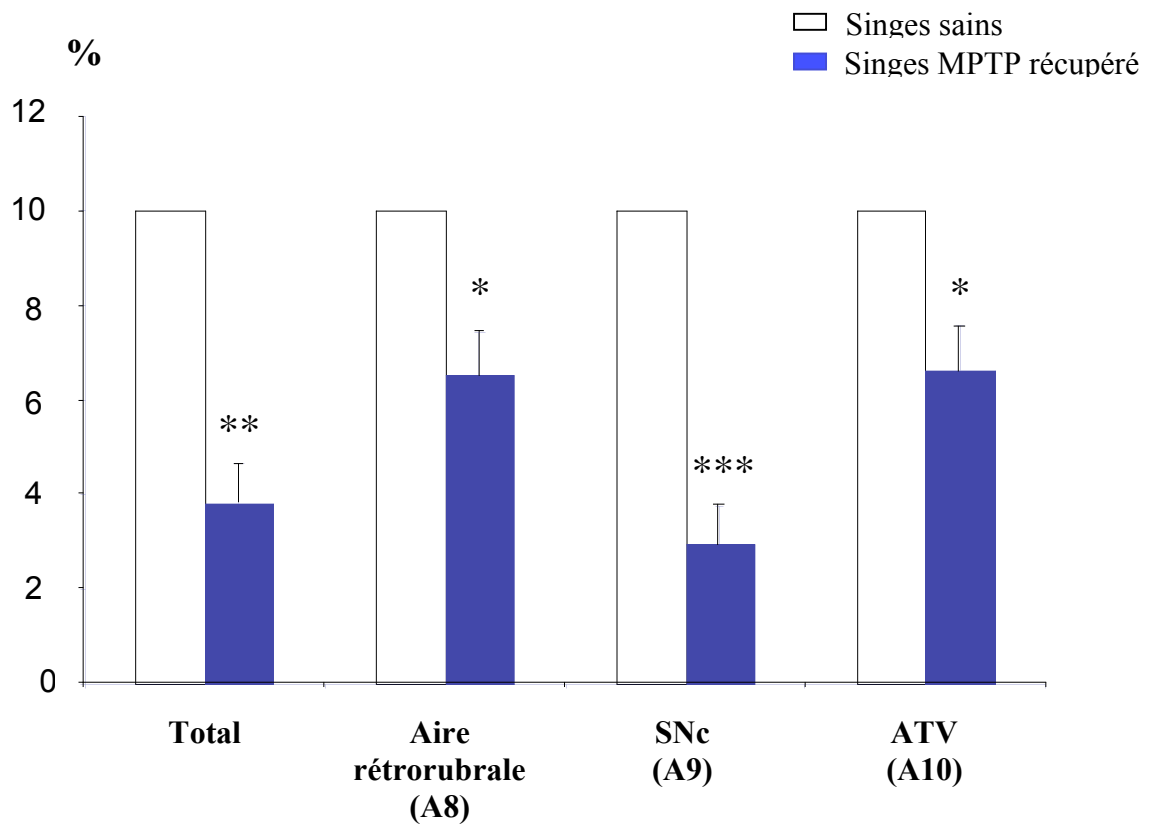
Les rendements des sondes de dialyse ont été vérifiés *in vitro* pour chaque molécule étudiée. Le tableau ci-dessous présente les valeurs de ces rendements (moy ± sem), exprimées en pourcentage, pour chacune des molécules dialysées à l'aide des sondes à membrane synthétique (AN 69) de 3 mm de long utilisées lors de la dialyse du striatum chez le singe.

Sonde singe

(Membrane dialysante : AN69; Longueur : 3 mm; Structure dialysée : striatum)

Neurotransmetteur	Glu	GABA	DA	DOPAC	HVA	5-HT
Rendement (%)	21 ± 0,8	25,3 ± 1,2	12,4 ± 1,9	11,8 ± 0,9	10,7 ± 1,5	13,2 ± 1,6

Neurones TH



- Figure 67-

Pourcentage de neurones dopaminergiques TH positifs, au niveau des différents territoires du mésencéphale (A8, A9, A10), chez des singes MPTP ayant récupéré de leur symptômes moteurs. Comparaison sain versus MPTP *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,001$.**

Ces rendements sont comparables à ceux obtenus pour des sondes de 3 mm utilisées pour la dialyse du striatum chez le rat (Nicolas Bruet, 2003) et permettent de valider nos mesures.

I.3. Contrôles histologiques

I.3.1. Evaluation de la dénervation dopaminergique

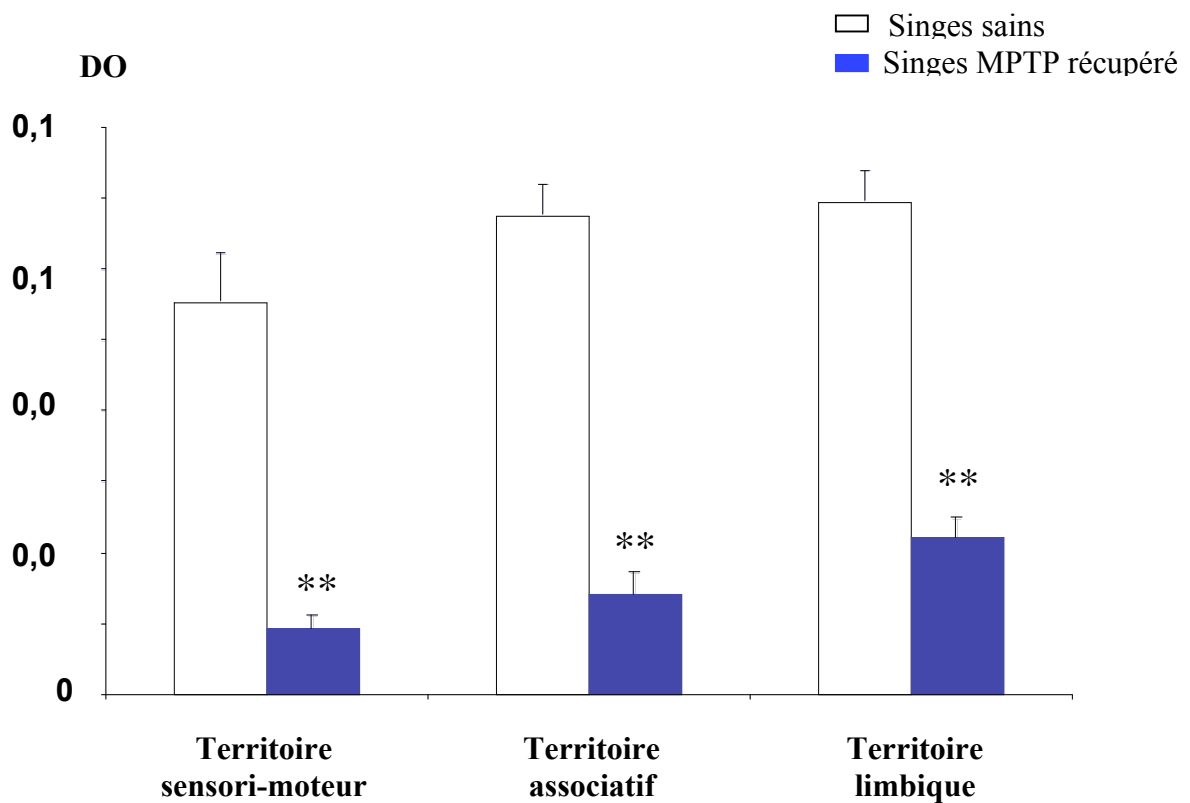
La dénervation dopaminergique induite par le traitement au MPTP a été étudiée chez le singe, tout comme chez le rat, par immunohistochimie de la tyrosine hydroxylase. Un comptage des cellules TH positives restantes a ensuite été réalisé au niveau du mésencéphale, subdivisé pour l'étude en trois régions distinctes : l'aire rétro rubrale (A8), la SNc (A9) et l'ATV (A10). L'innervation dopaminergique striatale a quant à elle été évaluée par densité optique dans deux territoires distincts : le striatum sensori-moteur et le striatum limbique. L'ensemble de ces données a été comparé aux valeurs obtenues chez des animaux sains.

Les résultats montrent que la perte moyenne des neurones dopaminergiques TH positifs sur l'ensemble des territoires du mésencéphale est importante avec une valeur de $-61,9 \pm 8,4 \%$ ($p < 0,01$) pour les animaux MPTP par rapport aux animaux sains (Fig 67). L'aire A9 est la plus atteinte avec une perte moyenne de $-70,6 \pm 8,4 \%$ ($p < 0,01$). Les aires A8 et A10 sont, quant à elles, moins sévèrement touchées avec une perte respective de $-34,9 \pm 9,4 \%$ ($p < 0,01$) et $-34,0 \pm 9,6 \%$ ($p < 0,01$) (Fig 67).

L'analyse, pour chaque animal, de la perte des neurones dopaminergiques TH positifs en fonction des symptômes moteurs développés montre qu'il existe une corrélation positive entre le score moteur des animaux et la perte neuronale au niveau de l'aire A8. Cette relation n'est plus vérifiée pour les aires A9 et A10. En effet, le singe CA 33, qui a développé des symptômes moteurs importants (score moteur de 21/29) présente une perte neuronale au niveau de l'aire A9 ($-64,1 \%$) moins importante que le singe CA 34 (perte de $-78,7 \%$) ayant pourtant présenté un niveau d'atteinte motrice modéré (score de 12/29). La même observation peut être faite au niveau de l'aire A 10 ($-22,9 \%$ contre $-48,8 \%$).

Les mesures moyennes de DO réalisées au niveau du striatum ($n=5$) révèlent une perte très importante et significative ($p < 0,05$) de l'innervation dopaminergique au niveau de l'ensemble des territoires striataux chez les singes traités au MPTP et bien que le sacrifice des animaux soit intervenu après récupération de leurs symptômes moteurs. Le territoire sensori-moteur est le plus touché, avec une diminution de DO de $-83 \pm 16 \%$ ($p < 0,05$), viennent

Densité Optique (DO) striatale



- Figure 68-

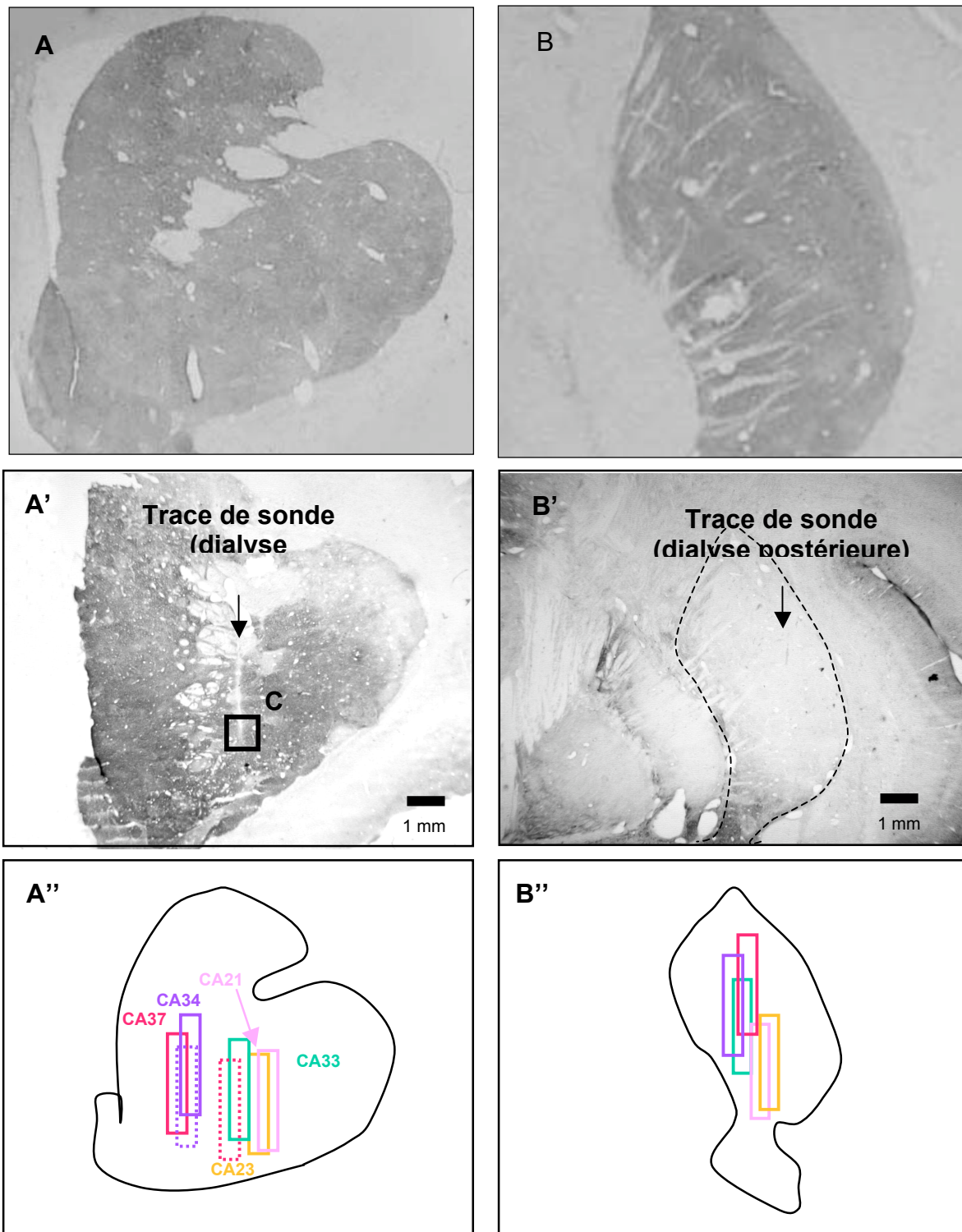
Perte d'innervation dopaminergique, au niveau des différents territoires fonctionnels du striatum, estimée par mesure de densité optique de l'immunomarquage TH, chez des singes MPTP sacrifiés après récupération de leur symptômes moteurs. Comparaison sain versus MPTP **, $p < 0,01$

ensuite le territoire associatif (-79 ± 18 % de baisse, $p < 0,05$) et le territoire limbique (-68 ± 8 % de baisse, $p < 0,05$) (Fig 68). La comparaison du niveau de dénervation de chacun des territoires montre que celui-ci n'est pas statistiquement différent pour les territoires sensori-moteur et associatif et associatif et limbique mais qu'il est statistiquement supérieur pour le territoire sensori-moteur par rapport au territoire limbique ($p < 0,05$).

L'analyse des quantifications de DO, en fonction des symptômes moteurs développés par chaque animal, montre qu'il n'existe pas de corrélation entre le niveau d'atteinte des animaux d'un point de vue moteur et le niveau de dénervation dopaminergique striatale. En effet, le singe CA 34, faiblement atteint d'un point de vue moteur (score = 12/29) présente, au niveau du territoire sensori-moteur, une densité optique plus faible que les singes CA 23 (DO = 0,021) et CA 33 (DO = 0,027) présentant pourtant une atteinte motrice beaucoup plus importante (score = 19 et 21 respectivement). On retrouve des résultats similaires au niveau des territoires limbique et associatif.

I.3.2. Localisation des sites de dialyse

Le choix de la localisation des sites de dialyse dans le striatum sensorimoteur et limbique repose sur une étude de dénervation dopaminergique réalisée par Caroline JAN (Jan et al., 2003) sur des coupes de cerveaux de singes ayant été intoxiqués au MPTP et sacrifiés à l'état symptomatique. Ces résultats montraient que, chez ces animaux symptomatiques, le territoire sensori-moteur du striatum présentait une sévère dénervation dopaminergique alors que le territoire limbique était relativement préservé. Ces deux sites ont donc été dialysés simultanément sur les 5 animaux et à trois reprises : d'abord à l'état normal, c'est-à-dire avant injection de MPTP, puis à l'état symptomatique le plus important (score maximal) et enfin, après arrêt des injections de MPTP lorsque l'animal avait complètement récupéré de ses symptômes moteurs. La figure 15 montre, sur des coupes d'immunomarquage TH, un exemple de la trace laissée par trois descentes répétées de sonde de dialyse, au niveau du territoire limbique (Fig 69A') et sensorimoteur (Fig 69B') du striatum. Compte tenu de la dénervation spécifique de chaque territoire après traitement au MPTP, la trace est beaucoup plus visible au niveau du territoire antérieur (limbique) et on observe que celle-ci ne dépasse pas 100 μm de diamètre (Fig 69A'). Ces vérifications histologiques, réalisées pour chaque animal au niveau des deux territoires dialysés, sont autant d'arguments montrant que les dommages cellulaires induits par la dialyse répétée d'un même site sont faibles et ont donc une faible incidence sur les variables neurochimiques étudiées.



- Figure 69-

Coupes de striatum de singe immuno-marquées à la TH au niveau des territoires sensori-moteur (B et B') et limbique (A et A')

A et B: singe sain; A' et B': singe ayant présenté de faibles symptômes moteurs. Notez les traces de sondes (indiquées par les flèches) particulièrement visibles au niveau du territoire limbique.

A'' et B'': schéma représentant la localisation des sites de dialyse des 5 animaux au niveau du territoire limbique (A'') et sensori-moteur (B'').

Ces données histologiques permettent également de réaliser la reconstruction des sites de dialyse de chaque animal. Afin de faciliter les comparaisons, ces données ont ensuite été localisées et regroupées sur deux schémas du striatum antérieur et postérieur (fig 69A'' et B''). Les résultats montrent que les sondes placées au niveau du striatum postérieur possèdent une répartition latérale assez homogène entre les animaux. La répartition en hauteur est plus hétérogène. En effet, les pointes des sondes des singes CA 21 et CA 23 atteignent le 2^{ème} tiers inférieur du territoire alors que celles des singes CA 33, CA 34 et CA 37 s'arrêtent à la 1^{ère} moitié. Malgré cette légère hétérogénéité, l'ensemble des sondes est bien situé dans le territoire striatal sensori-moteur (Fig 69B'').

Au niveau du territoire limbique, les caractéristiques de répartition sont inversées. Les sondes sont localisées de façon homogène en hauteur entre les animaux, mais possèdent une répartition latérale beaucoup plus étalée. Ainsi, les sondes des singes CA 34 et CA 37 sont regroupées dans le tiers ventro-médian du striatum alors que les sondes des singes CA 21, CA 23 et CA 33 forment un deuxième groupe situé dans la partie ventro-centrale. Au final, la partie dialysante de l'ensemble de ces sondes est située à la jonction des territoires limbique et associatif du striatum antérieur (Fig 69A'').

Enfin, les lignes pointillées sur la figure 69 A'' représentent les localisations de la 4^{ème} dialyse ayant servi de contrôle pour les animaux CA 23, CA 34 et CA 37. Pour le singe CA 34, les sites de la 3^{ème} et de la 4^{ème} dialyse possèdent une localisation latérale similaire même si le site de contrôle de la 4^{ème} dialyse est situé plus bas que celui de la 3^{ème}. Pour les animaux CA 23 et CA 37, les sites de la 3^{ème} et la 4^{ème} possèdent une localisation qui diffèrent beaucoup notamment en latéralité. Cependant, l'ensemble de ces sites restent localisés au niveau du territoire associatif/limbique du striatum.

I.3.3. Etude de la variabilité intra-individuelle des concentrations de neurotransmetteurs au cours des dialyses

Nous avons, dans un premier temps, voulu vérifier que la stabilité des taux de neurotransmetteurs étudiés n'était pas altérée au cours des différentes dialyses réalisées. Nous avons donc observé la variabilité de chaque neurotransmetteur au sein d'une même dialyse et d'un même animal (variabilité intra-individuelle). Le tableau 9 donne l'évolution de la variabilité moyenne (en pourcentage de variation), calculée chez les cinq singes dialysés, des concentrations des molécules étudiées lors des trois dialyses (plus dialyse contrôle) au niveau du territoire sensori-moteur et limbique du striatum.

	Dialyse 1 état sain		Dialyse 2 état symptômes moteurs		Dialyse 3 état récupéré		Dialyse 4 contrôle
	SM	L	SM	L	SM	L	L
DA	27,3 ± 2,6	18,3 ± 3,4	30,3 ± 9,2	53,4 ± 9,6	28,4 ± 7,8	42,3 ± 13,7	36,8 ± 11,1
DOPAC	19,8 ± 3,7	29,3 ± 3,3	36,1 ± 9,2	28,6 ± 6,7	24 ± 5	25,4 ± 7,6	28,4 ± 8,6
HVA	14,7 ± 6,7	9,3 ± 1,7	13,9 ± 3,5	10,8 ± 1,6	13,9 ± 1,9	7,6 ± 1,3	11,1 ± 4,9
5-HT	38,1 ± 13,2	37,3 ± 6,9	17,9 ± 4,1	22,9 ± 2,6	30,7 ± 5,4	38,9 ± 12,3	40,5 ± 4,9
5-HIAA	16 ± 5,5	14,4 ± 5,7	15,3 ± 2,7	16,5 ± 5,6	11,6 ± 2,1	9,8 ± 1,9	16,3 ± 2,9
Glu	27,9 ± 13,3	11,2 ± 2,9	15,7 ± 4,4	10,3 ± 1,9	18,1 ± 5,9	21,8 ± 2,4	14,1 ± 7,3
GABA	11,1 ± 1,5	8,3 ± 1,3	20,6 ± 5,6	14,8 ± 2,6	9,9 ± 2	17,4 ± 5,4	15,9 ± 4,7

Tableau 9: Variabilité moyenne (n=5 ; pourcentage de variation) des concentrations des molécules étudiées au cours de chaque dialyse pratiquée au niveau du territoire sensori-moteur et limbique.

Ces résultats montrent que la variabilité des données au cours d'une même dialyse est en moyenne de 20 % et que pour la plupart des neurotransmetteurs étudiés et des dialyses considérées, cette variabilité est inférieure à 30 %. De plus, ces données montrent que la variabilité de la concentration des neurotransmetteurs n'est influencée ni par la localisation de la sonde (striatum sensori-moteur ou limbique), ni par le protocole de dialyse répétée. En effet, la variabilité des concentrations des neurotransmetteurs étudiés ne suit pas de tendance particulière (augmentation ou diminution) en fonction du nombre de dialyses réalisées ou du territoire considéré.

I.3.4. Etude de l'influence des dialyses répétées sur les taux de neurotransmetteurs étudiés

Nous avons voulu nous assurer qu'une dialyse répétée plusieurs fois dans un même site était un outil fiable et que les variations neurochimiques induites par des états moteurs différents n'étaient pas biaisées par des variations artéfactuelles liées à ces dialyses répétées.

Pour ce faire, nous avons comparé les concentrations de neurotransmetteurs obtenues au cours de la 3^{ème} et dernière dialyse avec celles obtenues après une dialyse supplémentaire servant de

contrôle (4^{ème} dialyse) mais réalisée dans le territoire striatal controlatéral à la 3^{ème} dialyse, jamais dialysé. Ces mesures contrôle ont été faites sur 3 animaux (CA 23, CA 34 et CA 37). La comparaison des valeurs des concentrations des neurotransmetteurs obtenues lors de la dernière dialyse (dialyse 3, état récupéré) avec celles obtenues lors de la dialyse pratiquée du côté controlatéral dans le territoire identique nous ayant servi de contrôle (dialyse 4), montre que les différences entre ces concentrations sont inférieures ou égales à 20 % pour la majorité des molécules mesurées (Tableau 10). En effet, mis à part le DOPAC et le Glu pour lesquels des variations importantes ont été observées lors de la 4^{ème} dialyse, nos résultats nous ont permis de valider l'utilisation de dialyses répétées pour l'ensemble des neurotransmetteurs étudiés. Les augmentations des taux de DOPAC et de Glu observées au cours de la 4^{ème} dialyse restent difficilement explicables.

Différence de concentration 3^{ème}/4^{ème} dialyse (en %)

DA	DOPAC	HVA	5-HT	5-HIAA	Glu	GABA
20,2 ± 11,3	199,1 ± 172,4	6,1 ± 1,7	20,9 ± 8,8	13,6 ± 5,2	74,8 ± 60,8	15,9 ± 6,2

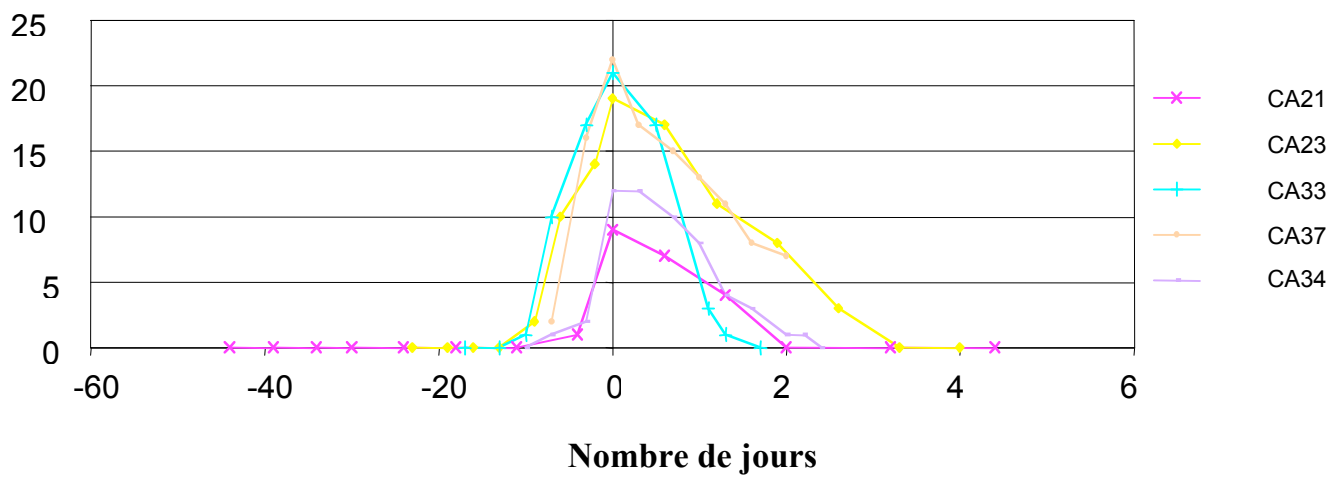
Tableau 10 : Différence, exprimée en pourcentage, entre les concentrations en neurotransmetteurs de la 3^{ème} et de la 4^{ème} dialyse (contrôle).

II. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ET SYMPTOMES MOTEURS ASSOCIES LORS DE LA MISE EN PLACE D'UNE DENERVATION DOPAMINERGIQUE CHEZ LE SINGE INTOXIQUE AU MPTP

II.1. Evaluation motrice

Tout au long du protocole, les fonctions motrices des animaux sont évaluées à l'aide de l'échelle de Schneider et Kovelowski fondée sur 12 critères déterminés en cage, en chaise ou les deux (pour une description plus précise de l'échelle, voir chapitre 'Matériels et Méthodes partir II', paragraphe II.3.). L'évaluation est d'abord réalisée à l'état normal, c'est-à-dire avant le traitement au MPTP, afin d'estimer les niveaux de base de certains critères (temps de réalisation d'une tâche standardisée, activité motrice totale) utilisés par la suite comme référence. Les animaux sont ensuite évalués tous les 2 à 3 jours après chaque injection de MPTP. Ceci permet de suivre régulièrement l'apparition des symptômes et de contrôler le

Score moteur



- Figure 70 -

Graphique représentant l'évolution du score moteur des 5 singes au cours de l'intoxication au MPTP et de la récupération des fonctions motrices.

niveau d'intoxication. Ce rythme d'évaluation est maintenu après l'arrêt du traitement au MPTP, afin d'observer précisément l'évolution de la récupération.

II.1.1. Symptômes développés

Singes	Dose totale de MPTP	Score symptomatique le plus sévère	temps de récupération après dernière injection
CA21	2,25	9	20 jours
CA23	2,5	19	33 jours
CA33	2,1	19	17 jours
CA34	1,4	12	24 jours
CA37	1,3	22	45 jours (score=2)

Tableau 11 : Dose maximale de MPTP reçue, score moteur le plus élevé et temps de récupération motrice pour chaque singe

Les doses totales de MPTP injectées aux animaux varient de 1,3 à 2,5 mg/kg avec une moyenne de $1,9 \pm 0,24$ mg/kg (Tableau 11). Chaque animal présente une sensibilité à la neurotoxine qui lui est propre, ainsi la sévérité des symptômes moteurs développés n'est pas proportionnelle à la dose injectée. En effet, le singe CA 21, qui a reçu une dose de MPTP de 2,25 mg/kg, présente une atteinte motrice assez faible (score de 9/29), alors que le singe CA 37 qui a reçu 1,3 mg/kg, soit environ la moitié de la dose du singe CA 21, est fortement atteint avec un score de 22/29. Les animaux ne peuvent donc pas être classés en fonction de la dose de MPTP qu'ils ont reçu mais plutôt en fonction de l'importance de la symptomatologie parkinsonienne qu'ils développent. Quel que soit leur niveau d'atteinte motrice, les animaux ont tous développé la triade de symptômes moteurs caractéristiques de la maladie de Parkinson (akinésie, rigidité et tremblement de repos) avec une expression plus ou moins forte de chacun de ces symptômes. Seul l'animal CA21, faiblement atteint, n'a pas présenté de tremblements.

II.1.2. Récupération des fonctions motrices

Après l'arrêt des injections de MPTP, tous les animaux ont présenté une récupération progressive plus ou moins rapide de leur fonction motrice avec un retour à l'état normal, sauf pour le singe CA 37, l'animal le plus atteint, qui est resté stable à un score moteur de 2 jusqu'à son sacrifice, 10 mois après le début du traitement (Fig 70). Le temps nécessaire à la récupération de fonctions motrices normales est proportionnel à la sévérité des symptômes

A. Striatum

Singe	Concentration basale (pg/ μ l)						Ratio		
	DA	DOPA	HVA	5HT	Glu	GAB	DOPAC/DA	HVA/DA	5HIAA/5HT
CA21	6,88 \pm 1,35	9,42 \pm 2,34	239,75 \pm 93,41	0,022 \pm 0,0031	15,26 \pm 2,36	2,09 \pm 0,22	1,37 \pm 0,42	34,84 \pm 6,04	1307,67 \pm 396,87
CA23	2,86 \pm 0,76	5,39 \pm 0,35	307,77 \pm 6,85	0,053 \pm 0,01	203,83 \pm 24,61	5,54 \pm 0,89	1,89 \pm 0,41	107,74 \pm 37,17	785,15 \pm 183,53
CA33	3,88 \pm 1,34	22,18 \pm 4,75	547,95 \pm 25,86	0,67 \pm 0,14	51,3 \pm 5,25	5,44 \pm 0,62	5,71 \pm 0,18	141,11 \pm 123,48	61,19 \pm 7,64
CA34	3,17 \pm 0,79	11,67 \pm 2,13	418,79 \pm 35,51	0,048 \pm 0,04	165,04 \pm 35,09	1,43 \pm 0,13	3,68 \pm 0,92	132,01 \pm 46,69	946,7 \pm 939,88
CA37	3,99 \pm 1,24	4,89 \pm 1,37	482,67 \pm 93,63	0,075 \pm 0,04	66,23 \pm 53,29	7,99 \pm 0,63	1,22 \pm 0,09	120,73 \pm 44,58	469,09 \pm 182,28

B. Striatum

Singe	Concentration basale (pg/ μ l)						Ratio		
	DA	DOPA	HV	5HT	Glu	GAB	DOPAC/DA	HVA/DA	5HIAA/5HT
CA21	0,6 \pm 0,12	38,62 \pm 14,92	393,56 \pm 60,53	0,12 \pm 0,07	15,11 \pm 1,89	3,4 \pm 0,29	64,4 \pm 19,72	658,53 \pm 177,08	109,79 \pm 90,54
CA23	1,17 \pm 0,31	4,85 \pm 1,57	663,32 \pm 44,39	0,11 \pm 0,039	83,6 \pm 18,32	8,7 \pm 0,55	4,16 \pm 1,08	568,94 \pm 151,89	116,41 \pm 28,97
CA33	1,77 \pm 0,17	121,29 \pm 23,17	1025,54 \pm 102,42	1,06 \pm 0,16	24,59 \pm 1,4	3,11 \pm 0,26	68,44 \pm 3,31	578,67 \pm 43,9	40,67 \pm 5,97
CA34	1,39 \pm 0,16	49,28 \pm 15,2	845,42 \pm 47,78	0,66 \pm 0,28	415,37 \pm 30,0	15,09 \pm 1,94	35,33 \pm 4,32	606 \pm 109,08	239,84 \pm 80,8
CA37	1,41 \pm 0,34	46,89 \pm 11,96	986,98 \pm 87,11	0,14 \pm 0,05	266,38 \pm 23,53	6,42 \pm 0,34	33,31 \pm 5,84	701,03 \pm 148,44	245,4 \pm 61,04

- Tableau 12 -

Tableau des concentrations extracellulaires (pg/ μ l) de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA au niveau du striatum sensorimoteur (A) et limbique (B) de singes à l'état normal.

- Tableau 13 -
 Comparaison des concentrations basales (pg/ μ l) de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA et des rapports de concentrations DOPAC/DA, HVA/DA, 5HIAA/5HT pour les territoires striataux sensorimoteur et limbique chez les singes intacts.

C		Territoire striatal		Facteur Multiplicatif
		SM	L	
o n c e n t r	DA	4,16 \pm 0,71	1,01 \pm 0,29	4
	DOPAC	10,71 \pm 3,13	52,19 \pm 19,02	5
	HVA	399,39 \pm 56,24	782,96 \pm 116,26	2
	5HT	0,17 \pm 0,12	0,42 \pm 0,19	2,5
	Glu	100,33 \pm 35,85	161,01 \pm 78	1,5
	GABA	4,49 \pm 1,21	7,34 \pm 2,19	1,5
F a p	DOPAC/DA	2,77 \pm 0,85	41,13 \pm 11,72	15
	HVA/DA	107,28 \pm 18,95	622,63 \pm 25,03	6
	5HIAA/5HT	713,95 \pm 211,87	150,42 \pm 39,92	5

moteurs développés, sauf pour le singe CA 33. En effet, bien que présentant un score moteur assez élevé (21), le singe CA 33 a récupéré la totalité de ses fonctions motrices en 17 jours seulement, c'est à dire plus rapidement que le singe le moins atteint (CA 21, score = 9, 20 jours pour récupérer) . En dehors du singe CA 33, si l'on compare les temps de récupération du singe le plus faiblement atteint (CA 21) au singe le plus fortement atteint (CA 37), ceux-ci sont respectivement de 20 (CA 21, score = 9), 24 (CA 34, score = 12) , 33 jours (CA 23, score = 19) et plusieurs mois (CA 37, score = 22) (tableau 11, Fig 70).

II.2. Taux de base des neurotransmetteurs étudiés

Les premières dialyses, réalisées chez les animaux sains avant traitement au MPTP, nous ont permis de déterminer les concentrations des taux de base extracellulaires de tous les neurotransmetteurs étudiés au niveau des territoires sensori-moteur et limbique du striatum de tous les animaux (tableau 12) et ainsi de calculer une concentration basale moyenne (n=5, tableau 13). Les valeurs moyennes montrent que la concentration en dopamine est 4 fois plus importante au niveau du territoire sensori-moteur que du territoire limbique ($p < 0,01$, tableau 13). Parmi les neurotransmetteurs étudiés, la dopamine est la seule à présenter des concentrations plus élevées au niveau sensori-moteur. Cette tendance est confirmée chez tous les animaux où les rapports de concentration varient de 2 à 28 (tableau 12). Le DOPAC, l'HVA, la sérotonine, le glutamate et le GABA possèdent tous des concentrations basales au niveau limbique supérieures à celles mesurées dans le territoire sensori-moteur avec des rapports de concentrations moyennes respectifs de 5, 2, 2,5, 1,5 et 1,5 (tableau 13). Cependant, aucune de ces différences de concentration n'est statistiquement significative. Cette tendance est retrouvée chez les 5 singes pour le DOPAC, l'HVA et la sérotonine.

Au niveau des concentrations de Glu et de GABA, les variations de concentration au sein de chaque territoire sont plus hétérogènes, et ce pour chaque animal (tableau 12).

L'étude du rapport des concentrations de la dopamine et de la sérotonine avec leurs métabolites respectifs montre que le rapport DOPAC/DA et HVA/DA est plus élevé au niveau limbique que sensori-moteur (respectivement x 15 et x 6, tableau 13) et que cette différence est statistiquement significative dans les deux cas ($p < 0,05$ et $p < 0,01$). Au contraire, le rapport 5HIAA/5HT est plus élevé au niveau sensori-moteur que limbique (x 5, tableau 13) bien que cette différence ne soit pas significative. Quel que soit le rapport considéré, les tendances respectives entre le territoires sensori-moteur et limbique montrent que ces rapports sont homogènes pour tous les animaux (tableau 12).

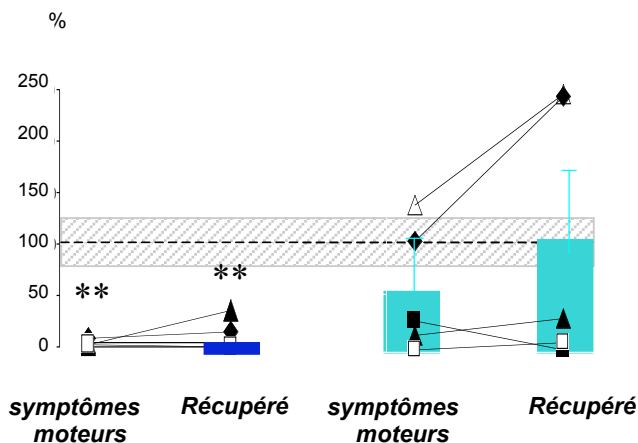
Sensori-moteur

Associatif/limbique

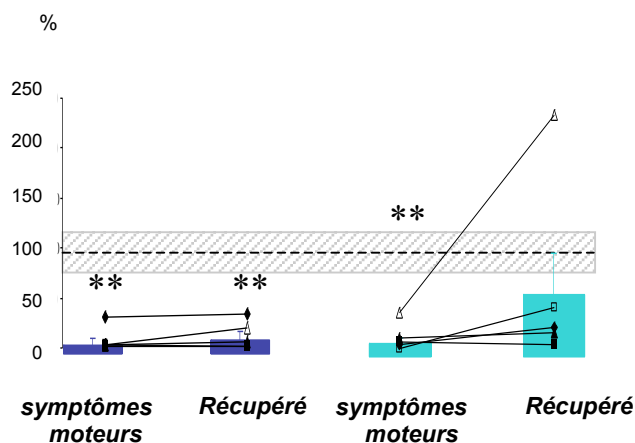
Sensori-moteur

Associatif/limbique

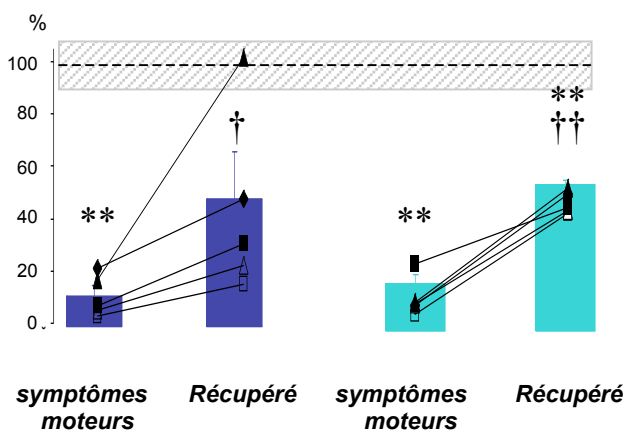
A. Dopamine



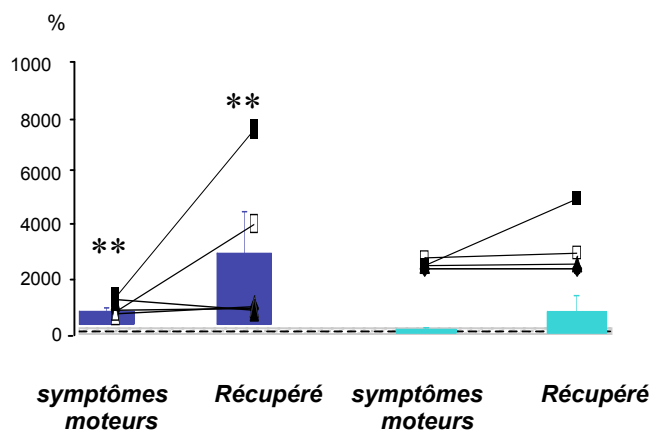
B. DOPAC



C. HVA



D. HVA/DA



- Figure 71 -

Représentation schématique, pour chaque animal (CA 21 \blacklozenge , CA 23 \blacktriangle , CA 33 \blacktriangle , CA 34 \blacksquare , CA 37 \blacksquare) de l'évolution des concentrations de dopamine (A) de DOPAC (B), d'HVA (C) et du rapport HVA/DA (D) dans les territoires sensori-moteur et associatif/limbique du striatum entre l'état normal, symptômes moteurs et récupéré.

La moyenne des 5 singes est représentée par une barre verticale. Chaque concentration est exprimée en pourcentage du taux de base qui correspond au 100 % et est représenté par une ligne pointillée (). Le rectangle gris hachuré représente la variation moyenne intra-individuelle de chaque neurotransmetteur. ** p < 0.01 comparé à l'état normal, † p < 0.05, †† p < 0.01 comparé à l'état symptômes moteurs.

Pour finir, et comme nous l'avons précisé auparavant, les valeurs des concentrations basales de chaque molécule étudiée nous ont par la suite servi de référence (100 %) pour exprimer les variations de ces concentrations à l'état symptôme moteur et récupéré.

II.3. Variations des concentrations de neurotransmetteurs au niveau du striatum sensorimoteur et limbique en fonction de l'état symptomatique étudié

Nous avons choisi de représenter ces résultats sur des figures schématiques (une par neurotransmetteur étudié) qui regroupent l'ensemble des données, exprimées en pourcentage du taux de base, de chaque animal pour chacun des territoires étudiés (striatum sensori-moteur et limbique) ainsi que les données moyennes, représentées par les barres d'histogrammes, et ceci à l'état symptôme moteur et récupéré. Les données concernant l'état sain sont utilisées comme référence et correspondent donc à un taux de base de 100 % représenté sur la figure par un trait horizontal en pointillé. Le rectangle gris hachuré représente la variabilité moyenne du neurotransmetteur considéré au cours des trois dialyses (état sain, symptômes moteurs et récupéré).

Les résultats seront traités séparément pour chaque neurotransmetteur (Dopamine, DOPAC, HVA, Sérotonine, Glu, GABA) et chaque territoire striatal fonctionnel (sensori-moteur et limbique) étudié.

II.3.1. Variations des taux de dopamine

Au niveau du territoire sensori-moteur du striatum, le traitement au MPTP induit une diminution moyenne très importante ($-96,7 \pm 1,3$ %) et statistiquement significative ($n=5$, $p < 0,01$) de la concentration en dopamine qui ne représente plus que 3,3 % de celle mesurée à l'état sain (Fig 71A).

Les résultats sont très homogènes pour les 5 animaux qui présentent tous une baisse statistiquement significative de leur concentration en dopamine. À l'état de récupération motrice, on n'observe pas de différence significative de la concentration moyenne en dopamine par rapport à l'état symptômes moteurs ($11,2 \pm 6,6$ vs $3,3 \pm 1,3\%$). De plus, les modifications sont assez variables d'un animal à l'autre. On observe une augmentation significative des concentrations de dopamine par rapport à l'état symptômes moteurs pour 2/5 des animaux (CA 21, CA 33), une baisse chez le singe CA 37 et une absence de variation

pour les deux singes restants (CA 23, CA 34) (Fig 71A). Cependant, quel que soit l'animal considéré et l'évolution de ces concentrations de dopamine entre l'état symptôme moteur et l'état récupéré, le taux de dopamine à l'état récupéré reste toujours très inférieur à celui de l'état sain, avec une baisse moyenne de $-88,8 \pm 6,62 \%$ ($n=5$, $p < 0,01$) (Fig 71A).

Au niveau du territoire limbique, les effets du traitement au MPTP sur les concentrations de dopamine sont hétérogènes. En effet, chez la majorité des animaux (3/5 animaux, CA 33, CA 34 et CA 37) l'état symptôme moteur s'accompagne d'une forte diminution des concentrations de dopamine, statistiquement significative par rapport à l'état normal, mais qui reste plus modérée que celle observée au niveau du territoire sensori-moteur ($-86,4$, $-72,2$ et $-97,5 \%$ respectivement pour les singes CA 33, CA 34 et CA 37) (Fig 71A). Pour l'animal CA 21, aucune différence significative de concentration n'est observée entre l'état normal et l'état MPTP. Enfin, une augmentation significative est observée pour le singe CA 23 ($+26,7 \%$, $p < 0,05$). Au final, la concentration moyenne de dopamine du striatum limbique est diminuée de moitié à l'état MPTP par rapport à l'état sain ($53,2 \pm 24,5 \%$) mais compte tenu des différences existant entre les animaux, cette baisse n'apparaît pas significative (Fig 71A).

Après l'arrêt du traitement au MPTP et lorsque les animaux ont récupéré de leurs symptômes moteurs, une augmentation statistiquement significative des concentrations en dopamine est observée chez la majorité des animaux sauf pour le singe CA 34 où les concentrations sont encore diminuées par rapport à l'état symptômes moteurs ($-26,1 \%$, $p < 0,001$) (Fig 71A). Finalement, on obtient, à l'état récupéré, un retour à la normale des concentrations moyenne limbiques striatales en dopamine ($95,9 \pm 51,2 \%$) et ceci essentiellement grâce aux valeurs obtenues chez les singes CA 21 et CA 23 dont les taux de dopamine après récupération motrice sont statistiquement supérieurs à ceux de l'état normal (CA21, $+219,7 \%$, $p < 0,01$; CA 23, $+222 \%$, $p < 0,001$)

Pour résumer, ces données montrent une baisse importante des concentrations en dopamine à l'état symptôme moteur au niveau des deux territoires striataux étudiés avec une atteinte plus importante au niveau du territoire sensori-moteur ($96,7 \pm 1,3 \%$ de perte contre $46,8 \pm 24,5 \%$ pour le territoire limbique). De plus, un retour à la normale des concentrations en dopamine à l'état de récupération motrice est observé uniquement au niveau du territoire limbique.

II.3.2. Variations des taux de DOPAC

Au niveau du territoire sensori-moteur, les effets induits par le traitement au MPTP sur les concentrations de DOPAC sont tout à fait similaires à ceux produits sur les concentrations de dopamine. En effet, on observe une baisse importante et statistiquement significative des concentrations de DOPAC chez tous les animaux, avec une diminution moyenne de $-91,7 \pm 5,6 \%$ ($n=5$, $p < 0,01$) (Fig 71B).

A l'état de récupération motrice, la concentration moyenne de DOPAC n'est pas statistiquement différente de celle mesurée à l'état symptômes moteurs ($13,1 \pm 6,4$ vs $8,3 \pm 5,6 \%$) (Fig 71B).

Au niveau du territoire limbique du striatum, les évolutions des concentrations de DOPAC après traitement au MPTP et après retour à un état moteur normal sont proches de celles observées au niveau du territoire sensorimoteur. En effet, tous les animaux présentent une baisse significative de leur concentration en DOPAC à l'état MPTP et la baisse moyenne résultante de $-88,8 \pm 5,6 \%$ ($n=5$, $p < 0,01$) est comparable à celle observée du côté sensori-moteur ($-91,7 \pm 5,6 \%$) (Fig 71B). De plus, bien que l'augmentation de ces concentrations à l'état récupéré par rapport à l'état MPTP soit très supérieure à celle observée au niveau du territoire sensorimoteur ($+44,7 \%$ vs $+4,7 \%$), celle-ci n'est pas statistiquement significative et ne permet pas un retour à un niveau basal des concentrations de DOPAC qui restent à $55,8 \pm 37,3 \%$ des valeurs basales.

Ces résultats montrent que les concentrations de DOPAC suivent une évolution similaire à celles de la dopamine puisqu'on observe une baisse importante de celles-ci à l'état symptômes moteurs au niveau des deux territoires striataux étudiés ($-91,7 \pm 5,6 \%$ et $-88,8 \pm 5,6 \%$ respectivement pour le territoire sensori-moteur et limbique). De plus, une augmentation des concentrations en DOPAC, sans retour au niveau de base, est observée à l'état de récupération motrice uniquement au niveau du territoire limbique.

II.3.3. Variations des taux d'HVA

Après traitement au MPTP on obtient, au niveau des territoires sensori-moteur et limbique, des concentrations moyennes d'HVA de l'ordre de $10,4 \pm 3,6$ % et $15,9 \pm 3$ % des valeurs basales. Ces diminutions de -89,6 % et de -84,1 % sont significatives ($n=5$, $p < 0,01$) (Fig 71C).

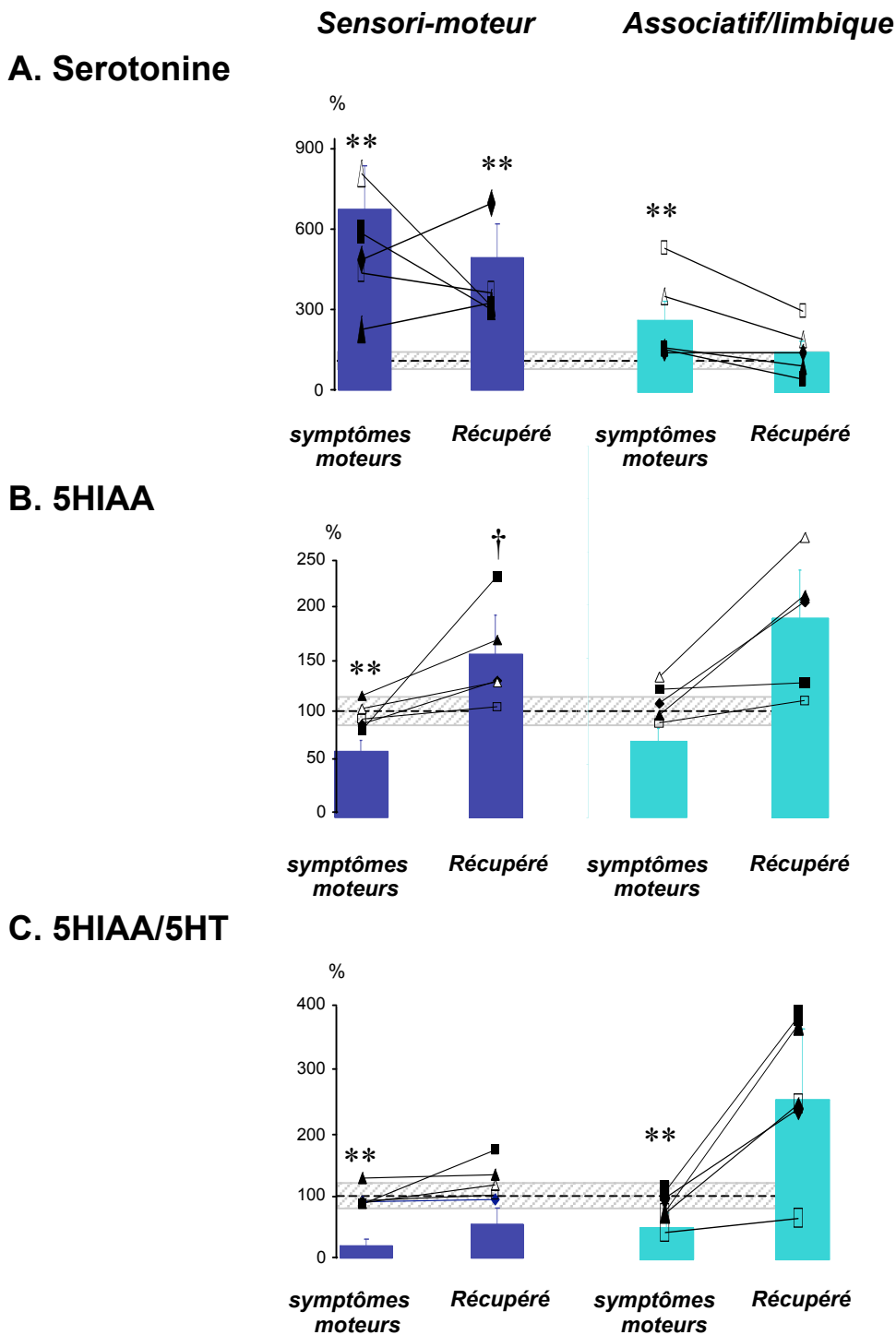
A l'état récupéré, la concentration moyenne d'HVA augmente significativement par rapport à l'état MPTP au niveau du territoire sensori-moteur (+33%, $p < 0,05$) et limbique (+33,4 %, $n=5$, $p < 0,01$) (Fig 71C). Cette augmentation est une tendance forte que l'on retrouve pour l'ensemble des animaux sur les deux territoires. Cependant, ces augmentations ne sont pas suffisantes pour permettre le retour des concentrations à un niveau basal.

Ces résultats montrent que les concentrations d'HVA sont fortement diminuées à l'état symptôme moteur et dans une même mesure au niveau des deux territoires du striatum ($-89,6 \pm 3,6$ % et $-84,1 \pm 3$ %). De plus, on observe une augmentation des concentrations d'HVA, sans retour au niveau de base, à l'état de récupération motrice au niveau du territoire limbique et sensori-moteur.

II.3.4. Variations des rapports DOPAC/DA et HVA/DA

Les effets induits par le traitement MPTP sur le rapport DOPAC/DA au niveau du territoire sensori-moteur et limbique sont opposés. En effet, dans le striatum sensori-moteur, le rapport moyen DOPAC/DA à l'état MPTP est doublé par rapport à l'état normal mais cette augmentation n'est pas statistiquement significative. À l'inverse, dans le striatum limbique, le rapport DOPAC/DA est significativement diminué chez tous les animaux ce qui induit ainsi une diminution moyenne statistiquement significative de $-59,1 \pm 12,6$ %, ($n=5$, $p < 0,01$).

Après l'arrêt du traitement MPTP et le retour à un état moteur normal, le rapport DOPAC/DA est significativement augmenté par rapport à l'état symptôme moteur pour la majorité des animaux au niveau des territoires sensori-moteur (3/5 animaux) et limbique (4/5 animaux). Cependant, compte tenu des variations individuelles de chaque animal, le rapport moyen DOPAC/DA à l'état récupéré n'est pas statistiquement différent de celui de l'état MPTP dans les deux territoires striataux. Enfin, il faut noter que le rapport DOPAC/DA après récupération



-Figure 72-

Représentation schématique, pour chaque animal (CA 21 \blacklozenge , CA 23 \triangle , CA 33 \blacktriangle , CA 34 \blacksquare , CA 37 \square), de l'évolution des concentrations de sérotonine (A) de 5HIAA (B), et du rapport 5HIAA/5HT (C) dans les territoires sensori-moteur et associatif/limbique du striatum entre l'état normal, symptômes moteurs et récupéré.

La moyenne des 5 singes est représentée par une barre verticale. Chaque concentration est exprimée en pourcentage du taux de base qui correspond au 100 % et est représenté par une ligne pointillée (---). Le rectangle gris hachuré représente la variation moyenne intra-individuelle de chaque neurotransmetteur. ** $p < 0.01$ comparé à l'état normal, † $p < 0.05$ comparé à l'état symptômes moteurs.

des symptômes moteurs est significativement supérieur à celui de l'état sain au niveau du striatum sensori-moteur ($+379,9 \pm 52,2 \%$, $n=5$, $p < 0,01$).

Le rapport HVA/DA est très fortement augmenté par le traitement MPTP au niveau du striatum sensori-moteur chez tous les animaux (Fig 71D). Le rapport moyen HVA/DA atteint ainsi une valeur de $+428 \pm 140 \%$ ($n=5$, $p < 0,01$). Au niveau du territoire limbique, les résultats sont plus hétérogènes : 2/5 animaux (CA 21 et CA 23) présentent une baisse significative du rapport HVA/DA ($p < 0,05$) par rapport à l'état sain et 2/5 ne présentent aucune variation. Enfin 1/5 animal voit son rapport HVA/DA fortement augmenté ($p < 0,01$). Au final, le rapport moyen HVA/DA n'est pas statistiquement modifié par le traitement MPTP.

Après récupération des symptômes moteurs, ce rapport est statistiquement augmenté chez 2/5 des animaux (CA 34 et CA 37) au niveau du territoire sensori-moteur et chez un seul animal au niveau du territoire limbique (CA 34) (Fig 71D). Les valeurs moyennes du rapport HVA/DA ainsi atteintes ($2438 \pm 1406 \%$ et $713 \pm 520 \%$ respectivement au niveau sensori-moteur et limbique) sont supérieures à celles de l'état normal mais cette augmentation n'est significative que pour le territoire sensori-moteur ($p < 0,01$).

Ces données montrent que les rapports DOPAC/DA et HVA/DA sont différemment affectés par le traitement MPTP en fonction des territoires striataux considérés. En effet, l'apparition des symptômes moteurs s'accompagne d'une augmentation du rapport HVA/DA au niveau du territoire sensori-moteur et d'une baisse du rapport DOPAC/DA au niveau du territoire limbique. Après récupération motrice, les deux rapports évoluent similairement et sont ainsi augmentés au niveau du territoire sensori-moteur alors qu'ils ne sont pas modifiés au niveau du territoire limbique par rapport à l'état normal.

II.3.5. Variations des taux de sérotonine

Le traitement MPTP induit une hausse statistiquement significative des concentrations de sérotonine chez tous les animaux aux niveaux du territoire striatal sensori-moteur et chez 2/5 des singes au niveau du territoire limbique (CA 23 et CA 37). Cette augmentation touche plus fortement le territoire sensori-moteur, où on observe une hausse moyenne de $+419,5 \pm 117,7 \%$ ($n=5$, $p < 0,01$), que le territoire limbique ($+98,7 \pm 57,3 \%$, $n=5$, $p < 0,01$) (Fig 18A).

Après disparition des symptômes moteurs, les résultats sont assez homogènes au niveau du territoire limbique où les concentrations de sérotonine sont diminuées chez tous les animaux par rapport à l'état MPTP (Fig 72A). La concentration moyenne revient ainsi à une valeur non statistiquement différente de celle de l'état normal.

Au niveau du territoire sensori-moteur, les données sont plus hétérogènes. 2/5 des animaux présentent une forte augmentation des concentrations de sérotonine à l'état récupéré par rapport à l'état MPTP (CA 21 et CA 33) alors que les 3 autres présentent une forte baisse (CA 23, CA 34 et CA 37). Au final, la concentration moyenne de sérotonine à l'état récupéré n'est pas statistiquement différente de celle de l'état MPTP ($372 \pm 95,3 \%$ vs $519,5 \pm 117,7 \%$) et reste largement supérieure à celle de l'état sain ($p < 0,01$) (Fig 72A).

En résumé, les concentrations de sérotonine évoluent identiquement aux niveaux des territoires sensori-moteur et limbique en fonction de l'état moteur des animaux, mais avec des effets plus marqués au niveau sensori-moteur. Le traitement au MPTP induit une augmentation des concentrations de sérotonine qui s'atténue totalement au niveau de striatum limbique, ou partiellement au niveau du territoire sensori-moteur après récupération des symptômes moteurs.

II.3.6. Variations des taux de 5HIAA

Au niveau du territoire sensori-moteur, l'apparition des symptômes moteurs est corrélée à une baisse significative des concentrations en 5HIAA pour 3/5 des animaux (CA 23, CA 34 et CA 37) (Fig 72B), ce qui conduit au final à une baisse statistiquement significative de la concentration moyenne de 5HIAA par rapport à l'état normal ($n=5$, $p < 0,01$). Après récupération des symptômes moteurs, on observe une augmentation significative de la concentration en 5HIAA pour tous les animaux par rapport à l'état MPTP ($p < 0,001$). La concentration moyenne devient ainsi statistiquement supérieure à celle de l'état MPTP ($n=5$, $p < 0,05$) sans pour autant différer de celle de l'état normal (Fig 72B).

Au niveau du territoire limbique, les diminutions de concentration de 5HIAA observées à l'état symptômes moteurs pour 3/5 des animaux (CA 21, CA 33 et CA 37) n'induisent pas de modifications significatives du taux moyen de 5HIAA par rapport à l'état normal. De même, après récupération des symptômes moteurs, bien que 3/5 des singes présentent une forte augmentation de leur concentration de 5HIAA par rapport à l'état MPTP et même par rapport

à l'état normal (CA 21, CA 23 et CA 33, $p < 0,001$), la concentration moyenne de 5HIAA ne diffère pas statistiquement de celle de l'état MPTP et sain (Fig 72B).

En résumé, les concentrations de 5HIAA au niveau du territoire sensori-moteur subissent des modifications opposées à celles des concentrations de sérotonine. Le traitement MPTP induit une baisse des concentrations de 5HIAA par rapport à l'état normal qui est réversée à l'état récupéré. Au niveau du territoire limbique, on n'observe pas de modifications significatives des concentrations de 5HIAA par rapport à l'état normal que ce soit à l'état MPTP ou récupéré.

II.3.7. Variations du rapport 5HIAA/5HT

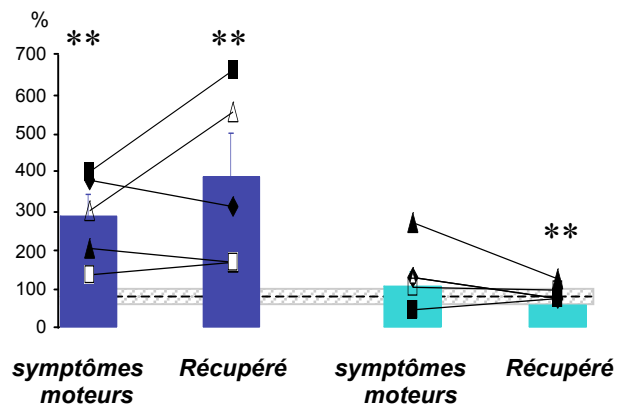
Le traitement MPTP induit chez tous les animaux une diminution considérable et statistiquement significative du rapport 5HIAA/5HT tant au niveau du territoire sensori-moteur que limbique (sauf pour CA 21 dont la baisse de -33,6 % n'est pas significative au niveau du territoire limbique) (Fig 72C). Ceci conduit à un rapport moyen statistiquement diminué à l'état symptômes moteurs par rapport à l'état sain au niveau des deux territoires striataux (-80,7 %, - 52,2 %, $p < 0,01$)

Après récupération des symptômes moteurs, ce rapport est significativement augmenté par rapport à l'état symptômes moteurs pour 4/5 des animaux au niveau du territoire sensori-moteur (CA 21, CA 23, CA 34 et CA 37), il reste cependant inférieur à celui de l'état normal, mais cette différence n'est pas significative ($n=5$, 52,2 % vs 100 %). Au niveau du territoire limbique, le rapport 5HIAA/5HT est augmenté par rapport à l'état MPTP pour la majorité des animaux (4/5) et devient significativement supérieur à celui de l'état normal pour deux d'entre eux (CA 23 et CA 33). Au final, après récupération des symptômes moteurs, l'augmentation du rapport moyen 5HIAA/5HT par rapport à celui de l'état normal n'est pas significative ($238 \pm 1,1$ % vs 100 %, $n=5$).

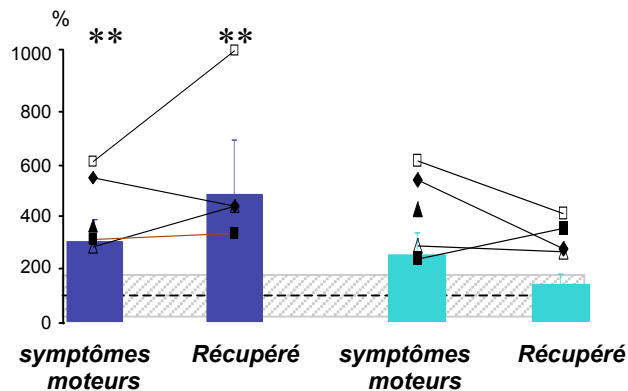
Le rapport 5HIAA/5HT est fortement diminué par le traitement au MPTP tant au niveau du territoire sensori-moteur que limbique. Après retour à un état moteur normal, une récupération de ce rapport est observée dans les deux territoires striataux.

Sensori-moteur Associatif/limbique

A.GABA



B.Glutamate



- Figure 73-

Représentation schématique, pour chaque animal (CA 21 \blacklozenge , CA 23 \blacktriangle , CA 33 \blacktriangle , CA 34 \blacksquare , CA 37 \blacklozenge) de l'évolution des concentrations de GABA (A) et de Glutamate (B) dans les territoires sensori-moteur et associatif/limbique du striatum entre l'état normal, symptômes moteurs et récupéré.

La moyenne des 5 singes est représentée par une barre verticale. Chaque concentration est exprimée en pourcentage du taux de base qui correspond au 100 % et est représenté par une ligne pointillée (---). Le rectangle gris hachuré représente la variation moyenne intra-individuelle de chaque neurotransmetteur. ** $p < 0.01$ comparé à l'état normal.

II.3.8. Variations des taux de GABA et de Glutamate

Au niveau du territoire sensori-moteur, après traitement au MPTP, les concentrations en GABA sont fortement augmentées pour 4/5 des animaux (CA 21, CA 23, CA 33 et CA 34, $p < 0,001$) induisant ainsi une augmentation moyenne de $+163,6 \pm 53,8$ % ($n=5$, $p < 0,01$) (Fig 73A). Après récupération des symptômes moteurs, les résultats sont plus hétérogènes. Une baisse significative des concentrations de GABA est observée chez 2/5 des animaux (CA 21, - 73,2 %, $p < 0,05$; CA 33, - 38,1 %, $p < 0,01$) et une augmentation chez les 3 animaux restants (CA 23, + 270,8 %; CA 34, + 275,8 %; CA 37, +32,8 % ; $p < 0,001$) (Fig 73A). Au final, la concentration moyenne de GABA à l'état récupéré n'est pas statistiquement différente de celle de l'état MPTP ($357,2 \pm 107,4$ vs $263,6 \pm 53,8$ %) mais reste largement supérieure à celle de l'état sain ($n=5$, $p < 0,01$).

Au niveau du territoire limbique, l'apparition des symptômes moteurs est corrélée à une baisse modérée, significative dans la majorité des cas, des concentrations de GABA chez 4/5 des animaux (CA 21, -13,4 % ; CA 23, - 13,1 %, $p < 0,05$; CA 34, - 89,2 %, $p < 0,001$; CA 37, -33 %, $p < 0,001$) (Fig 73A). Cependant, la concentration moyenne reste proche de celle de l'état sain ($96,3 \pm 35$ %). Après récupération des symptômes moteurs, les concentrations de GABA sont statistiquement diminuées dans l'ensemble par rapport à celles de l'état MPTP (3/5 des animaux ; CA 21, CA 23 et CA 33) et la concentration moyenne de $51,7 \pm 9,3$ % reste statistiquement inférieure à celle de base ($n=5$, $p < 0,01$).

Les modifications subies par les concentrations de Glutamate aux niveaux des territoires sensori-moteur et limbique en fonction de l'état moteur des singes sont très similaires à celles du GABA.

En effet, dans le territoire sensori-moteur, les concentrations de Glutamate sont statistiquement augmentées pour 3/5 des animaux après traitement au MPTP et la concentration moyenne de $276,3 \pm 78,3$ % est très supérieure à celle de l'état normal ($n=5$, $p < 0,01$). Après le retour à la normale de l'état moteur, bien que cette concentration moyenne, soit encore augmentée (+164,8 %), elle n'est pas significativement différente de celle de l'état MPTP mais reste largement supérieure à celle de l'état sain ($p < 0,01$) (Fig 73B).

Dans le territoire limbique, les données des différents animaux sont plus variable et, au final, on observe pas de variations significatives de la concentration moyenne de Glutamate entre les différents états moteurs (Fig 73B).

Les modifications des concentrations de GABA et de Glutamate dépendent fortement du territoire striatal fonctionnel considéré. Au niveau du territoire limbique, aucune variation significative n'est observée suite à l'apparition ou la disparition des symptômes moteurs. Au niveau du territoire sensori-moteur au contraire, l'état symptôme moteur induit une augmentation de la concentration de GABA et de Glutamate qui n'est pas supprimée par un retour à la normale des fonctions motrices.

DISCUSSION: PARTIE II

I. CHOIX DU MODELE DE SINGE INTOXIQUE AU MPTP ET DE L'APPROCHE BIOCHIMIQUE PAR MICRODIALYSE INTRACELLULAIRE

I.1. Le modèle de singe vert intoxiqué progressivement au MPTP

L'étude présentée dans cette seconde partie de mon travail de thèse a été réalisée sur le singe vert (*Cercopithecus aethiops*) chez lequel l'injection de MPTP par voie intramusculaire conduit à une lésion bilatérale du système dopaminergique mésencéphalique (Piffl et al., 1991). Le singe vert est la seule espèce qui, suite à l'intoxication au MPTP, développe systématiquement l'ensemble des symptômes moteurs parkinsoniens y compris le tremblement de repos à une fréquence de 4 à 6 Hz, proche de celle observée chez le malade parkinsonien (Bergman et al., 1998 ; François et al., 1999). En effet, si le tremblement peut être observé dans d'autres espèces de singes telles que le marmouset, le babouin et le macaque (Close et al., 1985; Hantraye et al., 1993), il s'agit en général d'un tremblement d'action. Cependant, il faut noter qu'une récente étude réalisée chez le singe rhésus, mettant en œuvre un protocole complexe d'intoxication au MPTP (infusion intracarotidienne suivie de 2 à 4 injections intraveineuse), a permis d'observer chez ces animaux l'apparition de courtes périodes de tremblement de repos d'une fréquence de $7,9 \pm 0,12$ Hz (Emborg et al., 2003). L'origine du tremblement de repos observé chez le singe vert n'a pas trouvé de support anatomique lié à dénervation dopaminergique (Herrero et al., 1993 ; François et al., 1999). Toutefois, l'étude comparative de l'activité oscillatoire au sein du pallidum de singes verts (présentant un tremblement de repos lent et prolongé) et de singes rhésus (présentant de courts épisodes de tremblements à une fréquence plus élevée) semble montrer que l'apparition de ce phénomène pourrait être reliée à l'émergence d'une activité oscillatoire synchrone au sein des ganglions de la base (Bergman et al., 1998).

Bien que le singe MPTP représente un très bon modèle de la maladie de Parkinson, il possède quelques limitations. Parmi celles-ci, on retrouve la difficulté à induire une destruction progressive et lente des neurones dopaminergiques correspondant à l'apparition chronologique des symptômes moteurs chez l'homme. Pour pallier à ce problème, des protocoles d'intoxication progressive et chronique ont été développés. Ceux-ci reposent sur l'injection répétée de faibles doses de MPTP sur de longues périodes (17 à 21 mois) (Hantraye et al., 1993 ; Varastet et al., 1994 ; Wullner et al., 1994). La seconde limitation majeure de ce modèle MPTP est liée à l'existence d'une récupération spontanée des symptômes moteurs, souvent observée après l'arrêt de l'intoxication au MPTP (Eidelberg et

al., 1986 ; Kurlan et al., 1991 ; Taylor et al., 1997). Ce phénomène qui n'est jamais observé chez le patient souffrant d'une maladie de Parkinson idiopathique, interfère avec l'étude des symptômes moteurs qui ne restent pas stables. Alors que plusieurs auteurs ont tenté de résoudre ce problème (Taylor et al., 1997 ; Pessiglione et al., 2003), il nous est apparu intéressant d'étudier les mécanismes neurochimiques qui sous-tendent cette récupération fonctionnelle. Pour ce faire, nous avons utilisé un protocole d'intoxication progressive et semi-chronique. Certes, ce type de protocole produit une lésion dopaminergique bilatérale plus rapidement que les protocoles chroniques, mais il induit un syndrome parkinsonien moins stable qui permet d'observer une récupération motrice des animaux intoxiqués. Tous les singes soumis à ce protocole d'intoxication ont développé les symptômes moteurs suivants : bradykinésie, akinésie, rigidité, épisodes de 'freezing' et tremblement de repos, à des degrés de sévérité différents. L'ensemble des animaux a ensuite présenté une récupération progressive et totale de leurs fonctions motrices dans les 3 à 4 semaines qui ont suivi l'arrêt des injections de MPTP, sauf le singe CA 37 qui s'est maintenu à un score moteur de 2 jusqu'au jour du sacrifice, 10 mois après l'arrêt de l'intoxication. CA 37 est l'animal qui a atteint le score moteur le plus élevé (22) ainsi que le niveau de perte des neurones dopaminergiques et de dénervation striatale le plus fort pour tous les territoires fonctionnels considérés : au niveau du striatum (sensori-moteur et limbique) la perte en DA a pu être estimée à plus de 97 % et a donc dépassé le seuil critique de 90-95 % au delà duquel la récupération est compromise (Elsworth et al., 2000). Ce niveau très important de dégénérescence neuronale explique certainement l'absence de retour à un état moteur normal, les mécanismes de compensation et/ou de récupération fonctionnelle ne permettant plus de maintenir un état d'équilibre (Bezard et al., 2003).

I.2. Approche biochimique par microdialyse intracérébrale répétée

Il est intéressant de noter que la récupération des fonctions motrices observée chez les animaux traités au MPTP, et ayant présenté l'ensemble des symptômes moteurs parkinsoniens, prend place alors que la perte en neurones dopaminergiques est très importante. Cette observation expérimentale nous a conduit à nous interroger sur les bases morphologiques et/ou biochimiques de cette récupération fonctionnelle sur le plan moteur. La comparaison des niveaux de perte cellulaire observés dans les différentes aires dopaminergiques des singes sacrifiés à 'l'état symptômes moteurs' et à 'l'état récupéré' n'a pas permis de mettre en évidence des différences statistiquement significatives (Mounayar et

al., 2006 ; en préparation). Néanmoins, ces données quantitatives n'apportent pas d'informations sur l'intégrité physiologique des neurones dopaminergiques encore présents ni sur leur capacité à assurer une transmission dopaminergique fonctionnelle. En effet, des augmentations de la synthèse et de la libération de DA ont été décrites pour des neurones dopaminergiques restants, non encore affectés par le processus dégénératif, suite à des lésions partielles de la SNc (Blanchard et al., 1995 ; Dentresangle et al., 2001 ; Rothblat et al., 2001). La capacité de ces neurones dopaminergiques restants à maintenir une transmission dopaminergique fonctionnelle explique certainement les compensations fonctionnelles observées lors de la phase asymptomatique de la MP. On ne peut pas exclure également que d'autres mécanismes non dopaminergiques puissent intervenir dans ces phénomènes de compensation. L'observation d'une récupération des fonctions motrices dans le modèle animal utilisé ici nous amène à penser que les mécanismes qui sous-tendent cette récupération fonctionnelle pourraient être similaires à ceux intervenant dans la phase asymptomatique de la MP. La compréhension de ces mécanismes, probablement basés sur des phénomènes de plasticité et d'adaptation complexes, a suscité tout notre intérêt dans ce travail.

Cette étude s'est inscrite dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Dr Léon TREMBLAY, au sein de l'unité U679 à Paris, qui s'intéresse aux mécanismes de récupération fonctionnelle sur le plan comportemental et anatomique chez le singe MPTP. Notre contribution à ce travail, dans le cadre de cette thèse, s'est limitée à essayer de déterminer les modifications biochimiques qui interviennent au cours de cette récupération fonctionnelle en utilisant une approche neurochimique basée sur la technique de microdialyse intracérébrale. Les territoires dialysés ont été le striatum sensori-moteur et le striatum limbique. Le choix de ces deux sites a été fondé sur : 1) la mise en évidence d'une hétérogénéité de dénervation dopaminergique au sein du striatum de singes traités selon notre protocole d'intoxication au MPTP (Jan et al., 2003) ; 2) le possible rôle joué par la diffusion de la DA d'un territoire striatal fonctionnel à l'autre dans les mécanismes sous-tendant la récupération motrice observée chez les animaux traités au MPTP (Schneider et al., 1994).

Diverses études de microdialyse ont déjà été réalisées chez le singe MPTP, mais toutes concernaient les modifications neurochimiques liées à l'état parkinsonien (Skirboll et al., 1990 ; Robertson et al., 1991 ; Nomoto et al., 1999). Seules quelques données neurochimiques concernant la récupération des symptômes moteurs chez le singe MPTP proviennent d'études post-mortem (Elsworth, 2000). Aussi, l'originalité de notre étude repose sur le suivi in vivo des modifications neurochimiques associées aux phases de handicaps moteurs ou de récupération, obtenues après intoxication au MPTP. Ce suivi a consisté à mesurer les

concentrations de DA, sérotonine, Glu et GABA au sein des territoires sensori-moteur et limbique du striatum, avant, pendant l'état parkinsonien et au moment de la récupération motrice, chez le même animal.

La mesure des concentrations des neurotransmetteurs recueillis dans les dialysats a été possible grâce à l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) qui est une méthode de détection très sensible, d'une très grande sélectivité et qui possède un seuil limite de détection très faible. Elle permet ainsi d'obtenir des données concernant de nombreux neurotransmetteurs à partir d'un seul recueil de liquide céphalo-rachidien. Cependant, il est vrai que la résolution temporelle de cette technique est considérablement plus faible que la plupart des processus dynamiques du système nerveux central (Khan et Michael, 2003). Ceci n'a pas représenté un inconvénient majeur pour notre travail chez le singe puisque nous avons étudié les concentrations en neurotransmetteurs de dialysats recueillis pendant plusieurs heures dans un état moteur donné.

La voltamétrie *in vivo* aurait pu représenter une alternative à la microdialyse intracérébrale. Elle offre en effet une très bonne résolution temporelle, similaire à celle des enregistrements électrophysiologiques (Fillenz, 2005) et il semble que les dommages tissulaires induits par les micro-électrodes d'enregistrements (diamètre 10 μm) ne s'étendent pas au delà de 3 μm autour de l'électrode (Peters et al., 2004). Cependant, il faut noter que ces données histologiques ont été obtenues après 2 heures d'implantation des micro-électrodes alors que la plupart des études réalisées pour les sondes de microdialyse, et qui montrent des dommages tissulaires s'étendant de 100 à 200 μm , ont été obtenues après plus de 24 heures d'implantation (Clapp-Lilly et al., 1999 ; Zhou et al., 2001). Néanmoins, la voltamétrie est une technique beaucoup moins sensible, moins sélective et moins polyvalente que la microdialyse couplée à la CLHP. En effet, chaque neurotransmetteur étudié requiert une micro-électrode spécifique. De plus, compte tenu de la taille respective de la partie active d'une micro-électrode ($\approx 800 \mu\text{m}$) et d'une sonde de dialyse (ici 3 mm), l'étude des variations neurochimiques intervenant au sein de l'ensemble du territoire sensori-moteur et limbique du striatum chez le singe aurait nécessité d'utiliser plusieurs microélectrodes de voltamétrie. Compte tenu des avantages et des inconvénients respectifs de chacune de ces deux techniques, la microdialyse intracérébrale nous a semblé être la technique la plus appropriée à notre problématique.

II. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ASSOCIEES A L'ETAT PARKINSONNIEN

II.1. Dopamine, DOPAC et HVA

L'étude des concentrations de DA striatale et de ses métabolites montre que le traitement au MPTP conduit à une chute importante de leurs concentrations aux niveaux du territoire sensori-moteur. Concernant le territoire limbique, la moyenne des concentrations de DA (et de ses métabolites) des 5 animaux étudiés présente une tendance à la diminution (de l'ordre de 50 %), qui n'est toutefois pas significative. En effet, pour 3/5 des animaux, cette diminution est très importante (de l'ordre de 80 %) alors que pour les 2 autres singes (CA 21 et CA 23), les contenus de DA mesurés apparaissent comparables à ceux de l'état normal.

Enfin, en dehors de cette particularité, les variations observées sont toujours plus importantes au niveau du territoire sensori-moteur que du territoire limbique. D'autre part, 'l'état symptômes moteurs' est associé à une forte hausse du rapport HVA/DA au niveau du territoire sensori-moteur et à une augmentation, non significative, du rapport DOPAC/DA. Au niveau du territoire limbique, le rapport DOPAC/DA est significativement diminué. De façon intéressante, les variations mesurées pour ces rapports suite à l'intoxication au MPTP sont également plus importantes au niveau du territoire sensori-moteur que limbique.

Nos résultats relatifs aux fluctuations des concentrations striatales de la DA (et de ses métabolites) concordent avec de nombreuses données de la littérature qui rapportent également une baisse significative de ces concentrations, tant chez le patient parkinsonien (Hornykiewicz, 1975 ; Agid et al., 1987 ; Calon et al., 2003) que dans divers modèles animaux de la MP (Elsworth et al., 1989 ; Schneider, 1990b ; Skirboll et al., 1990 ; Schwarting et Huston, 1996a ; Bézard et al., 2000 ; McCallum et al., 2006). En effet, il n'est pas surprenant de voir que la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc entraîne une perte de l'innervation dopaminergique du striatum conduisant de ce fait à la baisse de ses contenus en DA. Cette perte en DA striatale est également corrélée à des variations d'expression du système de synthèse, de recapture et des récepteurs de la DA. Ainsi, une diminution d'expression de la Tyrosine Hydroxylase (Hefti et al., 1980 ; Bezard et al., 2000 ; Rothblat et al., 2001 ; McCallum et al., 2006) et des transporteurs à la DA (Altar et al., 1987 ; Narang et Wamsley, 1995 ; Rothblat et al., 2001 ; Calon et al., 2003) a été observée après lésion du système dopaminergique nigro-strié. Concernant les récepteurs dopaminergiques de type D2, il est aujourd'hui clairement établi, chez l'homme (Lee et al.,

1978 ; Rinne et al., 1993; Piggott et al., 1999) comme chez l'animal parkinsonien (Savasta et al., 1987, 1988 ; Corini et al., 1990 ; Gerfen et al., 1990 ; Narang et Wamsley, 1995 ; Wade et al., 2000), que la dénervation dopaminergique entraîne une augmentation de la densité striatale, du taux d'expression des ARNm et de l'affinité des récepteurs D2 pour la DA (Bezard et al., 2001 b). Les données concernant les récepteurs de type D1 sont beaucoup plus contradictoires. En effet, l'augmentation (Buonamici et al., 1986 ; Gnanalingham et al., 1995 ; Narang and Wamsley, 1995), la diminution (Ariano, 1988 ; Graham et al., 1990 ; Blunt et al., 1992) ou l'absence de variation (Savasta et al., 1988 ; Alexander et al., 1991 ; Przedborski et al., 1991) de la densité des sites de liaisons striatales ont été rapportées chez le rat 6-OHDA et le singe MPTP. Chez l'homme, il semble que cette densité ne soit pas modifiée (Lee et al., 1978 ; Rinne et al., 1985 ; Pierot et al., 1988). Ainsi, l'intervention d'une « hyper-sensibilité » des récepteurs dopaminergiques de type D1 après dénervation dopaminergique reste encore à démontrer.

De façon intéressante, il est à noter que le protocole d'intoxication au MPTP utilisé dans le cadre de notre étude (progressif et semi-chronique) permet d'induire une dénervation striatale hétérogène avec une atteinte préférentielle de la zone dorsolatérale. Cette hétérogénéité, déjà constatée chez le singe intoxiqué au MPTP (Elsworth et al., 1989 ; Irwin et al., 1990 ; Schneider, 1990b ; Jan et al., 2003 ; McCallum et al., 2006), correspond également à ce qui est observé post-mortem chez le malade parkinsonien (Kish et al., 1988).

L'augmentation des rapports DOPAC/DA et HVA/DA, que nous avons observé au niveau du territoire sensori-moteur des animaux exprimant des symptômes moteurs, suggère une hausse du taux de renouvellement de la DA. Cette hypothèse s'appuie sur l'observation d'un accroissement de l'activité de la TH au niveau du striatum chez le rat 6-OHDA (Hefti et al., 1980 ; Zigmond et al., 1984 ; Altar et al., 1987). De même, des variations similaires des rapports DOPAC/DA et HVA/DA ont été décrites chez les malades parkinsoniens (Hornykiewicz, 1975, 1998), même à des stades précoces de la maladie (Bernheimer et al., 1973 ; Ribeiro et al., 2002). L'augmentation de ces rapports a également été observée dans des modèles animaux de la MP pour des degrés de lésion du système dopaminergique nigro-strié variés (Zigmond et al., 1984 ; Altar et al., 1987 ; Elsworth et al., 1987 ; Schneider, 1990b ; McCallum et al., 2006). Cependant, il faut noter que dans la majorité de ces études, cette augmentation touchait l'ensemble des territoires du striatum (Zigmond et al., 1984 ; Altar et al., 1987 ; Schneider, 1990b) alors que nous ne l'avons observée qu'au niveau du territoire sensori-moteur. Cette différence de résultats pourrait s'expliquer par le type de

protocole d'intoxication au MPTP utilisé. En effet, lorsque la baisse des rapports DOPAC/DA et HVA/DA affecte l'ensemble du striatum, la perte de l'innervation dopaminergique striatale est beaucoup plus massive et étendue et ne suit pas dans ce cas le gradient antéro-postérieur et ventro-dorsal observé normalement chez les malades parkinsoniens et dans notre modèle. La corrélation que l'on peut faire entre le niveau de dénervation striatale et l'évolution des rapports DOPAC/DA et HVA/DA a été rapportée par plusieurs études montrant un gradient d'augmentation de ces rapports parallèle au gradient de l'étendue de la dénervation dopaminergique (Elsworth et al., 1987 ; McCallum et al., 2006). Cependant, l'existence d'une telle corrélation n'explique pas l'absence totale d'augmentation des rapports DOPAC/DA et HVA/DA concernant le territoire limbique. Des divergences méthodologiques pourraient être à l'origine de cette différence entre nos résultats et ceux décrits dans la littérature. En effet, nos données sont issues de dialysats recueillis chez l'animal éveillé alors que la majorité de celles rapportées dans la littérature proviennent essentiellement d'analyses post-mortem. De plus, pour ces données post-mortem, un délai important et variable (de 4 à 12 semaines ; Elsworth et al., 1987 ; McCallum et al., 2006) sépare la dernière injection de MPTP du sacrifice alors que dans nos expériences, le recueil des dialysats a été réalisé 3 à 4 jours après la dernière injection de MPTP au moment où les handicaps moteurs sont optimaux. Ceci a l'avantage de mieux cerner la dynamique temporelle des modifications neurochimiques en fonction des symptômes moteurs observés.

II.2. Glutamate et GABA

Les modifications des concentrations de GABA et de Glu que nous avons observées chez les animaux exprimant des symptômes moteurs dépendent fortement du territoire striatal considéré. Au niveau du territoire sensori-moteur, les taux de ces deux acides aminés sont fortement augmentés alors qu'ils ne sont pas statistiquement modifiés dans le territoire limbique.

L'augmentation des concentrations extracellulaires striatales de Glu observée dans notre étude confirme plusieurs travaux antérieurs de microdialyse ayant montré des augmentations similaires suite à la destruction du système dopaminergique nigro-strié par injection de 6-OHDA ou de MPTP (Lindfors et Ungerstedt, 1990 ; Yamamoto et Davy, 1992 ; Meshul et al., 1999 ; Robinson et al., 2003). L'ensemble de ces observations neurochimiques corrèle aussi parfaitement avec des études post-mortem montrant que dans le noyau caudé-putamen de patients parkinsoniens, les concentrations en Glu sont plus élevées que chez des sujets

contrôles (Kish et al. 1988; Hornykiewicz, 2001). De plus, ces données sont en accord avec des études électrophysiologiques ayant montré une augmentation de l'activité spontanée des neurones striataux suite à une lésion dopaminergique de la SNc (Schultz et Ungerstedt, 1978; Nieoullon et Kerkerian, 1992; Calabresi et al., 1993; Chang et Webster, 1997 ; Gubellini et al., 2002), probablement liée à une hyperactivité de la voie cortico-striatale. Cette dernière étant certainement due à une levée de l'inhibition exercée par la DA sur les terminaisons glutamatergiques cortico-striées (Kornhuber et Kornhuber, 1986). Des études morphologiques ont par la suite effectivement confirmé cela en montrant une augmentation du nombre de synapses glutamatergiques asymétriques au niveau du striatum chez le rat 6-OHDA (Ingham et al., 1993 ; Meshul et al., 1999) mais aussi chez l'homme (Anglade et al., 1995). Toutefois, un déficit du système de recapture astrocytaire du Glu pourrait également être à l'origine, ou participer, aux augmentations observées. En effet, une diminution de la densité des transporteurs glutamatergiques a été montrée au niveau des astrocytes du striatum de souris traitées au MPTP (Dervan et al., 1994). Enfin, une implication de la voie glutamatergique thalamo-striatale ne peut être exclue. En effet, le noyau intra-laminaire du thalamus représente un des sites majeurs de dégénération non dopaminergique dans la MP (Henderson et al., 2000). La reproduction d'une telle lésion par injection d'acide iboténique au sein de ce noyau, conduit chez le rat, à une diminution importante de l'expression striatale du transporteur vésiculaire du Glu, VGLUT2 (Bacci et al., 2004). Cette influence, exercée sur le système de recapture du Glu, pourrait participer à l'augmentation des concentrations extracellulaires de Glu observée.

La DA exerce également un contrôle inhibiteur sur l'activité des neurones intrinsèques GABAergiques du striatum (Smith et al., 1994). Il a été montré chez le rat traité à la 6-OHDA, que la perte des neurones dopaminergiques de la SNc conduit à une hausse des concentrations de GABA (Lindfors et al., 1989, 1993) ainsi qu'à une augmentation de l'expression des ARNm (Soghomonian et al., 1992 ; Lindfors et al., 1993) et de l'activité de son enzyme de synthèse (Segovia et al., 1991), la glutamate décarboxylase (GAD). Bien qu'une augmentation des concentrations striatales de GABA ait également été observée chez des patients parkinsoniens (Perry et al., 1983 ; Kish et al., 1986 ; Jimenez-Jimenez et al., 1996), la hausse de l'expression des ARNm de la GAD n'a pas été retrouvée (Perry et al., 1983 ; Levy et al., 1995). Ces divergences pourraient être expliquées par le fait que la complexité du processus dégénératif existant dans la MP qui, en dehors du système dopaminergique mésencéphalique, touche également d'autres systèmes de neurotransmission

non dopaminergique, n'est pas retrouvée dans les modèles animaux de la maladie. En effet, chez des rats ayant subi une double lésion, de la SNc par traitement à la 6-OHDA, et du thalamus par injection d'acide iboténique, la majorité des changements induits classiquement par la dénervation dopaminergique (augmentation des taux d'ARNm de la GAD67 et de l'enképhaline dans le striatum) ne sont pas retrouvées (Bacci et al., 2004).

Toutefois, on ne peut pas écarter l'hypothèse que l'hyper-activité du système glutamatergique striatal, observée à l'état parkinsonien, puisse également intervenir, via la transformation du Glu en GABA par la GAD dans les augmentations de GABA striatales observées dans nos résultats et dans la littérature.

Enfin, compte tenu des interactions qui existent entre la DA, le Glu et le GABA au niveau du striatum, il n'est pas surprenant que l'hétérogénéité de la perte dopaminergique que nous observons chez nos animaux induise également une hétérogénéité des réponses glutamatergiques et GABAergiques au niveau du striatum sensori-moteur et limbique.

II.3. Sérotonine et 5HIAA

L'intoxication au MPTP entraîne une augmentation des concentrations de sérotonine et une diminution de celles de 5HIAA, son métabolite, au niveau des deux territoires striataux étudiés avec toujours un effet plus important au niveau du territoire sensori-moteur ; la baisse de 5HIAA n'étant d'ailleurs pas significative au niveau du territoire limbique. Le rapport 5HIAA/5HT est statistiquement diminué à 'l'état symptômes moteurs' tant au niveau du striatum sensori-moteur que limbique.

Peu d'études ont été réalisées sur les conséquences d'une dénervation dopaminergique au niveau de la neurotransmission sérotoninergique et l'ensemble des données fonctionnelles existantes est assez incohérent. Par exemple, chez le rat 6-OHDA, les concentrations de sérotonine striatale ont été tour à tour décrites comme augmentées (Zhou et al., 1991 ; Guerra et al., 1997 ; Balcioglu et al., 2003) ou inchangées (Breese et al., 1984 ; Erinoff et Snodgrass, 1986). De telles différences ont également été décrites pour le singe traité au MPTP (Schneider, 1990b ; Perez-Otano et al., 1991 ; Russ et al., 1991). Chez l'homme, les données obtenues par imagerie cérébrale (Nakamura et al., 1988) et par analyse post-mortem des concentrations tissulaires (Scatton et al., 1983 ; Ohara et al., 1998) sont plus homogènes et il semble que l'état parkinsonien soit associé à une baisse de la sérotonine striatale. D'un point de vue structural, il est clairement établi que la destruction du système dopaminergique nigro-strié conduit à une hyper-innervation sérotoninergique du striatum dénervé (Breese et al.,

1984 ; Zhou et al., 1991 ; Gaspar et al., 1993 ; Yamazoe et al., 2001) associée à une augmentation de la quantité de transporteurs de la sérotonine (Zhang et al., 2002 ; Kerényi et al., 2003). Les mécanismes à l'origine de cette 'hyper-innervation' sont inconnus même s'il a été suggéré qu'une perte de DA au niveau striatal pourrait déclencher une croissance de fibres sérotoninergiques (Zhou et al., 1991). Ces résultats seraient plutôt en faveur d'une augmentation des contenus striatales de sérotonine d'autant plus qu'il a été démontré dans des études de microdialyse réalisées chez le rat et chez le chat que la DA exercerait un contrôle inhibiteur sur la libération de sérotonine (Hery et al., 1980 ; De Deurwaerdere et al., 1996).

La baisse du rapport 5HIAA/5HT est plus difficile à expliquer, mais ce ralentissement du métabolisme de la sérotonine pourrait permettre de maintenir des niveaux de base élevés (Balcioglu et al., 2003).

En résumé, les **modifications neurochimiques** que nous observons ici chez le **singe éveillé** traité au MPTP lors de la **manifestation des symptômes moteurs parkinsoniens**, peuvent être **corrélées à l'hétérogénéité de la dénervation dopaminergique** observée dans les territoires striataux étudiés. Compte tenu des interactions complexes existant entre les différents systèmes de neurotransmission étudiés, l'interprétation des fluctuations neurochimiques observées n'est pas toujours aisée. Toutefois, nos résultats mettent clairement en exergue **une chute massive des contenus en DA** extracellulaire (et ses métabolites) **associée à une augmentation des concentrations des taux de Glu et de GABA** principalement dans le **territoire sensori-moteur**. Dans le **territoire limbique**, ces fluctuations ne concernent que des **baisses des concentrations de la DA** extracellulaire et de ses métabolites.

III. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES ASSOCIEES A LA RECUPERATION FONCTIONNELLE

III.1. Dopamine, DOPAC et HVA

La récupération des fonctions motrices est associée à des modifications de l'ensemble des neurotransmetteurs étudiés.

Une augmentation des taux de DA est notamment observée au niveau des deux territoires striataux considérés. Bien que les variations moyennes ne soient pas statistiquement

significatives par rapport à 'l'état symptômes moteurs', elles correspondent à un doublement des concentrations dans le territoire limbique les ramenant ainsi aux valeurs basales, et à un triplement pour le striatum sensori-moteur, ce qui les laisse largement inférieures aux valeurs basales. Les concentrations de DOPAC sont elles aussi augmentées, mais de façon non significative par rapport à 'l'état symptômes moteurs', ce qui permet un retour de ces concentrations au niveau basal dans le territoire limbique. Seuls les taux d'HVA sont statistiquement augmentés par rapport à "l'état symptômes moteurs" au niveau des deux territoires striataux, mais restent cependant inférieurs au niveau de base. Ces variations de DA et de ses métabolites s'accompagnent d'une augmentation significative du rapport DOPAC/DA qui se situe à un niveau identique à celui de l'état normal pour le territoire limbique et même au-dessus pour le territoire sensori-moteur. Le rapport HVA/DA est également augmenté dans les deux territoires striataux et bien que ces augmentations ne soient pas significatives par rapport à "l'état symptômes moteurs", les rapports restent 2000 fois et 720 fois plus élevés que ceux mesurés à l'état normal respectivement pour les régions striatales sensori-motrice et limbique.

À l'état de récupération motrice, le turn-over de la transmission dopaminergique semble donc être accéléré dans les deux territoires striataux étudiés. De telles observations ont déjà été décrites dans des modèles de chat et de singe traités au MPTP récupérant spontanément de leur symptômes moteurs (Schneider et Rothblat, 1991 ; Schneider et al., 1994; Rose et al., 1989) ainsi que dans des modèles de lésions partielles de rat traités à la 6-OHDA (Dentresangle et al., 2001). De même, une augmentation des rapports DOPAC/DA et HVA/DA a été rapportée après analyse post-mortem des concentrations striatales, chez des singes traités au MPTP ayant totalement récupéré de leurs symptômes moteurs (Petzinger et al., 2006). D'autre part, il semble que l'augmentation du turn-over dopaminergique soit liée à une augmentation de la synthèse et de l'activité TH, particulièrement au niveau du striatum ventral moins atteint par la dénervation dopaminergique (Zigmond et al., 1984 ; Rothblat et al., 2001).

Malgré cette hausse des contenus en DA et probablement de son turn-over, les concentrations de DA et de ses métabolites au niveau du striatum sensori-moteur restent très inférieures à celles de l'état contrôle. Une étude réalisée chez le singe MPTP a néanmoins montré que des niveaux de DA striatale correspondant à 5-10 % de ceux de l'état contrôle étaient suffisants pour permettre une récupération des fonctions motrices normales (Elsworth et al., 2000). Cette faible augmentation pourrait résulter d'une diffusion à partir du territoire limbique, où les taux de DA à 'l'état récupéré' ne sont pas statistiquement différents de ceux de l'état

normal. En effet, une étude de microdialyse *in vivo* réalisée chez le chat traité au MPTP et après récupération motrice a montré que la DA libérée dans la partie ventrale relativement préservée, pouvait diffuser sur une large distance (5 à 7,7 mm) jusqu'à la partie dorso-latérale du striatum, beaucoup plus affectée par la déafférentation dopaminergique (Schneider et al., 1994). Les auteurs ont également montré que chez ces animaux récupérés, la libération locale de DA au niveau du striatum dorsolatérale ne représentait qu'une faible contribution à la quantité totale de DA détectée dans cette zone. Cette diffusion serait alors permise par l'activation de la transmission volumique (Fuxe et Agnati, 1991). En effet, deux types de transmission synaptique ont été décrits au niveau du striatum : 1) la transmission classique, où la clearance de la dopamine s'effectue principalement par recapture ; 2) la transmission volumique où l'élimination de la DA se fait par diffusion en dehors de l'espace synaptique. Dans des conditions de dénervation dopaminergique, l'élimination de la DA passerait préférentiellement par une transmission volumique (Robinson et al., 1988 ; Bjelke et al., 1994 ; Schneider et al., 1994). De façon intéressante, des études de 'binding' réalisées chez le singe et le chat traités au MPTP ont montré que la récupération des symptômes moteurs s'accompagnait d'une diminution du nombre de sites de recapture de la DA au niveau striatal et particulièrement au niveau du striatum ventral (Frohna et al., 1995 ; Rothblat et al., 2001 ; Petzinger et al., 2006). Ce phénomène pourrait faciliter la transmission volumique en augmentant le temps de présence de la DA dans l'espace extracellulaire.

Il a également été proposé que l'augmentation de la libération de DA et de ses métabolites observée chez les animaux ayant récupéré de leurs symptômes moteurs pourrait provenir d'une réinnervation des territoires striataux déafférentés. En effet, une repousse des fibres dopaminergiques nigro-striées a été observée dans plusieurs études réalisées sur des rats traités à la 6-OHDA et partiellement lésés (Blanchard et al., 1996; Liberatore et al., 1999 ; Stanic et al., 2003). De même, la présence de fibres dopaminergiques présentant de nombreux embranchements et qui n'avaient pas été observées chez des animaux contrôles, a été décrite dans le striatum de macaque intoxiqués au MPTP présentant des degrés symptomatiques divers et sacrifiés 4 à 5 semaines après la dernière injection de MPTP (Song et Haber, 2000). Ces auteurs ont suggéré que ces fibres à la morphologie particulière correspondraient en fait à des fibres dopaminergiques en état de repousse. Même si nous ne pouvons pas totalement exclure la possibilité d'une implication d'une repousse des axones dopaminergiques dans les augmentations des taux de DA que nous observons dans notre étude, nos résultats de marquage TH ne sont pas en faveur de cette hypothèse. En effet, la comparaison du marquage TH striatal de singes sacrifiés à "l'état symptômes moteurs" et de nos singes (sacrifiés après

récupération des symptômes moteurs) ne permet pas de mettre en évidence de différence du nombre de fibres immunomarquées à la TH entre ces deux groupes. Il est possible que cette absence de différence soit due à la résolution des techniques de marquage que nous utilisons, et qui ne nous permet pas une telle analyse.

III.2. Glutamate et GABA

Les concentrations de Glu et de GABA du territoire sensori-moteur du striatum ne sont pas statistiquement modifiées par la récupération des symptômes moteurs, même si elles présentent une tendance à l'augmentation. Elles restent donc très supérieures aux concentrations de l'état normal. Dans le territoire limbique, ces taux montrent une tendance à la baisse par rapport à "l'état symptômes moteurs", même si ces modifications ne sont pas statistiquement significatives. Les concentrations de GABA sont à un niveau significativement inférieur à celui de l'état normal alors que celles de Glu sont statistiquement non différents de l'état normal.

L'hyperactivité glutamatergique et GABAergique striatale observée dans la MP est considérée comme une conséquence directe du dysfonctionnement de la transmission dopaminergique striatale et a été proposée comme contribuant aux déficits moteurs parkinsoniens (Chase et Oh, 2000). Des études pharmacologiques réalisées chez le rat ont en effet permis de montrer que des injections intrastriales de MK801 (antagoniste spécifique des récepteurs glutamatergique NMDA) ou de 4C3HPG (antagoniste spécifique des récepteurs glutamatergiques métabotropiques de type I) permettaient de supprimer respectivement les catalepsies induites par des injections de neuroleptiques (Elliott et al., 1990) ou la rigidité induite par l'halopéridol (Lorenc-Koci et al., 2001). D'autre part, l'injection intrastriale de D-CPP, un antagoniste des récepteurs NMDA, chez des rats traités à la réserpine (Carroll et al., 1995) ou chez des singes marmousets rendus parkinsoniens par injection de 6-OHDA ou de MPTP (Mitchell et Carroll, 1997) entraîne une suppression de l'akinésie chez les premiers et de l'ensemble des symptômes parkinsoniens chez les seconds. Ainsi, il semble qu'une réduction de la neurotransmission glutamatergique striatale pourrait conduire à une amélioration des symptômes moteurs parkinsoniens. Les effets induits par des microinjections intrastriales d'antagonistes GABAergiques réalisées sur nos singes parkinsoniens après récupération motrice n'ont pas permis d'aboutir à des conclusions similaires pour la neurotransmission GABAergique (Mounayar et al., données non publiées ; en préparation).

Le retour, à ‘l’état récupéré’, des concentrations de Glu et de GABA mesurées à un niveau similaire à celui détecté à l’état normal au niveau limbique n’est pas surprenante, et découle probablement de l’augmentation des concentrations de DA. Par contre, le niveau élevé que conservent ces mêmes concentrations de Glu et de GABA au niveau du territoire sensori-moteur est plus étonnant. Il est possible que la quantité de DA présente au niveau du territoire sensori-moteur à ‘l’état récupéré’ (provenant d’une libération endogène et/ou d’une diffusion à partir du territoire limbique) soit suffisante pour restaurer une transmission dopaminergique a minima permettant une récupération motrice quasi normale, mais qu’elle soit insuffisante pour permettre de réguler les autres dysfonctionnements neurochimiques induits durant ‘l’état symptômes moteurs’. Il est intéressant de noter que dans ces conditions, une récupération même partielle des systèmes de neurotransmissions glutamatergiques et GABAergiques au sein du striatum sensori-moteur n’est pas nécessaire à la récupération motrice. Les effets induits par les traitements L-Dopa sur l’ensemble de ces systèmes de neurotransmission pourraient aller dans ce sens. En effet, le traitement des symptômes moteurs parkinsoniens lié à la prise quotidienne de L-Dopa peut être associé à un retour à un état moteur normal. Le rôle joué par la L-Dopa sur la neurotransmission dopaminergique est clair. Par contre, les effets de ces mêmes traitements sur les systèmes glutamatergiques et GABAergiques sont plus controversés. Certaines études décrivent une facilitation de la libération de Glu (Jonkers et al., 2002) et une augmentation de l’expression ou de l’activité de la GAD consécutive à une lésion dopaminergique (Engber et al., 1991; Soghomonian et al., 1996 ; Katz et al., 2005), tandis que d’autres révèlent une réversion de l’hyperactivité glutamatergique (Morari et al., 1998 ; Picconi et al., 2004) et une réversion totale (Nielsen et Soghomonian, 2003, 2004) ou partielle (Zeng et al., 1995) de l’augmentation de l’activité glutamate décarboxylase striatale (GAD67 principalement) induite par la lésion 6-OHDA (Perry et al., 1983 ; Lindfors et al., 1993).

III.3. Sérotonine et 5HIAA

La récupération des symptômes moteurs conduit à une diminution des concentrations de sérotonine et à une augmentation des concentrations de 5HIAA au niveau des deux territoires striataux étudiés. Bien que ces variations entre ‘l’état symptômes moteurs’ et récupéré ne soient pas significatives pour la sérotonine, sa concentration limbique est ramenée à celle de l’état normal. Ces modifications conduisent à un rapport 5HIAA/5HT statistiquement non différent de celui de l’état normal au niveau du striatum sensori-moteur et limbique.

L'origine et la fonction physiologique de l'hyper-innervation sérotoninergique striatale observée dans des modèles animaux de la MP ne sont pas connues (Zhou et al., 1991 ; Gaspar et al., 1993 ; Rozas et al., 1998 ; Yamazoe et al., 2001). Cependant, plusieurs études ayant montré que la sérotonine était capable de favoriser la libération de DA (Benloucif et Galloway, 1991 ; Yadid et al., 1994 ; Bonhomme et al., 1995 ; Yeghiayan et al., 1997), il a été proposé que cette repousse sérotoninergique correspondrait à un mécanisme de compensation permettant de retarder l'apparition des symptômes moteurs de la maladie en stimulant la libération de DA des fibres dopaminergiques restantes (Balcioglu et al., 2003). Des études pharmacologiques ont montré que l'administration systémique d'agonistes spécifiques des récepteurs sérotoninergiques permettait de normaliser l'augmentation de Glu induite au niveau du striatum par une lésion à la 6-OHDA (Mignon et Wolf, 2005) et de réverser la baisse d'expression des ARNm de la proprétachikinine produite par le même type de lésion (Gresch et Walker, 1999). Cependant, compte tenu du mode d'administration utilisé dans ces études, il est difficile d'attribuer les effets bénéfiques de ces injections d'agonistes sérotoninergiques à une action striatale.

Enfin, nos résultats neurochimiques vont plutôt à l'encontre d'un effet positif de la sérotonine dans le rétablissement (ou le maintien) de fonctions motrices normales. En effet, l'augmentation des concentrations striatales de sérotonine semble plutôt associée à l'apparition des symptômes moteurs alors que la récupération de fonctions motrices normales serait plutôt liée à leur baisse dans le striatum sensori-moteur et à leur retour au niveau normal dans le striatum limbique ainsi qu'à une normalisation du métabolisme de la sérotonine. Les effets comportementaux induits par des injections intrastriatales d'antagonistes sérotoninergiques, réalisées par Stéphanie Mounayar, chez les 5 singes MPTP dialysés après récupération des symptômes moteurs confirment cette hypothèse. En effet, l'injection unilatérale de 3 µl de Miansérine (antagoniste sérotoninergique ; 3 µg/µl) au niveau du striatum sensori-moteur et limbique a conduit à l'apparition d'une hyperactivité et de stéréotypies (uniquement pour les injections dans le striatum limbique), mais n'a pas permis de reproduire l'apparition de symptômes moteurs parkinsoniens. Ces résultats suggèrent que la sérotonine n'est pas directement impliquée dans les phénomènes de récupération motrice (Mounayar et al., 2006 ; en préparation).

Compte tenu de l'action inhibitrice exercée par la DA sur la libération de sérotonine (Hery et al., 1980 ; De Deurwaerdere et al., 1996), il est très probable que la baisse des concentrations striatales de sérotonine observée à 'l'état récupéré' soit due à l'augmentation, voire au retour à

un niveau identique à celui d'avant intoxication (territoire limbique) des concentrations de DA striatale.

Finalement, bien que cette croissance endogène et spontanée du système sérotoninergique au niveau des territoires striataux dénervés ne semble pas impliquée fonctionnellement de façon évidente dans la récupération motrice, il est possible qu'elle intervienne dans d'autres processus que nous n'avons pas étudié.

En résumé, nos données neurochimiques obtenues chez le singe traité au **MPTP et ayant récupéré toutes ses fonctions motrices** montrent que :

1) Cette **récupération motrice** pourrait être corrélée à une **augmentation a minima des contenus en DA dans le territoire sensori-moteur**. La transmission dopaminergique ainsi rétablie pourrait suffire pour retrouver une fonctionnalité normale des comportements moteurs étudiés.

2) **L'origine de cette augmentation a minima des taux de DA** dans les territoires sensori-moteurs pourrait venir non seulement d'une **libération endogène** issue des terminaisons dopaminergiques restantes mais aussi possiblement d'un bourgeonnement axonal de ces mêmes neurones dopaminergiques épargnés. Toutefois, l'hypothèse la plus probable consiste à avancer que cette augmentation de DA dans les territoires moteurs du striatum pourrait être aussi liée à **la diffusion volumique de la DA issue des territoires limbiques adjacents**.

3) le **système sérotoninergique** ne semble **pas impliqué dans la récupération motrice**, tout comme les **systèmes glutamatergique et GABAergique** au sein des territoires sensori-moteurs.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif de la première partie de ce travail de thèse a été de contribuer à la compréhension des mécanismes de la SHF du NST chez le rat par le biais d'une approche fonctionnelle *in vivo*, la microdialyse intracérébrale. L'originalité de cette étude repose essentiellement sur le fait que nous avons travaillé sur l'animal éveillé libre de ses mouvements, ce qui nous a permis dans un premier temps d'observer l'ensemble des comportements moteurs induits par la SHF du NST en fonction des paramètres utilisés. Les effets moteurs observés sous SHF du NST, et notamment les dyskinésies de la patte avant controlatérale ont été corrélés par la suite aux modifications des contenus en Glu et GABA au sein d'une des principales structures de sortie des ganglions de la base, la SNr.

Les observations comportementales que nous avons réalisées chez le rat sain et hémiparkinsonien sous l'effet de la stimulation du NST ont révélé que le choix des paramètres de stimulation et plus particulièrement celui de l'intensité, représentait un élément majeur dans l'apparition de ces comportements. Nous avons montré que pour des valeurs de fréquence et de largeur d'impulsion identiques à celles utilisées en clinique humaine (130 Hz, 60 μ s) l'augmentation de l'intensité de stimulation conduisait à des comportements moteurs allant de l'absence totale de comportements jusqu'à la rotation contralatérale en passant par des dyskinésies orofaciales, axiales et de la patte avant controlatérale au côté stimulé.

Sur la base de cette étude comportementale et grâce à la mise au point d'un système de microdialyse intracérébrale adapté à l'animal éveillé, nous avons montré que la SHF du NST appliquée à une intensité induisant l'apparition de dyskinésies de la patte avant (intensité forte) conduisait systématiquement à une augmentation des taux de glutamate dans la SNr, tant chez les animaux sains qu'hémiparkinsoniens. Au contraire, lorsque la stimulation était appliquée à une intensité n'induisant pas de comportement moteur spécifique (intensité faible), aucune augmentation de glutamate n'était observée au sein de la SNr, seuls les taux de GABA étaient augmentés chez les animaux hémiparkinsoniens. Ces résultats confirment des données électrophysiologiques obtenues récemment chez l'animal anesthésié qui montrent que l'inhibition ou l'activation de l'activité des cellules de la SNr dépend de l'intensité de stimulation utilisée (Maurice et al., 2003). Ces données neurochimiques ont également confirmé ce qui avait été pressenti au niveau comportemental, en montrant que l'impact de la SHF du NST sur les effets moteurs bénéfiques ou délétères observés chez le patient parkinsonien pouvaient être sous-tendus par des bases neurochimiques différentes selon l'intensité appliquée. Ainsi, les dyskinésies de la patte avant induites par la stimulation, et qui pourraient être attribuées à des effets délétères de celle-ci, semblent être reliée à une libération

intra-nigrale accrue de glutamate. Au contraire, les effets non délétères (pas de comportements moteurs spécifiques) semblent plutôt associés à une libération de GABA et suggèrent que le GABA jouerait un rôle clé dans l'inhibition des voies de sorties des ganglions de la base induite par la SHF du NST, clarifiant ainsi davantage les mécanismes de la SHF du NST. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus chez l'animal anesthésié (Windels et al., 2000).

L'utilisation d'injections pharmacologiques intra-nigrales d'agonistes ou d'antagonistes glutamatergiques nous a permis de confirmer fonctionnellement l'implication du glutamate nigral dans l'apparition des dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST. Ceci va à l'encontre des hypothèses émises sur l'apparition de mouvements hémiballiques chez des patients victimes de lésion du NST, ce qui soulève certainement un débat intéressant.

Bien que l'origine gliale ou neuronale des acides aminés libérés au cours de la stimulation du NST ne soit pas clairement déterminée, il est très probable que l'augmentation de ces contenus extracellulaires possède des conséquences fonctionnelles importantes. Ainsi, il apparaît nécessaire de déterminer les adaptations neuro-anatomiques associées à ces variations de neurotransmetteurs afin de pouvoir mieux comprendre leurs rôles fonctionnels. De tels travaux sont actuellement en cours au laboratoire où les modifications d'expression génique des récepteurs dopaminergiques, glutamatergiques et GABAergiques induites par la SHF du NST chez le rat sain et 6-OHDA sont étudiées dans chaque structure des ganglions de la base. Les données obtenues permettront de mieux comprendre l'influence exercée par la stimulation du NST sur le contrôle de la balance glutamate/GABA au sein des structures de sorties des ganglions de la base. La caractérisation des acteurs de la cascade de signalisation intracellulaire reliée à ces modifications d'expression génique des récepteurs impliqués, sera également envisagée. De même, et compte tenu de l'importance que semble jouer la libération de glutamate au sein de la SNr dans l'apparition de dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST, il apparaîtrait intéressant de mieux caractériser les acteurs clés de ces dyskinésies notamment en déterminant les sous-types de récepteurs glutamatergiques nigraux impliqués dans ces processus. L'injection, au niveau de la SNr, d'agonistes et d'antagonistes glutamatergiques spécifiques des récepteurs ionotropiques ou métabotropiques devrait permettre de répondre à ces questions.

L'apparition de dyskinésies observée chez les malades parkinsoniens après plusieurs années de traitement à la L-DOPA représente un des inconvénients majeurs de ce traitement. Aujourd'hui, l'origine de ces dyskinésies L-DOPA induites n'est toujours pas clarifiée.

Compte tenu 1) de nos observations montrant que la SHF du NST est capable d'induire les mêmes mouvements dyskinétiques que ceux induits par un traitement à la L-DOPA dans une situation parkinsonienne, et 2) d'une étude précédente montrant l'implication du glutamate nigral dans l'apparition des dyskinésies L-DOPA induites (Robelet et al., 2004), il apparaît intéressant de confirmer l'implication de la libération de glutamate nigral dans la genèse des dyskinésies L-DOPA induites et d'aller voir si les mécanismes responsables de ces dyskinésies pourraient être similaires à ceux impliqués dans les dyskinésies de la patte avant sous SHF du NST. Par ailleurs, les traitements pharmacologiques actuels visant à diminuer ces dyskinésies sont essentiellement orientés vers le rétablissement d'une stimulation physiologique des récepteurs dopaminergiques du striatum. La découverte d'un rôle de la libération de glutamate au niveau de la SNr dans l'apparition des dyskinésies L-DOPA induites pourrait permettre de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques permettant de traiter ces dyskinésies qui ont été évoquées pour le striatum et de façon plus anecdotique pour les voies de sortie des ganglions de la base.

L'objectif de la deuxième partie de ce travail de thèse a consisté à corréler des modifications neurochimiques au niveau du striatum aux mécanismes sous-tendant la récupération des fonctions motrices chez le singe intoxiqué au MPTP après arrêt du traitement. Au cours de cette étude, nous avons montré entre autre une augmentation de la transmission dopaminergique dans les territoires limbique et sensori-moteur du striatum à l'état de récupération fonctionnelle par rapport à l'état symptomatique. Ces augmentations, bien que faibles, pourraient être suffisantes pour compenser les symptômes moteurs. Cette hypothèse a été renforcée par les résultats d'une étude comportementale complémentaire. En effet, l'injection d'antagonistes dopaminergiques au niveau du striatum sensori-moteur d'animaux ayant récupéré de leurs symptômes moteurs nous a permis de reproduire les symptômes moteurs (akinésie, rigidité) caractéristiques de l'état parkinsonien (Mounayar et al., 2006, en préparation).

Afin de mieux cerner l'implication fonctionnelle de ces augmentations de libération de dopamine striatale, ces données pourraient être complétées par une étude des modifications d'expression des récepteurs dopaminergiques striataux à l'état de récupération motrices par rapport à l'état symptômes moteurs. Une augmentation de l'expression des récepteurs D2 du striatum a déjà été décrite dans la littérature à l'état symptomatique, mais pas à l'état de récupération. De même, des modifications d'expression du récepteur D3 ont également été rapportées à l'état de récupération. Des investigations pharmacologiques visant à clarifier la

part respective jouée par ces différents sous-types de récepteurs dopaminergiques striataux pourraient être envisagées.

Il nous semble également important de voir si ces augmentations de dopamine striatale peuvent également être sous-tendues, en dehors de la possibilité d'une diffusion volumique déjà démontrée dans de précédentes études chez le chat (Schneider et al., 1994), par l'existence d'une repousse axonale et ainsi d'une ré-innervation fonctionnelle même partielle des territoires striataux. La mise en évidence de cônes de croissance dans le striatum en microscopie électronique pourrait permettre de répondre à cette question.

Enfin, aux vues de nos données qui suggèrent que les systèmes glutamatergiques et GABAergiques striataux ne sont pas directement impliqués dans les mécanismes à l'origine de la récupération de fonctions motrices normales, il serait intéressant d'étudier, par les mêmes approches biochimique, pharmacologique et morphologique, les mécanismes de plasticité qui pourraient intervenir au niveau de structures extra-striatales comme par exemple le pallidum. En effet, plusieurs études suggèrent que l'innervation dopaminergique au niveau du pallidum pourrait permettre de compenser les symptômes moteurs rencontrés dans la MP (Gash et al., 1996 ; Galvan et al., 2001 ; Whone et al., 2003). Une telle étude permettrait de clarifier le rôle de l'innervation dopaminergique du pallidum dans les phénomènes de récupération et d'orienter la recherche thérapeutique vers le maintien de cette innervation ou la stimulation de celle-ci dès les phases précoces de la maladie de Parkinson.

L'ensemble de ce travail a permis d'approfondir la compréhension des mécanismes de la SHF du NST ainsi que ceux à l'origine de la récupération motrice fréquemment observée chez le singe MPTP. Cette étude met l'accent sur l'importance de considérer la compréhension des mécanismes de la SHF du NST au regard des effets comportement induits par de celle-ci, qu'ils soient bénéfiques ou délétères. Ces travaux soulignent également l'implication possible de la transmission dopaminergique striatale dans le retour à un état moteur fonctionnel normal suite à l'arrêt de l'intoxication au MPTP chez le singe ayant présenté des symptômes moteurs parkinsoniens. Les résultats fournis par ces études pourraient permettre d'ouvrir la voie vers le développement de stratégies médicamenteuses ciblées permettant : 1) de suppléer la SHF du NST ; 2) de palier aux dyskinésies induites par la L-DOPA ; 3) de mettre en place de manière précoce des traitements de la MP basés sur des processus d'adaptation compensatoire vis-à-vis de la perte en dopamine.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Afsharpour S (1985) Topographical projections of the cerebral cortex to the subthalamic nucleus. *J Comp Neurol* 236:14-28.
- Aghajanian GK (1994) Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. In : Bloom FE, Kupfer DJ (Eds), *Psychopharmacology : The fourth generation of progress*. Raven Pres, NY, pp 451-460.
- Agid Y (1991) Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 337:1321-1324.
- Agid Y, Javoy F and Glowinski J (1973) Hyperactivity of remaining dopaminergic neurones after partial destruction of the nigro-striatal dopaminergic system in the rat. *Nature* 245:150-151.
- Agid Y, Javoy-Agid F and Ruberg M (1987) Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. In: Marsden, C.D., Fahn, S. (Eds.), *Movement Disorders*. Springer/Butterworth, London, pp 166-230.
- Ahlskog JE and Muenter MD (1991) Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord* 16:448-458.
- Aizman O, Brismar H, Uhlen P, Zettergren E, Levey AI, Forssberg H, Greengard P and Aperia A (2000) Anatomical and physiological evidence for D1 and D2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. *Nat Neurosci* 3:226-230.
- Albin RL, Young AB and Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375.
- Albin RL, Young AB and Penney JB (1995) The functional anatomy of disorders of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 18:63-64.
- Alexander GM, Brainard DL, Gordon SW, Hichens M, Grothusen JR and Schwartzman RJ (1991) Dopamine receptor changes in untreated and (+)-PHNO-treated MPTP parkinsonian primates. *Brain Res* 547:181-189.
- Alexander GE and Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neuronal substrates and parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266-271.
- Alexander GE, Crutcher MD and DeLong MR (1990) Basal ganglia thalamocortical circuits; parallel substrates for motor, oculomotor, prefrontal and limbic functions. *Progr Brain Res* 85:119-146.
- Altar CA, Marien MR and Marshall JF (1987) Time course of adaptations in dopamine biosynthesis, metabolism, and release following nigrostriatal lesions: implications for behavioural recovery from brain injury. *J Neurochem* 48:390-399.
- Andy OJ, Jurko MF and Sias Jr FR (1963) Subthalamotomy in treatment of parkinsonian tremor. *J Neurosurg* 20:860-870.
- Anglade P, Tsuji S, Javoy-Agid F, Agid Y and Hirsch EC (1995) Plasticity of nerve afferents to nigrostriatal neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 37:265-272.
- Anglade P, Vyas S, Hirsch EC and Agid Y (1997) Apoptosis in dopaminergic neurons of the human substantia nigra during normal aging. *Histol Histopathol* 12:603-610.
- Arai T, Aoki M, Murakawa M, Nakao S, Mori K and Kurihara N (1990) The effects of halothane on the contents of putative transmitter amino acids in whole rat brain. *Neurosci Lett* 117:353-357.
- Araque A and Perea G (2004) Glial modulation of synaptic transmission in culture. *Glia* 47:241-248.
- Ariano MA (1988) Striatal dopamine receptor distribution following chemical lesion of the nigrostriatal pathways. *Brain Res* 443:204-214.
- Aubert I, Guigoni C, Hakansson K, Li Q, Dovero S, Barthe N, Bioulac BH, Gross CE, Fisone G, Bloch B and Dezard E (2005) Increased D1 dopamine receptor signaling in levodopa-induced dyskinesia. *Ann Neurol* 57:17-26.
- Aziz TZ, Peggs D, Sambrook MA and Crossman AR (1991) Lesion of the subthalamic nucleus for the alleviation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) induced parkinsonism in the primate. *Mov Disord* 6:288-292.

B

- Baas H (2000) Dyskinesia in Parkinson's disease. Pathophysiology and clinical risk factors. *J Neurol* 247 :S12-S16.

- Bacci JJ, Kachidian P, Kerkerian-Le Goff L and Salin P (2004) Intralaminar thalamic nuclei lesions: widespread impact on dopamine denervation-mediated cellular defects in the rat basal ganglia. *J Neuropathol Exp Neurol* 63:20-31.
- Baker DA, Xi ZX, Shen H, Swanson CJ and Kalivas PW (2002) The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. *J Neurosci* 22:9134-9141.
- Balcioglu A, Zhang K and Tarazi FI (2003) Dopamine depletion abolishes apomorphine and amphetamine induced increases in extracellular serotonin levels in the striatum of conscious rats: a microdialysis study. *Neurosci* 119:1045-1053.
- Barnes JM and Barnes NM (1998) Neurochemical consequences following pharmacological manipulation of central 5-HT₄ receptors. In: Eglén RM editor. *5-HT₄ receptors brain periphery*. Berlin, Germany: Springer, pp 103-126.
- Baron MS, Vitek JL, Bakay RA, Green J, Kaneoke Y, Hashimoto T Et al. (1996) Treatment of advanced Parkinson's disease by posterior Gpi pallidotomy: 1-year results of a pilot study. *Ann Neurol* 40:355-366.
- Baufreton J, Garret M, Rivera A, de la Calle A, Gonon F, Dufy B, Bioulac B and Taupignon a (2003) D₅ (not D₁) dopamine receptors potentiate burst-firing in neurons of the subthalamic nucleus by modulating an L-type calcium conductance. *J Neurosci* 23:816-825.
- Baumeister AA and Frye GD (1984) Self-injurious behavior in rats produced by intranigral microinjection of GABA agonists. *Pharmacol Biochem Behav* 21:89-95.
- Beal MF, Mazurek MF and Martin JB (1987) A comparison of somatostatin and neuropeptide Y distribution in monkey brain. *Brain Res* 405 :213-219.
- Beckstead RM (1983) A pallidostriatal projection in the cat and monkey. *Brain Res Bull* 11:629-632.
- Beckstead RM (1985) Complementary mosaic distributions of thalamic and nigral axons in the caudate nucleus of the cat: double anterograde labeling combining autoradiography and wheat germ-HRP histochemistry. *Brain Res* 335:153-159.
- Beer MS, Middlemiss DN and McAllister G (1993) 5HT₁ like receptors: six down and still counting. *Trends Pharmacol Sci* 14:228-231.
- Bejjani B, Arnulf I, Demeret S, Damier P, Bonnet AM, Houeto JL and Agid Y (2000) Levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: is sensitization reversible? *Ann Neurol* 47:655-658.
- Bejjani B, Damier P, Arnulf I, Bonnet AM, Vidailhet M, Dormont D, Pidoux B, Cornu P, Marsault C And Agid Y (1997) Pallidal stimulation for Parkinson's disease: two targets? *Neurology* 49:1564-1569.
- Benabid AL, Benazzouz A, Limousin P, Koudsie A, Krack P, Piallat B et al; (2000) Dyskinesias and the subthalamic nucleus. *Ann Neurol* 47:S189-S192.
- Benabid AL, Benazzouz A and Pollak P (2002) Mechanisms of deep brain stimulation. *Mov Disord* 3:S73-S74.
- Benabid AL, Pollak P, Louveau A, Henry S And De Rougemont J (1987) Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease. *Appl Neurophysiol* 50:344-346.
- Benabid AL, Pollak P, Gao D, Hoffman D, Limousin P, Gay E, Payen I And Benazzouz A (1996) Chronic electrical stimulation of the ventralis intermedialis nucleus of the thalamus as a treatment of movement disorders. *J Neurosurg* 84:203-214.
- Benabid AL, Pollak P, Gervason C, Hoffman D, Gao DM, Hommel M, Perret JE and De Rougemont J (1991) Long term suppression of tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate thalamic nucleus. *Lancet* 337:403-406.
- Benabid AL, Pollak P, Gross C, Hoffman D, Benazzouz A, Gao DM, Laurent A, Gentil M and Perret J (1994) Acute and long term effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg* 62:76-84.
- Benazzouz AL, Breit S, Koudsie A, Pollak P, Krack P and Benabid AL (2002) Intraoperative microrecordings of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Mov Disord* 17:S13-S16.
- Benazzouz AL, Gao D, Ni Z and Benabid AL (2000) High frequency stimulation of the STN influences the activity of dopamine neurons in the rat. *Neuroreport* 11:1593-1596.
- Benazzouz A, Gross C, Féger J, Boraud T And Bioulac B (1993) Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. *Eur J Neurosci* 5:382-389.

- Benazzouz A, Piallat B, Pollak P and Benabid AL (1995) Responses of the substantia nigra pars reticulata and globus pallidus complex to high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats : electrophysiological data. *Neurosci Lett* 189:77-80.
- Benloucif S and Galloway MP (1991) Facilitation of dopamine release in vivo by serotonin agonists: studies with microdialysis. *Eur J Pharmacol* 200:1-8.
- Bennett BD and Bolam JP (1993) Characterization of calretinin-immunoreactive structures in the rat striatum of rat. *Brain Res* 609:137-148.
- Bennett BD and Bolam JP (1994) Synaptic input and output of parvalbumin immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat. *Neurosci* 62:707-719.
- Benveniste H and Huttemeier PC (1990) Microdialysis--theory and application. *Prog Neurobiol* 35 :195-215.
- Berendse HW, Voorn P, te Kortschot A and Groenewegen HJ (1988) Nuclear origin of thalamic afferents of the ventral striatum determines their relation to patch/matrix configurations in enkephalin-immunoreactivity in the rat. *J Chem Neuroanat* 1 :3-10.
- Berg D, Schweitzer KJ, Leitner P, Zimprich A, Lichtner P, Belcredi P, Brüssel T, Schulte C, Maass S, Nägele T, Wszolek ZK and Gasser T (2005) Type and frequency of mutations in the LRRK2 gene in familial and sporadic Parkinson's disease. *Brain* 128:3000-3011.
- Bergman H, Raz A, Feingold A, Nini A, Nelken I, Hansel D, Ben Pazi H and Reches A (1998) Physiology of MPTP tremor. *Mov Disord* 13:S29-S34.
- Bergman H, Wichmann T and DeLong MR (1990) Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 249 :1436-1438.
- Bergman H, Wichmann T, Karmon B and DeLong R (1994) The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 72:507-520.
- Bergmann O, Winter C, Meissner W, Harnack D, Kupsch A, Morgenstern R and Reum T (2004) Subthalamic high frequency stimulation induced rotations are differentially mediated by D1 and D2 receptors. *Neuropharmacol* 46:974-983.
- Berke JD, Paletzki RF, Aronson GJ, Hyman SE and Gerfen CR (1998) A complex program of striatal gene expression induced by dopaminergic stimulation. *J Neurosci* 18:5301-5310.
- Bernheimer H, Birkmayer K, Hornykiewicz O, Jellinger K and Seiterberger F (1973) Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington : clinical, morphological, and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 20:415-455.
- Bertholon F (1998) Etude par microdialyse intracérébrale chez le rat des effets de la stimulation du noyau subthalamique. Thèse de Neurosciences soutenue le 3 décembre 1998, Université Joseph Fourier, Grenoble I.
- Besson MJ, Graybiel AM and Quinn B (1990) Co-expression of neuropeptides in the cat's striatum: an immunohistochemical study of substance P, dynorphin B and enkephalin. *Neurosci* 39:33-58.
- Betardet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV and Greenamyre JT (2000) Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 3:1301-1306.
- Beurrier C, Bezard E, Bioulac B and Gross C (1997) Subthalamic stimulation elicits hemiballismus in normal monkey. *Neuroreport* 8:1625-1629.
- Beurrier C, Bioulac B, Audin J and Hammond C (2001) High-frequency stimulation produces a transient blockade of voltage-gated currents in subthalamic neurons. *J Neurophysiol* 85:1351-1356.
- Bevan MD, Bolam JP and Crossman AR (1994) Convergent synaptic input from the neostriatum and the subthalamus onto identified nigrothalamic neurons in the rat. *Brain Res* 6:320-334.
- Bevan MD and Bolam JP (1995) Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *J Neurosci* 15:7105-7120.
- Bevan MD, Francis CM and Bolam JP (1995) The glutamate-enriched cortical and thalamic input to neurons in the subthalamic nucleus of the rat: convergence with gaba-positive terminals. *J Comp Neurol* 361:491-511.

- Bevan MD, Magill PJ, Terman D, Bolam JP and Wilson CJ (2002) Move to the rhythm: oscillations in the subthalamic nucleus-external globus pallidus network. *Trends Neurosci* 25:525-531.
- Bevan MD, Smith AD and Bolam JP (1996) The substantia nigra as a site of synaptic integration of functionally diverse information arising from the ventral pallidum and the globus pallidus in the rat. *Neurosci* 75:5-12.
- Bevan MD and Wilson CJ (1999) Mechanisms underlying spontaneous oscillation and rhythmic firing in rat subthalamic neurons. *J Neurosci* 19:7617-7628.
- Bezard E, Bioulac B and Gross CE (1998) Glutamatergic compensatory mechanisms in experimental parkinsonism. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiat* 22:609-623.
- Bezard E, Brotchie JM and Gross C (2001d) Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci* 2:577-588.
- Bezard E, Crossman AR, Gross CE and Brotchie JM (2003) Structures outside the basal ganglia may compensate for dopamine loss in the presymptomatic stages of Parkinson's disease. *FASEB* 15:1092-1094.
- Bezard E and Gross CE (1998) Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism : towards a dynamic approach. *Prog Neurobiol* 55:93-116.
- Bezard E, Gross CE and Brotchie JM (2001c) Presymptomatic compensation in Parkinson's disease is not dopamine-mediated. *TRENDS in Neurosci* 26:215-221.
- Bezard E, Imbert C, Deloire X, Bioulac B And Gross C (1997) A chronic MPTP model reproducing the slow evolution of Parkinson's disease: evolution of motor symptoms in the monkey. *Brain Res* 766:107-112.
- Bezard E, Jaber M, Gonon F, Boireau A, Bloch B and Gross CE (2000) Adaptive changes in the nigrostriatal pathway in response to increased 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurodegeneration in the mouse. *Eur J Neurosci* 12:2892-2900
- Bezard E, et al. (2000) Evolution of the multiunit activity of basal ganglia in the course of a dynamic experimental parkinsonism. *The Basal Ganglia IV* (Graybiel A. et al., eds), Kluwer.
- Bezard E, Ravenscroft P, Gross CE, Crossman AR and Brotchie JM (2001b) Upregulation of striatal preproenkephalin gene expression occurs before the appearance of Parkinsonian signs in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine monkeys. *Neurobiol Dis* 8:343-350.
- Biggs CS, Fowler LJ, Whitton PS and Starr MS (1995) impulse-dependent and tetrodotoxin-sensitive release of GABA in the rat's substantia nigra measured by microdialysis. *Brain Res* 684:172-178.
- Bilang-Bleuel A, Revah F, Colin P, Locquet I, Robert JJ, Mallet J and Horellou P (1997) Intra-striatal injection of an adenoviral vector expressing glial-cell-line-derived neurotrophic factor prevents dopaminergic neuron degeneration and behavioural impairment in a rat model of Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci* 94:8818-8823.
- Bjelke B, Strömberg I, O'Connor WT, Andbjør B, Agnati LF and Fuxe K (1994) Evidence for volume transmission in the dopamine denervated neostriatum after of the rat after a unilateral nigral 6-OHDA microinjection. Studies with systemic D-amphetamine treatment. *Brain Res* 662:11-24.
- Björklund A and Stevén U (1985) *Neural grafting in the mammalian CNS*. Elsevier science, Amsterdam.
- Björklund A, Rosenbald C, Winkler C And Kirik D (1997) Studies on neuroprotective and regenerative effects of GDNF in a partial lesion model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 4:186-200.
- Blanchard V, Christin M, Vyas S, Savasta M, Javoy-Agid F, Feuerstein C, Agid Y and Raisman-Vozari R (1995) Long-term induction of tyrosine hydroxylase: compensatory response to partial degeneration of the dopaminergic nigrostriatal system in the rat brain. *J Neurochem* 64:1669-1679.
- Blanchard V, Anglade P, Dziewczapolski G, Savasta M, Agid Y and Raisman-Vozari R (1996) Dopaminergic sprouting in the rat striatum after partial lesion of the substantia nigra. *Brain Res* 709:319-325.
- Blanchet PJ, Metman LV, Mouradian MM and Chase TN (1996) Acute pharmacologic blockade of dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord* 11:580-581.
- Blandini F, Garcia-Osuna M and Greenamyre JT (1997) Subthalamic ablation reverses changes in basal ganglia oxidative metabolism and motor response to apomorphine induced by nigrostriatal lesion in rats. *Eur J Neurosci* 9:1407-1414.

- Blond S and Siegfried J (1991) Thalamic stimulation for the treatment of tremor and other movement disorders. *Acta Neurochir* 52:S109-S111.
- Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Banebid AL, Sadoul R and Verna JM (2001) Molecular pathway involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 65:135-172.
- Blunt SB, Jenner P and Marsden CD (1992) Autoradiographic study of striatal D1 and D2 dopamine receptors in 6-OHDA lesioned rat receiving foetal ventral mesencephalic grafts and chronic treatment with L-DOPA and carbidopa. *Brain Res* 582:299-311.
- Bodis-Wollner I (2003) Neuropsychological and perceptual defects in Parkinson's disease. *Parkinsonism and related disorders* 9:S83-S89.
- Bokobza B, Ruberg M, Scatton B, Javoy-Agid F and Agid Y (1984) 3H-spirerone binding, dopamine and HVA concentrations in Parkinson's disease and supranuclear palsy. *Eur J Pharmacol* 99:167-175.
- Bolam JP, Hanley JJ, Booth PA and Bevan MD (2000) Synaptic organisation of the basal ganglia. *J Anat* 196:527-542.
- Bolam JP and Smith Y (1992) The striatum and the globus pallidus send convergent synaptic inputs onto single cells in the entopeduncular nucleus of the rat : a double anterograde labelling study combined with petembedding immunocytochemistry for GABA. *J Comp Neurol* 321:456-476.
- Bolam JP, Smith Y, Ingham CA, Von Krosigk M and Smith AD (1993) Convergence of synaptic terminals from the striatum and the globus pallidus onto single neurones in the substantia nigra and the entopeduncular nucleus. In: *progress in brain research* (Arbutnot GW and Emson PC, Eds), pp 73-88. Amsterdam: elsevier.
- Bolam JP, Wainer BH and Smith AD (1984) Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neurosci* 12:711-718.
- Bonhomme N, De Deurwaerdere P, Le Moal M and Spampinato U (1995) Evidence for 5HT4 receptor subtype involvement in the enhancement of striatal dopamine release induced by serotonin: a microdialysis study in the halothane anesthetized rat. *Neuropharmacology* 34:269-279.
- Bonifati V, Rizzu P, Van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, Dekker MC, Squitieri F, Ibanez P, Joesse M, Van Dongen JW, Vanacore N, Van Swieten JC, Brice A, Meco G, Van Duijn CM, Oostra BA and Heutink P (2003) Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299 :256-259.
- Bourdelaïs A and Kalivas PW (1990) Modulation of extracellular GABA in the ventral pallidum using in vivo microdialysis. *J Neurochem* 58:2311-2320.
- Boraud T, Bezard E, Bioulac B and Gross C (2001) Dopamine agonist induced dyskinesias are correlated to both firing pattern and frequency alteration of pallidal neurons in the MPTP-treated monkey. *Brain* 124:546-557.
- Borden LA (1996) GABA transporter heterogeneity: pharmacology and cellular localization. *Neurochem Int* 4:335-356.
- Borden LA, Dhar TGM, Smith KE, Branchek TA, Weinshank RL and Gluchowski C (1994) Cloning the human homologue of the GABA transporter GAT-3 and identification of a novel inhibitor with selectivity for this site. *Recept Chan* 2:207-213.
- Borden LA, Smith KE, Hartig PR, Branchek TA and Weinshank RL (1992) Molecular heterogeneity of the gamma-aminobutyric acid transport system. *J Biol Chem* 267:21,098-21,104.
- Borden LA, Smith KE, Gustafson EL, Branchek TA and Weinshank RL (1995a) Cloning and expression of a betaine/GABA transporter from human brain. *J Neurochem* 64:977-984.
- Borden LA, Smith KE, Vaysse PJJ, Gustafson EL, Weinshank RL and Branchek TA (1995b) Re-evaluation of GABA transport in neuronal and glial cultures: correlation of pharmacology and mRNA localization. *Recept Chan* 3:129-146.
- Bormann J (2000) The 'ABC' of GABA receptors. *Trends Pharmacol Sci* 21:16-19.
- Bormann J and Feigenspan A (1995) GABAC receptors. *Trends Neurosci* 18 :515-519.
- Borrelli E (2005) Without DJ-1, the D2 receptor doesn't play. *Neuron* 45 :479 :481.

- Bowenkamp KE, Lapchak PA, Hoffer BJ, Miller PJ and Bickford PC (1997) Intracerebroventricular Glial Cell Line-derived neurotrophic factor improves motor function and supports nigrostriatal dopamine neurons in bilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Exp Neurol* 145:104-117.
- Bowery N (1989) GABAB receptors and their significance in mammalian pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 10:401-417.
- Bowery NG, Knott C, Moratella R and Pratt GD (1990) GABAB receptors and their heterogeneity. In *Advances in Biochemical Pharmacology*, Vol. 46, GABA and Benzodiazepine Receptor Subtypes (Eds Biggio G and Costa E), pp 127-139. Raven Press, NY.
- Bowery NG, Price GW, Hudson AL, Hill DR, Wilkin GP and Turnbull MJ (1984) GABA receptor multiplicity. Visualization of different receptor types in the mammalian CNS. *Neuropharmacology* 23:219-231.
- Brann MR and Emson PC (1980) Microiontophoretic injection of fluorescent tracer combined with simultaneous immunofluorescent histochemistry for the demonstration of efferents from the caudate-putamen projecting to the globus pallidus. *Neurosci Lett* 16:61-65.
- Brecha NC and Weigmann C (1994) Expression of GAT-1, a high affinity gamma-aminobutyric acid plasma membrane transporter in the rat retina. *J Comp Neurol* 345:602-611.
- Breese GR, Baumeister AA, McCown TJ, Emerick SG, Frye GD, Crotty K and Mueller RA (1984) Behavioral differences between neonatal and adult 6-hydroxydopamine treated rats to dopamine agonists: relevance to neurological symptoms in clinical syndromes with reduced brain dopamine. *J Pharmacol Exp Ther* 231:343-354.
- Brotchie JM (2005) Nondopaminergic mechanisms in Levodopa-induced dyskinesia. *Mov Disord* 20:919-931.
- Brotchie JM, Lee J and Venderova K (2005) L-Dopa-induced dyskinesia. *J Neural Transm* 19 :583-585.
- Broussolle E and Thobois S (2002) Génétique et facteurs environnementaux de la maladie de Parkinson. *Rev Neurol* 158:7S11-7S23.
- Bruet N (2003) Mécanismes neurochimiques induits par la stimulation électrique du noyau subthalamique. Etude par microdialyse intra- striatale ou intra-nigrale des variations de glutamate, de GABA et de dopamine chez le rat anesthésié et éveillé. Thèse de Neurosciences soutenue le 3 juillet, Université Joseph Fourier, Grenoble I.
- Bruet N, Windels F, Bertrand A, Feuerstein C, Poupard A and Savasta M (2001) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus increases the extracellular contents of striatal dopamine in normal and partially dopaminergic denervated rats. *J Neuropathol Exp Neurol* 60:15-24.
- Bruet N, Windels F, Carcenac C, Feuerstein C, Poupard A, Bertrand A and Savasta M (2003) Neurochemical mechanisms induced by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus: increase of extracellular striatal glutamate and GABA in normal and hemiparkinsonian rats. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:1228-1240.
- Bunzow JR, Van Tol HH, Grandy DK, Albert P, Salon J, Christie M, Machida CA, Neve KA and Civelli O (1988) Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA. *Nature* 336:783-787.
- Buonamici M, Caccia C, Carpentieri M and Pegrassi L (1986) D1 receptor supersensitivity in the rat striatum after unilateral 6-hydroxydopamine lesions. *Eur J Pharmacol* 126 :347-348.
- Burbaud P, Bonnet B, Guehl D, Lagueny A and Bioulac B (1998) Movement disorders induced by gamma-aminobutyric acid agonist and antagonist injections into the internal globus pallidus and substantia nigra pars reticulata of the monkey. *Brain Res* 780 :102-107.
- Burbaud P, Gross C, Benazzouz A, Coussemaque M and Bioulac B (1995) Reduction of apomorphine induced rotational behaviour by subthalamic nucleus lesion in 6-OHDA lesioned rats is associated with a normalization of firing rate and discharge pattern of pars reticulata neurons. *Exp Brain Res* 105:49-58.
- Burbaud P, Gross C and Bioulac B (1994) Effect of subthalamic high-frequency stimulation on substantia nigra pars reticulata and globus pallidus neurons in normal rats. *J Physiol* 88:359-361.
- Burchiel KJ, Anderson VC, Favre J and Hammerstad JP (1999) Comparison of pallidal and subthalamic nucleus deep brain stimulation for advanced Parkinson's disease: results of a randomized, blinded pilot study. *Neurosurgery* 45 :1375-1382.
- Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM and Kopin IJ (1983) A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci* 80:4546-4550.

C

- Caille I, Dumartin B and Bloch B (1996) Ultrastructural localization of D1 dopamine receptor immunoreactivity in rat striatonigral neurons and its relation with dopaminergic innervation *Bran Res* 730:17-31.
- Calabresi P, Mercuri NB, Sancesario G and Bernardi G (1993) Electrophysiology of dopamine-denervated striatal neurons. *Brain* 116:433-452.
- Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Marfia GA, Pisani A, Sancesario G and Bernardi G (2000) Synaptic transmission in the striatum: from plasticity to neurodegeneration. *Prog Neurobiol* 61:231-265.
- Calne DB and Langston JW (1983) Aetiology of Parkinson's disease. *Lancet* 2:1457-1459.
- Calon F, Hadj Tahar A, Blanchet PJ, Morissette M, Grondin R, Goulet M, Doucet JP, Robertson GS, Nestler E, Di Paolo T and Bedard PJ (2000) Dopamine-receptor stimulation: biobehavioral and biochemical consequences. *Trends Neurosci* 23:S92-S100.
- Calon F, Morissette M, Rajput AH, Hornykiewicz O, Bedard PJ and Di Paolo T (2003) Changes of GABA receptors and dopamine turnover in the postmortem brains of parkinsonian with levodopa-induced motor complications. *Mov Disord* 18:241-253.
- Campbell GA, Eckardt MJ and Weight FF (1985) Dopaminergic mechanisms in subthalamic nucleus of rat: analysis using horseradish peroxidase and microiontophoresis. *Brain Res* 333:261-270.
- Campbell K, Kalen P, Lundberg C, Victorin K, Rosengren E and Björklund A (1993) Extracellular GABA levels in the rat caudate putamen: monitoring the neuronal and glial contribution by intracerebral microdialysis. *Brain Res* 614:241-250.
- Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA and Ricardo JA (1990) Afferent connections of the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 513:43-59.
- Caparros-Lefebvre D, Blond S, Vermersch P, Pecheux N, Guieu JD and Petit H (1993) Chronic thalamic stimulation improves tremor and levodopa induces dyskinesias in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 56:268-273.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T and Waldeck B (1958) On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science* 127:471.
- Carpenter MB, Batton RR, Carleton SC and Keller JT (1981) Interconnections and organization of pallidal and subthalamic nucleus neurons in the monkey. *J Comp Neurol* 197:579-603.
- Carpenter MB, Whittier JR and Mettler FA (1950) Analysis of choreoid hyperkinesia in the rhesus monkey: surgical and pharmacological analysis of hyperkinesia resulting from lesions in the subthalamic nucleus of Luys. *J Comp Neurol* 92:293-332.
- Carroll CB, Holloway V, Brotchie JM and Mitchell IJ (1995) Neurochemical and behavioural investigations of the NMDA receptor-associated glycine site in the rat striatum: functional implications for treatment of parkinsonian symptoms. *Psychopharmacology* 119:55-65.
- Carter DA and Fibiger HC (1978) The projections of the entopeduncular nucleus and globus pallidus in rat as demonstrated by autoradiography and horseradish peroxidase histochemistry. *J Comp Neurol* 177:113-123.
- Casado M, Bendahan A, Zafra F, Danbolt NC, Aragon C, Gimenez C and Kanner BI (1993) Phosphorylation and modulation of brain glutamate transporters by protein kinase C. *J Biol Chem* 268:27313-27317.
- Castagnoli N Jr, Chiba K and Trevor AJ (1985) Potential bioactivation pathways for the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Life Sci* 36:225-230.
- Cenci MA (2002) Transcription factors involved in the pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Amino Acids* 23:105-109.
- Cenci MA, Lee CS and Björklund A (1998) L-DOPA-induced dyskinesia in the rat is associated with striatal overexpression of prodynorphin- and glutamic acid decarboxylase mRNA. *Eur J Neurosci* 10:2694-2706.

- Chang HT, Kita H and Kitai ST (1983) The fine structure of the rat subthalamic nucleus: an electron microscopic study. *J Comp Neurol* 211:113-123.
- Chang HT, Wilson CJ and Kitai ST (1981) Single neostriatal efferent axons in the globus pallidus: a light and electron microscopic study. *Science* 213:915-918.
- Chang JY, Shi LH, Luo F and Woodward DJ (2003) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus improves treadmill locomotion in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res* 983:174-184.
- Chang WY and Webster RA (1997) Effect of L-dopa alone and with benserazide on the spontaneous activity of striatal neurons in normal and 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Br J Pharmacol* 121:331-337.
- Chang JW, Wachtel SR, Young D and Kang UJ (1999) Biochemical and anatomical characterization of forepaw adjusting steps in rat models of Parkinson's disease: studies on medial forebrain bundle and striatal lesions. *Neuroscience* 88:617-628.
- Chase TN (1998) Levodopa therapy: consequences of the nonphysiologic replacement of dopamine. *Neurology* 50:S17-S25.
- Chase TN (2004) Striatal plasticity and extrapyramidal motor dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord* 10:305-313.
- Chase TN and Oh JD (2000) Striatal mechanisms and pathogenesis of parkinsonian signs and motor complication. *Ann Neurol* 47:S122-S129.
- Chebib M and Johnston GA (1999) The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26:937-940.
- Chergui K, Charlety PJ, Akaoka H, Saunier CF, Brunet JL, Buda M, Svensson TH and Chovet G (1993) Tonic activation of NMDA receptors causes spontaneous burst discharge of rat midbrain dopamine neurons in vivo. *Eur J Neurosci* 5:137-144.
- Cherubini E and Strata F (1997) GABAC receptors: a novel receptor family with unusual pharmacology. *News Physiol Sci* 12:136-141.
- Chesselet MF and Delfs JM (1996) Basal ganglia and movement disorders: an update. *Trends Neurosci* 19:417-422.
- Chiueh CC, Burns RS, Markey SP, Jacobowitz DM and Kopin IJ (1985) Primate model of parkinsonism: selective lesion of nigrostriatal neurons by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine produces an extrapyramidal syndrome in the rhesus monkey. *Life Sci* 36:213-218.
- Clapp-Lilly KL, Roberts RC, Duffy LK, Irons KP, Hu Y and Drew KL (1999) An ultrastructural analysis of tissue surrounding a microdialysis probe. *J Neurosci Met* 90:129-142.
- Clark JA, Deutch AY, Gallipoli PZ and Amara SG (1992) Functional expression and CNS distribution of a beta-alanine-sensitive neuronal GABA transporter. *Neuron* 9:337-348.
- Clarke NP, Bevan MD, Cozzari C, Hartman BK and Bolam JP (1997) Glutamate enriched cholinergic synaptic terminals in the entopeduncular nucleus and subthalamic nucleus of the rat. *Neurosci* 81:371-385.
- Close SP, Marriott AS and Pay S (1985) Failure of SKF 38393-A to relieve parkinsonian symptoms induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the marmoset. *Br J Pharmacol* 85:320-322.
- Conti F, Minelli A and Melone M (2004) GABA transporters in the mammalian cerebral cortex: localization, development and pathological implications. *Brain Res Rev* 45:196-212.
- Cooper IS and Poloukhine N (1956) The globus pallidus as a surgical target. *J Am Geriatr Soc* 4 :1182-1207.
- Corini H, Schumacher M, Angulo JA and McEwen BS (1990) Increase in striatal dopamine D2 receptor mRNA after lesion or haloperidol treatment. *Eur J Pharmacol* 186:369-371.
- Corti O, Hampe C, Darios F, Ibanez P, Ruberg M and Brice A (2005) Parkinson's disease : from causes to mechanisms. *CR Biol* 328 :131-142.
- Corvaja N, Doucet G and Bolam JP (1993) Ultrastructure and synaptic targets of the raphe-nigral projection in the rat. *Neurosci* 55:417-427.
- Cotzias GC, Papavasiliou PS and Cellene R (1969) Modification of parkinsonism: chronic treatment with L-dopa. *N Engl J Med* 276:337-345.

- Cowan RL, Wilson CJ, Emson PC and Heizmann CW (1990) Parvalbumin-containing GABAergic interneurons in the rat neostriatum. *J Comp Neurol* 302:197-205.
- Creese I, Burt DR and Snyder SH (1977) Dopamine receptor binding: enhancement accompanying lesion-induced behavioural supersensitivity. *Science* 197:596-598.
- Crespi F, Garratt JC, Sleight AJ and Marsden CA (1990) In vivo evidence that 5-HT neuronal firing and release are not necessarily correlated with 5-HT metabolism. *Neurosci* 35:139-144.
- Crossman AR (1987) Primate models of dyskinesia: the experimental approach to the study of the basal ganglia-related involuntary movement disorders. *Neurosci* 21:1-40.
- Crossman AR, Sambrook MA and Jackson A (1980) Experimental hemiballismus in the baboon produced by injection of a gamma-aminobutyric acid antagonist into the basal ganglia. *Neurosci Lett* 20:369-372.
- Cummings J (1992) Depression and Parkinson's disease: a review. *Am J psychiatry* 149:443-454.

D

- D'Amato RJ, Lipman ZP and Snyder SH (1986) Selectivity of the parkinsonian neurotoxin MPTP: toxic metabolite MPP+ binds to neuromelanin. *Sci* 231:987-989.
- Danbolt NC (2001) Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* 65:1-105.
- Davis KD, Taub E, Houle S, Lang AE, Dostrovsky JO, Tasker RR and Lozano AM (1997) Globus pallidus stimulation activates the cortical motor system during alleviation of parkinsonian symptoms. *Nature Med* 3:671-674.
- De Bie RM, De Haan RJ, Schuurman PR, Esselink RA, Bosch DA, Speelman JD (2002) Morbidity and mortality following pallidotomy in Parkinson's disease : a systematic review. *Neurology* 58 :1008-1012.
- Decamp E, Wade T and Schneider JS (1999) Differential regulation of striatal dopamine D1 and D2 receptors in acute and chronic parkinsonian monkeys. *Brain Res* 847:134-138.
- De Deurwaerdere P, Bonhomme N, Lucas G, Le Moal M and Spampinato U (1996) Serotonin enhances striatal dopamine outflow in vivo through dopamine uptake sites. *J Neurochem* 66:210-215.
- De Deurwaerdere P and Spampinato U (2001) The nigrostriatal dopamine system: a neglected target for 5-HT_{2C} receptors. *Trends Pharmacol Sci* 22:502-504.
- Degos B, Deniau JM, Thierry AM, Glowinski J, Pezard L and Maruice N (2005) Neuroleptic induced catalepsy : electrophysiological mechanisms of functional recovery induced by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 25 :7687-7696.
- Degryse AD and Colpaert FC (1986) Symptoms and behavioural features induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in old Java monkey (*Macaca cynomolgus fascicularis* (raffles)). *Brain Res Bull* 16:561-571.
- Dekundy A, Malgorzata P, Schaefer D, Cenci MA and Danysz W (2006) Effects of group I metabotropic glutamate receptors blockade in experimental models of Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 69:318-326.
- Delfs JM, Ciaramitaro VM, Parry TJ and Chesselet MF (1995) Subthalamic nucleus lesions: widespread effects on changes in gene expression induced by nigrostriatal dopamine depletion in rats. *J Neurosci* 15:6562-6575.
- De Lange EC, De Boers AG and Breimer DD (2000) Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Adv Drug Deliv Rev* 45 :125-148.
- Del Arco A, Segovia G, Fuxe K and Mora F (2003) Changes in dialysate concentrations of glutamate and GABA in the brain: an index of volume transmission mediated actions? *J Neurochem* 85:23-33.
- DeLong MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 13:281-285.
- Deniau JM, Hammond C, Chevalier G and Féger J (1978) Evidence for branched subthalamic nucleus projections to substantia nigra, entopeduncular nucleus and globus pallidus. *Neurosci Lett* 9:117-121.

- Deniau JM, Kitai ST, Donoghue JP and Grofova I (1982) Neuronal interactions in the substantia nigra pars reticulata through axon collaterals of the projection neurons. An electrophysiological and morphological study. *Exp Brain Res* 47:105-113.
- Deniau JM, Menetrey A and Thierry AM (1994) Indirect nucleus accumbens input to the prefrontal cortex via the substantia nigra pars reticulata: a combined anatomical and electrophysiological study in the rat. *Neurosci* 61:533-545.
- Deniau JM, Menetrey A and Charpier S (1996) The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: segregated patterns of striatal afferents and relationship to the topography of corticostriatal projections. *Neurosci* 73:761-781.
- Dentresangle C, Le Cavorsin M, Savasta M and Leviel V (2001) Increased extracellular DA and normal evoked DA release in the rat striatum after a partial lesion of the substantia nigra. *Brain Res* 893:178-185.
- Dervan AG, Meshul CK, Beales M, McBean GJ, Moore C, Totterdell S, Snyder AK and Meredith GE (2004) Astroglial plasticity and glutamate function in a chronic mouse model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 190:145-156.
- Deschênes M, Bourassa J and Parent A (1995) Two different types of thalamic fibers innervate the rat striatum. *Brain Res* 701:288-292.
- De Silva HR, Khan NL and Wood NM (2000) The genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Genet Dev* 10:292-298.
- Deumens R, Blokland A and Prickaerts J (2002) Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol* 175:303-317.
- DiFiglia M (1987) Synaptic organization of cholinergic neurons in the monkey neostriatum. *J Comp Neurol* 255:245-258.
- Di Monte DA, Wu EY, Irwin I, Delaney LE and Langston JW (1991) Biotransformation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in primary cultures of mouse astrocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 258:594-600.
- Divac I (1983) Two levels of functional heterogeneity of the neostriatum. *Neurosci* 10:1151-1155.
- Domesick VB (1981) The anatomical basis for feedback and feedforward in striatonigral system: In: apomorphine and other dopaminomimetics. *Basic Pharmacology*, Gesser GL and Corsini V, eds, Raven Press, New York, Vol 2,27-39.
- Dostrovsky JO and Lozano AM (2002) Mechanisms of deep brain stimulation. *Mov Disord* 17:S63-S68.
- Dowsey-Limousin P and Pollak P (2001) Deep brain stimulation in the treatment of Parkinson's disease: a review and update. *Clin Neurosci Res* 1:521-526.
- Drew KL, O'Connor WT, Kehr J and Ungerstedt U (1989) Characterization of gamma-butyric acid and dopamine overflow following acute implantation of a microdialysis probe. *Life Sci* 45:1307-1317.
- Dube L, Smith AD and Bolam JP (1988) Identification of synaptic terminals of thalamic or cortical origin in contact with distinct medium size spiny neurons in the rat neostriatum. *J Comp Neurol* 267:455-471.
- Dunah AW, Wang Y, Yasuda RP, Kameyama K, Haganir RL, Wolfe BB and Standaert DG (2000) Alterations in subunit expression, composition, and phosphorylation of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in a rat 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Mol Pharmacol* 2000 :342-352.
- Dunnett SB and Richards SJ (1990) Neural transplantation. *Prog Brain Res* 85:285-296.
- Durkin MM, Gustafson EL, Smith KE, Borden LA, Hartig PR, Weinshank RL and Branchek TA (1995) Localization of messenger RNAs encoding three GABA transporters in rat brain: an in situ hybridization study. *Molec Brain Res* 3:7-21.

E

- Eckenhoff RG, Johansson JS, Wie H, Carnini A, Kang B, Wie W, Pidikiti R, Keller JM and Eckenhoff MF (2004) Inhaled anesthetic enhancement of amyloid-beta oligomerization and cytotoxicity. *Anesthesiology* 101:703-709.
- Ehringer H and Hornykiewicz O (1960) Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system. *Klin Wochenschr* 38:1236-1239.
- Eidelberg E, Brooks BA, Morgan WW, Walden JG and Kokemoor RH (1986) Variability and functional recovery in the N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of parkinsonism in monkeys. *Neurosci* 18:817-822.

- Elbaz A, Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, Schaid DJ and Rocca WA (2002) Risk tables for parkinsonism and Parkinson's disease. *J Clin Epidemiol* 55:25-31.
- Elliott PJ, Close SP, Walsh DM, Hayes AG and Marriott AS (1990) Neuroleptic induced catalepsy as a model of Parkinson's disease. II. Effect of glutamate antagonists. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 2* :91-100.
- Elsworth JD, Deutch AY, Redmond DE, Sladek JR and Roth RH (1987) Effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) on catecholamines and metabolites in primate brain and CSF. *Brain Res* 415:293-299.
- Elsworth JD, Deutch AY, Redmond DE, Taylor JR, Sladek JR and Roth RH (1989) Symptomatic and asymptomatic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine treated primates: biochemical changes in striatal regions. *Neurosci* 33:323-331.
- Elsworth JD, Deutch AY, Redmond DE, Sladek JR and Roth RH (1990) MPTP-induced parkinsonism: relative changes in dopamine concentration in subregions of substantia nigra, ventral tegmental area and retrorubral field of symptomatic and asymptomatic vervet monkeys. *Brain Res* 513:320-324.
- Elsworth JD and Roth RH (1997) Dopamine synthesis, uptake, metabolism and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 144:4-9.
- Elsworth JD, Taylor JR, Sladek JR, Collier TJ, Redmond DE and Roth RH (2000) Striatal dopaminergic correlates of stable parkinsonism and degree of recovery in old-world primates one year after MPTP treatment. *Neurosci* 95:399-408.
- Elhwuegi AS (2004) Central monoamines and their role in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psy* 28:435-451.
- Emborg ME, Tetrud JW, Moirano J, McLaughlin WW and Bankiewicz KS (2003) Rest tremor in rhesus monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Front Biosci* 8:148-154.
- Engber TM, Susel Z, Kuo S, Gerfen CR and Chase TN (1991) Levodopa replacement therapy alters enzyme activities in striatum and neuropeptide content in striatal output regions of 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res* 552 :113-118.
- Enz R, Brandstatter JH, Wassle H and Bormann J (1996) Immunocytochemical localization of the GABA_C receptor rho subunits in the mammalian retina. *J Neurosci* 16:4479-4490.
- Enz R and Cutting GR (1998) Molecular composition of GABA_C receptors. *Vis Res* 38:1431-1441.
- Erinoff L and Snodgrass SR (1986) Effects of adult or neonatal treatment with 6-hydroxydopamine or 5,7-dihydroxytryptamine on locomotor activity, monoamine levels and response to caffeine. *Pharmacol Biochem Behav* 24:1039-1045.

F

-
- Fahn S, Elton RL and members of the UPDRS Development Committee. Unified Parkinson's disease Rating Scale. IN: Fahn S, Marsden CD, Calne DB, Goldstein editors. *Recent developments in Parkinson's disease*. Florham Park (NY): Macmillan Healthcare Information; 1987. p 153-164.
- Fahn S (1998) Medical treatment of Parkinson's disease. *J Neurol* 245:S15-S24.
- Faull RM and Carman JB (1968) Ascending projections of the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol* 132:73-92.
- Faull RM and Mehler WR (1978) The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neurosci* 3:389-1002.
- Fearnley JM and Lees AJ (1991) Ageing and Parkinson's disease : substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114:2283-2301.
- Febvret A, Berger B, Gaspar P and Verney C (1991) Further indication that distinct dopaminergic subsets project to the rat cerebral cortex: lack of colocalization with neurotensin in the superficial dopaminergic fields of the anterior cingulate, motor, retrosplenial and visual cortices. *Brain Res* 547:37-52

- Féger J, Bevan M and Crossman AR (1994) The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neuronal populations : a comparison with the corticostriatal and corticosubthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-labelling study. *Neurosci* 60:125-132.
- Féger J, Pessiglione M, François C, Tremblay L and Hirsch EC (2002) Modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson. *Ann Pharm* 60:3-21.
- Feigenspan A and Bormann J (1998) GABA-gated CL- channels in the rat retina. *Prog Retinal Eye Res* 17 :99-126.
- Ferrante RJ, Schulz JB, Kowall NW and Beal MF (1997) Systemic administration of rotenone produces selective damage in the striatum and globus pallidus, but not in the substantia nigra. *Brain Res* 753:157-162.
- Fibiger HC (1982) The organization and some projections of cholinergic neurons of mammalian forebrain. *Brain Res Rev* 4:327-338.
- Figueredo-Cardenas G, Morello M, sancesario G, Bernardi G and Reiner A (1996) Colocalization of somatostatin, neuropeptide Y, neuronal nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase in striatal interneurons in rats. *Brain Res* 735:317-324.
- Filion M and Tremblay L (1991) Abnormal spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP induced parkinsonism. *Brain Res* 547:142-151.
- Fillenz M (2005) In vivo neurochemical monitoring and the study of behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 29:949-962.
- Filloux FM, Dawson TM and Wamsley JK (1988) Localization of nigro-striatal dopamine receptor subtypes and adenylate cyclase. *Brain Res Bull* 20:447-459.
- Fink-Jensen A and Mikkelsen JD (1991) A direct neuronal projection from the entopeduncular nucleus to the globus pallidus. A PHA-L anterograde tracing study in the rat. *Brain Res* 542:175-179.
- Finkelstein DI, Stanic D, Parish CL, Thomas D, Dickson K and Horne MK (2000) Axonal sprouting following lesions of the rat substantia nigra. *Neurosci* 97:99-112.
- Flores G, Liang JJ, Sierra A, Martinez-Fong D, Quirion R, Aceves J, Srivastava LK (1999) Expression of dopamine receptors in the subthalamic nucleus of the rat: characterization using reverse transcriptase-polymerase chain reaction and autoradiography. *Neurosci* 91:549-556.
- Foffani G, Ardolino G, Egidi M, Caputo E, Bossi B and Priori A (2006) Subthalamic oscillatory activities at beta or higher frequency do not change after high frequency DBS in Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 69:123-130.
- Forno LS (1969) Concentric hyalin intraneuronal inclusions of Lewy type in the brains of elderly persons (50 incidental cases): relationship to parkinsonism. *J Am Geriatr Soc* 17:557-575.
- Forno LS, Langston JW, Delanney LE, Irwin I, Ricaurte GA (1986) Locus coeruleus lesions and eosinophilic inclusions in MPTP-treated monkeys. *Ann Neurol* 20:449-455.
- Forno LS (1996) Neuropathology of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 55:259-272.
- Fraix V, Pollak P, Van Blercom N, Xie J, Krack P, Koudsie A and Benabid AL (2000) Effect of subthalamic nucleus stimulation on levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease. *Neurology* 55:1921-1923.
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R Et al. (2001) Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 344:710-719.
- François C, savy C, Jan C, tande D, Hirsch EC and Yelnik J (2000) Dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the normal state, in MPTP treated monkeys, and in Parkinson's disease patients. *J Comp Neurol* 425:119-121.
- François C, Yelnik J and Percheron G (1987) Golgi study of the primate substantia nigra. Spatial organization of dendritic arborizations in relation to the cytoarchitectonic boundaries and to the striatonigral bundle. *J Comp Neurol* 265:473-493.
- François C, Yelnik J and Percheron G (1996) A stereotaxic atlas of the basal ganglia in macaques. *Brain Res Bull* 41 :151-158.
- François C, Yelnik J, Percheron G and Fenelon G (1994) Topographic distribution of the axonal endings from the sensorimotor and associative striatum in the macaque pallidum and substantia nigra. *Exp Brain Res* 102:305-318.

- François C, Yelnik J, Faucheux B, Hirsch EC and Agid Y (1999) Le singe vert, un modèle pour l'étude du tremblement dans la maladie de Parkinson. *Primatologie* 2:357-379.
- Frohna PA, Rothblat DS, Joyce JN and Schneider JS (1995) Alterations in dopamine uptake sites and D1 and D2 receptors in cats symptomatic for and recovered from experimental parkinsonism. *Synapse* 19:46-55.
- Fuller RW (1980) Pharmacology of central serotonin neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 20:111-127.
- Fuxe K and Agnati LF (1991) Two principal modes of electrochemical communication in the brain : volume versus wiring transmission. In *Volume transmission in the brain : novel mechanisms for neural transmission* (Eds K. Fuxe and L.F. Agnati) Vol. 1, p1-9, Raven Press, N.Y.

G

- Galvan A, Floran B, Erij D and Aceves J (2001) Intrapallidal dopamine restores motor deficits induced by 6-OHDA in the rat. *J Neural Transm* 108:153-166.
- Garcia L, Audin J, Alessandro G, Bioulac B and Hammond C (2003) Dual effect of high-frequency stimulation on subthalamic neuron activity. *J Neurosci* 24:8743-8751.
- Garcia L, D'Alessandro G, Bioulac B and Hammond C (2005a) High frequency stimulation in parkinson's disease: more or less? *TRENDS in Neurosci* 28:209-213.
- Garcia L, D'Alessandro G, Fernagut PO, Bioulac B and Hammond C (2005b) Impact of high frequency stimulation parameters on the pattern of discharge of subthalamic neurons. *J Neurophysiol* 94:3662-3669.
- Garris PA, Ciolkowski EL, Pastore P and Wightman RM (1994) Efflux of dopamine from the synaptic cleft in the nucleus accumbens of the rat brain. *J Neurosci* 14 :6084-6093.
- Garris PA and Wightman RM (1994) Different kinetics govern dopaminergic transmission in the amygdala, prefrontal cortex and striatum : an in vivo voltammetric study. *J Neurosci* 14:442-450.
- Gash DM, Zhang Z, Ovidia A, Cass WA, Yi A, Simmerman L, Russell D, Martin D, Lapchak PA, Collins FC, Hoffer BJ and Gerhardt GA (1996) Functional recovery in GDNF-treated Parkinsonian monkeys. *Nature* 380:252-255.
- Gaspar P, Duyckaerts C, Alvarez C, Javoy-Agid F and Berger B (1991) Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 30:365-374.
- Gaspar P, Febvret A And Colombo J (1993) Serotonergic sprouting in primate MTP-induced hemiparkinsonism. *Exp Brain Res* 96:100-106.
- Gauthier J, Parent M, Levesque M and Parent A (1999) The axonal arborisation of single nigrostriatal neurons in rats. *Brain Res* 834:228-232.
- Georgievska B, Kirik D, Rosenblad C, Lundberg C and Björklund A (2002) Neuroprotection in the rat Parkinson model by intrastriatal GDNF gene transfer using a lentiviral vector. *Neuroreport* 13:75-82.
- Gerfen CR (1984) The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311:461-464.
- Gerfen CR (1985) The neostriatal mosaic. I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol* 236:454-476.
- Gerfen CR (1989) The neostriatal mosaic: striatal patch-matrix organization is related to cortical lamination. *Sci* 246:385-388.
- Gerfen CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci* 15:133-139.
- Gerfen CR; Baimbridge KG and Miller JJ (1985) The neostriatal mosaic: compartmental distribution of calcium-binding protein and parvalbumin in the basal ganglia of the rat and monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:8780-8784.
- Gerfen CR; Baimbridge KG and Thibault J (1987 a) The neostriatal mosaic: III. Biochemical and developmental dissociation of patch-matrix mesostriatal systems. *J Neurosci* 7:3935-3944.

- Gerfen CR, Herkenham M and Thibault J (1987 b) The neostriatal mosaic: II. Patch- and matrix-directed mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic systems. *J Neurosci* 1987 7:3915-3934.
- Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ and Sibley DR (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250 :1429-1432.
- Gerfen CR, Miyachi S, Paletzki R and Brown P (2002) D1 dopamine receptor supersensitivity in the dopamine-depleted striatum results from a switch in the regulation of ERK1/2/MAP kinase. *J Neurosci* 22 :5042-5054.
- Gerfen CR, Staines WA, Arbuthnott GW and Fibiger HC (1982) Crossed connections of the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol* 207:283-303.
- Gerfen CR and Wilson CJ (1996) The basal ganglia. In: *integrated systems of the CNS, Part III* (Swanson LW, Björklund A, Hökfelt T, eds), pp 371-468. Amsterdam: Elsevier Science.
- Gerfen CR and Young WS 3rd (1988) Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in both patch and matrix compartments: an in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. *Brain Res* 460:161-167.
- Gerlac M and Riederer P (1996) Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transm* 103:987-1041.
- German DC, Dubach M, Askari S, Speciale SG and Bowden DM (1988) 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induced parkinsonian syndrome in *Macaca fascicularis* : which midbrain dopaminergic neurons are lost ? *Neurosci* 24 :161-174.
- Gill SS and Heywood P (1997) Bilateral dorsolateral subthalamotomy for advanced Parkinson's disease. *Lancet*, 350 :1224.
- Gill SS, Patel NK, Hotton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, Brooks DJ, Svendsen CN and Heywood P (2003) Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 9:589-595.
- Glatt CE and Reus VI (2003) Pharmacogenetics of monoamine transporters. *Pharmacogenomics* 4:583-596.
- Glover V, Sandler M, Owen F and Riley GJ (1977) Dopamine is a monoamine oxydase B substrate in man. *Nature* 265:80-81.
- Gnanalingham KK and Robertson RG (1994) The effect of chronic continuous versus intermittent levodopa treatments on striatal and extrastriatal D1 and D2 dopamine receptors and dopamine uptake sites in the 6-OHDA lesioned rat: an autoradiographic study. *Brain Res* 640: 185-194.
- Gnanalingham KK, Smith LA, Hunter AJ, Jenner P and Marsden CD (1993) Alterations in striatal and extrastriatal D1 and D2 dopamine receptors in the MPTP treated common marmoset: an autoradiographic study. *Synapse* 14:184-194.
- Goetz CG, Tanner CM, Glantz RH and Klawans HL (1985) Chronic agonist therapy for Parkinson's disease: a 5-year study of bromocriptine and pergolide. *Neurology* 35:749-751.
- Gonon FG (1997) Prolonged and extrasynaptic excitatory action of dopamine mediated by D1 receptors in the rat striatum in vivo. *J Neurosci* 17:5972-5978.
- Gonon FG and Buda MJ (1985) Regulation of dopamine release by impulse flow and by autoreceptors as studied by in vivo voltametry in the rat striatum. *Neurosci* 14:765-774.
- Golbe L, Di Lorio G, Bonavita V, Miller DC and Duvoisin RC (1990) A large kindred with autosomal dominant Parkinson's disease. *Ann Neurol* 27:276-282.
- Golbe L, Di Lorio G, Sanges G, Lazzarini AM, La Sala S, Bonavita V and Duvoisin RC (1996) Clinical genetic analysis of Parkinson's disease in the Contursi kindred. *Ann Neurol* 40:767-775.
- Graham WC, Clarke CE, Boyce S, Sambrook MA, Crossman AR and Woodruff GN (1990) Autoradiographic studies in animal models of hemi-parkinsonism reveal dopamine D2 but not D1 receptor supersensitivity. Unilateral intracarotid infusion of MPTP in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Brain Res* 514:103-110.
- Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:244-254.
- Graybiel AM, Canales JJ and Capper-Loup C (2000) Levodopa-induced dyskinesias and dopamine-dependent stereotypies: a new hypothesis. *Trends Neurosci* 23:S71-S77.

- Graybiel AM, Moratalla R, Quinn B, Delaney LE, Irwin I And Langston JW (1993) Early stage loss of dopamine uptake site binding in MPTP treated monkeys. *Adv Neurol* 60:34-39.
- Graybiel AM and Ragsdale CW (1978) Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkeys, and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:5723-5726.
- Greenamyre JT, Betardet R and Sherer TB (2003) The rotenone model of Parkinson's disease: genes, environment and mitochondria. *Parkinsonism Relat Disord* 2:S59-S64.
- Greenamyre JT and O'Brien CF (1991) N-methyl-D-aspartate antagonists in the treatment of Parkinson's disease. *Arch Neurol* 48:977-981.
- Greenamyre JT, Eller RV, Zhang Z, Ovidia A, Kurlan R And Gash DM (1994) Antiparkinsonian effects of remacemide hydrochloride, a glutamate antagonist, in rodent and primate models of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 35 :655-661.
- Gresch PJ and Walker PD (1999) Serotonin 2 receptor stimulation normalizes striatal preprotachykinin messenger RNA in an animal model of Parkinson's disease. *Neurosci* 93:831-841.
- Grill WM (1999) Modeling the effects of electric fields on nerve fibers: influence of tissue electrical properties. *IEEE Trans Biomed Eng* 46:918-928.
- Grill WM, Snyder AN and Miocinovic S (2004) Deep brain stimulation creates an informational lesion of the stimulated nucleus. *Neuroreport* 15:1137-1140.
- Groenewegen HJ and Berendse HW (1990) Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *J Comp Neurol* 294:607-622.
- Grofova I, Deniau JM and Kitai ST (1982) Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labeled with HRP. *J Comp Neurol* 208:352-368.
- Grondin R, Zhang Z, Yi A, Cass WA, Maswood N, Andersen AH, Elsberry DD, Klein MC, Gerhardt GA and Gash DM (2002) Chronic, controlled GDNF infusion promotes structural and functional recovery in advanced parkinsonian monkeys. *Brain* 125 :2191-2201.
- Gross C, Rougier A, Guehl D, Boraud T, Julien J And Bioulac B (1997) High-frequency stimulation of the globus pallidus internalis in Parkinson's disease: a study of seven cases. *J Neurosurg* 87:491-498.
- Guastella J, Nelson N, Nelson H, Czyzyk L, Keynan S, Miedel MC, Davidson N, Lester HA and Kanner BI (1990) Cloning, expression and localization of a rat brain high-affinity glycine transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7189-7193.
- Gubellini P, Picconi B, Bari M, Battista N, Calabresi P, Centonze D, Bernardi G, Finazzi-Agro A and Maccarrone M (2002) Experimental parkinsonism alters endocannabinoid degradation: implication for striatal glutamatergic transmission. *J Neurosci* 22:6900-6907.
- Guerra MJ, Liste I and Labandeira-Garcia JL (1997) Effects of lesions of the nigrostriatal pathway and of nigral grafts on striatal serotonergic innervation in adult rats. *Neuroreport* 8:3485-3488.
- Guridi J and Obeso JA (2001) The subthalamic nucleus, hemiballismus and Parkinson's disease: reappraisal of a neurosurgical dogma. *Brain* 124:5-19.

H

-
- Hagell P, Piccini P, Björklund A, Brundin P, Rehnström S, Widner H et al. (2002) Dyskinesias following neural transplantation in Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 5:627-628.
- Hajos M and Greenfield SA (1994) Synaptic connections between par compacta and pars reticulata neurons : electrophysiological evidence for functional modules within the substantia nigra. *Brain Res* 660:216-224.
- Håkansson K, Lindskog M, Pozzi L, Usiello A and Fisone G (2004) DARPP-32 and modulation of cAMP signaling: involvement in motor control and levodopa-induced dyskinesia. *Parkinsonism Relat Disord* 10:281-286.
- Hamada I and Delong MR (1992) Excitotoxic acid lesions of the primate subthalamic nucleus result in transient dyskinesias of the contralateral limbs. *J Neurophysiol* 68:1850-1858.

- Hamani C, Saint-Cyr JA, Fraser J, Kaplitt M and Lozano M (2004) The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain* 127:4-20.
- Hammond C, Deniau JM, Rizk A and Féger J (1978) Electrophysiological demonstration of an excitatory subthalamonigral pathway in the rat. *Brain Res* 151:235-244.
- Hammond C, Féger J, Bioulac B and Souteyrand JP (1979) Experimental hemiballism in the monkey produced by unilateral kainic acid lesion in corpus luyisii. *Brain Res* 171:577-580.
- Hammond C, Shibazaki T and Rouzaire-Dubois B (1983) Branched output neurons of the rat subthalamic nucleus: electrophysiological study of the synaptic effects on identified cells in two main target nuclei, the entopeduncular nucleus and the substantia nigra. *Neurosci* 9:511-520.
- Hammond C and Yelnik J (1983) Intracellular labelling of rat subthalamic neurons with horseradish peroxidase : computer analysis of dendrites and characterization of axon arborization. *Neurosci* 8:781-790.
- Hantraye P, Varastet M, Paschanski M, Riche D, Cesaro P, Willer JC and Maziere M (1993) Stable parkinsonian syndrome and uneven loss of striatal dopamine fibres following chronic MPTP administration in baboons. *Neurosci* 53:169-178.
- Hariz MI and Bergenheim AT (2001) A 10-year follow-up review of patients who underwent Leksell's posteroventral pallidotomy for Parkinson disease. *J Neurosurg* 94:552-558.
- Harnack D, Winter C, Meissner W, Reum T, Kupsch A and Morgenstern R (2004) The effects of electrode material, charge density and stimulation duration on safety of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats. *J Neurosci Met* 138:207-216.
- Harrison MB, Wiley RG and Wooten GF (1990) Selective localization of striatal D1 receptors to striatonigral neurons. *Brain Res* 528:317-322.
- Hartig W, Riedel A, Grosche J, Edwards RH, Fremereu RT Jr, Harnaky T, Bauer K and Arendt T (2003) Complementary distribution of vesicular glutamate transporters 1 and 2 in the nucleus accumbens of rat: Relationship to calretinin-containing extrinsic innervation and calbindin-immunoreactive neurons. *J Comp Neurol* 465 :1-10.
- Hashimoto T, Elder CM, Okun MS, Patrick SK and Vitek JL (2003) Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *J Neurosci* 23:1916-1923.
- Hassani OK, François C, Yelnik J and Féger J (1997) Evidence for a dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the rat brain. *Brain res* 749:88-94.
- Hassani OK and Féger J (1999) Effects of intrasubthalamic injection of dopamine receptor agonists on subthalamic neurons in normal and 6-hydroxydopamine lesioned rats: an electrophysiological and c-Fos study. *Neurosci* 92:533-543.
- Hassani OK, Mouroux M and Féger J (1996) Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neurosci* 72:105-115.
- Hassler R And Riechert T (1954) Indications and localization of stereotactic brain operations. *Nervenartz* 25:441-447.
- Hastings TG and Zigmond MJ (1997) Loss of dopaminergic neurons in parkinsonism: possible role of reactive dopamine metabolites. *J Neural Transm* 49:S103-S110.
- Hazrati LN, Parent A, Mitchell S and Haber SN (1990) Evidence for interconnections between the two segments of the globus pallidus in primates: a PHA-L anterograde labelling tracing study. *Brain Res* 533:171-175.
- Hazrati LN and Parent A (1992a) Convergence of subthalamic and striatal efferents at pallidal level in primates: an anterograde double-labeling study with biocytin and PHA-L. *Brain Res* 569:336-340.
- Hazrati LN and Parent A (1992b) The striatopallidal projection displays a high degree of anatomical specificity in the primate. *Brain Res* 592 :213-227.
- Hazrati LN and Parent A (1992c) Differential patterns of arborisation of striatal and subthalamic fibers in the two pallidal segments in primates. *Brain Res* 598:311-315.
- Hedreen JC (1999) Tyrosine hydroxylase immunoreactive elements in the human globus pallidus and subthalamic nucleus. *J Comp Neurol* 409:400-410.

- Hefli F, Melamed E and Wurtman RJ (1980) Partial lesions of the dopaminergic nigro-striatal system in rat brain: biochemical characterization. *Brain Res* 195:123-137.
- Heimer L, Zahm DS and Alheid GF (1995) Basal ganglia. In: *the rat nervous system* (Paxinos G, ed), pp 579-628. San Diego: Academic press.
- Henderson JM, Carpenter K, Cartwright H and Halliday GM (2000) Loss of thalamic intralaminar nuclei in progressive supranuclear palsy and Parkinson's disease: clinical and therapeutic implications. *Brain* 123:1410-1421.
- Henry B, Crossman AR and Brotchie JM (1999) Effect of repeated L-DOPA, bromocriptine, or lisuride administration on preproenkephalin-A and preproenkephalin-B mRNA levels in the striatum of the 6-hydroxydopamine-lesioned rat. *Exp Neurol* 155:204-220.
- Herkenham M (1991) Mismatches between neurotransmitter and receptor localizations: implications for endocrine functions in brain. In *Volume transmission in the brain: novel mechanisms for neural transmission* (Eds K. Fuxe and L.F. Agnati) Vol. 1, p63-87, Raven Press, N.Y.
- Herkenham M and Nauta WJH (1979) Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 187:19-48.
- Herkenham M and Pert CB (1981) Mosaic distribution of opiate receptors, parafascicular projections and acetylcholinesterase in rat striatum. *Nature* 291:415-418.
- Herrera-Marschitz M, You ZB, Gojny M, Meana JJ, Silveira R, Godukhin OV, Chen Y, Espinoza S, Pettersson E, Loidl CF, Lubec G, Andersson K, Nylander I, Terenius L and ungerstedt u (1996) On the origin of extracellular glutamate levels monitored in the basal ganglia of the rat by in vivo microdialysis. *J Neurochem* 66:1726-1735.
- Herrero MT, Hirsch EC, Kastner A, Ruberg M, Luquin MR, Laguna J et al. (1993) Does neuromelanin contribute to the vulnerability of catecholaminergic neurons in monkeys intoxicated with MPTP ? *Neuroscience* 56:499-511.
- Herrero MT, Levy R, ruberg M, Luquin MR, Villares J, Guillen J, faucheux B, Javoy-Agid F, Guridi J, Agid Y, Obeso JA and Hirsch EC (1996) Consequence of nigrostriatal denervation and L-dopa therapy on the expression of glutamic acid decarboxylase messenger RNA in the pallidum. *Neurology* 47:219-224.
- Herve D, Trovero F, Blanc G, Glowinski J and Tassin JP (1992) Autoradiographic identification of D1 dopamine receptors labeled with 3Hdopamine: distribution, regulation and relationship to coupling. *Neurosci* 46: 687-700.
- Hery F, Soubrie P, Bourgoin S, Motastruc JL, Artaud F and Glowinski J (1980) Dopamine release from dendrites in the substantia nigra controls the nigral and striatal release of serotonin. *Brain Res* 193:143-151.
- Hirsch EC (2000) Nigrostriatal system plasticity in Parkinson's disease: effect of dopaminergic denervation and treatment. *Ann Neurol* 47:S115-S120.
- Hirsch EC, Graybiel AM and Agid Y (1988) Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature* 334:345-348.
- Hollerman JR and Grace AA (1992) Subthalamic nucleus cell firing in the 6-OHDA- treated rat : basal activity and response to haloperidol. *Brain Res* 590:291-299.
- Hornykiewicz O (1975) Brain monoamines and parkinsonism. *Natl Inst Drug Abuse Res Monogr Ser* 3:13-
- Hornykiewicz O (1979) Compensatory biochemical changes at the striatal dopamine synapse in Parkinson's disease- limitation in L-Dopa therapy. In *Adv in Neurol*, p 275-281. Raven Press, NY.
- Hornykiewicz O (2001) Chemical neuroanatomy of the basal ganglia. Normal and in Parkinson's disease. *J Chem Neuroanat* 22:3-12.
- Hornykiewicz O and Kish SJ (1987) Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 45:19-34.
- Hornykiewicz O (1998) Biochemical aspects of Parkinson's disease. *Neurology* 5:S2-S9.
- Houeto JL, Bejjani PB, Damier P, Staedler C, Bonnet AM, Pidoux B, et al. (2000) Failure of long-term pallidal stimulation corrected by subthalamic stimulation in PD. *Neurology* 55 :728-730.
- Howells DW, Liberatore GT, Wong JYF and Donnan GA (1996) Dopaminergic responses to striatal damage. *J Neurol Sci* 139:125-130.

- Hoyer D, Hannon J and Martin GR (2002) Molecular, pharmacological and functional diversity of 5HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 71:533-554.
- Hudson JL, Van Horne CG, Stromberg I, Brock S, Clayton J, Masserano J, Hoffer BJ and Gerhardt GA (1993) Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res* 626 :167-174.
- Huff RM (1996) Signal transduction pathways modulated by the D2 subfamily of dopamine receptors. *Cell Signal* 8:453-459.
- Hutchinson WD, Dostrovsky JO, Walters JR, Courtemanche R, Boraud T, Goldberg J and Brown P (2004) Neuronal oscillations in the basal ganglia and movement disorders: evidence from whole animal and human recordings. *J Neurosci* 24:9240-9243.
- Hutchinson WD, Levy R, Dostrovsky JO, Lozano AM and Lang AE (1997) Effects of apomorphine on globus pallidus neurons in parkinsonian patients. *Ann Neurol* 42:767-775.

I

- Ibanez P, Bonnet AM, DeBarges E, Lohmann E, Tison FP, Pollak P, Agid Y, Durr A and Brice A (2004) Causal relation between alpha-synuclein gene duplications and familial Parkinson's disease. *Lancet* 364:1169-1171.
- Ikegaki N, Saito N, Hashima M and Tanaka C (1994) Production of specific antibodies against GABA transporter subtypes (GAT1, GAT2, GAT3) and their application to immunocytochemistry. *Molec Brain Res* 26:47-54.
- Imperto A and Di Chiara G (1984) Trans-striatal dialysis coupled to reverse phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection : a new method for the study of the in vivo release of endogenous dopamine and metabolites. *J Neurosci* 4:966-984.
- Ingham CA, Hood SH and Arbuthnott GW (1991) A light and electron microscopical study of enkephalin-like immunoreactive structures in the rat neostriatum after removal of the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Neurosci* 42:715-730.
- Ingham CA, Hood SH, VanMaldegem B, Weening A and Arbuthnott GW (1993) Morphological changes in the rat neostriatum after unilateral 6-hydroxydopamine injections into the nigrostriatal pathway. *Exp Brain Res* 93:17-27.
- Irwin I, DeLanney LE, Forno LS, Finnegan KT, Di Monte DA, Langston JW (1990) The evolution of nigrostriatal neurochemical changes in the MPTP-treated squirrel monkey. *Brain Res* 531:242-252.

J

- Jackson A and Crossman AR (1981) Subthalamic nucleus efferent projection to the cerebral cortex. *Neurosci* 6:2367-2377.
- Jackson EA and Kelly PH (1984) Effects of intranigral injections of dopamine agonists and antagonists, glycine, muscimol and NMDA on locomotor activity. *Brain Res Bull* 13:309-317.
- Jacobowitz DM, Burns RS, Chiueh CC and Kopin IJ (1984) N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) causes destruction of the nigrostriatal but not the mesolimbic dopamine system in the monkey. *Psychopharmacol Bull* 20 :416-422.
- Jan C, François C, Tande D, Yelnik J, Tremblay L, Agid Y and Hirsch EC (2000) Dopaminergic innervation of the pallidum in the normal state, in MPTP-treated monkeys and in the parkinsonian patients. *Eur J Neurosci* 12:4525-4535.
- Jan C, Pessiglione M, Tremblay L, Tande D, Hirsch EC and François C (2003) Quantitative analysis of dopaminergic loss in relation to functional territories in MPTP-treated monkeys. *Eur J Neurosci* 18 :2082-2086.
- Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM and Snyder SH (1985) Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 -tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. *Proc Natl Acad Sci* 82 :2173-2177.
- Javoy-Agid F, Hirsch EC, Dumas S, Duyckaerts C, Mallet J and Agid Y (1990) Decreased tyrosine hydroxylase messenger RNA in the surviving dopamine neurons of the substantia nigra in Parkinson's disease: an in situ hybridization study. *Neurosci* 35:245-253.

- Jellinger KA (1991) Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Mol Chem Neuropathol* 14:153-197.
- Jenner P (2004) Avoidance of dyskinesia: preclinical evidence for continuous dopaminergic stimulation. *Neurology* 62:S47-S55.
- Jenner P, Schapira AHV and Marsden CD (1992) New insights into the cause of Parkinson's disease. *Neurology* 42:2241-2250.
- Jenner P, Rose S, Nomoto M and Marsden CD (1986) MPTP-induced parkinsonism in the common marmoset: behavioural and biochemical effects. In *Parkinson's disease* (M.D. Yahr and K.J. Bergmann, Eds) p 183-186. Raven Press, NY.
- Jensen AA, Pedersen UB, Din N and Andersen PH (1996) The dopamine D1 receptor family: structural and functional aspects. *Biochem Soc Trans* 24:163-169.
- Jimenez-Castellanos CJ and Graybiel AM (1987) Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix. *Neurosci* 23:223-242.
- Jimenez-Jimenez FJ, Molina JA, Vargas C, Gomez P, Navarro JA, Benito-Leon J, Orti-Pareja M, Gasalla T, Cisneros E and Arenas J (1996) Neurotransmitter amino acids in cerebrospinal fluid of patients with parkinson's disease. *J Neurol Sci* 141:39-44.
- Joel D and Weiner I (2000) The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neurosci* 96:451-474.
- Jongen-Rêlo AL, Docter GJ, Jonker AJ, Vreugdenhil E, Groenewegen HJ and Voorn P (1994) Differential effects of dopamine depletion on the binding and mRNA levels of dopamine receptors in the shell and core of the rat nucleus accumbens. *Molec Brain Res* 25:333-343.
- Jonkers N, Sarre S, Ebinger G and Michotte Y (2002) MK801 suppresses the L-DOPA-induced increase of glutamate in striatum of hemi-Parkinson rats. *Brain Res* 926 :149-155.
- Jursky F and Nelson N (1999) Developmental expression of the neurotransmitter transporter GAT3. *J Neurosci Res* 55:394-399.

K

- Kaakkola S, Gordin A and Männistö PT (1994) General properties and clinical possibilities of new selective inhibitors of catechol-o-methyltransferase. *Gen Pharmacol* 25:813-824.
- Kang Y and Kitai ST (1990) Electrophysiological properties of pedunculo-pontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra reticulata. *Brain Res* 535:79-95.
- Kastner A, Hirsch EC, Agid Y and Javoy-Agid F (1993) Tyrosine hydroxylase protein and messenger RNA in the dopaminergic nigral neurons of patients with Parkinson's disease. *Brain Res* 606:341-345.
- Katz J, Nielsen KM and Soghomonian JJ (2005) Comparative effects of acute or chronic administration of levodopa to 6-hydroxydopamine-lesioned rats on the expression of glutamic acid decarboxylase in the neostriatum and GABA receptors subunits in the substantia nigra, pars reticulata. *Neurosci* 132 :833-842.
- Kawaguchi Y (1997) Neostriatal cell subtypes and their functional roles. *Neurosci Res* 27:1-8.
- Kawaguchi Y, Aosaki T and Kubota Y (1997) Cholinergic and GABAergic interneurons in the striatum. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 17 :87-90.
- Kawaguchi Y, Wilson CJ and Emson PC (1990) Projection subtypes of rat neostriatal matrix cells revealed by intracellular injection of biocytin. *J Neurosci* 10 :3421-3438.
- Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ and Emson PC (1995) Striatal interneurons : chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18 :527-535.
- Kayahara T and Nakano K (1998) The globus pallidus sends axons to the thalamic reticular nucleus neurons projecting to the centromedian nucleus of the thalamus : a light and electron microscope study in the cat. *Brain Res Bull* 45:623-630.

- Kelley AE and Domesick VB (1982) The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat : an anterograde and retrograde horseradish peroxidase study. *Neurosci* 7:2321-2335.
- Kempster PA, Gibb WR, Stern GM and Lees AJ (1989) Asymmetry of substantia nigra neuronal loss in Parkinson's disease and its relevance to the mechanism of levodopa related motor fluctuations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 52 :72-76.
- Kerenyi L, Ricaurte GA, Schretlen DJ, McCann U, Varga J, Mathews WB, Ravert HT, Dannals RF, Hilton J, Wong DF and Szabo Z (2003) Positron emission tomography of striatal serotonin transporters in Parkinson disease. *Arch Neurol* 60:1223-1229.
- Khan NL, Jain S, Lynch JM, Pavese N, Abou-Sleiman P, Holton JL and al. (2005) Mutations in the gene LRRK2 encoding dardarin (PARK8) cause familial Parkinson's disease: clinical, pathological, olfactory and functional imaging and genetic data. *Brain* 128:2786-2796.
- Khan SA and Michael AC (2003) Invasive consequences of using micro-electrodes and microdialysis probes in the brain. *Trends Anal Chem* 22:503-508.
- Khan SH and Shuaib A (2001) The technique of intracerebral microdialysis. *Methods* 23 :3-9.
- Kincaid AE, Albin RL, Newman SW, Penney JB and Young AB (1992) 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal pathway alter the expression of glutamate decarboxylase messenger RNA in rat globus pallidus projection neurons. *Neurosci* 51:705-718.
- Kirik D, Rosenblad C and Björklund A (2000) Preservation of a functional nigrostriatal dopamine pathway by GDNF in the intrastriatal 6-OHDA lesion model depends on the site of administration of the trophic factor. *Eur J Neurosci* 12:3871-3882.
- Kirston ED, Yaari Y and Perouansky M (1998) Presynaptic and postsynaptic actions of halothane at glutamatergic synapses in the mouse hippocampus. *Br J Pharmacol* 124:1607-1614.
- Kish SJ, Shannak K and Hornykiewicz O (1988) Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease. Pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med* 318:876-880.
- Kish SJ, Rajput A, Gilbert J, Rozdilsky B, Chang LJ, Shannak K and Hornykiewicz O (1986) Elevated gamma-aminobutyric acid level in striatal but not extrastriatal brain regions in Parkinson's disease: correlation with striatal dopamine loss. *Ann Neurol* 20:26-31.
- Kita H, Chang HT and Kitai ST (1983) The morphology of intracellularly labelled rat subthalamic neurons: a light microscopic analysis. *J Comp Neurol* 215:245-257.
- Kita H and Kita T (2001) Number, origins, and chemical type of rat pallidostriatal projections neurons. *J Comp Neurol* 437:438-448.
- Kita H and Kitai ST (1987) Efferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: light and electron microscopic analysis with the PHA-L method. *J Comp Neurol* 260:435-452.
- Kita H and Kitai ST (1994) The morphology of globus pallidus projection neurons in the rat : an intracellular staining study. *Brain Res* 636:308-319.
- Kita H, Kosaka T and Heizmann CW (1990) Parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat neostriatum: a light and electron microscopic study. *Brain Res* 536:1-15.
- Kita H, Tachibana Y, Nambu A and Chiken S (2005) Balance of monosynaptic excitatory and disynaptic inhibitory responses of the globus pallidus induced after stimulation of the subthalamic nucleus in the monkey. *J Neurosci* 25:8611-8619.
- Kitai ST and Deniau JM (1981) Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res* 214:411-415.
- Kita H, Tachibana Y, Nambu A and Chiken S (2005) Balance of monosynaptic excitatory and disynaptic inhibitory responses of the globus pallidus induced after stimulation of the subthalamic nucleus in the monkey. *J Neurosci* 25: 8611-8619.
- Kitai S T and Kita H (1987) Anatomy and physiology of the subthalamic nucleus: a driving force of the basal ganglia. In: *The basal ganglia II. Structure and function: current concepts* (Carpenter M.B., Gessa G.L., eds) p 357-73. New York: Plenum

- Klockgether T and Turski L (2004) Toward an understanding of the role of glutamate in experimental parkinsonism: Agonist-sensitive sites in the basal ganglia. *Ann Neurol* 34:585-593.
- Kobayashi K, Kaneda N, Ichinose H, Kishi F, Nakazawa A, Kurosawa Y, Fujita K and Nagatsu T (1988) Structure of the human tyrosine hydroxylase gene: alternative splicing from a single gene accounts for generation of four mRNA types. *J Biochem* 103:907-912.
- Kojima J, Yamaji Y, Matsumura M, Nambu A, Inase M, Tokuno H, Takada M and Imai H (1997) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett* 226 :111-114.
- Koller W, Pahwa R, Busenbark K, Hubble J, Wilkinson S, Lang A, Tuite P, Sime E, Lazano A, Hauser R, Malapira T, Smith D, Tarsy D, Miyawaki E, Norregaard T, Kormos T and Olanow CW (1997) High-frequency unilateral thalamic stimulation in the treatment of essential and parkinsonian tremor. *Ann Neurol* 42 :292-299.
- Kordower JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerhoets FJ, Mufson EJ, Sanberg PR et al. (1995) Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 332 :1118-1124.
- Kordower JH, Emborg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L, McBride J, Chen EY, Palfi S, Roitberg BZ, Brown WD, Holden JE, Pyzalski R, Taylor MD, Carvey P, Ling Z, Trono D, Hantraye P, Deglon N and Aebischer P (2000) Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. *Science* 290 :767-773.
- Kornhuber J and Kornhuber ME (1986) Presynaptic dopaminergic modulation of cortical input to the striatum. *Life Sci* 39:669-674.
- Kotter R (1994) Postsynaptic integration of glutamatergic and dopaminergic signals in the striatum. *Prog Neurobiol* 44:163-196.
- Kozlowski MR and Marshall JF (1980) Rotation induced by intranigral injections of GABA agonists and antagonists: zone-specific effects. *Pharmacol Biochem Behav* 13:561-567.
- Krack P, Batir A, Van Blercom N, Chabardes S, Fraix V, Ardouin C, Koudsie A, Dowsey-Limousin P, Benazzouz A, LeBas JF, Benabid AL and Pollak P (2003) Five year follow up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *New Eng J Med* 349:1925-1934.
- Krack P, Limousin P, Benabid AL and Pollak P (1997) Chronic stimulation of subthalamic nucleus improves levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Lancet*, Vol. 350, p 1676.
- Krack P, Pollak P, Limousin P, Hoffmann D, Xie J, Benazzouz A et al. (1998) Subthalamic nucleus or internal pallidal stimulation in young onset Parkinson's disease. *Brain* 121 :451-457.
- Krack P, Pollak P, Limousin P, Benazzouz A, Deuschl G and Benabid AL (1999) From off-period dystonia to peak-dose chorea. The clinical spectrum of varying subthalamic nucleus activity. *Brain* 122:1133-1146.
- Krayniak PF, Meibach RC and Siegel A (1981) A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Brain Res* 209:427-431.
- Kreiss DS, Mastropietro CW, Rawji SS and walters JR (1997) The response of subthalamic nucleus neurons to dopamine receptor stimulation in a rodent model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 17:6807-6819.
- Kruger R, Kuhn W, Muller T, Woitalla W, Graeber M, Kosel S, Przuntek H, Epplen JT, Schols L and Riess O (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet* 18:106-108.
- Kuncel AM and Grill WM (2004) Selection of stimulus parameters for deep brain stimulation. *Clin Neurophysiol* 115:2431-2441.
- Kurlan R, Kim MH and Gash DM (1991) The time course and magnitude of spontaneous recovery of parkinsonism produced by intracarotid administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine to monkeys. *Ann Neurol* 29:677-679.
- Kurth MC, Adler CH, Saint-Hilaire MH, Singer C, Waters C, LeWitt P, Chernik DA, Dorflinger EE and Yoo K (1997) Tolcapone improves motor function and reduces levodopa requirement in patients with Parkinson's disease experiencing motor fluctuations: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Tolcapone Fluctuator Study Group I. *Neurology* 48:81-87.

- Lai BCL, Marion SA, Teschke K and Tsui JKC (2002) Occupational and environmental risk factors for Parkinson's disease. *Parkinsonism and related disorders* 8:297-309.
- Laitinen LV, Bergenheim AT and Hariz MI (1992) Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease. *J Neurosurg* 76:53-61.
- Lanfumeijer L and Hamon M (2004) 5HT1 receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 3:1-10.
- Lang AE, Lozano AM, Montgomery E, Duff J, Tasker R and Hutchinson W (1997) Posteroventral medial pallidotomy in advanced Parkinson's disease. *N Eng J Med* 337:1036-1042.
- Lang AE and Lozano AM (1998) Parkinson's disease. *N Eng J Med* 339:1044-1143.
- Lang AE and Obeso JA (2004) Challenges in Parkinson's disease : restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough. *Lancet Neurol* 3:309-316.
- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW and Irwin I (1983) Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219 :979-980.
- Langston JW, Forno LS, Rebert CS and Irwin I (1984) Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res* 292:390-394.
- Lansbury PT and Brice A (2002) Genetics of Parkinson's disease and biochemical studies of implicated gene products: Commentary. *Curr Opin Cell Biol* 14:653-660.
- Lapper SR and Bolam JP (1992) Input from the frontal cortex and the parafascicular nucleus to cholinergic interneurons in the dorsal striatum of the rat. *Neurosci* 51:533-545.
- Larsen M and Langmoen IA (1998) The effect of volatile anaesthetics on synaptic release and uptake of glutamate. *Tox Lett* 100-101:59-64.
- Larsen JP, Worm-Petersen J, Siden A, Gordin A, Reinikainen K and Leinonen M (2003) The tolerability and efficacy of entacapone over 3 years in patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 10:137-146.
- Lau LML and Breteler MMB (2006) Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* 6:525-535.
- Lavoie B, Smith Y and Parent a (1989) Dopaminergic innervation of the basal ganglia in the squirrel monkey as revealed by tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 289:36-52.
- Lavoie B and Parent A (1994) Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *J Comp Neurol* 344:210-231.
- Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, Woodham BL and Board PG (1999) Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother* 53:122-130.
- Lee CS, Cenci MA, Schulzer M and Björklund A (2000) Embryonic ventral mesencephalic grafts improve levodopa-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Brain* 123:1365-1379.
- Lee MS and Marsden CD (1994) Movement disorders following lesions of the thalamus or subthalamic region. *Mov Disord* 9:493-507.
- Lee T, Seeman P, Rajput A, Farley IJ and Hornykiewicz O (1978) Receptor basis for dopaminergic supersensitivity in Parkinson's disease. *Nature* 273:150-151.
- Lee KH, Roberts DW and Kim U (2003) Effect of high frequency stimulation of the subthalamic nucleus on subthalamic neurons: an intracellular study. *Stereotact Funct Neurosurg* 80:32-36.
- Leibowitz SF (1990) The role of serotonin in eating disorders. *Drugs* 3:S33-S48.
- Le Moine C and Bloch B (1995) D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum : sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J Comp Neurol* 355:418-426.

- Le Moine C, Normand E, Guitteny AF, Fouque B, Teoule R and Bloch B (1990) Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in the rat forebrain. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:230-234.
- Le Moine C, Normand E and Bloch B (1991) Phenotypical characterization of the rats striatal neurons expressing the D1 dopamine receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:4205-4209.
- Leroy E, Boyer R, Auburger G et al. (1998) The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 395:451-452.
- Lesage S, Dürr A, Tazir M, Lohmann E, Leutenegger AL, Janin S, Pollak P and Brice A (2006) The LRRK2 G2019S mutation as a cause of Parkinson's disease in north african arabs. *New Eng J Med* 26:422-423.
- Levesque M, Bedard A, Cossette M and Parent A (2003) Novel aspects of the chemical anatomy of the striatum and its efferents projections. *J Chem Neuroanat* 26:271-281.
- Levy R, Hazrati LN, Herrero MT, Vila M, Hassani OK, Mouroux M, Ruberg M, Asensi H, Agid Y, Féger J, Obeso JA, Parent A and Hirsch EC (1997) Re-evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and parkinsonian states. *Neurosci* 76:335-343.
- Levy R, Herrero MT, Ruberg M, Villares J, Faucheux B, Guiridi J, Guillen J, Luquin MR, Javoy-Agid F, Obeso JA, Agid Y and Hirsch EC (1995) Effects of nigrostriatal denervation and L-DOPA therapy on the GABAergic neurons of the striatum in MPTP-treated monkeys and Parkinson's disease: an in situ hybridization study of GAD 67 mRNA. *Eur J Neurosci* 7:1199-1209.
- Levy R., Lang A.E., Dostrovsky J.O., Pahapill P., Romas J., Saint-Cyr J., Hutchison W.D. and Lozano A.M. (2001) Lidocaine and muscimol microinjections in subthalamic nucleus reverse parkinsonian symptoms. *Brain* 124: 2105-2118.
- Lewis DA, Melchitzky DS and Haycock JW (1994) Expression and distribution of two isoforms of tyrosine hydroxylase in macaque monkey brain. *Brain Res* 656:1-13.
- Liberatore GT, Finkelstein DI, Wong JYF, Horne MK, Porritt MJ, Donnan GA and Howells DW (1999) Sprouting of dopaminergic axons after striatal injury : confirmation by markers not dependent on dopamine metabolism. *Exp Neurol* 159:565-573.
- Limousin P (1995) Effects on parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet*, Vol. 345, p 91-95.
- Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D and Benabid AL (1998) Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med* 339:1105-1111.
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Broussolle E, Perret JE and Benabid AL (1995) Bilateral subthalamic nucleus stimulation for severe Parkinson's disease. *Mov Disord* 10:672-674.
- Limousin P, Pollak P, Hoffmann D, Benazzouz A, Perret JE and Benabid AL (1996) Abnormal involuntary movements induced by subthalamic nucleus stimulation in parkinsonian patients. *Mov Disord* 11:231-235.
- Limousin P, Greene J, Pollak P, Rothwell J, Benabid AL and Frackowiak R (1997) Changes in cerebral activity pattern due to subthalamic nucleus or internal pallidum stimulation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 42:283-291.
- Lin SC and Bergles DE (2004) Synaptic signalling between neurons and glia. *Glia* 47:290-298.
- Lin LF, Doherty DH, Lile JD, Bektesh S And Collins F (1993) GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science* 260:1130-1132.
- Lindfors N (1993) Dopaminergic regulation of glutamic acid decarboxylase mRNA expression and GABA release in the striatum: a review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 17:887-903.
- Lindfors N, Brodin E, Tossman U, Segovia J and Ungerstedt U (1989) Tissue levels and in vivo release of tachykinins and GABA in striatum and substantia nigra of rat brain after unilateral striatal dopamine denervation. *Exp Brain Res* 74:527-534.
- Lindfors N and Ungerstedt U (1990) Bilateral regulation of glutamate tissue and extracellular levels in caudate-putamen by midbrain dopamine neurons. *Neurosci Lett* 115:248-252.
- Lindner MD, Cain CK, Plone MA, Frydel BR, Blaney TL, Emerich DF and Hoane MR (1999) Incomplete nigrostriatal dopaminergic cell loss and partial reductions in striatal dopamine produce akinesia, rigidity, tremor and cognitive deficits in middle-aged rats. *Behav Brain Res* 102:1-16.

- Lindvall O, Widner H, Rehnström S, Brundin P, Odin P, Gustavii B Et al. (1992) Transplantation of fetal dopaminergic neurons in Parkinson's disease: one-year clinical and neurophysiological observations in two patients with putaminal implants. *Ann Neurol* 31:155-165.
- Lindvall O And Hagell P (2000) Clinical observations after neural transplantation in Parkinson's disease. *Prog Brain Res* 127:299-320.
- Lindvall O. And Björklund A. (2004) Cell therapy in Parkinson's disease. *NeuroRx* 1:382-393.
- Liu QR, Lopez-Corcuera B, Mandiyan S, Nelson H and Nelson N (1993) Molecular characterization of four pharmacologically distinct alpha-aminobutyric acid transporters in mouse brain. *J Biol Chem* 268:2106-2112.
- Loopuijt LD and Van Der Kooy D (1985) Organization of the striatum : collateralization of its efferent axons. *Brain res* 348 :86-99.
- Lorenc-Koci E, Wardas J, Wolfarth S and Pilc A (2001) (S)-4C3HPG, a mixed group I mGlu receptor antagonist and a group II agonist, administered intrastrially, counteracts parkinsonian like muscle rigidity in rats. *Brain Res* 903:177-184.
- Lotrich FE, Pollock BG and Ferrell RE (2001) Polymorphism of the serotonin transporter: implications for the use of selective serotonin reuptake inhibitors. *Am J Pharmacogenomics* 1:153-164.
- Lozano AM, Dostrovsky J, Chen R and Ashby P (2002) Deep brain stimulation for Parkinson's disease: disrupting the disruption. *Lancet Neurol* 1:225-231.
- Lozano AM, Lang AE, Levy R, Hutchison W and Dostrovsky J (2000) Neuronal recordings in Parkinson's disease patients with dyskinesias induced by apomorphine. *Ann Neurol* 47:S141-S146.
- Lucas G, Di M, De Deurwaerdere P, Porrás G, Martín-Ruiz R, Artigas F, Esposito E And Spampinato U (2001) Neurochemical and electrophysiological evidence that 5-HT₄ receptors exert a state-dependent facilitatory control in vivo on nigrostriatal, but not mesoaccumbal, dopaminergic function. *Eur J Neurosci* 13:889-898.
- Lundblad M, Andersson M, Winkler C, Kirik D, Wierup N and Cenci MA (2002) Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 15 :120-132.
- Luthman J, Bolioli B, Tsutsumi T, Verhofstad A and Jonsson G (1987) Sprouting of striatal serotonin nerve terminals following selective lesions of nigro-striatal dopamine neurons in neonatal rat. *Brain Res Bull* 19:269-274.

M

- Macdonald RL and Olsen RW (1994) GABA_A receptors channels. *Annu Rev Neurosci* 17:569-602.
- Magarinos-Ascone C, Pazo JH, Macadar O and Buno W (2002) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus silences subthalamic neurons: a possible cellular mechanism in Parkinson's disease. *Neurosci* 115:1109-1117.
- Mailly P, Charpier S, Mahon S, Menetrey A, Thierry AM, Glowinski J and Deniau JM (2001) Dendritic arborizations of the rat substantia nigra pars reticulata neurons: spatial organization and relation to the lamellar compartmentation of striato-nigral projections. *J Neurosci* 21:6874-6888.
- Mailly P, Charpier S, Menetrey A and Deniau JM (2003) Three dimensional organization of the recurrent axon collateral network of the substantia nigra pars reticulata neurons in the rat. *J Neurosci* 23:5247-5257.
- Manning-Bog AB, McCormack AL, Li J, Uversky VN, Fink AL and DiMonte DA (2002) The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice :paraquat and alpha-synuclein. *J Biol Chem* 277:1641-1644.
- Marshall FH, Jones KA, Kaupmann K and Bettler B (1999) GABAB receptors - the first 7TM heterodimers. *Trends Pharmacol Sci* 20:396-399.
- Marshall JF, Navarrete R and Joyce JN (1989) Decreased striatal D1 binding density following meso-telencephalic 6-hydroxydopamine injections: an autoradiographic analysis. *Brain Res* 493:247-257.
- Martin JP (1927) Hemichorea resulting from a local lesion of the brain (the syndrome of the body of luys). *Brain* 50:637-651.

- Martin GR and Humphrey PPA (1994) Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. *Neuropharmacology* 33:261-273.
- Martin DC, Plagenhoef M, Abraham J, Dennison RL and Aronstam RS (1996) Volatile anesthetics and glutamate activation of NMDA receptors. *Biochem Pharmacol* 49:809-817.
- Masserano JM and Weiner N (1983) tyrosine hydroxylase regulation in the central nervous system. *Mol Cell Biochem* 54:129-152.
- Matsumine H, Yamamura Y, Hattori N, et al. (1998) A microdeletion of D6S305 in a family of autosomal recessive form of juvenile parkinsonism (PARK 2). *Genomics* 49:143-146.
- Matsumoto K, Shichijo F And Fukami T (1984) Long term follow-up review of cases of Parkinson's disease after unilateral or bilateral thalamotomy. *J Neurosurg* 60:1033-1044.
- Matzuk MM and Saper CB (1985) Preservation of hypothalamic dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 18:552-555.
- Maurice N, Thierry AM, Glowinski J and Deniau JM (2003) Spontaneous and evoked activity of substantia nigra pars reticulata neurons during high frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 23:9929-9936.
- McCallum SE, Parameswaran N, Perez XA, Bao S, McIntosh JM, Grady SR and Quik M (2006) Compensation in pre-synaptic dopaminergic function following nigrostriatal damage in primates. *J Neurochem* 96:960-972.
- McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA and DiMonte DA (2002) Environmental risk factors and Parkinson's disease : selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis* 10:119-127.
- McGeorge AJ and Faull RLM (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum of the rat. *Neurosci* 29:503-537.
- McIntyre CC and Grill WM (2001) Finite element analysis of the current density and electric field generated by metal microelectrodes. *Ann Biom Eng* 29: 227-235.
- McIntyre CC, Grill WM, Sherman DL and Thakor NV (2004c) Cellular effects of deep brain stimulation: model-based analysis of activation and inhibition. *J Neurophysiol* 91:1457-1469.
- McIntyre CC, Savasta M, Kerkerian-Le Goff L and Vitek JL (2004a) Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition or both. *Clin Neurophysiol* 115:1239-1248.
- McIntyre CC, Savasta M, Walter BL and Vitek JL (2004b) How deep brain stimulation work? Present understanding and future questions. *J Clin Neurophysiol* 21:1-11.
- McKernan RM and Whiting PJ (1996) Which GABAA receptor subtypes really occur in the brain? *Trends Neurosci* 19:139-143.
- Meissner W, Dovero S, Bioulac B, Gross C And Bezard E (2003) Compensatory regulation of striatal neuropeptide gene expression occurs before changes in metabolic activity of basal ganglia nuclei. *Neurobiol Dis* 13:46-54.
- Meissner W, Harnack D, Paul G, reum T, Sohr R, Morgenstern R and Kupsch A (2002) Deep brain stimulation of subthalamic neurons increases striatal dopamine metabolism and induces contralateral circling in freely moving 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Neurosci Lett* 328:105-108.
- Meissner W, Leblois A, Hansel D, Bioulac B, Gross CE, benazzouz A and Boraud T (2005) Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain* 128:2372-2382.
- Meissner W, Ravenscroft P, Reese R, Harnack D, Morgenstern R, Kupsch A, Klitgaard H, Bioulac B, Gross CE, Bezard E and Boraud T (2006) Increased slow oscillatory activity in substantia nigra pars reticulata triggers abnormal involuntary movements in the 6-OHDA-lesioned rat in the presence of excessive extracellular striatal dopamine. *Neurobiol Dis* 22:586-598.
- Menegoz M, Lau LF, Herve D, Haganir RL and Girault JA (1995) Tyrosine phosphorylation of NMDA receptor in the striatum: effects of 6-OHDA lesions. *Neuroreport* 7:125-128.
- Mignon L and Wolf WA (2005) 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin reduces striatal glutamate in an animal model of Parkinson's disease. *Neuroreport* 16:699-703.

- Meshul CK, Emre N, Nakamura CM, Allen C, Donohue MK and Buckman JF (1999) Time-dependent changes in striatal glutamate synapses following a 6-hydroxydopamine lesion. *Neurosci* 88:1-16.
- Miele M, Boutelle MG and Fillenz M (1996) The source of physiologically stimulated glutamate efflux from striatum of conscious rats. *J Physiol* 497:745-751.
- Milan MJ, Maiofiss L, Cussac D, Audinot V, Boutin JA and Newman-Tancredi A (2002) Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. I. A multivariate analysis of the binding profiles of 14 drugs at 21 native and cloned human receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 303:791-804.
- Mink JW (1996) The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog Neurobiol* 50:381-425.
- Mitchell IJ and Carroll CB (1997) Reversal of parkinsonian symptoms in primates by antagonism of excitatory amino acid transmission: potential mechanisms of action. *Neurosci Biobehav Rev* 21:469-475.
- Miyazaki H, Nakamura Y, Arai T and Kataoka K (1997) Increase of glutamate uptake in astrocytes: a possible mechanism of action of volatile anesthetics. *Anesthesiology* 86:1359-1366.
- Mizuno Y, Kondo T and Narabayashi H (1995) Pergolide in the treatment of Parkinson's disease. *Neurology* 45:S13-S21.
- Mogenson GJ, Swanson LW and Wu M (1983) Neural projections from nucleus accumbens to the globus pallidus, substantia innominata, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area : an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *J Neurosci* 3:189-202.
- Moghaddam B (1993) Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *J Neurochem* 60:1650-1657.
- Möhler H, Benke D and Fritschy JM (2001) GABAB receptor isoforms molecular architecture and distribution. *Life Sci* 68:2297-2300.
- Molinuevo JL, Valldeoriola F, Tolosa E, Rumià J, Valls-Sole J, Roldan H Et al. (2000) Levodopa withdrawal after bilateral subthalamic nucleus stimulation in advanced Parkinson's disease. *Arch Neurol* 57:983-988.
- Morari M, Marti M, Sbrenna S, Fuxe K, Bianchi C and Beani L (1998) Reciprocal dopamine-glutamate modulation of release in the basal ganglia. *Neurochem Int* 33:383-397.
- Mori S, Ueda S, Yamada H, takino T and Sano Y (1985) Immunohistochemical demonstration of serotonin nerve fibers in the corpus striatum of the rat, cat and monkey. *Anat Embryol* 173:1-5.
- Moriizumi T and Hattori T (1992) Separate neuronal populations of the rat globus pallidus projecting to the subthalamic nucleus, auditory cortex and pedunculo-pontine tegmental area. *Neurosci* 46:701-710.
- Morissette M, Grondin R, Goulet M, Bedard PJ and Di Paolo T (1999) Differential regulation of striatal preproenkephalin and preprotachykinin mRNA levels in MPTP-lesioned monkeys chronically treated with dopamine D1 or D2 receptor agonists. *J Neurochem* 72:682-692.
- Moro E, Esselink RJ, Xie J, Hommel M, Benabid AL and Pollak P (2002) The impact of Parkinson's disease of electrical parameter settings in STN stimulation. *Neurology* 59:706-713.
- Moro E, Scerrati M, Romito LM, Roselli R, Tonali P And Albanese A (1999) Chronic subthalamic nucleus stimulation reduces medication requirements in Parkinson's disease. *Neurology* 53:85-90.
- Moukhles H, Bosler O, Bolam JP, Vallee A, Umbriaco D, Geffard M and Doucet G (1997) Quantitative and morphometric data indicate precise cellular interactions between serotonin terminals and postsynaptic targets in rat substantia nigra. *Neurosci* 76:1159-1171.
- Mounayar S, Jan C, François C, Féger J and Tremblay L (2006) Effects of dopamine and serotonin antagonists in the striatum of MPTP treated monkeys after recovery of parkinsonian motor symptoms. *FENS abstract Vol3, A147.13*.
- Mouradian MM (2002) Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology* 58:179-185.
- Mouroux M, Hassani OK and Féger J (1995) Electrophysiological study of the excitatory parafascicular projection to the subthalamic nucleus and evidence for ipsi and contralateral controls. *Neurosci* 67:399-407.
- Mouroux M, Hassani OK and féger J (1997) Electrophysiological and fos immunohistochemical evidence for the excitatory nature of the parafascicular projection to the globus pallidus. *Neurosci* 81:387-397.

Münchau A And Bhatia KP (2000) Pharmacological treatment of Parkinson's disease. *Postgrad Med J* 76:602-610.

Murer MG, Riquelme LA, Tseng KY and Pazo JH (1997) Substantia nigra pars reticulata single unit activity in normal and 6-OHDA lesioned rats: effects of intrastriatal apomorphine and subthalamic lesions. *Synapse* 27:278-293.

N

Nakamura S, Fukkuda H, Hara K, Fukuyama H and Kameyama M (1988) Biochemical aspects of Parkinson-dementia complex. *Eur Neurol* 28:S24-S28.

Nakanishi H, Kita H and Kitai ST (1987) Intracellular study of rat substantia nigra pars reticulata neurons in an in vitro slice preparation: electrical membrane properties and response characteristics to subthalamic stimulation. *Brain Res* 437:45-55.

Nakanishi H, Kita H and Kitai ST (1991) Intracellular study of rat entopeduncular nucleus neurons in an in vitro slice preparation: response to subthalamic stimulation. *Brain Res* 549:285-291.

Nambu A and Linas R (1997) Morphology of globus pallidus neurons : its correlation with electrophysiology in guinea pigs brain slices. *J Comp Neurol* 377:85-94.

Nambu A, Takada M, Inase M and Tokuno H (1996) Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *J Neurosci* 16:2671-2683.

Nambu A, Tokuno H, Inase M and Takada M (1997b) Corticosubthalamic input zones from forelimb representations of the dorsal and ventral divisions of the premotor cortex in the macaque monkey: comparison with the input zones from the primary motor cortex and the supplementary area. *Neurosci Lett* 239:13-16.

Narang N and Wamsley JK (1995) Time dependent changes in DA uptake sites, D1 and D2 receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *J Chem Neuroanat* 9:41-53.

Nash JE, Ravenscroft P, McGuire S, Crossman AR, Menniti FS and Brotchie JM (2004) The NR2B-selective NMDA receptor antagonist CP-101,606 exacerbates L-DOPA-induced dyskinesia and provides mild potentiation of anti-parkinsonian effects of L-DOPA in the MPTP-lesioned marmoset model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 188:471-479.

Nelson H, Mandiyan S and Nelson N (1990) Cloning of the human brain GABA transporter. *FEBS Lett* 269:181-184.

Nguyen JP and Degos JD (1993) Thalamic stimulation and proximal tremor. A specific target in the nucleus ventrointermedius thalami. *Arch Neurol* 50:498-500.

Ni Z, Bouali-Benazzou R, gao D, Benabid AL and Benazzou A (2000) Changes in the firing pattern of the globus pallidus neurons after the degeneration of nigrostriatal pathway are mediated by the subthalamic nucleus in the rat. *Eur J Neurosci* 12:4338-4344.

Nielsen KM and Soghomonian JJ (2003) Dual effects of intermittent or continuous L-DOPA administration on gene expression in the globus pallidus and subthalamic nucleus of adult rats with a unilateral 6-OHDA lesion. *Synapse* 49:246-260.

Nielsen KM and Soghomonian JJ (2003) Normalization of glutamate decarboxylase gene expression in the entopeduncular nucleus of rats with a unilateral 6-hydroxydopamine lesion correlates with increased GABAergic input following intermittent but not continuous levodopa. *Neurosci* 123:31-42.

Nieoullon A and Kerkerian-Le Goff L (1992) Cellular interactions in the striatum involving neuronal systems using 'classical' neurotransmitters : possible functional implications. *Mov Disord* 4 :311-325.

Nohria V And Partiot A (1997) A review of the efficacy of the dopamine agonists pergolide and bromocriptine in the treatment of Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 4:537-543.

Nomoto M, Shimizu T, Iwata S, Kaseda S and Fukuda T (1999) Metabolism of adenosine increase in the striatum in common marmoset parkinsonism induced by MPTP. *Adv Neurol* 80:125-128.

Nutt JG, Burchiel KJ, Comella CL, Jankovic J, Lang AE, Laws ER et al. (2003) Randomized, double blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in PD. *Neurology* 60:69-73.

O

- Obeso JA, Rodriguez MC and Delond MR (1997) Basal ganglia pathophysiology. A critical review. *Adv Neurol* 74:3-18.
- Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Guridi J, Alvarez L, Alvarez E, Macias R, Juncos JL and Delong M (2000a) Lesion of the basal ganglia and surgery for parkinson's disease. *Arch Neurol* 57 :1118-1125.
- Obeso JA, Rodriguez -Oroz MC, Rodriguez M, Arbizu J and Gimenez-amaya JM (2002) The basal ganglia and disorders of movement: pathophysiological mechanisms. *News Physiol Sci* 17:51-55.
- Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Marin C, Alonso F, Zamarbide I, Lanciego JL and Rodriguez-Diaz M (2004) The origin of motor fluctuations in Parkinson's disease: importance of dopaminergic innervation and basal ganglia circuits. *Neurology* 62:S17-S30.
- Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Rodriguez M, Lanciego JL, Artieda J, Gonzalo N and Olanow CW (2000b) Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 23:S8-S19.
- Oh JD and Chase TN (2002) Glutamate-mediated striatal dysregulation and the pathogenesis of motor response complications in Parkinson's disease. *Amino Acids* 23:133-139.
- Oh JD, Russell D, Vaughan CL and Chase TN (1998) Enhanced tyrosine phosphorylation of striatal NMDA receptor subunits: effect of dopaminergic denervation and levodopa administration. *Brain Res* 813:150-159.
- Ohara K, Kondo N and Ohara K (1998) Changes of monoamines in post-mortem brains from patients with diffuse Lewy body disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 22:311-317.
- Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF et al. (2003) A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 54:403-414.
- Olanow CW (2000) Tolcapone and hepatotoxic effects. *Tasmar Advisory Panel. Arch Neurol* 57:263-267.
- Onn SP, Berger TW, Stricker EM and Zigmond MJ (1986) Effects of intraventricular 6-hydroxydopamine on the dopaminergic innervation of the striatum: histochemical and neurochemical analysis. *Brain Res* 376 :8-19.
- Orieux G, François C, fêger J, yelnik j, Vila M, ruberg M, Agid Y and Hirsch EC (2000) Metabolic activity of excitatory parafascicular and pedunculopontine inputs to the subthalamic nucleus in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci* 97 :79-88.
- Osborne PG, Mataga N, Onoe H and Watanabe Y (1993) Behavioural activation by stimulation of a GABAergic mechanism in the preoptic area of rat. *Neurosci Lett* 158:201-204.
- Ota Y, Miyoshi S, Ueda O, Mulai T and Maeda A (1958) Familial paralysis agitans juvenilis. A clinical, anatomical and genetic study. *Folia Psychiat Neurol Japonica* 12:112-121.
- Ozawa S, Kamiya H and Tsuzuki K (1998) Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol* 54:581-618.

P

- Paillé V, Brachet P and Damier P (2004) Role of nigral lesion in the genesis of dyskinesias in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroreport* 15:561-564.
- Palfi S, Leventhal L, Chu Y, Ma SY, Emborg M, Bakay R, Deglon N, Hantraye P, Aebischer P and Kordower JH (2002) Lentivirally delivered glial cell line-derived neurotrophic factor increases the number of striatal dopaminergic neurons in primate models of nigrostriatal degeneration. *J Neurosci* 22:4942-4954.
- Pan HS and Walters JR (1988) Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decreases the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. *Synapse* 2:650-656.
- Papa SM, Boldry RC, Engber TM, Kask AM and Chase TN (1995) Reversal of levodopa-induced motor fluctuations in experimental parkinsonism by NMDA receptor blockade. *Brain Res* 701:13-18.

- Papa SM and Chase TN (1996) Levodopa-induced dyskinesias improved by a glutamate antagonist in Parkinsonian monkeys. *Ann Neurol* 39:574-578.
- Papa SM, Desimone R, Fiorani M and Oldfield EH (1999) Internal globus pallidus discharge is nearly suppressed during levodopa-induced dyskinesias. *Ann Neurol* 48:732-738.
- Papadimitriou A, Veltza V, Hadjigeorgiou GM, Patrikiou A, Hirano M and Anastasopoulos I (1999) Mutated alpha-synuclein gene in two greek kindreds with familial PD: incomplete penetrance ? *Neurology* 52:651-654.
- Parent A (1990) Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:254-258.
- Parent A, Charara A and Pinault D (1995) Single striatofugal axons arborizing in both pallidal segments and in the substantia nigra in primates. *Brain Res* 698:280-284.
- Parent A and Cicchetti F (1998) The current model of basal ganglia organization under scrutiny. *Mov Disord* 13:199-202.
- Parent A and Hazrati LN (1994) Multiple striatal representation in primate substantia nigra. *J Comp Neurol* 344:305-320.
- Parent A and Hazrati LN (1995a) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Rev* 20:91-127.
- Parent A and Hazrati LN (1995b) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Rev* 20:128-54.
- Parent A and Lavoie B (1993) The heterogeneity of the mesostriatal dopaminergic system as revealed in normal and parkinsonian monkeys. *Adv Neurol* 60:25-33.
- Parent A and Smith Y (1987) Organization of efferent projections of the subthalamic nucleus in the squirrel monkey as revealed by retrograde labelling methods. *Brain Res* 436:296-310.
- Parpura V, Scemes E and Spray DC (2004) Mechanisms of glutamate release from astrocytes: gap junction 'hemichannels', purinergic receptors and exocytotic release. *Neurochem Int* 45:259-264.
- Patel NK, Heywood P, O'Sullivan K, McCarter R, Love S And Gill SS (2003) Unilateral subthalamotomy in the treatment of Parkinson's disease. *Brain* 126:1136-1145.
- Paul G, Reum T, Meissner W, Marburger A, Sohr R, Morgenstern R and Kupsch A (2000) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus influences striatal dopaminergic metabolism in the naive rat. *Neuroreport* 11:441-444.
- Paulsen RE and Fonnum F (1989) Role of glial cells for the basal and Ca²⁺ dependant K⁺ evoked release of transmitter amino acids investigated by microdialysis. *J Neurochem*. Raven Press, Ltd, N Y. International society for neurochemistry.
- Paxinos G and Watson C (1986) The rat brain. In stereotaxic coordinates, Fourth edition. Academic Press, San Diego.
- Pearce RA, Stringer JL and Lothman EW (1989) Effect of volatile anesthetics on synaptic transmission in the rat hippocampus. *Anesthesiology* 71:591-598.
- Percheron G, Yelkin J and François C (1986 a) Systems of coordinates for stereotactic surgery and cerebral cartography: advantages of ventricular systems in monkeys. *J Neurosci Met* 17-69-88.
- Percheron G, François C and Yelnik J (1986 b) Instruments and techniques for the stereotactic surgery based on the CA-CP ventricular system of coordinates in monkeys. *J Neurosci Met* 17 :89-99.
- Perez-Otano I, Herrero MT, Oset C, DeCeballos ML, Luquin MR, Obeso JA and Del Rio J (1991) Extensive loss of brain dopamine and serotonin induced by chronic administration of MPTP in the marmoset. *Brain Res* 567:127-132.
- Perez-Otano I, Oset C, Luquin MR, Herrero MT, Obeso JA and Del Rio J (1994) MPTP-induced parkinsonism in primates: pattern of striatal dopamine loss following acute and chronic administration. *Neurosci Lett* 175:121-125.
- Perier C, Tremblay L, Féger J and Hirsch EC (2002) Behavioral consequences of bicuculline injection in the subthalamic nucleus and the zona incerta in rat. *J Neurosci* 22:8711-8719.
- Perlmutter JS, Mink JW, Bastian AJ, Zackowski K, Hershey T, Miyawaki E, Koller W and Videen TO (2002) Blood flow responses to deep brain stimulation of the thalamus. *Neurology* 58:1388-1394.

- Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger A, Olson L and Wyatt RJ (1979) Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Sci* 204:643-647.
- Perry TL, Javoy-Agid F, Agid Y and Fibiger HC (1983) Striatal GABAergic neuronal activity is not reduced in Parkinson's disease. *J Neurochem* 40:1120-1123.
- Peschanski M, Defer G, N'Guyen JP, Ricolfi F, Monfort JC, Remy P Et al. (1994) Bilateral motor improvement and alteration of L-dopa effect in two patients with Parkinson's disease following intrastriatal transplantation of foetal ventral mesencephalon. *Brain* 117:487-499.
- Pessiglione M, Guehl D, Agid Y, Hirsch EC, Feger J and Tremblay L (2003) Impairment of context-adapted movement selection in a primate model of presymptomatic Parkinson's disease. *Brain* 126:1392-1408.
- Peters JL, Miner LH, Michael AC and Sesack SR (2004) Ultrastructure at carbon fiber microelectrode implantation sites after acute voltammetric measurements in the striatum of anesthetized rats. *J Neurosci Met* 137:9-23.
- Petzinger GM, Fisher B, Hogg E, Abernathy A, Arevalo P, Nixon K and Jakowec MW (2006) Behavioural motor recovery in the MPTP lesioned squirrel monkey: changes in striatal dopamine and expression of tyrosine hydroxylase and dopamine transporter proteins. *J Neurosci Res* 83:332-347.
- Phelps PE, Houser CR and Vaughn JE (1985) Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase within the rat neostriatum: a correlated light and electron microscopic study of cholinergic neurons and synapses. *J Comp Neurol* 238:286-307.
- Piccini P, Brooks DJ, Björklund A, Gunn RN, Grasby PM, Rimoldi O et al. (1999) Dopamine release from nigral transplants visualized in vivo in a Parkinson's patient. *Nat Neurosci* 2:1137-1140.
- Piccini P, Lindvall O, Björklund A, Brundin P, Hagell P, Ceravolo R Et al. (2000) Delayed recovery of movement related cortical function in Parkinson's disease after striatal dopaminergic graft. *Ann Neurol* 48:689-695.
- Picconi B, Centonze D, Hakansson K, Bernardi G, Greengard P, Fisone G, Cenci MA and Calabresi P (2003) Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Neurosci* 6:501-506.
- Picconi B, Centonze D, Rossi S, Bernardi G and Calabresi P (2004) Therapeutic doses of L-dopa reverse hypersensitivity of corticostriatal D2-dopamine receptors and glutamatergic overactivity in experimental parkinsonism. *Brain* 127 :1661-1669.
- Pierot L, Desnos C, Blin J, Raisman R, Scherman D, Javoy-Agid F, Ruberg M and Agid Y (1988) D1 and D2 type dopamine receptors in patients with Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 86:291-306.
- Pifl C, Schingnitz G And Hornykiewicz O (1988) the neurotoxin MPTP does not reproduce in the rhesus monkey the interregional pattern of striatal dopamine loss typical of human idiopathic parkinson's disease. *Neurosci Lett* 92:228-233.
- Pifl C, Schingnitz G And Hornykiewicz O (1991) Effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on the regional distribution of brain monoamines in the rhesus monkey. *Neurosci* 44:591-605.
- Pifl C, Schingnitz G And Hornykiewicz O (1992) Striatal and non striatal neurotransmitter changes in MPTP-parkinsonism in rhesus monkey: the symptomatic versus the asymptomatic condition. *Neurochem Int* 20:S295-S297.
- Piggott MA, Marshall EF, Thomas N, Lloyd S, Court JA, Jaros E, Burn D, Johnson M, Perry RH, McKeith IG, Ballard C And Perry EK (1999) Striatal dopaminergic markers in dementia with Lewy bodies, Alzheimer's and Parkinson's diseases: rostrocaudal distribution. *Brain* 122:1449-1468.
- Pineyro G and Blier P (1999) Autoregulation of serotonin neurons : role in antidepressant drug action. *Pharmacol Rev* 51 :533-591.
- Pocock G and Richards CD (1988) The action of volatile anaesthetics on synaptic excitation and inhibition in the olfactory bulb. *J Physiol* 223 :803-814.
- Pollak P, Benabid AL, Gross C, Goa D, Laurent A, Benazzouz A, Hoffmann D, Gentil M and Perret J (1993) Effets de la stimulation du noyau subthalamique dans la maladie de Parkinson. *Rev Neurol* 149:175-176.
- Pollak P, Benabid AL, Limousin P, Benazzouz A, Hoffmann D, LeBas JF and Perret J (1996) Subthalamic nucleus stimulation alleviates akinesia and rigidity in parkinsonian patients. In: *Adv Neurology* 69 :591-594. Eds L. Battistin, T. Scarlato, T. Caraceni and S. Ruggieri. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenross ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI and Nussbaum RL (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276:2045-2047.

Postuma RB and Lang AE (2003) Hemiballism: revisiting a classic disorder. *Lancet Neurol* 2 :661-668.

Prensa L, Cossette M and Parent A (2000) dopaminergic innervation of human basal gangli. *J Chem Neuroanat* 20:207-213.

Przedborski S, Jackson-Lewis V, Popilskis S, Kostic V, Levivier M, Fahn S and Cadet JL (1991) Unilateral MPTP induced parkinsonism in monkeys. A quantitative autoradiographic study of dopamine D1 and D2 receptors and re-uptake sites. *Neurochir* 37:377-382.

Q

R

Radian R, Ottersen OP, Storm-Mathisen J, Castel M and Kanner BI (1990) Immunocytochemical localization of the GABA transporter in the rat brain. *J Neurosci* 10:1319-1330.

Rafols JA and Fox CA (1976) The neurons in the primate subthalamic nucleus : a golgi and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 168:75-111.

Ragozzino D, Woodward RM, Murata Y, Eusebi F, Overman LE and Miledi R (1996) Design and in vitro pharmacology of a selective gamma-aminobutyric acidC receptor antagonist. *Mol Pharmacol* 50 :1024-1030.

Rascol O, Brooks DJ, Korczyn AD, DeDeyn PP, Clarke CE and Lang AE (2000) A 5 year study of the incidence of dyskinesia in patients with Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. *N Eng J Med* 342:1484-1491.

Ratray M and Priestley JV (1993) Differential expression of GABA transporter-1 messenger RNA in subpopulations of GABA neurons. *Neurosci Lett* 156:163-166.

Ray CD and Burton CV (1980) Deep brain stimulation for severe, chronic pain. *Acta Neurochir* 30:S289-S293.

Ribeiro MJ, Vidailhet M, Loc'h C, Dupel C, Nguyen JP, Ponchant M, Dolle F, Peschanski M, Hantraye P, Cesaro P, Samson Y and Remy P (2002) Dopaminergic function and dopamine transporter binding assessed with positron emission tomography in Parkinson disease. *Arch Neurol* 59:580-586.

Rinne JO, Laihinen A, Rinne UK, Nagren K, Bergman J and Ruotsalainen U (1993) PET study on striatal dopamine D2 receptor changes during the progression of early Parkinson's disease. *Mov Disord* 8:1134-138.

Rinne UK, Lönnberg P and Koshinen V (1985) Dopamine receptors in parkinsonian brain. *Brain Res* 359:19-25.

Rinne UK, Sonninen V and Laaksonen H (1979) responses of brain neurochemistry to levodopa treatment in Parkinson's disease. *Adv Neurol* 24:259-274.

Rizzone M, Lanotte M, Bergamasco B, Tavella A, Torre E, Faccani G, Melcarne A and Lopiano L (2001) Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: effects of variation in stimulation parameters. *J Neurol Neurosurg Psy* 71:215-219.

Robelet S, Melon C, Guillet B, Salin P and Kerkerian-Le Goff L (2004) Chronic L-DOPA treatment increases extracellular glutamate levels and GLT1 expression in the basal ganglia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 20:1255-1266.

Robertson RG, Graham WC, Sambrook MA and Crossman AR (1991) Further investigations into the pathophysiology of MPTP-induced parkinsonism in the primate: an intracerebral microdialysis study of gamma-aminobutyric acid in the lateral segment of the globus pallidus. *Brain Res* 563:278-280.

Robinson MB (1999) The family of sodium-dependent glutamate transporters: a focus on the GLT-1/EAAT2 subtype. *Neurochem Int* 33:479-91.

- Robinson S, Freeman P, Moore C, Touchon JC, Krentz L and Meshul CK (2003) Acute and subchronic MPTP administration differentially affects striatal glutamate synaptic function. *Exp Neurol* 180:74-87.
- Robinson TE and Whishaw IQ (1988) Normalization of extracellular dopamine in the striatum following recovery from a partial unilateral 6-OHDA lesion of the substantia nigra: a microdialysis study in freely moving rats. 450:209-224.
- Robledo P and Féger J (1990) Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidal complex: electrophysiological data. *Brain Res* 518:47-54.
- Roffler-Tarlov S, Sharman DF and Tegerdine P (1971) 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and 4-hydroxy-3-methoxyphenylacetic acid in the mouse striatum: a reflection of intra- and extra-neuronal metabolism of dopamine. *Br J Pharmacol* 42:343-351.
- Rosales MG, Martinez-Fong D, Morales R, Nunez A, Flores G, Gongora-Alfaro JL, Floran B and Aceves J (1997) Reciprocal interaction between glutamate and dopamine in the pars reticulata of the rat substantia nigra: a microdialysis study. *Neurosci* 80:803-810.
- Rose S, Nomoto M, Kelly E, Kilpatrick G, Jenner P and Marsden CD (1989) Increased caudate dopamine turnover may contribute to the recovery of motor function in marmosets treated with the dopaminergic neurotoxin MPTP. *Neurosci Lett* 101:305-310.
- Rosenblad C, Kirik D and Björklund A (2000) Sequential administration of GDNF into the substantia nigra and striatum promotes dopamine neuron survival and axonal sprouting but not striatal reinnervation or functional recovery in the partial 6-OHDA lesion model. *Exp Neurol* 161:503-516.
- Rosenblad C, Martinez-Serrano A and Björklund A (1998) Intra-striatal glial cell line-derived neurotrophic factor promotes sprouting of spared nigrostriatal dopaminergic afferents and induces recovery of function in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci* 82:129-137.
- Roth BL, Craigo SC, Choudhary MS, Uluer A, Monsma FJJ, Shen Y, Meltzer HY and Sibley DR (1994) Binding of typical and atypical antipsychotic agents to 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 268:1403-1410.
- Rothblat DS, Schroeder JA and Schneider JS (2001) Tyrosine hydroxylase and dopamine transporter expression in residual dopaminergic neurons: potential contributors to spontaneous recovery from experimental Parkinsonism. *J Neurosci Res* 65:254-266.
- Rothstein JD, Dykes-Hoberg M, Pardo CA, Bristol LA, Jin L, Kuncl RW, Kanai Y, Hediger MA, Wang Y, Schielke JP and Welty DF (1996) Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron* 16:675-686.
- Rothstein JD, Martin L, Levey AI, Dykes-Hoberg M, Jin L, Wu D, Nash N and Kuncl RW (1994) Localization of neuronal and glial glutamate transporters. *Neuron* 13:713-725.
- Rozas G, Liste I, Guerra M.J and Labandeira-Garcia JL (1998) Sprouting of the serotonergic afferents into striatum after selective lesion of the dopaminergic system by MPTP in adult mice. *Neurosci Lett* 245:151-154.
- Rozza A, Masoero E, Favalli L, Lanza E, Govoni S, Rizzo V and Montalbetti L (2000) Influence of different anaesthetics on extracellular aminoacids in rat brain. *J Neurosci Met* 101:165-169.
- Rushlow W, Flumerfelt BA and Nauss CC (1995) Colocalization of somatostatin, neuropeptide Y, and NADPH-diaphorase in the caudate-putamen of the rat. *J Comp Neurol* 351:499-508.
- Russ H, Mihatsch W, Gerlach M, Riederer P and Przuntek H (1991) Neurochemical and behavioural features induced by chronic low dose treatment with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the common marmoset: implications for Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 123:115-118.
- Russ H, Staust K, Martel F, Gliese M and Schomig E (1996) The extraneuronal transporter for monoamine transmitters exists in cells derived from human central nervous system glia. *Eur J Neurosci* 8:1256-1264.
- Ryan LJ, Sanders DJ and Clark KB (1992) Auto and cross correlation analysis of subthalamic nucleus neuronal activity in neostriatal and globus pallidus lesioned rats. *Brain Res* 583:253-261.

S

- Sadikot AF, Parent A, Smith Y and Bolam JP (1992) Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: a light and electron microscopic study of the thalamostriatal projection in relation to striatal heterogeneity. *J Comp Neurol* 320:228-242.
- Salin P, Manrique C, Forni C, and Kerkerian-Le Goff L (2002) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus selectively reverses dopamine denervation induced cellular defects in the output structures of the basal ganglia in the rat. *J Neurosci* 22: 5137-5148.
- Sato F, Parent M, Levesque M and Parent A (2000) Axonal branching pattern of neurons of the subthalamic nucleus in primates. *J Comp Neurol* 424:142-152.
- Sauer H and Oertel WH (1994) Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. *Neurosci* 59:401-415.
- Savasta M, Dubois A, Benavides J and Scatton B (1988) Different plasticity changes in D1 and D2 receptors in rat striatal subregions following impairment of dopaminergic transmission. *Neurosci Lett* 85:119-124.
- Savasta M, Dubois A, Feuerstein C, Benavides J and Scatton B (1987) Localization of D1 dopamine receptors in the rat brain by quantitative autoradiography: effect of dopaminergic denervation. *Biogenic Amines* 4:419-429.
- Savasta M, Mennicken F, Christin M, Abrous DN, Feuerstein C, LeMoal M and Herman JP (1992) Intrastriatal dopamine rich implants reverse the changes in dopamine D2 receptor densities caused by 6-OHDA lesion of the nigro-striatal pathway in rats: an autoradiographic study. *Neurosci* 46:729-738.
- Savasta M, Windels F, Bruet N, Bertrand A and Poupard A (2002) Neurochemical modifications induced by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats. *The Basal Ganglia VII*, Edited by Nicholson and Faull, Kluwer Academic/Plenum Publishers:581-590.
- Sawle GV, Bloomfield PM, Bkorklund A, Brooks DJ, Brundin P, Leenders KL et al. (1992) Transplantation of fetal dopaminergic neurons in Parkinson's disease: PET [18F]6-L-fluorodopa studies in two patients with putaminal implants. *Ann Neurol* 31:166-173.
- Scarnati E, Gasbarri A, Campana E and Pacitti C (1987) The organization of nucleus tegmenti pedunculopontinus neurons projecting to basal ganglia and thalamus : a retrograde fluorescent double labeling study in the rat. *Neurosci Lett* 79:11-16.
- Scatton B, Dennis T, L'Heureux R, Monfort JC, Duyckaerts C and Javoy-Agid F (1986) Degeneration of noradrenergic and serotonergic but not dopaminergic neurons in the lumbar spinal cord of parkinsonian patients. *Brain Res* 380:181-185.
- Scatton B, Javoy-Agid F, Rouquier L, Dubois B and Agid Y (1983) Reduction of cortical dopamine, noradrenaline, serotonin and their metabolites in Parkinson's disease. *Brain Res* 275:321-328.
- Schapira AHV (1994) Evidence for mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: a critical appraisal. *Mov Disord* 9:125-138.
- Schapira AHV (2006) Etiology of Parkinson's disease. *Neurology* 66:S10-S23.
- Schmidt N and Ferger B(2001) Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 108:1263-1282.
- Schneider J.S., Unguez G., Yuwiler A., Breg S.C. and Markham C.H. (1988) Deficits in operant behaviour in monkeys treated with N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) *Brain* 111:1265-1285.
- Schneider JS (1990) Chronic exposure to low doses of MPTP. II. Neurochemical and pathological consequences in cognitively-impaired, motor asymptomatic monkeys. *Brain Res* 534:25-36.
- Schneider JS and Kovelowski CJ (1990) Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Res* 519:122-128.

- Schneider JS and Dacko S (1991) Relative sparing of the dopaminergic innervation of the globus pallidus in monkeys made hemi-parkinsonian by intracarotid MPTP infusion. *Brain Res* 556:292-296.
- Schneider JS and Pope-Coleman A (1995) Cognitive deficits precede motor deficits in a slowly processing model of parkinsonism in the monkey. *Neurodegeneration* 4:245-255.
- Schneider JS and Rothblat DS (1991) Neurochemical evaluation of the striatum in symptomatic and recovered MPTP-treated cats. *Neurosci* 44:421-429.
- Schneider JS, Rothblat DS and DiStefano L (1994) Volume transmission of dopamine over large distances may contribute to recovery from experimental parkinsonism. *Brain Res* 643:86-91.
- Schneider JS and DiStefano L (1995) Enhanced restoration of striatal dopamine concentrations by combined GM1 ganglioside and neurotrophic factor treatments. *Brain Res.* 674:260-264.
- Schultz W and Ungerstedt U (1978) Short term increase and long term reversion of striatal cell activity after degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Expl Brain Res* 33:159-171.
- Schuurman PR, Bosch DA, Bossuyt PM, Bonsel GJ, Van Someren EJ, De Bie RM et al. (2000) A comparison of continuous thalamic stimulation and thalamotomy for suppression of severe tremor. *N Engl J Med* 342:461-468.
- Schwarcz R, Creese I, Coyle JT and Snyder SH (1978) Dopamine receptors localised on cerebral cortical afferents to rat corpus striatum. *Nature* 271:766-768.
- Schwartz RKW and Huston JP (1996a) Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog Neurobiol* 49:215-266.
- Schwartz RKW and Huston JP (1996b) The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioural brain research. Analysis and functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol* 50:275-331.
- Segovia J, Armstrong DM, Benzing WC and Hornby PJ (1991) Striatal glutamic acid decarboxylase immunoreactivity is increased after dopaminergic deafferentation: densitometric analysis. *Neurosci Lett* 122:252-256.
- Sgambato-Faure V, Buggia V, Gilbert F, Levesque D, Benabid AL and Berger F (2005) Coordinated and spatial upregulation of arc in striatonigral neurons correlates with L-dopa-induced behavioral sensitization in dyskinetic rats. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:936-947.
- Shammah-Lagnado SJ, Alheid GF and Heimer L (1996) Efferent connections of the caudal part of the globus pallidus in the rat. *J Comp Neurol* 376 :489-507.
- Shigeri Y, Seal RP and Shimamoto K (2004) Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs. *Brain Res Brain Res Rev* 45:250-265.
- Shink E, Bevan MD, Bolam JP and Smith Y (1996) The subthalamic nucleus and the external pallidum : two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. *Neurosci* 73:335-357.
- Shink E and Smith Y (1995) Differential synaptic innervation of neurons in the internal and external segments of the globus pallidus by the GABA and glutamate containing terminals in the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 358 :119-141.
- Shinotoh H, Inoue O, Hirayama K, Aotsuka A, Asahina M, Suhara T, Yamazaki T, Tateno Y (1993) Dopamine D1 receptors in Parkinson's disease and striatonigral degeneration: a positron emission tomography study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 56:467-472.
- Siegfried J and Lippitz B (1994) Chronic electrical stimulation of the VL-VPL complex and of the pallidum in the treatment of movement disorders: personal experience since 1982. *Stereotact. Funct Neurosurg* 62:71-75.
- Siegfried J and Wellis G (1997) Chronic electrostimulation of ventroposterolateral pallidum: follow-up. *Acta Neurochir* 68:11-13.
- Skirboll S, Wang J, Mefford I, Hsiao J and Bankkiewicz KS (1990) In vivo changes of catecholamines in hemiparkinsonian monkeys measured by microdialysis. *Exp Neurol* 110:187-193.
- Slovin H, Abeles M, Vaadia E, Haalman I, Prut Y and Bergman H (1999) Frontal cognitive impairments and saccadic deficits in low-dose MPTP-treated monkeys. *J Neurophysiol* 81:858-874.
- Smith Y, Bennett BD, Bolam JP, Parent A and Sadikot AF (1994) Synaptic relationship between dopaminergic afferents and cortical or thalamic input in the sensorimotor territory of the striatum in monkey. *J Comp Neurol* 344:1-19.

- Smith Y, Bevan MD, Shink E and Bolam JP (1998) Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neurosci* 86:353-387.
- Smith Y and Bolam JP (1990) The output neurons and the dopaminergic neurons of the substantia nigra receive a GABA containing input from the globus pallidus in the rat. *J Comp Neurol* 296:47-64.
- Smith Y and Bolam JP (1991) Convergence of synaptic inputs from the striatum and the globus pallidus onto identified nigrocollicular cells in the rat: a double anterograde labelling study. *Neurosci* 44:45-73.
- Smith Y, Hazrati LN and Parent A (1990) Efferent projections of the subthalamic nucleus in the squirrel monkey as studied by the PHA-L anterograde tracing method. *J Comp Neurol* 294:306-323.
- Smith Y and Parent A (1986) Neuropeptide Y-immunoreactive neurons in the striatum of cat and monkey: morphological characteristics, intrinsic organization and co-localization with somatostatin. *Brain Res* 372:241-252.
- Smith Y and Parent A (1988) Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Res* 453:353-356
- Smith RD, Zhang Z, Kurlan R, McDermott M And Gash DM (1993) Developing a stable bilateral model of parkinsonism in rhesus monkeys. *Neurosci* 52:7-16.
- Snyder GL, Keller RW and Zigmond MJ (1990) Dopamine efflux from striatal slices after intracerebral 6-hydroxydopamine: evidence for compensatory hyperactivity of residual terminals. *J Pharmacol Exp Ther* 253:867-876.
- Soghomonian JJ and Chesselet MF (1992) Effects of nigrostriatal lesions on the levels of messenger RNAs encoding two isoforms of glutamate decarboxylase in the globus pallidus and entopeduncular nucleus of the rat. *Synapse* 11:124-133.
- Soghomonian JJ, Gonzales C and Chesselet MF (1992) Messenger RNAs encoding glutamate-decarboxylase are differentially affected by nigrostriatal lesions in subpopulations of striatal neurons. *Brain Res* 576:68-79.
- Soghomonian JJ, Pedneault S, Blanchet PJ, Goulet M, Di Paolo T and Bédard PJ (1996) L-DOPA regulates glutamate decarboxylases mRNA levels in MPTP-treated monkeys. *Brain Res Mol Brain Res* 39 :237-240.
- Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML and Schwartz JC (1990) Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347:146-151.
- Somogyi P, Bolam JP and Smith AD (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi peroxidase transport degeneration procedure. *J Comp Neurol* 195:567-584.
- Song DD and Haber SN (2000) Striatal responses to partial dopaminergic lesion : evidence for compensatory sprouting. *J Neurosci* 20:5102-5114.
- Sorensen KE and Witter MP (1983) Entorhinal efferents reach the caudate-putamen. *Neurosci Lett* 35:259-264.
- Stachowiak MK, Keller RW, Stricker EM and Zigmond MJ (1987) Increased dopamine efflux from striatal slices during development and after nigrostriatal bundle damage. *J Neurosci* 7:1648-1654.
- Staines WA, Atmadja S and Fibiger HC (1981) Demonstration of a pallido-striatal pathway by retrograde transport of HRP-labeled lectin. *Brain Res* 206:446-450.
- Staines WA and Fibiger HC (1984) Collateral projections of neurons of the rat globus pallidus to the striatum and substantia nigra. *Exp Brain Res* 56:217-220.
- Stanic D, Parish CL, Zhu WM, Krstew EV, Lawrence AJ, Drago J, Finkelstein DJ and Horne MK (2003) Changes in function and ultrastructure of striatal dopaminergic terminals that regenerate following partial lesions of the Snp. *J Neurochem* 86:329-343.
- Stanton GB, Goldberg ME and Bruce CJ (1988) Frontal eye field efferents in the macaque monkey. I. Subcortical pathways and topography of striatal and thalamic terminal fields. *J Comp Neurol* 271:473-492.
- Starr PA, Vitek JL and Bakay RAE (1998) Ablative surgery and deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Neurosurgery* 43:989-1013.

- Strada O, Hirsch EC, Javoy-Agid F, Duyckaerts C, Hauw JJ and Agid Y (1993) Low affinity nerve growth factor receptor, adrenal transplant and Parkinson's disease. *J. Neurol Sci* 120:33-37.
- Sugimoto T and Hattori T (1983) Confirmation of thalamosubthalamic projections by electron microscopic autoradiography. *Brain Res* 267:335-339.
- Sugimoto T and Hattori T (1984) Direct projections from the globus pallidus to the paraventricular nucleus of the thalamus in the rat. *Brain Res* 323:188-192.
- Sugimura M, Kitayama S, Morita K, Irifune M, Takarada T, Kawahara M and Dohi T (2001) Effects of volatile and intravenous anesthetics on the uptake of GABA, glutamate and dopamine by their transporters heterologously expressed in COS cells and in rat brain synaptosomes. *Tox Lett* 123:69-76.
- Sunahara RK, Guan HC, O'Dowd BF, Seeman P, Laurier LG, Ng G, George SR, Torchia J, Van Tol HH and Niznik HB (1991) Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature* 350:614-619.
- Sunahara R.K., Niznik H.B., Weiner D.M., Stormann T.M., Brann M.R., Kennedy J.L., Gelernter J.E., Rozmahel R., Yang Y.L., Israel Y. (1990) Human dopamine D1 receptor encoded by an introless gene on chromosome 5. *Nature* 347:80-83.
- Surmeier DJ, Eberwine J, Wilson CJ, Cao Y, Stefani A and Kitai ST (1992) Dopamine receptor subtypes colocalize in rat striatonigral neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10178-10182.
- Surmeier DJ, Reiner A, Levine MS and Ariano MA (1993) Are neostriatal dopamine receptors co-localized? *Trends Neurosci* 16:299-305.
- Surmeier DJ, Song WJ and Yan Z (1996) Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 16:6579-6591.

T

- Tai CH, Boraud T, Bezard E, Bioulac B, Gross C and Benazzouz A (2003) Electrophysiological and metabolic evidence that high frequency stimulation of the subthalamic nucleus bridles neuronal activity in the subthalamic nucleus and the substantia nigra reticulata. *FASEB* 17:1820-1830.
- Takada M, Li ZK and Hattori T (1987) Long descending direct projection from the basal ganglia to the spinal cord: a revival of the extrapyramidal concept. *Brain Res* 436:129-135.
- Takada M, Li ZK and Hattori T (1990) Astroglial ablation prevents MPTP-induced nigrostriatal neuronal death. *Brain Res* 509:55-61.
- Talairach J, Szikla G, Tournoux P, Prosalenti A, and Bornas-Ferrier M (1967) *Atlas d'Anatomie Stéréotaxique du Télencéphale*, Masson.
- Tanaka K, Suzuki T, Hattori N and Mizuno Y (2004) Ubiquitin, proteasome and parkin. *Bioch Biophys Acta* 1694:226-238.
- Tanner CM (1989) The role of environmental toxins in the etiology of Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 12:49-54.
- Taylor JR, Elsworth JD, Roth RH, Sladek JR and Redmond DE (1997) Severe long-term 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in the vervet monkey (*Cercopithecus aethiops sabaeus*). *Neurosci* 81:745-755.
- Tekumalla PK, Calon F, Rahman Z, Birdi S, Rajût AH, Hornykeiwicz O, Di Paolo Tn, Bedard PJ and Nestler EJ (2001) Elevated levels of DeltaFosB and RGS9 in striatum in Parkinson's disease. *Biol Psychiatry* 50:813-816.
- Temel Y, Visser-Vandewalle V, Van Der Wolf M, Spincemaille GH, Desbonnet L, Hoogland G and Steinbusch HWM (2004) Monopolar versus bipolar high frequency stimulation in the rat subthalamic nucleus: differences in histological damage. *Neurosci Lett* 367:92-96.
- Temperli P, Ghika J, Villemure JG, Burkhard PR, Bogousslavsky J and Vingerhoets FJ (2003) How do parkinsonian signs return after discontinuation of subthalamic DBS? *Neurology* 60:78-81.
- Tepper JM, Martin LP and Anderson DR (1995) GABA_A receptor mediated inhibition of rat substantia nigra dopaminergic neurons by pars reticulata projection neurons. *J Neurosci* 15:3092-3103.

- Tepper JM, Sawyer SF and Groves PM (1987) Electrophysiologically identified nigral dopaminergic neurons intracellularly labelled with HRP: light microscopic analysis. *J Comp Neurol* 7:2794-2806.
- Thobois S, Delamarre-Damier F and Derkinderen P (2005) Treatment of motor dysfunction in Parkinson's disease: an overview. *Clin Neurol Neurosurg* 107:269-281.
- Thobois S, Mertens P, Guenot M, Hermier M, Mollion H, Bouvard M, Chazot G, Brousolle E and Sindou M (2002) Subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: clinical evaluation of 18 patients. *J Neurol* 249:529-534.
- Timmerman W and Westerink BH (1997) Brain microdialysis of GABA and glutamate: was does it signify? *Synapse* 27:242-261.
- Timmerman W, Zwaveling J and Westerink BHC (1992) Characterization of extracellular GABA in the substantia nigra reticulata by means of microdialysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 345:661-665.
- Tissot R (1975) Hypothetical concept: the physiopathological entity of monoaminergic psychoses. *Encephale* 1:289-339.
- Tomov T and Tsoneva I (2000) Are the stainless steel electrodes inert? *Bioelectrochem* 51:207-209.
- Turski L, Klockgether T, Turski W, Schwarz M and Sontag KH (1987) Substantia nigra and motor control in the rat: effect of intranigral alpha-kainate and gamma-D-glutamylaminomethylsulphonate on motility. *Brain Res* 424:37-48.

U

- Ungerstedt U (1968) 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 5:107-110.
- Ungerstedt U (1971) Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand* 367:S95-S122.
- Urbain N, Gervasoni D, Souliere F, Lobo L, Rentero N, Windels F, Astier B, Savasta M, Fort P, Renaud B, Luppi PH and Chouvet G (2000) Unrelated course of subthalamic nucleus and globus pallidus neuronal activities across vigilance states in the rat. *Eur J Neurosci* 12:3361-3374.

V

- Van Der Kooy D and Carter D (1979) The organization of the efferent projections and striatal afferents of the entopeduncular nucleus and adjacent areas in the rat. *Brain Res* 211:15-36.
- Van Der Kooy D and Carter DA (1981) The organization of the efferent projections and striatal afferents of the entopeduncular nucleus and adjacent areas in the rat. *Brain Res* 211:15-36.
- Van Der Kooy D and Hattori T (1980) Single subthalamic nucleus neurons project both to the globus pallidus and substantia nigra in rat. *J Comp Neurol* 192:751-768.
- Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik H. and Civelli O (1991) Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 350:610-614.
- Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MM, Harvey K, Gispert S, Ali Z, Del Turco D, Bentivoglio AR, Healy DG, Albanese A, Nussbaum R, Gonzalez-Maldonado R, Deller T, Salvi S, Cortelli P, Gilks WP, Latchman DS, Harvey RJ, Dallapiccola B, Auburger G and Wood NW (2004) Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 304 :1158-1160.
- Varastet M, Riche D, Maziere M and Hantraye P (1994) Chronic MPTP treatment reproduces in baboons the differential vulnerability of mesencephalic dopaminergic neurons observed in Parkinson's disease. *Neurosci* 63:47-56.
- Veening JG, Cornelissen FM and Lieven PA (1980) The topical organization of the afferents to the caudateputamen of the rat. A Horseadish peroxidase study. *Neurosci* 5:1253-1268.
- Vingerhoets FJ, Villemure JG, Temperli P, Pollo C, Pralong E and Ghika J (2002) Subthalamic DBS replaces levodopa in Parkinson's disease: 2 year follow up. *Neurology* 58:396-401.

- Vitek JL (2002) Deep brain stimulation for Parkinson's disease. A critical Re-Evaluation of STN versus Gpi DBS. *Stereotact Funct Neurosurg* 78:119-131.
- Volkman J, Allert N, Voges J, Sturm V, Schnitzler A and Freund HJ (2004) Long-term results of bilateral pallidal stimulation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 55:871-875.
- Volkman J, Fogel W, Krack P (2000) Postoperatives neuromogishes management bei stimulation des nucleus subthalamicus. *Akt Neurol* 27:S23-S39.
- Volkman J, Sturm V, Weiss P, Kappler J, Voges J, Koulousakis A et al. (1998) Bilateral high-frequency stimulation of the internal globus pallidus in advanced Parkinson's disease. *Ann Neurol* 44:953-961.
- Volterra A and Steinhauser C (2004) Glial modulation of synaptic transmission in the hippocampus. *Glia* 47:249-257.
- Vila M, Levy R, Herrero MT, Ruberg M, Faucheux B, Obeso JA, Agid Y and Hirsch EC (1997) Consequences of nigrostriatal denervation on the functioning of the basal ganglia in human and nonhuman primates: an in situ hybridization study of cytochrome oxidase subunit I mRNA. *J Neurosci* 17:765-773.
- Vila M, Perier C, Féger J, Yelnik J, Faucheux B, Ruberg M, Maisman-Vozari R, Agid Y and Hirsch EC (2000) Evolution of changes in neuronal activity in the subthalamic nucleus of rats with unilateral lesion of the substantia nigra assessed by metabolic and electrophysiological measurements. *Eur J Neurosci* 12:337-344.
- Vitek JL (2002) Deep brain stimulation for Parkinson's disease. A critical re-evaluation of STN versus Gpi DBS. *Stereotact Funct Neurosurg* 78:119-131.

W

- Wade T, Rothblat DS and Schneider JS (2000) Changes in striatal dopamine D2 receptors in relation to expression of and recovery from experimental parkinsonism. *Brain Res* 871 :281-287.
- Westerink BHC (1995) Brain microdialysis and its application for the study of animal behaviour. *Behav Brain Res* 70:103-124.
- Westerink BHC and De Vries JB (1988) Characterization of the in vivo dopamine release as determined by brain microdialysis after acute and subacute implantations: methodological aspects. *J Neurochem* 51:683-687.
- Westerink BHC and De Vries JB (1989) The origin of extracellular GABA recorded by brain microdialysis and assayed by a simplified on-line method. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 339:603-607.
- Westerink BHC, De Vries JB and Duran R (1990) Use of microdialysis for monitoring tyrosine hydroxylase activity in the brain of conscious rat. *J Neurochem* 54:381-387.
- Westerink BHC, Hofsteede HM, Damsma G and De Vries JB (1988) The significance of extracellular calcium for the release of dopamine, acetylcholine and amino acid in conscious rats, evaluated by brain microdialysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 337:373-378.
- Wetzel MC, Howell LG and Bearie KJ (1969) Experimental performance of steel and platinum electrodes with chronic monophasic stimulation of the brain. *J Neurosurg* 31:658-669.
- White RL and Gross TJ (1974) An evaluation of the resistance to electrolysis of metals for use in biostimulation microprobes. *IEEE Trans Biomed Eng* 487-490.
- White-Cipriano P and Waszczak BL (2005) Electrophysiological changes in the contralateral substantia nigra in the unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rat. 35th annual meeting of the society for neuroscience. Abstract n° 988.2.
- Whittier JR (1947) Ballsim and the subthalamic nucleus (nucleus hypothalamicus, corpus luysi). *Arch Neurol Psych* 58:672-692.
- Whittier JR and Mettler FA (1949) Studies of the subthalamic of the rhesus monkey. II. Hyperkinesias and other physiologic effects of the subthalamic lesions, with special reference to the subthalamic nucleus of luys. *J Comp Neurol* 90:319-372.
- Whone AL, Moore RY, Piccini PP and Brooks DJ (2003) Plasticity of the nigropallidal pathway in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 53:206-213.

- Wichmann T, Kliem MA and DeLong MR (2001) Antiparkinsonian and behavioral effects of inactivation of the substantia nigra pars reticulata in hemiparkinsonian primates. *Exp Neurol* 167:410-424.
- Windels F (2001) Etude par microdialyse des variations de Glutamate et de GABA dans la substance noire et le globus pallidus induites par stimulation électrique du noyau subthalamique chez le rat. Thèse de Neurosciences soutenue le 12 juillet 2001, Université Joseph Fourier, Grenoble I.
- Windels F, Bruet N, Poupard A, Urbain N, Chouvet G, Feuerstein C and Savasta M (2000) Effects of high frequency stimulation of subthalamic nucleus on extracellular glutamate and GABA in substantia nigra and globus pallidus in the normal rat. *Eur J Neurosci* 12:4141-4146.
- Windels F, Bruet N, Poupard A, Feuerstein C, Bertrand A and Savasta M (2003) Influence of the frequency parameter on extracellular glutamate and gamma-aminobutyric acid in substantia nigra and globus pallidus during electrical stimulation of subthalamic nucleus in rats. *J Neurosci Res* 72:259-267.
- Windels F, Carcenac C, Poupard A and Savasta M (2005) Pallidal origin of GABA release within the substantia nigra pars reticulata during high frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 25 :5079-5086.
- Windels F and Kiyatkin EA (2006) General anesthesia as a factor affecting impulse activity and neuronal responses to putative neurotransmitters. *Brain Res* 1086 :104-116.
- Winkler C, Kirik D, Björklund A and Cenci MA (2002) L-Dopa induced dyskinesia in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function. *Neurobiol Dis* 10:165-186.
- Wolters ECh and Francot CMJE (1998) Mental dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disord* 4:107-112.
- Woolley ML, Bentley JC, Sleight AJ, Marsden CA and Fone KCF (2001) A role for 5HT6 receptors in retention of spatial learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* 41:210-219.
- Wu Y, Richard S and Parent A (2000) The organization of the striatal output system: a single-cell juxtacellular labeling study in the rat. *Neurosci Res* 38:49-62.
- Wullner U, Pakzaban P, Brownell AL, Hantraye P, Burns L, Shoup T, Elmaleh D, Petto AJ, Spealman RD, Brownell GL et al. (1994) Dopamine terminal loss and onset of motor symptoms in MPTP-treated monkeys: a positron emission tomography study with 11C-CFT. *Exp Neurol* 126:305-309.

X

- Xu ZC, Wilson CJ and Emson PC (1991) Restoration of thalamostriatal projections in rat neostriatal grafts: an electron microscopic analysis. *J Comp Neurol* 303:22-34.

Y

- Yadid G, Pacak K, Kopin IJ and Goldstein DS (1994) Endogenous serotonin stimulates striatal dopamine release in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther* 270 :1158-1165.
- Yamamoto BK and Davy S (1992) Dopaminergic modulation of glutamate release in striatum as measured by microdialysis. *J Neurochem* 58 :1736-1742.
- Yamauchi A, Uchida S, Kwon HM, Preston AS, Robey RB, Garcia-Perez A, Burg MB and Handler JS (1992) Cloning of a Na⁺ and Cl⁻ dependent betaine transporter that is regulated by hypertonicity. *J Biol Chem* 267:649-652.
- Yamazoe I, Takeuchi Y, Matsushita H, Kawano H and Sawada T (2001) Serotonergic heterotopic sprouting in the unilaterally dopamine-depleted mouse neostriatum. *Dev Neurosci* 23:78-83.
- Yasui Y, Kayahara T, Kuga Y and Nakano K (1990) Direct projections from the globus pallidus to the inferior colliculus in the rat. *Neurosci Lett* 115:121-125.
- Yeghiayan SK, Kelley AE, Kula NS, Campbell A and Baldessarini RJ (1997) Role of dopamine in the behavioral effects of serotonin microinjected into rat striatum. *Pharmacol Biochem Behav* 56:251-259.

Yelnik J and Percheron G (1979) Subthalamic neurons in primates: a quantitative and comparative analysis. *Neurosci* 4:1717-1743.

Yung KK, Smith AD, Levey AI and Bolam JP (1996) Synaptic connections between spiny neurons of the direct and indirect pathways in the neostriatum of the rat: evidence from dopamine receptor and neuropeptide immunostaining. *Eur J Neurosci* 8:861-869.

Z

Zeng BY, Jolkkonen J, Jenner P and Marsden CD (1995) Chronic L-DOPA treatment differentially regulates gene expression of glutamate decarboxylase, preproenkephalin and preprotachykinin in the striatum of 6-hydroxydopamine-lesioned rat. *Neurosci* 66 :19-28.

Zetterstrom T, Sharp T, Marsden CA and Ungerstedt U (1983) In vivo measurement of dopamine and its metabolites by intracerebral microdialysis: changes after d-amphetamine. *J Neurochem* 41:1769-1773.

Zhang K, Davids E, Tarazi FI and Baldessarini RJ (2002) Serotonin transporter binding increases in caudate putamen and nucleus accumbens after neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats: implications for motor hyperactivity. *Brain Res Dev Brain Res* 137:135-138.

Zhang WK, Tilson HA, Nanry KP, Hudson PM, Hong JS and Stachowiak MK (1988) Increased dopamine release from striata of rats after unilateral nigrostriatal bundle damage. *Brain Res* 461:335-342.

Zhou FC, Bledsoe S and Murphy J (1991) Serotonergic sprouting is induced by dopamine-lesion in substantia nigra of adult rat brain. *Brain Res* 556:108-116.

Zhou F, Zhu X, Castellani RJ, Stimmelmayer R, Perry G, Smith MA and Drew KL (2001) Hibernation, a model of neuroprotection. *Am J Pathol* 158:2145-2151.

Zhu Z, Bartol M, Shen K and Johnson SW (2002) Excitatory effects of dopamine on subthalamic nucleus neurons: in vitro study of rats pretreated with 6-hydroxydopamine and levodopa. *Brain Res* 945:31-40.

Zigmond MJ and Stricker EM (1973) Recovery of feeding and drinking by rats after intraventricular 6-hydroxydopamine or lateral hypothalamic lesions. *Science* 182 :717-719.

Zigmond MJ, Acheson AL, Stachowiak M and Stricker EM (1984) Neurochemical compensation after nigrostriatal injury in an animal model of preclinical Parkinsonism. *Arch Neurol* 41:856-861.

Zigmond MJ and Stricker EM (1989) Animal models of parkinsonism using selective neurotoxins: clinical and basic implications. *Int Rev Neurobiol* 31:1-79.

Zigmond MJ, Abercrombie ED, Berger TW, Grace AA and Stricker EM (1990) Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci* 13:290-296.

Zigmond MJ, Abercrombie ED, Berger TW, Grace AA and Stricker EM (1993) Compensatory responses to partial loss of dopaminergic neurons: studies with 6-hydroxydopamine. In *Current concepts in Parkinson's disease research* (Eds J.S. Schneider and M. Gupta), p 99-140. Hogrefe and Huber, Toronto.

La stimulation à haute fréquence (SHF) du noyau subthalamique (NST) permet de traiter l'ensemble des symptômes moteurs de la maladie de Parkinson (MP), qui n'apparaissent que lorsque 70 % des neurones dopaminergiques de la SNc ont dégénéré. En outre, les mécanismes *in fine* qui permettent de retarder l'apparition des symptômes moteurs ou qui sous-tendent l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST chez l'homme ne sont pas encore élucidés. Notre travail a porté principalement sur l'animal éveillé libre de ses mouvements.

Dans une première partie, nous avons analysé les effets de la SHF du NST sur le comportement moteur de rats sains et 6-OHDA et nous avons établi une corrélation entre ces effets et les taux de glutamate et de GABA extracellulaire mesurés par microdialyse intracérébrale au sein de la SNr. Ces données comportementales et neurochimiques couplées à des injections pharmacologiques intranigrales suggèrent que les dyskinésies de la patte avant induites par la SHF du NST sont médiées par le glutamate et fournissent de nouveaux arguments quant aux mécanismes de la SHF du NST dans la MP.

Dans une seconde partie nous avons réalisé des microdialyses intracérébrales chez des singes normaux, puis exprimant pleinement les symptômes moteurs induits par le MPTP et enfin après récupération de ces symptômes moteurs dans le but de corréliser les déficits et la récupération motrice à des changements de concentration de neurotransmetteurs présents dans deux territoires striataux : le sensori-moteur et le limbique. Notre étude s'est focalisée sur la dopamine et ses métabolites, le glutamate, le GABA et la sérotonine. Nos résultats montrent que les variations de dopamine pourraient jouer un rôle important dans les mécanismes de compensation permettant la récupération de fonctions motrices normales.

Mots clés : Maladie de Parkinson, stimulation haute fréquence du noyau subthalamique, mécanismes de compensation, striatum, SNr, animal éveillé, rat 6-OHDA, singe MPTP, microdialyse intracérébrale.

High frequency stimulation (HFS) of the subthalamic nucleus (STN) treats the totality of Parkinson's disease motor symptoms which are expressed when 70 % of SNc dopaminergic neurons have degenerated. The mechanisms that allow to delay the appearance of motor symptoms or that underlie STN-HFS therapeutic efficiency in human remain unclear. Our work was focussed on freely moving awake animals.

In a first part, we analyzed the effects of STN-HFS on motor behaviour of intact and 6-OHDA rats and we investigated the correlation between these effects and extracellular glutamate and GABA levels assessed by intracerebral microdialysis in the SNr. These behavioural and neurochemical data coupled with pharmacological intranigral injections suggest that STN-HFS induced forelimb dyskinesia is mediated by glutamate and shedding light on the mechanisms of STN-HFS in PD.

In a second part, microdialysis have been performed in the same monkey during normal state, full expression of motor symptoms induced by MPTP and after recovery of these symptoms in order to correlate motor deficits and their recovery with changes in levels of neurotransmitters present in two striatal territories: sensori-motor and limbic. We focussed our study on dopamine and its metabolites, Glutamate, GABA and serotonin levels. Our results show that dopamine variations could play an important role in the compensatory mechanisms inducing recovery of normal motor functions.

Key words : Parkinson disease, high frequency stimulation of the subthalamic nucleus, compensatory mechanisms, striatum, SNr, awake animal, 6-OHDA rats, MPTP monkey, intracerebral microdialysis.