



**HAL**  
open science

**MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES INDUITES  
PAR LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU  
NOYAU SOUS-THALAMIQUE AU SEIN DES  
RESEAUX NEURONAUX IMPLIQUES DANS LES  
CIRCUITS MOTEURS ET LEURS INTERACTIONS  
AVEC UN TRAITEMENT A LA L-DOPA** Etude par  
microdialyse intracérébrale chez le rat sain et  
**hémiparkinsonien.**

Emilie Lacombe

► **To cite this version:**

Emilie Lacombe. MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES INDUITES PAR LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU SOUS-THALAMIQUE AU SEIN DES RESEAUX NEURONAUX IMPLIQUES DANS LES CIRCUITS MOTEURS ET LEURS INTERACTIONS AVEC UN TRAITEMENT A LA L-DOPA Etude par microdialyse intracérébrale chez le rat sain et hémiparkinsonien.. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2007. Français. NNT: . tel-00152498

**HAL Id: tel-00152498**

**<https://theses.hal.science/tel-00152498>**

Submitted on 7 Jun 2007

**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**

**Spécialité : Neurosciences**

---

**MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES INDUITES PAR  
LA STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NOYAU  
SOUS-THALAMIQUE AU SEIN DES RESEAUX  
NEURONAUX IMPLIQUES DANS LES CIRCUITS  
MOTEURS ET LEURS INTERACTIONS AVEC UN  
TRAITEMENT A LA L-DOPA**

Etude par microdialyse intracérébrale chez le rat sain et  
hémiparkinsonien.

---

**LACOMBE Emilie**

Soutenue publiquement le 27 avril 2007 devant un jury composé de :

**Pr Claude FEUERSTEIN, Président de jury**  
**Dr Abdelhamid BENAZZOUZ, Rapporteur**  
**Dr Pascal SALIN, Rapporteur**  
**Dr Marie-Louise KEMEL, Examinatrice**  
**Pr Emmanuel BROUSSOLLE, Examineur**  
**Dr Marc SAVASTA, Directeur de thèse**

En premier lieu, je voudrais adresser tous mes remerciements et ma gratitude au Dr Marc Savasta, pour m'avoir fait confiance en me permettant de faire mon stage de recherche de DEA dans son équipe, pour s'être battu afin que j'obtienne un financement et que je puisse effectuer mon travail de doctorat sous sa direction. Merci pour ton éternel optimisme, tes inépuisables encouragements, ta patience, ta disponibilité malgré tes (innombrables) responsabilités, ton écoute et ton talent remarquable pour la rédaction des rapports de recherche, thèses et autres articles, dont j'ai bénéficié tout au long de ces années passées à tes côtés

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury de thèse pour l'honneur qu'ils me font d'avoir accepté de juger ce travail :

Les Drs Abdelhamid Benazzouz et Pascal Salin, pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail et de se plonger dans la lecture critique de ce manuscrit. J'espère sincèrement que cet examen sera un premier pas positif vers une collaboration fructueuse avec l'équipe du Dr Lydia Kerkerian.

Le Dr Marie-Lou Kemel et le Pr Emmanuel Broussolle, d'avoir eu la gentillesse de participer à ce jury.

Le Pr Claude Feuerstein, pour avoir accepté d'être président de ce jury en dépit de son emploi du temps que je sais chargé.

Une partie de ce mémoire de thèse n'aurait pas vu le jour sans la collaboration des Drs Nils Kickler et Chantal Rémy du laboratoire Neuroimagerie fonctionnelle et métabolique (ex-U 594) de Grenoble dirigé par le Dr Segebarth. Je leur souhaite à tous deux une bonne continuation dans leurs activités, que ce soit dans le cadre d'un post-doc à Lausanne ou au sein de l'institut grenoblois des Neurosciences.

Je n'oublierai pas le Ministère de la Recherche et des Nouvelles Technologies, pour m'avoir financée pendant trois ans par le biais d'une allocation de recherche, et l'Association France Parkinson grâce à laquelle j'ai pu terminer ce travail doctoral dans de bonnes conditions. Ce travail a été également soutenu par l'Inserm, l'Université Joseph Fourier, la région Rhône-Alpes (cluster Neurosciences), ainsi que par d'autres contrats obtenus par notre laboratoire au cours de ma thèse.

Un grand merci à Carole, notre soleil local, sans qui je n'aurais jamais appris le quart de ce que j'ai appris durant ces années, le sens des priorités... Merci pour ton écoute, ta gentillesse, ta serviabilité, ta rigueur et ta franchise, en bref merci pour ton amitié qui rend la vie bien plus belle... et merci pour tout ce que nous partageons en dehors de notre accent !!

Un merci spécial à Sabrina, en mémoire de nos "souffrances doctorales" partagées. Merci pour ton soutien dans les moments de doute, pour les fous rires, les apéros, et surtout pour ta franchise et ta rigueur. Et avant tout, un grand merci pour la générosité dont tu as fait preuve en acceptant de partager ta bourse France Parkinson avec moi, ce qui m'a permis de terminer ma thèse dans de bonnes conditions, même si cela a été un deal à trois avec notre "boss". Je te souhaite beaucoup de bonheur et de réussite pour la suite. Je ne me fais pas trop de souci pour toi car tu possèdes de nombreux atouts pour réussir.

Cette thèse n'aurait jamais vu le jour sans le travail essentiel d'Anne et d'Annie, aux commandes de leurs chaînes HPLC respectives. Annie, un grand merci pour ton soutien, ta bonne humeur et ton aide sans faille, en bref merci pour ta présence solaire ! Tu es l'autre soleil du labo pour moi. Je te souhaite une bonne continuation dans le rayon qualité du futur Institut des Neurosciences. Anne, un grand merci pour ton domptage des catécholamines qui se sont révélées assez retorses au cours de ma thèse. Merci aussi pour ta disponibilité tout au long de ces derniers mois qui ne t'ont laissé aucun répit !! Ce travail est aussi ta réussite. Ah,

j'oubliais : interdiction formelle d'arrêter de fabriquer tes chocolats, ce serait un crime contre l'humanité!

Je voudrais ensuite adresser mes remerciements à Edwige pour sa disponibilité, sa gentillesse et ses coups de main efficaces tout au long de ces cinq années.

Merci aux filles du bureau d'à côté, Mireille, Véronique et Stéphanie à qui je souhaite une bonne réussite dans le monde passionnant de la stimulation cérébrale profonde.

Un grand merci à Guy pour ses conseils et ses relectures critiques de ce manuscrit de thèse, et pour avoir répondu sans broncher aux plus idiotes de mes questions.

Merci à tout l'équipe « Epilepsie » qui a fait un bout de chemin avec nous à travers l'U704, pour tous ces jours passés en leur compagnie, toutes les tablettes de chocolat partagées le midi, leurs remarques et conseils lors de nos réunions communes. Je tiens également à remercier les équipes du Dr Rémy Sadoul et du Pr Bruno Bonaz, avec qui nous avons cohabité un bout de temps au CHU avant notre séjour sur le campus universitaire.

Un grand merci encore à tou(te)s mes autres colocataires de bureau, passées et présentes. Merci pour tous ces moments de joie et de cafard partagés, tous les chewing-gums et potins échangés, et nos irremplaçables séances de toutouioutou. Anne Laure, Flavie, Yaël et Sabrina, vous êtes la preuve vivante que, contrairement à ce qu'on voudrait nous faire croire, la cohabitation de filles dans un espace très restreint ne vire pas systématiquement au pugilat et à la tentative de meurtre !!! Céline, Sandrine et Adrien, je vous souhaite une bonne continuation pour la suite de vos travaux de recherche respectifs.

Je n'oublie pas David, notre fier auvergnat local, pour tous ces cinés du samedi et ces kilomètres en montagne à trimer et pester sous le cagnard, sous la pluie, sous l'orage, sur les rotules, dans le vent... Ainsi que notre tandem de choc, Jean-Marc et Sakina, dont la gentillesse et la complicité ont contribué à rendre mon passage à Grenoble si agréable.

J'ai bien évidemment une pensée émue pour tous mes amis, qu'ils soient à mes côtés depuis mon arrivée (Lise, Laurent, Agnès...), ou depuis bien plus longtemps (Delphine, Laurent bis, Raphaële...), voire très très longtemps (Amala, tu ne peux pas savoir à quel point ça me fait plaisir que tu partages ce jour avec moi).

Les mots me manquent pour exprimer tout l'amour et le respect que je porte à ma famille. Mes parents, qui ont toujours su me pousser et m'encourager dans mes initiatives, et dont le soutien est le meilleur des moteurs. Mes frères, pour être ce qu'ils sont, et pour tout ce que j'apprend à leur contact. Mes grand-parents, pour leur générosité et leur tendresse inconditionnelles.

Enfin, tout mon respect et ma gratitude vont au Pr Rochiccioli et à toute l'équipe du service de pédiatrie des hôpitaux de Toulouse, sans qui je ne serai pas arrivée là où je suis aujourd'hui. Un grand merci pour tout le travail remarquable que vous avez accompli, votre disponibilité et votre volonté qui a permis de changer le cours des choses pour des enfants qui, comme moi, ont bénéficié de vos efforts. Il semblerait que mon penchant pour la recherche médicale ne soit pas le fruit du hasard...

# **SOMMAIRE**

# LISTE DES ABREVIATIONS

## AVANT-PROPOS

## INTRODUCTION.....1

## RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....7

<b>1- LA MALADIE DE PARKINSON</b> .....	<b>7</b>
1.1 Généralités sur la maladie de Parkinson .....	7
1.2 Etiologie .....	7
1.3 Symptomatologie .....	10
1.4 Anato-pathologie .....	10
1.5 Physiopathologie de la maladie.....	11
<b>2- GENERALITES SUR LES MODELES ANIMAUX DE LA MALADIE DE PARKINSON</b> .....	<b>11</b>
2.1 Le modèle 1-Méthyl-4-Phényl-1,2,3,6-Tétrahydropyridine .....	11
2.2 Le modèle 6-hydroxydopamine .....	13
2.3 Autres modèles.....	16
2.3.1 La réserpine .....	16
2.3.2 La roténone .....	17
2.3.3 Les modèles génétiques .....	18
<b>3- LES GANGLIONS DE LA BASE</b> .....	<b>20</b>
3.1 Généralités .....	20
3.2 Les structures des ganglions de la base .....	21
3.2.1 Le striatum .....	21
3.2.1.1 Anatomie du striatum .....	22
3.2.1.2 Afférences striatales .....	25
3.2.1.3 Efférences striatales.....	30
3.2.2 Le globus pallidus .....	31
3.2.2.1 Anatomie du globus pallidus .....	31
3.2.2.2 Afférences pallidales (Figure 9A) .....	31
3.2.2.3 Efférences pallidales (Figure 9B).....	33
3.2.3 Le noyau sous-thalamique .....	34
3.2.3.1 Anatomie du noyau sous-thalamique.....	34
3.2.3.2 Afférences du noyau sous-thalamique (Figure 10A).....	35
3.2.3.3 Efférences du noyau sous-thalamique (Figure 10B).....	38
3.2.4 La substance noire.....	40
3.2.4.1 Anatomie de la substance noire.....	40
3.2.4.2 Afférences nigrales (Figure 11A) .....	41
3.2.4.3 Efférences nigrales (Figure 11B).....	42
3.3 Organisation fonctionnelle des ganglions de la base .....	43
3.3.1 Le modèle fonctionnel "courant" des ganglions de la base .....	43
3.3.2 Aspect fonctionnel du NST dans les ganglions de la base .....	46
3.3.2.1 Projections sous-thalamo-nigrales .....	46
3.3.2.2 Projections sous-thalamo-pallidales et sous-thalamo-entopédonculaires .....	48
3.3.2.3 Projections sous-thalamo-striatales .....	49
3.3.3 Implication du NST dans la physiopathologie de la MP.....	50
3.3.4 Récentes avancées dans la connaissance des ganglions de la base et remise en cause du modèle classique "voie directe- voie indirecte" .....	51
<b>4- TRAITEMENTS DE LA MALADIE DE PARKINSON</b> .....	<b>53</b>
4.1 Approche médicamenteuse .....	53
4.1.1 Les médicaments du système dopaminergique.....	54
4.1.1.1 La L-Dopa .....	54
a) Transformation de la L-Dopa.....	54
b) Effets de la L-Dopa sur les systèmes glutamatergique et GABAergique.....	56
c) Origine des fluctuations motrices et des dyskinésies induites par la L-Dopa.....	58
4.1.1.2 Les agonistes dopaminergiques.....	60
4.1.1.3 Les inhibiteurs enzymatiques .....	61
a) Les inhibiteurs de la monoamine oxydase .....	61
b) Les inhibiteurs de la COMT .....	61
4.1.2 Les médicaments non dopaminergiques .....	61
4.1.2.3 Les anticholinergiques.....	61
4.1.2.2 Les antagonistes glutamatergiques .....	62
4.2 Approche neurochirurgicale .....	62
4.2.1 Les lésions .....	62

4.2.2	<i>La stimulation cérébrale profonde et ses cibles</i>	64
4.2.3	<i>La stimulation électrique à haute fréquence du NST et mécanismes évoqués</i>	66
5-	LES NEUROTRANSMETTEURS ETUDIÉS	<b>71</b>
5.1	La dopamine	<b>71</b>
5.1.1	<i>Synthèse de la dopamine</i>	71
5.1.2	<i>Libération de la dopamine</i>	72
5.1.3	<i>Récepteurs dopaminergiques</i>	73
5.1.4	<i>Dégradation de la dopamine</i>	74
5.2	Le glutamate	<b>75</b>
5.2.1	<i>Synthèse du glutamate</i>	76
5.2.2	<i>Libération du glutamate</i>	77
5.2.3	<i>Récepteurs glutamatergiques</i>	77
5.2.4	<i>Transporteurs du glutamate</i>	78
5.2.5	<i>Dégradation du glutamate</i>	79
5.3	Le GABA	<b>80</b>
5.3.1	<i>Synthèse du GABA</i>	80
5.3.2	<i>Libération du GABA</i>	81
5.3.3	<i>Récepteurs GABAergiques</i>	81
5.3.4	<i>Transporteurs du GABA</i>	82
5.3.5	<i>Dégradation du GABA</i>	82

## **MATERIEL ET METHODES.....85**

1.	ANIMAUX	<b>85</b>
2.	CHIRURGIE	<b>85</b>
2.1	Principe de la chirurgie stéréotaxique	<b>85</b>
2.2	Lésion unilatérale de la substance noire compacte (SNc)	<b>85</b>
2.3	Implantation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation	<b>87</b>
3.	TRAITEMENTS A LA L-DOPA	<b>88</b>
3.1	Traitement chronique	<b>89</b>
3.2	Traitement aigu	<b>90</b>
4.	STIMULATION HAUTE FREQUENCE DU NST	<b>91</b>
5.	MICRODIALYSE INTRACEREBRALE CHEZ LE RAT ANESTHESIE	<b>92</b>
5.1	Principe de la microdialyse intracérébrale	<b>92</b>
5.2	Préparation des sondes de microdialyse	<b>93</b>
5.3	Rendement des sondes in vitro	<b>93</b>
5.4.	Protocole de dialyse	<b>95</b>
5.4.1.	<i>Importance et choix des paramètres de dialyse</i>	95
5.4.2.	<i>Déroulement de la microdialyse in vivo</i>	96
6-	DOSAGE DES NEUROTRANSMETTEURS ETUDIÉS PAR CLHP	<b>97</b>
6.1	Composition d'une chaîne de CLHP	<b>97</b>
6.2	Dosage des catécholamines	<b>99</b>
6.2.1	<i>Principe de la détection</i>	99
6.2.2	<i>Matériel utilisé</i>	100
6.2.3	<i>Paramètres analytiques</i>	100
6.2.4	<i>Validation de la technique analytique</i>	101
6.3	Dosage des acides aminés	<b>102</b>
6.3.1	<i>Principe de la détection</i>	102
6.3.1.1	Détection spectrofluorimétrique standard	102
6.3.1.2	Détection LIF	103
6.3.2	<i>Matériel utilisé</i>	103
6.3.2.1	Détection spectrofluorimétrique standard	103
6.3.2.2	Détection LIF	103
6.3.3	<i>Paramètres analytiques</i>	103
6.3.3.1	Détection spectrofluorimétrique standard	104
6.3.3.2	Détection LIF	104
6.3.4	<i>Validation de la technique analytique</i>	105
6.3.4.1	Détection spectrofluorimétrique standard	105
6.3.4.2	Détection spectrofluorimétrique par LIF	106
7.	CONTROLES HISTOLOGIQUES	<b>107</b>
7.1	Localisation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation	<b>107</b>
7.1.1	<i>Chez les rats intacts</i>	107
7.1.2	<i>Chez les rats lésés à la 6-OHDA</i>	107
7.2.	Evaluation de l'étendue de la lésion dopaminergique	<b>108</b>
7.2.1.	<i>Protocole d'immunohistochimie de la tyrosine hydroxylase</i>	109

7.2.2 Analyse de l'étendue de la lésion.....	110
8- LA SPECTROMETRIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (SRM).....	<b>110</b>
8.1 Principe de la SRM.....	<b>111</b>
8.2 Matériel et paramètres utilisés dans notre étude.....	<b>113</b>
8.2.1 Déroulement des expériences.....	113
8.2.2 Analyse in vitro par SRM haute résolution.....	116
9. TRAITEMENT DES RESULTATS ET ANALYSE STATISTIQUE.....	<b>117</b>
9.1 Présentation des résultats.....	<b>117</b>
9.2 Analyse statistique.....	<b>117</b>
<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>119</b>
<b>PARTIE I.....</b>	<b>119</b>
1- Vérifications préliminaires.....	<b>119</b>
1.1 Stabilité des taux d'acides aminés dans nos conditions expérimentales.....	119
1.2. Rendement de sondes in vitro.....	120
2- Effet de la SHF du NST sur les taux extracellulaires de glutamate et GABA dans le cortex Fr3, le noyau ventromédian du thalamus et le colliculus supérieur chez le rat sain anesthésié.....	<b>121</b>
2.1 Contrôles histologiques.....	123
2.2 Variations des contenus extracellulaires de glutamate et de GABA induites par la SHF du NST.....	123
2.2.1 Au niveau du cortex Fr3.....	124
2.2.2 Au niveau du noyau ventromédian du thalamus.....	124
2.2.3 Au niveau du colliculus supérieur.....	124
3- Discussion.....	<b>125</b>
<b>PARTIE II.....</b>	<b>135</b>
1- Vérifications préliminaires.....	<b>137</b>
1.1 Stabilité des taux de dopamine (et de ses métabolites DOPAC et HVA), de glutamate et de GABA au sein du striatum dans nos conditions expérimentales.....	137
1.2. Rendement des sondes in vitro.....	139
2- Modifications neurochimiques induites par la SHF du NST au niveau striatal chez le rat sain ou porteur d'une lésion totale de la SNc traité ou non chroniquement à la L-Dopa : Expérience 1. ....	<b>140</b>
2.1 Contrôles histologiques.....	141
2.1.1 Evaluation de la dénervation dopaminergique.....	141
2.1.2 Localisation de l'électrode de stimulation et de la sonde de microdialyse.....	141
2.2 Effet de la dénervation dopaminergique et du traitement chronique à la L-Dopa sur les taux de base de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA au niveau striatal.....	143
2.2.1 Effet de la dénervation dopaminergique.....	143
2.2.2 Effet du traitement chronique à la L-Dopa chez les rats 6-OHDA-LT.....	144
2.3 Effets de la SHF du NST sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA au sein du striatum chez les rats sains ou porteurs d'une lésion totale de la SNc traités ou non chroniquement à la L-Dopa.....	147
2.3.1 Effets de la SHF du NST chez les rats sains.....	147
2.3.2 Effets de la SHF du NST chez des rats 6OHDA-LP non traités ou traités chroniquement à la L-Dopa ...	149
2.4 Discussion.....	152
3- Modifications neurochimiques induites par la SHF du NST au niveau striatal chez le rat sain ou porteur d'une lésion partielle de la SNc et traité ou non de façon aigue à la L-Dopa : Expérience 2. ....	<b>165</b>
3.1 Contrôles histologiques.....	165
3.1.1 Evaluation de la dénervation dopaminergique partielle.....	165
3.1.2 Localisation de l'électrode de stimulation et des sondes de microdialyse.....	166
3.2 Effet d'une lésion partielle de la SNc sur les taux de base en dopamine, DOPAC et HVA au niveau striatal.....	168
3.3 Effets d'une injection unique de L-Dopa sur les taux de dopamine, DOPAC et HVA chez les rats sains et les rats partiellement lésés.....	171
3.4 Effets de la SHF du NST sur les taux striataux de dopamine, DOPAC et de HVA augmentés par une injection unique de L-Dopa, chez les rats sains ou porteurs d'une lésion partielle de la SNc.....	176
3.5 Discussion.....	181
Effets d'une injection L-Dopa sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA. ....	181
Effets d'une SHF du NST sur les augmentations des taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA induites par une injection unique de L-Dopa.....	183
<b>PARTIE III.....</b>	<b>188</b>
1- Remarques préliminaires.....	<b>188</b>
1.1 Constitution des groupes expérimentaux.....	188
1.2 Contrôles histologiques.....	188
1.2.1 Territoire striatal analysé par SRM.....	188



<b>1.2.2 Vérification de l'étendue de la lésion dopaminergique de la SNc</b> .....	189
2- Résultats .....	<b>190</b>
<b>2.1 Précisions préliminaires</b> .....	190
2.2 Effet de la déafférentation dopaminergique unilatérale totale du striatum sur les contenus en glutamate .....	191
<b>2.3 Impact d'une injection de L-Dopa sur les contenus en glutamate du côté lésé chez les rats 6-OHDA (Figure 58)</b> .....	192
<b>2.4 SRM haute résolution</b> .....	195
3- Discussion .....	<b>195</b>
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	<b>201</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>207</b>

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

3-MT :	3-Méthyltyramine
6-OHDA :	6-Hydroxydopamine
ABC :	Complexe Avidine/Biotine
AMPA :	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazole Propionate
ATP :	Adénosine Tri-Phosphate
ATV :	Aire Tegmentale Ventrale
BHE :	Barrière Hémato-Encéphalique
CLHP :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CoI :	Cytochrome c Oxydase I
COMT :	Catéchol-O-Méthyl Transférase
CS :	Colliculus Supérieur
Ctx Fr3 :	Région Fr3 du Cortex cérébral
DDC :	Dopa-Décarboxylase
DOPAC :	Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique
EP :	Noyau Entopédonculaire
GABA :	Acide Gamma-Aminobutyrique
GP :	Globus Pallidus
GPe :	Globus Pallidus Externe
GPi :	Globus Pallidus Interne
HVA :	Acide Homovanillique
KO :	Knock-Out
LCR :	Liquide Céphalo-rachidien
L-Dopa :	L-3,4-Dihydroxyphénylalanine
LIF :	Laser-Induced Fluorescence
LP :	Lésion Partielle
LT :	Lésion Totale
MAO :	Monoamine Oxydase
MP :	Maladie de Parkinson
MPP+ :	Ion 1-Méthyl-4-Phénylpyridinium
MPTP :	1-Méthyl-4-Phényl-1,2,3,6-Tétrahydropyridine
NAA :	N-Acétylaspartate
NDA :	Naphtalène 2,3-Dicarboxyaldéhyde
NMDA :	N-méthyl-D-aspartate
NST :	Noyau Sous-thalamique

OPA :	Orthophosphoric Acid
PBS :	Tampon Phosphate Salin
PFA :	Paraformaldéhyde
SHF :	Stimulation Haute Fréquence
SNC :	Substance Noire Compacte
SNr :	Substance Noire Réticulée
SRM :	Spectroscopie par Résonance Magnétique
TB :	Tampon Tris
TBS :	TB Salin
TBST :	TBS à 0,3 % de Triton 100X
TH :	Tyrosine Hydroxylase
VM :	Noyau Ventro-médian du Thalamus

# **AVANT-PROPOS**

Une partie des résultats présentés dans ce manuscrit a fait l'objet des publications suivantes :

LACOMBE E, CARCENAC C, BOULET S, FEUERSTEIN C, BERTRAND A, POUPARD A and SAVASTA M. "High frequency stimulation of the subthalamic nucleus stabilizes the increase of extracellular striatal dopamine contents induced by an acute treatment of L-DOPA: a microdialysis study in normal and partially dopaminergic denervated rats." *European Journal of Neuroscience*, 2007. Soumis.

KICKLER N\*, LACOMBE E\*, CHASSAIN C, DURIF F, KRAINIK A, FARION R, PROVENT P, COLES JA, SEGEBARTH C, REMY C and SAVASTA M. "Glutamate measurement using Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in a 6-OHDA rat model of Parkinson's disease." *Experimental Neurology*, 2007. Soumis.

(\* : contribution équivalente à la réalisation de l'étude)

J'ai eu par ailleurs l'opportunité de participer à d'autres travaux de mon laboratoire, qui ont fait ou feront l'objet des publications suivantes :

BOULET S, LACOMBE E, CARCENAC C, FEUERSTEIN C, SGAMBATO-FAURE V, POUPARD A and SAVASTA M. "Subthalamic Stimulation-Induced Forelimb Dyskinesias are linked to an Increase in Glutamate Levels in the Substantia Nigra Pars Reticulata." *Journal of Neuroscience*, 2006, 26 : 10768-76.

CARCENAC C, LACOMBE E, BOULET S, FEUERSTEIN C and SAVASTA M. "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.



Seconde affection neurodégénérative la plus répandue après la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson (MP) touche en moyenne 1 personne sur 100 après 65 ans en moyenne en Europe, et près de 100000 personnes en France. Caractérisée par une dégénérescence sélective des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) (Ehringer et Hornykiewicz, 1960 ; Agid, 1991), elle se manifeste sur le plan clinique par une triade symptomatologique associant une akinésie, une rigidité et un tremblement de repos (voir pour revue Obeso et al., 2002, 2004). Toutefois, l'expression clinique de la maladie n'apparaît 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.

Il est à noter également que d'autres systèmes neuronaux non dopaminergiques sont également affectés lors de cette maladie. Il a notamment été montré que certaines projections sérotoninergiques issues du raphé et se projetant sur le cortex, les ganglions de la base, l'hypothalamus et l'hippocampe dégénéraient, ainsi que certaines voies sérotoninergiques et noradrénergiques descendant vers la moelle épinière. Enfin, des atteintes des neurones cholinergiques du télencéphale basal, du noyau pédonculopontin, ainsi que des projections du noyau basal de Meynert sur le cortex et l'hippocampe ont également été décrites (pour revue, Jellinger, 1991).

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 de l'activité motrice et certains apprentissages sensori-moteurs. Ces structures sous-corticales traitent les messages corticaux à destination des noyaux pré-moteurs du thalamus et du tronc cérébral. L'information corticale intègre le réseau des ganglions de la base par l'intermédiaire du striatum (ou noyau caudé-putamen chez le primate) et du noyau sous-thalamique. Le striatum est lui même relié aux structures de sortie de ces ganglions de la base, que sont la substance noire réticulée (SNr) et le segment interne du globus pallidus (GPi) (ou noyau entopédonculaire (EP) chez le rongeur) par deux voies de projections distinctes : une voie directe, inhibitrice, et une voie indirecte, excitatrice, qui transite par le segment externe du globus pallidus (GPe) (ou simplement globus pallidus (GP) chez le rongeur) et le noyau sous-thalamique (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 pré-frontal. L'activité de l'ensemble de ces noyaux est modulée par la dopamine provenant de la SNc, et permet *in fine* une régulation fine du mouvement. Lors de la MP, la disparition progressive de



l'innervation dopaminergique au sein des ganglions de la base conduit à une dérégulation du réseau, créant une hyperactivité des structures de sortie qui vont alors exercer une inhibition accrue sur le thalamus, perturbant ainsi la transmission de l'information motrice au cortex cérébral, à l'origine des symptômes moteurs de la MP.

En raison du rôle essentiel joué par la dopamine, le seul traitement efficace de la MP a consisté jusqu'à une période récente à restituer les taux de dopamine manquante par administration de (L)-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-Dopa) (Dopa-thérapie), très rapidement complétée par la prise d'agonistes des récepteurs dopaminergiques. Malheureusement, l'efficacité de cette Dopa-thérapie tend à s'atténuer au cours de l'évolution de la maladie et entraîne chez certains patients l'apparition de mouvements anormaux involontaires que l'on désigne sous le terme de "dyskinésies". Pour remédier à cet état de fait, de nouvelles approches thérapeutiques ont été développées. En effet, grâce notamment à des études réalisées dans des modèles animaux de la MP, il a pu être mis en évidence une hyperactivité des neurones du NST et des structures de sortie des ganglions de la base, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques de cette maladie basées sur les techniques de stimulation électrique cérébrale profonde et en particulier 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 1-Méthyl-4-Phényl-1,2,3,6-Tétrahydro-pyridine (MPTP) (Benazzouz et al., 1993), a été par la suite appliquée chez l'homme à Grenoble par les Prs 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 (Benabid et al., 1994 ; Kumar et al., 1998 ; Limousin et al., 1995, 1998 ; Krack et al., 1997, 2003). Toutefois, si le bénéfice thérapeutique de ce traitement est prouvé depuis plus d'une dizaine d'années, les mécanismes qui sous-tendent l'efficacité de cette stimulation ne sont pas encore élucidés et suscitent de nombreuses discussions dans la littérature internationale (Benabid et al., 2002 ; Dostrovsky et Lozano, 2002 ; Vitek, 2002b ; McIntyre et al., 2004c, 2004d)

L'unité Inserm U704 "Dynamique des Réseaux Neuronaux" (ayant intégré depuis le 1<sup>er</sup> Janvier 2007 l'Institut des Neurosciences de Grenoble, en tant qu'équipe de l'unité Inserm U836), 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. 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 et 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 de glutamate dans le GPe et la SNr, et les contenus d'acide gamma-aminobutyrique (GABA) seulement dans la SNr. Ces données neurochimiques ont permis de suggérer alors que la SHF du NST n'était pas 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 principale avancée au laboratoire est que le GABA pourrait exercer un rôle prédominant au sein de la SNr vis-à-vis du glutamate, et induire ainsi une inhibition résultante au niveau des voies de sortie pouvant ainsi expliquer son effet thérapeutique (Windels et al., 2000, 2005 ; Savasta et al., 2002). Les résultats neurochimiques obtenus chez le rat hémiparkinsonien, toujours sous anesthésie, ont conforté cette hypothèse et révélé que le GABA mesuré dans la SNr avait une origine principalement pallidale (Windels et al., 2005). Par ailleurs, d'autres résultats obtenus plus récemment au laboratoire chez le rat éveillé libre de ses mouvements ont permis de conforter l'hypothèse d'une action balancée entre le glutamate et le GABA au niveau nigral sous l'effet de la SHF du NST : l'action glutamatergique peut avoir des effets délétères de type dyskinétique, alors que l'action GABAergique peut être bénéfique sur les symptômes parkinsoniens (Boulet et al., 2006). Enfin d'autres études au niveau striatal, réalisées au laboratoire, ont concerné les variations des contenus en dopamine, glutamate et GABA et 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 qui sous-tendent la récupération fonctionnelle observée devait prendre en compte l'ensemble des interactions intervenant au sein des circuits des ganglions de la base.

C'est dans ce contexte que s'est inscrit mon projet de thèse qui s'est globalement articulé autour de trois objectifs constituant les volets expérimentaux de ce mémoire :

- Le **premier objectif** a consisté à étudier les conséquences neurochimiques de cette SHF du NST dans des structures ne faisant pas partie du réseau des ganglions de la base, mais reliées sur le plan anatomique à ce réseau, telles que la région Fr3 du cortex (Ctx Fr3), le noyau ventromédian du thalamus (VM) ou encore le colliculus supérieur (CS). La finalité de ces expériences menées chez des animaux sains visait à essayer de voir si la SHF du NST pouvait induire des modifications neurochimiques au niveau : 1) du Ctx Fr3, qui se projette sur le NST *via* des axones qui pourraient être activés de manière antidromique par la SHF du NST ; 2) du VM du thalamus, qui reçoit des fibres GABAergiques provenant des structures de sortie des ganglions de la base, la SNr et l'EP ; et 3) du CS, une cible des projections GABAergiques issues des structures de sortie des ganglions de la base, qui est également une afférence au NST et qui pourrait donc être activée par la SHF du NST de manière à la fois orthodromique et antidromique.

- Le **deuxième objectif** a consisté à aborder une question peu étudiée jusqu'à ce jour et qui consiste à savoir s'il existe des interactions entre un traitement à la L-Dopa et la SHF du NST. En effet, comme nous l'avons indiqué plus haut, la SHF du NST est à l'heure actuelle pratiquée avec succès chez des patients parkinsoniens à un stade avancé de la maladie, et qui ont donc bénéficié d'un traitement à la L-Dopa depuis de nombreuses années. Dès lors, il nous est apparu intéressant de voir si un tel traitement pharmacologique au long cours, qui n'est certainement pas anodin en termes d'adaptation métabolique et de plasticité synaptique, ne pouvait pas être un facteur déterminant de l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST. En effet, il est bien établi que la nécessité d'une réponse à la L-Dopa chez le patient parkinsonien candidat à la stimulation, est un élément prédictif d'un résultat bénéfique de la SHF du NST (Welter et al., 2002 ; Kleiner-Fisman et al., 2003 ; Pahwa et al., 2005). De même des observations cliniques ont permis de montrer que la mise en place d'une SHF du NST, permettait de réduire les prises de L-Dopa de plus de 50 %, voire de les supprimer dans certains cas (Limousin et al., 1998), suggérant une possible influence de cette stimulation sur les contenus en dopamine au niveau cérébral. Sur le plan expérimental, nous avons essayé

d'étudier les variations des contenus striataux en dopamine (et de ses métabolites l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique, DOPAC, et l'acide homovanillique, HVA), glutamate et GABA sur des rats sains et hémiparkinsoniens (porteurs d'une lésion totale ou partielle de la SNc) traités à la L-Dopa de manière chronique ou aiguë, et soumis ou non à une SHF du NST.

- Le **troisième objectif** représente davantage un objectif de faisabilité technique qui s'est inscrit dans le cadre d'une collaboration avec les Drs Nils Kickler et Chantal Rémy de l'unité Inserm U594 "Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique" dirigée par le Dr C. Segebarth à Grenoble, et qui comme l'unité U704 a intégré l'Institut des Neurosciences au 1<sup>er</sup> Janvier 2007. Il a consisté à essayer de mesurer les concentrations striatales de "glutamate total" par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRM), une technique moins invasive que la microdialyse intracérébrale qui elle ne permet que la mesure des concentrations extracellulaires de neuromédiateurs. Toutefois, la concentration intracellulaire du glutamate étant bien plus élevée que celle du milieu extracellulaire, le signal mesuré par SRM *in vivo* représente majoritairement les contenus intracellulaires de glutamate. La détection du glutamate est assurée grâce à la SRM du proton qui permet une haute sensibilité de mesure si elle est réalisée dans un champ magnétique élevé (7 Tesla). Ces mesures de glutamate au niveau striatal ont été réalisées dans des conditions expérimentales permettant de détecter des variations de glutamate de façon optimale c'est-à-dire lors d'une dénervation dopaminergique associée à traitement aigu à la L-Dopa. De plus, notre étude s'est focalisée sur la région dorsolatérale sensorimotrice du striatum, dont on sait qu'elle est innervée massivement par les projections corticales glutamatergiques.

Le plan que nous avons suivi pour la présentation de ce manuscrit est le suivant. Dans un premier chapitre de "Rappels bibliographiques", nous rappellerons un certain nombre de données de la littérature qui ont été le support de mon travail doctoral. Un deuxième chapitre présentera de manière exhaustive l'ensemble des "Matériels et méthodes" utilisés dans ce travail doctoral. Enfin un troisième chapitre concernera la partie expérimentale de ce mémoire qui se décomposera en trois volets correspondant aux trois objectifs expérimentaux exposés ci-dessus. Pour chacun de ces volets, les résultats seront présentés et discutés dans leur ensemble. Enfin, un quatrième et dernier chapitre de "Conclusions et perspectives" clôturera ce manuscrit.



# 1- La maladie de Parkinson

## 1.1 Généralités sur la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson (MP) idiopathique fut décrite pour la première fois en 1817, par James Parkinson qui la définit à l'époque comme une "paralysie agitante". Cette maladie neurodégénérative chronique du système nerveux central combine des atteintes motrices, cognitives et psychiatriques dans sa phase la plus avancée. D'étiologie encore inconnue à ce jour, elle débute généralement entre 55 et 65 ans, faisant suite à une période "silencieuse" correspondant à la phase asymptomatique de la maladie. Toutefois, des formes précoces de la maladie affectant des individus âgés de 30 à 55 ans ont été décrites, et sont pour la plupart sous-tendues par des mutations génétiques donnant naissance à des formes familiales de la maladie. Cette affection invalidante concerne surtout les pays industrialisés, où la progression de l'espérance de vie augmente la proportion de maladies liées au vieillissement.

## 1.2 Etiologie

De nombreuses hypothèses ont été émises quant à l'origine de cette maladie neurodégénérative. Les recherches ont porté principalement sur l'étude des facteurs génétiques d'une part, et l'étude des facteurs environnementaux d'autre part.

Les études épidémiologiques font état de 10 à 25 % de cas familiaux de la MP, c'est à dire 10 à 25 % de patients parkinsoniens rapportant une atteinte similaire chez un autre membre de la famille (voir pour revue Broussolle et Thobois, 2002). Ces formes familiales de la maladie débutent en général, plus précocement que la forme dite sporadique. La caractérisation de ces formes familiales a permis l'identification de dix loci (PARK1 à PARK10) et de six gènes dont la transmission est soit à caractère dominant (SNCA, UCH-L1, LRRK2), soit à caractère récessif (PARK2, DJ-1, PINK1) (voir pour revue Farrer, 2006 ; Schapira, 2006). Parmi les plus connus, le gène SNCA code pour l'alpha-synucléine, qui est un composant majeur des corps de Lewy dans la MP idiopathique, ainsi que des plaques amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer. Les mutations de ce gène ont pour conséquence une augmentation du taux de protofibrilles, considérées comme étant la forme la plus toxique de l'alpha-synucléine. Les mutations du gène PARK2 codant pour la parkine (enzyme ligase possédant une fonction d'ubiquitination des protéines en vue de leur destruction par le protéasome) sont principalement responsables de formes autosomales récessives précoces de la MP (Kitada et al., 1998), mais sont impliquées également dans des formes sporadiques

dans 18% des cas (Mata et al., 2004). Les mutations du gène codant pour la LRRK2 (leucine-rich repeated kinase 2) sont d'un intérêt particulier car elles apparaissent comme étant les mutations les plus répandues dans les formes familiales et sporadiques de la MP. Le gène PINK1 code pour la PTEN-induced kinase, une enzyme mitochondriale impliquée dans la protection des cellules en situation de stress. Le gène UCHL1 code pour l'enzyme ubiquitin-C-terminal hydrolase L1, actrice du système ubiquitine/protéasome. Néanmoins, les cas de parkinsonisme liés à une mutation de ce gène étant rares, des doutes subsistent quant au rapport existant entre cette enzyme et la MP. Enfin, des mutations récessives de l'oncogène DJ-1 (codant pour une protéine chaperonne du même nom) sont à l'origine de moins de 1% des cas précoces de la MP.

*Table Inherited Parkinsonism*

	Inheritance	Locus	Onset	Lewy-bodies	Gene
Park 1	AD	4q21	40s	+	$\alpha$ -synuclein
Park 2	AR	6q25	20s	-	parkin
Park 3	AD	2p13	60s	+	?
Park 4	AD	4q21	30s	+	$\alpha$ -synuclein
Park 5	AD	4p15	50s	+	UCH-L1
Park 6	AR	1p35	30s	?	Pink-1
Park 7	AR	1p36	30s	?	DJ1
Park 8	AD	12p	variable	+/-	LRRK2
Park 9	AR	-	-	?	?
Park 10	AR	1p32	-	?	?
Park 11		2q36-37		?	?

**Tableau 1 : Récapitulatif des gènes impliqués dans les formes héréditaires de la maladie de Parkinson.** AD : autosomique dominant ; AR : autosomique récessif. (D'après Schapira, 2006)

L'hypothèse environnementale a été fortement évoquée depuis une vingtaine d'année avec la découverte de syndromes parkinsoniens chez de jeunes toxicomanes intoxiqués accidentellement avec du 1-Méthyl-4-Phényl-1,2,3,6-Tétrahydro-pyridine (MPTP). Plusieurs substances dont la structure est analogue à celle du MPTP (paraquat, duquat, roténone) sont par ailleurs utilisées dans l'industrie agricole pour la fabrication de pesticides, d'herbicides et d'insecticides. L'utilisation de ces produits a été corrélée avec une plus grande prévalence de la MP dans les zones rurales des pays industrialisés à forte consommation d'insecticides, herbicides, pesticides, ou bien d'eaux dérivées du ruissellement, dans lesquelles de telles substances auraient pu se concentrer (Damier, 1998).

Pour résumer, il existerait plusieurs formes de MP, résultant de combinaisons individuelles entre une susceptibilité génétique de développer la maladie et une exposition à certains facteurs environnementaux toxiques.

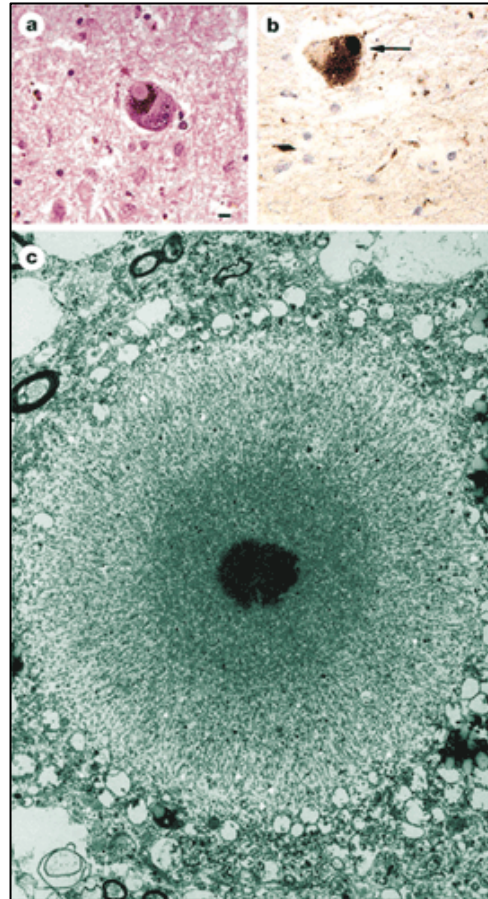
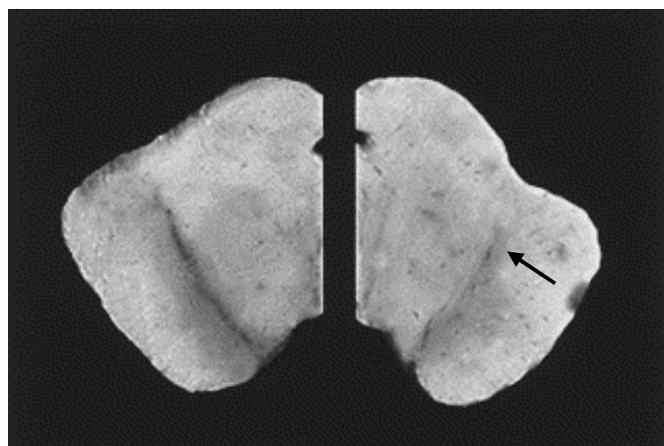


**Figure 1 : Statuette de Paul Richer représentant la posture atonique caractéristique du patient parkinsonien décrite par James Parkinson (1817).**

**Figure 2 : Sections coronales de mésencéphale de cerveau humain *post-mortem* prélevées au niveau de la substance noire.**

*(D'après Alexi et al., 2000)*

Noter la dépigmentation de la substance noire caractéristique de la maladie de Parkinson (droite) par rapport à un sujet sain (gauche).



**Figure 3 : Corps de Lewy.**  
*(D'après Beal, 2001)*

a) Coloration hématoxyline/éosine. b) Détection immuno-chimique de la présence d'alpha-synucléine. c) Micrographie électronique montrant la composition d'un corps de Lewy : le cœur dense et granulaire est entouré d'un halo de filaments radiaux.



### 1.3 Symptomatologie

Les premiers signes cliniques de la maladie apparaissent lorsque environ 50 à 60 % des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) ont disparu, ce qui correspond à environ 70-80 % de perte des terminaisons dopaminergiques au niveau du territoire striatal (Agid, 1991 ; Agid et al., 1993).

La MP se traduit par une symptomatologie extra-pyramidale incluant des difficultés dans l'initiation du mouvement (akinésie), une lenteur d'exécution du mouvement (bradykinésie), une rigidité posturale et un tremblement de repos. Ces manifestations de la maladie peuvent se combiner différemment suivant les patients. L'akinésie génère lenteur et rareté des mouvements automatiques et volontaires, dans un contexte de force musculaire normale. La rigidité posturale est liée à une hypertonie plastique, caractérisée par une résistance constante lors de l'allongement passif des membres, cédant par à-coups successifs (phénomène de la "roue dentée") et immobilisant le membre à chaque nouvelle position. Elle modifie également la posture du corps qui adopte alors une courbure en avant caractéristique des patients parkinsoniens (Figure 1 page 9). Ce phénomène de rigidité apparaît au bout d'une certaine durée de la maladie. Le tremblement est le signe le plus marquant de la MP, bien qu'il soit inconstant. Il se manifeste au repos par des oscillations lentes (4 à 8 Hz) et de faible amplitude des membres.

A cette triade s'ajoutent des troubles de la marche et de l'équilibre à l'origine de chutes fréquentes. Ces troubles moteurs s'accompagnent généralement de dysfonctionnements du système nerveux autonome (troubles digestifs et respiratoires dans la phase la plus avancée) et de troubles cognitifs pouvant concerner la mémoire, l'orientation, l'attention, la concentration, la capacité d'apprentissage, la pensée abstraite, le jugement et le langage, ainsi que de troubles psychiques, avec l'apparition de symptômes dépressifs et d'apathie liés à la déplétion en dopamine.

### 1.4 Anatomicopathologie

Sur le plan anatomique, la MP se traduit par une disparition massive, bilatérale et progressive des neurones dopaminergiques pigmentés du système nigro-strié (Figure 2 page 9), essentiellement au niveau de la SNc (Hornykiewicz, 1966). Les neurones de la SNc restants (Gibb et Lees, 1989 ; Agid et al., 1993), ainsi que d'autres populations catécholaminergiques (Halliday et al., 1990 ; Jellinger, 1991), présentent par ailleurs des inclusions cytoplasmiques éosinophiles appelées "corps de Lewy" et renfermant de la

tubuline, des neurofilaments, de l'alpha-synucléine et de l'ubiquitine (Figure 3 page 9). La présence de ces inclusions aide au diagnostic, mais ne représente pas un signe spécifique de la MP car les corps de Lewy sont également observés au cours du vieillissement normal, ainsi que dans la maladie d'Alzheimer (Fearnley et Lees, 1991 ; Gibb et Lees, 1989), sans que l'on sache s'il s'agit d'un indice de souffrance cellulaire ou de processus dégénératif (Agid, 1991 ; Agid et al., 1993).

### **1.5 Physiopathologie de la maladie**

La dégénérescence des neurones de la SNc est à l'origine d'une réduction des terminaisons dopaminergiques nigro-striatales, et d'une diminution dramatique des contenus en dopamine au niveau du striatum. Cette perte de l'innervation dopaminergique striatale crée alors entre les différents neurotransmetteurs striataux (dopamine, glutamate, acide gamma-amino-butyrique (GABA), sérotonine, acétylcholine) une rupture de la balance physiologique altérant le fonctionnement interne du striatum, ainsi que les voies de projection vers les autres structures des ganglions de la base.

## **2- Généralités sur les modèles animaux de la maladie de Parkinson**

Les modèles expérimentaux de la MP tentent de reproduire artificiellement, chez l'animal (rat, souris et singe), la dégénérescence dopaminergique nigro-striée observée lors de la maladie. Ces modèles ont pour but d'une part d'aider à la compréhension des mécanismes qui favorisent l'installation du processus dégénératif (facteurs étiologiques), qui l'accompagnent (phénomènes de compensation) ou qui en résultent (comme l'hypersensibilité de dénervation), et d'autre part de développer des stratégies de remplacement des neurones lésés par voie médicamenteuse ou par voie chirurgicale. Ils servent également de support pour aider à mieux comprendre l'anatomie et la fonctionnalité des structures cérébrales, les ganglions de la base dans notre cas. A l'heure actuelle, deux modèles expérimentaux basés sur la destruction des neurones dopaminergiques nigraux sont le plus couramment utilisés : le singe traité au MPTP, et le rat lésé à la 6-hydroxydopamine (6-OHDA). L'obtention de ces deux modèles expérimentaux ainsi que leurs caractéristiques, avantages et inconvénients, sont exposés ci-après.

### **2.1 Le modèle 1-Méthyl-4-Phényl-1,2,3,6-Tétrahydropyridine**

Ce modèle relativement récent doit son existence à la découverte fortuite du MPTP, un

dérivé pyridinique sous-produit de synthèse d'un substitut de l'héroïne (Davis et al., 1979), susceptible de reproduire un syndrome parkinsonien par lésion sélective du système dopaminergique nigro-strié (Burns et al., 1983). En effet, en 1983, les premiers cas de syndrome parkinsonien furent décrits chez des toxicomanes utilisant une héroïne contaminée par le MPTP. On découvrit ensuite que le MPTP possédait une cytotoxicité sélective à l'égard des neurones dopaminergiques nigro-striés, et que cette action neurotoxique s'exerçait par l'intermédiaire d'un dérivé oxydé du MPTP, l'ion 1-méthyl-4-phénylpyridinium ou MPP<sup>+</sup>, formé à partir du MPTP dans les cellules gliales sous l'action de la monoamine oxydase B. Une fois relargué par les cellules gliales, l'ion MPP<sup>+</sup> pénètre via les transporteurs membranaires de la dopamine dans les neurones dopaminergiques, dans lesquels il va engendrer la production de radicaux libres et des dysfonctionnements du métabolisme mitochondrial (inhibition du complexe I, découplage de la phosphorylation oxydative, altération du potentiel de membrane) avec pour résultante une diminution de la synthèse d'adénosine tri-phosphate (ATP) et l'induction de la mort cellulaire (Figure 4 page 16). La diminution d'ATP, suite au dysfonctionnement mitochondrial, est également responsable d'une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire qui accélère le processus de dégénérescence (Blum et al., 2001).

Les animaux couramment utilisés pour l'intoxication au MPTP sont le singe et la souris, mais pas le rat. Le MPTP injecté chez ce dernier par voie systémique perd en effet son pouvoir toxique (Boyce et al., 1984 ; Chiueh et al., 1984) suite à une particularité biochimique de la barrière hémato-encéphalique propre à l'espèce (Kalaria et al., 1987 ; Riachi et al., 1988). En effet, le rat possède de grandes quantités d'enzyme monoamine oxydase B au niveau de ses vaisseaux sanguins périphériques. L'ion MPP<sup>+</sup> formé dans le compartiment périphérique est donc dégradé avant de franchir la barrière hémato-encéphalique. Une solution pour s'affranchir de ce problème chez le rat consiste à administrer la toxine, ou plus précisément son métabolite actif le MPP<sup>+</sup>, directement au niveau du tissu cible, par voie stéréotaxique. Le modèle réalisé présente alors des caractéristiques anatomo-biochimiques et comportementales similaires au modèle 6-OHDA.

Les singes traités au MPTP développent une akinésie, une rigidité musculaire et une sévère instabilité posturale caractéristiques de la MP. L'étude *post-mortem* du cerveau de ces animaux révèle une diminution dramatique des taux de dopamine striataux, due à une dégénérescence des cellules dopaminergiques de la substance noire essentiellement, les neurones dopaminergiques des autres structures restant relativement épargnés (Bankiewicz et

al., 1986 ; Benazzouz et al., 1992 ; Graybiel et al., 1993). La mesure des paramètres du mouvement, ainsi que les études immunohistochimiques post-mortem, confirment que le singe traité au MPTP est aujourd'hui un précieux modèle d'étude des troubles du mouvement qui s'installent lors de la MP.

Les intérêts majeurs de ce modèle sont :

(1) La présence au niveau histopathologique d'une atteinte des neurones dopaminergiques nigro-striés, associée chez les animaux sévèrement intoxiqués à des lésions au niveau de l'aire tegmentale ventrale (ATV), du locus coeruleus et du noyau raphé dorsal (Gupta et al., 1984 ; Forno et al., 1986), ainsi qu'à des inclusions éosinophiles rappelant les corps de Lewy (Ricaurte et al., 1987 ; Forno et al., 1988) ;

(2) L'induction d'un syndrome parkinsonien superposable en grande partie à celui observé chez l'homme, notamment pour la bradykinésie et la rigidité ;

(3) La réalisation de nombreux travaux portant sur les mécanismes d'action neurotoxiques du MPTP, permettant ainsi d'énoncer de nouvelles hypothèses sur l'origine du processus dégénératif présent dans la MP (Kopin et Markey, 1988 ; Hantraye et al., 1990).

Cependant, ce modèle présente certaines limites dans la mesure où il n'est ni standardisé (sévérité et nature des déficits comportementaux dépendantes des doses, du mode et de la fréquence d'injection du toxique, susceptibilité au MPTP variable selon les animaux, même à l'intérieur d'une seule espèce de singes), ni stable (certains animaux présentent à long terme une récupération motrice spontanée (Walters et al., 1987 ; Albanese et al., 1993), et ne reproduit pas l'évolution très lente de la maladie observée chez l'homme. Ce modèle est plutôt utilisé en recherche clinique afin d'évaluer l'efficacité thérapeutique de certains agents antiparkinsoniens, de tester les différentes modalités d'injection (pompe, stylet), ou encore – et surtout chez le singe – pour étudier les mécanismes de compensation à l'origine de la récupération motrice observée chez les animaux intoxiqués.

## **2.2 Le modèle 6-hydroxydopamine**

Composé neurotoxique dérivé de la dopamine, la 6-OHDA induit une dégénérescence des neurones catécholaminergiques, et représente depuis plusieurs années le modèle expérimental principal de la MP chez le rongeur (Ungerstedt, 1971a ; Schwarting et Huston, 1996a, 1996b ; Deumens et al., 2002). Ce modèle apparaît comme le plus approprié quand il s'agit d'étudier le fonctionnement d'un système en l'absence de dopamine. La 6-OHDA ne passant pas la barrière hémato-encéphalique, elle doit être injectée directement au niveau

cérébral soit *in situ*, soit par voie intraventriculaire, et précédée de l'injection d'une molécule protégeant les neurones noradrénergiques et adrénérgiques (la désipramine le plus souvent). De par sa structure très proche de celle de la dopamine et de la noradrénaline, la 6-OHDA peut être spécifiquement captée dans les neurones via les transporteurs membranaires des catécholamines. Une fois internalisée, la 6-OHDA engendre: 1) des modifications mitochondriales (inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, découplage de la chaîne de phosphorylation oxydative et diminution du potentiel membranaire mitochondrial) qui concourent à la diminution des taux d'ATP ; 2) la formation d'espèces radicalaires très réactives qui endommagent les macromolécules et participent à la désorganisation de la structure cellulaire (Figure 4 page 16). Ces événements conjugués conduisent à la mort cellulaire. En outre, une oxydation de la 6-OHDA peut se produire à l'extérieur de la cellule, produisant du peroxyde d'hydrogène qui diffuse dans la cellule et concourt à l'accroissement des taux de radicaux libres intracellulaires (Blum et al., 2001).

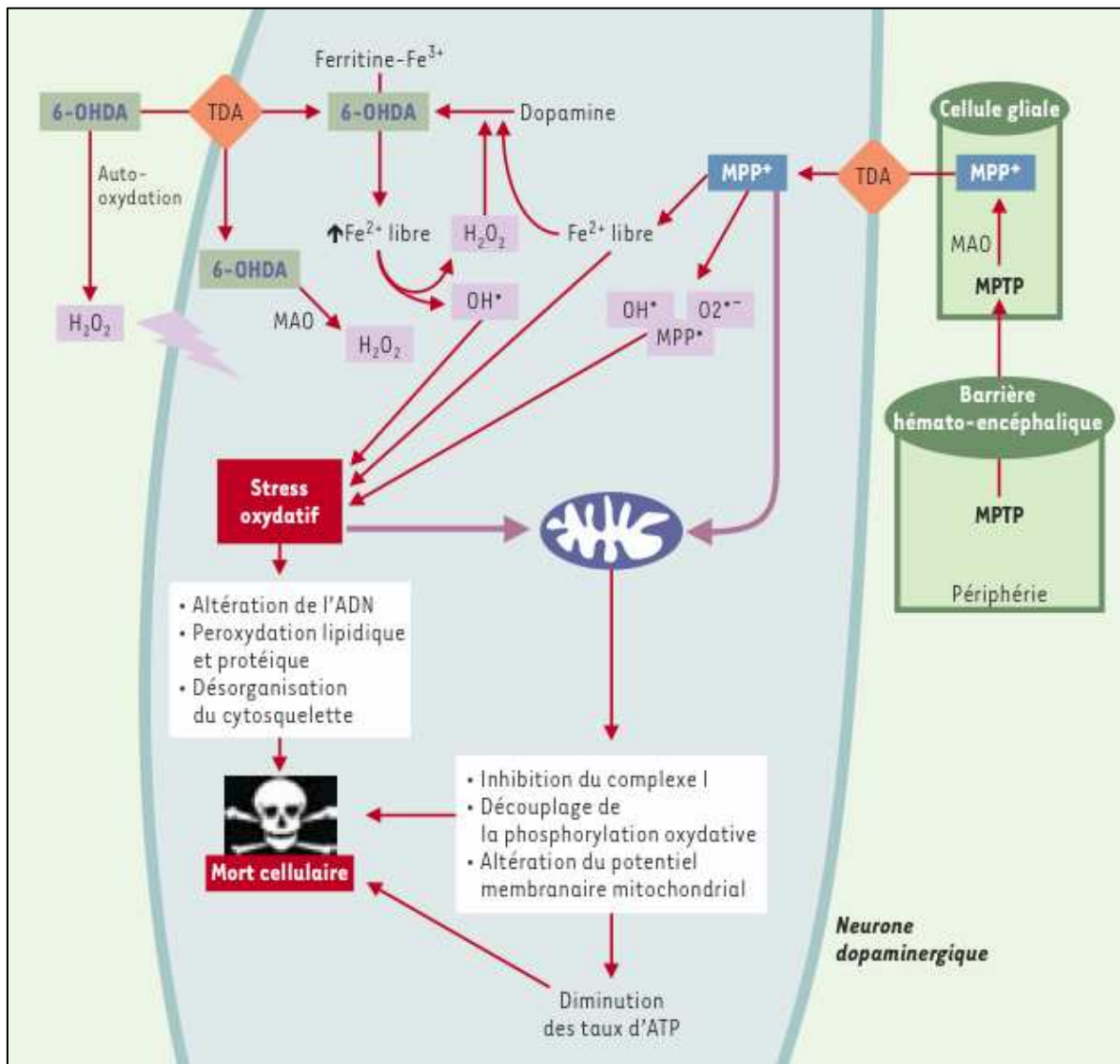
Les lésions 6-OHDA peuvent être unilatérales ou bilatérales, totales ou partielles, en fonction des besoins de l'expérimentateur et des questions posées. La toxine peut être injectée dans la SNc ou le striatum, engendrant des lésions antérogrades ou rétrogrades, respectivement. La plupart des études utilisent des animaux où la déplétion dopaminergique striatale est supérieure à 90 %. Un des avantages de cette approche est de réduire la variabilité des résultats par rapport à une lésion partielle. Les rats traités à la 6-OHDA présentent une certaine rigidité dans les membres controlatéraux à la lésion, adoptent une posture asymétrique et ont tendance à tourner spontanément du côté ipsilatéral à la lésion (Schwartz et Hutson, 1996a ; Johnson et al., 1999). Ce phénomène est très marqué les premiers jours suivant l'injection de l'agent neurotoxique, puis s'estompe progressivement, mais sans disparaître totalement chez les animaux porteurs d'une lésion sévère. La survenue de tremblements de type parkinsonien a été peu décrite chez le rat 6-OHDA. Néanmoins, une étude des paramètres électro-encéphalographiques et électro-myographiques chez les rats porteurs d'une lésion unilatérale totale a mis en évidence l'émergence de tremblements de la tête et du cou lorsque les animaux sont gardés en observation pendant plusieurs mois (Buonamici et al., 1986 ; Lindner et al., 1999). Ces troubles du mouvement n'apparaissant qu'au repos, ils ne sont pas observables lors des phases d'éveil actif lorsque le rat se déplace ou se toilette, et ne surviennent pas non plus lors des épisodes de sommeil lent ou de sommeil paradoxal.

D'un point de vue général, le modèle de rat 6-OHDA présente des avantages dus :

- à l'espèce utilisée : outre le fait que le rat soit un animal peu coûteux, facile à entretenir et présentant peu de variabilité inter-individuelle au sein d'une même souche (contrairement au singe), l'anatomie de son système méso-striatal dopaminergique (origine et structures cibles) est largement détaillée dans la littérature depuis les travaux princeps d'Anden en 1964 (voir pour revue Björklund et Lindvall, 1984),
- à la toxine utilisée, qui présente une bonne (quoique non exclusive) affinité pour le système dopaminergique,
- à la réalisation relativement aisée de la lésion qui, bien maîtrisée, permet d'obtenir des résultats reproductibles.

Le modèle de lésion 6-OHDA présente cependant des différences majeures par rapport à la dégénérescence observée dans la MP : d'une part, la lésion n'est pas progressive et déclenche subitement la mort des neurones dopaminergiques ; d'autre part, elle n'intervient qu'à un seul niveau, celui de la SNc, et les modifications comportementales observées chez l'animal lésé ne présentent quasiment aucun point commun avec la symptomatologie rencontrée chez le malade parkinsonien. Cependant, de nombreuses informations concernant les remaniements neurochimiques observés après interruption de la transmission dopaminergique nigro-striée, les moyens de suppléer à cette déficience dopaminergique (traitement pharmacologique, pompe, greffe), et plus particulièrement les effets correcteurs apportés par l'implantation de cellules mésencéphaliques embryonnaires, ont été tirées d'études ayant pour modèle animal le rat porteur d'une lésion 6-OHDA unilatérale totale de la voie nigro-striée. Quant aux lésions partielles, leur principal atout réside dans le fait qu'elles représentent un modèle de MP présymptomatique (Roedter et al., 2001). La situation lésionnelle observée dans ce type de lésion mime en effet assez bien la situation lésionnelle présente chez l'homme en début de maladie (avant l'apparition des signes cliniques, c'est-à-dire lors de la "phase de compensation"). Ce modèle représente donc un outil intéressant pour la compréhension des mécanismes mis en place aux niveaux pré- et post-synaptiques pour compenser la perte neuronale.

Au cours de ce travail doctoral, nous avons principalement utilisé le rat traité à la 6-OHDA, qui a servi à obtenir des lésions massives ou partielles de la SNc.



**Figure 4 : Mécanismes impliqués dans la toxicité de la 6-OHDA et du MPTP.**  
(D'après Lambeng et al., 2002).

## 2.3 Autres modèles

### 2.3.1 La réserpine

La réserpine est un neuroleptique pouvant provoquer des symptômes extra-pyramidaux similaires à ceux que l'on trouve dans la MP. Elle entraîne une déplétion en dopamine au niveau des neurones extra-pyramidaux, en vidant neurones et synapses de la dopamine qu'ils contiennent. Il s'agit donc d'un modèle d'inactivation fonctionnelle réversible du système dopaminergique dans les ganglions de la base. Ce modèle est particulièrement adapté aux études électrophysiologiques, car il engendre des signes de "parkinsonisme" sans entraîner la mort des neurones dopaminergiques (Betarbet et al., 2002).

### 2.3.2 *La roténone*

Le modèle "roténone" est un modèle plus récent, qui vise à étudier l'impact de toxines environnementales sur l'étiologie de la MP. Il est basé sur l'administration de roténone, un insecticide naturel dérivé des racines de certaines plantes tropicales (notamment *Derris elliptica*, *Lonchocarpus nicou* et *Tephrosia vogelii*) qui inhibe spécifiquement le complexe I mitochondrial, à l'instar du MPTP. Toutefois, à la différence de celui-ci, la roténone n'utilise pas les transporteurs dopaminergiques pour s'accumuler dans les neurones, et n'est donc pas sélective du système dopaminergique. La destruction des neurones dopaminergiques de la SNc est obtenue par infusion intraveineuse régulière de roténone via une pompe osmotique (Betarbet et al., 2000). Les animaux développent ainsi une lésion bilatérale progressive des neurones de la voie nigro-striatale, couplée à une diminution du signal de la tyrosine hydroxylase et du transporteur de la dopamine. Des inclusions cytoplasmiques dans les neurones dopaminergiques de la SNc, ressemblant aux corps de Lewy et réagissant avec des anticorps anti-ubiquitine et anti-alpha-synucléine, ont été observées. Du point de vue comportemental, les rats présentent une bradykinésie, une instabilité posturale ainsi que de légers tremblements. Ces déficits sont améliorés par la prise d'agonistes dopaminergiques (apomorphine) et de L-Dopa.

Toutefois, bien qu'il possède de nombreuses caractéristiques de la maladie humaine, ce modèle présente quelques inconvénients. Tout d'abord, il existe une grande variabilité inter-individuelle dans la réponse à la roténone. Ensuite, les lésions engendrées au niveau du striatum sont focales, et ne correspondent donc pas à la dénervation diffuse observée chez l'homme. Enfin, il semblerait se poser le problème de la reproductibilité du modèle, car peu d'équipes ont réussi à le reproduire en dehors des travaux de Betarbet et al. (2000). Ainsi, Ferrante et al. (1997) ont montré que la roténone engendrait des lésions du striatum et du globus pallidus sans toucher le système dopaminergique chez le rat Sprague-Dawley.

En conclusion, son manque de spécificité pour le système dopaminergique et le manque de reproductibilité du modèle ne font pas de la roténone un très bon outil pour l'étude expérimentale de la MP. Cependant, depuis peu, d'autres pesticides tel le paraquat, un herbicide qui présente une structure similaire à celle du MPP+, sont utilisés pour développer un meilleur modèle animal de la MP (voir pour revue Bove et al., 2005 ; Ossowska et al., 2005).



### 2.3.3 Les modèles génétiques

La découverte de mutations associées aux formes familiales de la MP a fourni l'opportunité de développer des modèles génétiques qui permettraient une nouvelle approche de la pathogénèse de cette maladie. Les principaux modèles utilisés reposent sur des manipulations (mutation, sur-expression ou knock-out) des gènes impliqués dans des formes familiales de la MP, comme le gène de l'alpha-synucléine, celui de la parkine, de DJ-1 et de Pitx3. Le rôle des produits de ces gènes a été brièvement exposé dans le paragraphe 1.2. Les espèces animales utilisées sont essentiellement la drosophile et la souris.

L'avantage de la drosophile repose sur la bonne connaissance de sa génétique, ce qui permet une caractérisation rapide d'inducteurs ou de suppresseurs de mutation. Feany et Bender ont créé en 2000 un modèle de drosophile transgénique exprimant à la fois une version sauvage et une version mutée du gène de l'alpha-synucléine. Ces mouches montraient une perte de neurones dorso-médians contenant de la tyrosine hydroxylase (TH), l'enzyme de synthèse de la dopamine, des inclusions neuronales marquées pour l'alpha-synucléine, et développaient des dysfonctionnements moteurs avec l'âge. Toutefois, ces problèmes moteurs n'ont pas pu être clairement reliés à des dysfonctionnements des neurones dopaminergiques.

Les souris knock-out (KO) pour le gène de l'alpha-synucléine ne présentent pas de phénotype particulier. D'une part, elles sont viables, fertiles, possèdent une structure cérébrale normale et ne présentent aucun déficit en neurones et terminaisons dopaminergiques (Abeliovich et al., 2000). D'autre part, les neurones dopaminergiques de ces souris KO semblent résistants aux effets du MPTP (Dauer et al., 2002). Ces résultats suggèrent qu'une perte de fonction de l'alpha-synucléine n'est pas la cause de la maladie, et pourrait même représenter une mutation engendrant un "gain de fonction". A l'inverse, la sur-expression du gène normal de l'alpha-synucléine (Masliah et al., 2000) entraîne l'apparition progressive d'inclusions cytoplasmiques et nucléaires immunoréactives pour l'alpha-synucléine, mais qui diffèrent des corps de Lewy. D'autre part, aucune perte de neurones dopaminergiques n'a été décelée, malgré une légère diminution de la densité des terminaisons dopaminergiques intra-striatales. De légers déficits moteurs ont été mesurés chez ces souris, mais leur réversibilité sous traitement dopaminergique n'a malheureusement pas été testée. En revanche, chez les souris sur-exprimant la version mutée de l'alpha-synucléine humaine, des inclusions semblables aux corps de Lewy ont été trouvées dans de nombreuses régions du cerveau, et s'accompagnent de déficits moteurs (Van der Putten et al., 2000 ; Matsuoka et al., 2001 ; Giasson et al., 2002 ; Lee et al., 2002 ; Steece-Collier et al., 2002). Ce modèle représente donc

un bon outil pour l'étude de l'étiologie de la MP, bien que les souris mutées ne présentent pratiquement pas de perte neuronale.

Des souris KO pour la parkine ont été obtenues à partir de la délétion de certains exons : l'exon 3 (Itier et al., 2003 ; Goldberg et al., 2003), l'exon 7 (Von Coelln et al., 2004) et l'exon 2 (Perez et Palmiter, 2005). La délétion de l'exon 3 entraîne une absence de la protéine parkine. Chez ces souris, il n'y a pas de perte manifeste de neurones immuno-positifs pour la TH dans la SNc ou de leurs projections dans le striatum. Cependant, on détecte une augmentation des taux de base de dopamine dans le striatum, une diminution de l'excitabilité des neurones de projection striataux, des désordres sensori-moteurs progressifs, ainsi qu'une certaine vulnérabilité au stress oxydatif (Goldberg et al., 2003 ; Perez et Palmiter, 2005). La délétion de l'exon 7 a pour conséquence une perte de fonction de la parkine (Von Coelln et al., 2004), sans qu'il y ait perte de neurones dopaminergiques nigro-striés, à l'instar de la délétion de l'exon 3. Toutefois, les souris "knock-out" (KO) pour l'exon 7 ne montrent pas tout à fait le même phénotype que celles KO pour l'exon 3. On remarque notamment une perte de neurones du locus coeruleus immunopositifs pour la TH, qui est une caractéristique de la MP (German et al., 1992). Enfin, la délétion de l'exon 2 entraîne également une perte de fonction de la parkine, sans perte neuronale dans la SNc, ni dans le locus coeruleus (Perez et Palmiter, 2005). Ces souris ne présentent pas non plus d'altérations au niveau des taux de catécholamines ou au niveau comportemental.

Tout comme chez les souris KO pour l'alpha-synucléine et la parkine, il n'y a pas de perte des neurones dopaminergiques nigro-striés chez les souris KO pour le gène DJ-1 (Goldberg et al., 2005 ; Kim et al., 2005). Toutefois ces animaux montrent une sensibilité exacerbée à l'effet du MPTP (Kim et al., 2005).

Les souris homozygotes KO pour le gène Nurr1 ne développent pas de neurones dopaminergiques dans la SNc, et meurent peu après la naissance (Zetterstrom et al., 1997). En revanche, les animaux KO hétérozygotes sont viables et normaux en ce qui concerne l'innervation dopaminergique nigro-striatale, mais ils manifestent une vulnérabilité aux neurotoxiques tels que le MPTP (Le et al., 1999). De récentes données montrent qu'avec l'âge apparaissent des désordres touchant les taux de dopamine striataux, les neurones dopaminergiques et l'activité locomotrice (Jiang et al., 2005).

Enfin, les souris déficientes pour le facteur de transcription Pitx3 (souris pitx3-aphakia) montrent une perte sélective des neurones dopaminergiques nigro-striés, ainsi qu'une réduction d'environ 90% des taux de dopamine striataux, sans atteinte des neurones de

l'ATV (Hwang et al., 2003). Des désordres sensorimoteurs accompagnent ce phénotype, mais peuvent être améliorés grâce à un traitement L-Dopa (Hwang et al., 2005).

Les animaux KO pour les gènes *Nurr1* et *Pitx3*-aphakia constituent des modèles très pertinents car ils présentent les caractéristiques de perte neuronale nigro-striée que ne possèdent pas les modèles précédents, et qui pourraient être associées à un stade avancé de la MP. Les modèles de KO pour l'alpha-synucléine, pour la parkine et DJ-1 peuvent néanmoins s'avérer très utiles pour l'étude des phénomènes intervenant durant la phase pré-symptomatique, voire débutante, de la maladie.

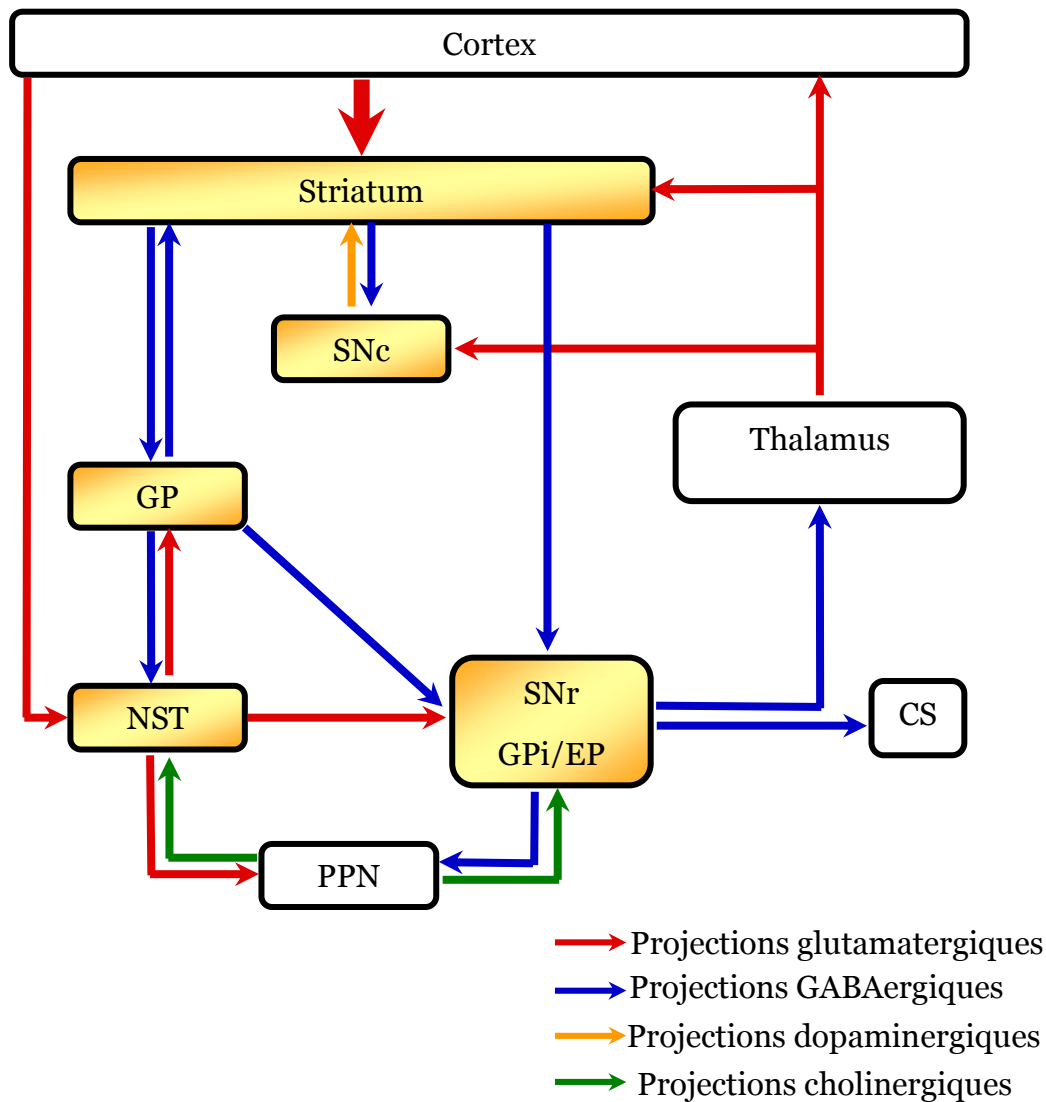
### **3- Les Ganglions de la Base**

#### **3.1 Généralités**

Les ganglions de la base, également dénommés noyaux gris centraux, sont des structures d'origine diencéphalique et mésencéphalique impliquées dans le contrôle du mouvement volontaire et de la posture, ainsi que dans différentes modalités non motrices, comme la modalité limbique. L'organisation générale de ces structures a été très fortement conservée durant l'évolution depuis la transition Anamniotes/Amniotes.

Ce réseau a été décrit comme étant une juxtaposition de cinq circuits parallèles : moteur, oculo-moteur, dorsolatéral préfrontal, latéral orbitofrontal et cingulaire antérieur (Alexander et al., 1986). Plus précisément, et selon de récentes études, les ganglions de la base apparaîtraient davantage comme acteurs dans la sélection du programme moteur adapté plutôt que dans l'élaboration de celui-ci (Mink, 1996). Partie intégrante d'une boucle fonctionnelle cortex-ganglions de la base-thalamus-cortex, les ganglions de la base intègrent les informations venant de l'ensemble du cortex, puis les ré-voient une fois traitées vers le cortex frontal via certaines structures mésencéphaliques et diencéphaliques internes ou externes aux ganglions de la base (Figure 5 page 21).

Dans un premier temps, nous présenterons une par une les différentes structures composant les ganglions de la base, puis nous exposerons les différents modèles d'organisation existant, des plus anciens aux plus récents.



**Figure 5 : Représentation schématique simplifiée du circuit des ganglions de la base.**

Les structures faisant partie des ganglions de la base sont signalées par les cadres jaunes. CM/Pf, complexe noyau centromédian-noyau parafasciculaire ; CS, colliculus supérieur ; GP, globus pallidus (segment externe) ; GPi/EP, globus pallidus interne/noyau entopédonculaire ; NST, noyau subthalamique ; PPN, noyau pédonculopontin ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus ; VL, noyau latéro-ventral du thalamus ; VM, noyau ventro-médian du thalamus.

## 3.2 Les structures des ganglions de la base

### 3.2.1 Le striatum

Le striatum est considéré comme étant la structure d'entrée principale des ganglions de la base, et reçoit des afférences massives issues de l'ensemble du cortex cérébral. Situé dans la partie antérieure du diencephale à la face ventrale du corps calleux, il est composé de trois

parties ou territoires striataux : le noyau caudé, le putamen et le noyau accumbens. Chez les primates, le noyau caudé et le putamen sont séparés par une cloison dans laquelle le réseau corticofugal fusionne avec la capsule interne. Chez le rat, et de manière plus générale chez les rongeurs, les fibres corticofugales sont dispersées, faisant disparaître la séparation entre ces deux noyaux. L'association anatomique noyau caudé-putamen constitue le striatum dorsal, tandis que le noyau accumbens associé de manière fréquente aux tubercules olfactifs forme la partie ventrale du striatum.

### 3.2.1.1 Anatomie du striatum

Structure des ganglions de la base recevant le plus d'afférences, le striatum est riche en neurones, répartis en deux compartiments anatomiques distincts.

#### *Les compartiments striataux*

Le striatum est formé de deux compartiments distincts : les striosomes et la matrice, distincts par leur contenu neurochimique. Les striosomes ou "îlots" représentent des régions bien individualisées, riches en récepteurs morphiniques de type *mu* (Coyle et Pert, 1976). Ces îlots sont englobés par la matrice occupant plus de 85 % de la surface du striatum, et caractérisée par une forte activité en acétylcholinestérase (Figure 6 page 25) (Gerfen, 1984, 1985 ; Gerfen et Wilson, 1996). La plupart des autres marqueurs striataux (par exemple : le neuropeptide Y, la substance P, la dynorphine, la calbindine 28K, etc...) se retrouvent à la fois dans les striosomes et dans la matrice, avec toutefois une localisation préférentielle dans l'un ou l'autre des compartiments (voir pour revue Graybiel et Ragsdale, 1983 ; Graybiel 1990).

Cette compartimentation neurochimique est aussi étroitement liée à la topographie des afférences et des efférences striatales (Graybiel et Ragsdale, 1978 ; Herkenham et Pert, 1981 ; Divac, 1983 ; Gerfen, 1984, 1989, 1992 ; Gerfen et al., 1985, 1987 ; Gerfen et Young, 1988). La matrice reçoit d'une part des afférences dopaminergiques provenant de la partie dorsale de la SNc, de l'ATV et du noyau rétro-rubral, et d'autre part des afférences corticales sensimotrices et cingulaires. Les striosomes quant à eux reçoivent des afférences dopaminergiques de la SNc ventrale, des îlots dopaminergiques de la substance noire réticulée (SNr) et des cortex limbique et pré-limbique. Pour ce qui est des projections efférentes, la matrice envoie des fibres préférentiellement dans la SNr et le globus pallidus interne (GPi) (noyau entopédonculaire (EP) chez le rat), tandis que les striosomes se projettent dans la SNc (Jimenez-Castellanos et Graybiel, 1987). Ces projections striosomes-SNc sont d'ailleurs

considérées comme une boucle de retour assurant une régulation de la voie dopaminergique nigro-striée (Domesick, 1981).

### *Les neurones striataux (Tableau 2 page 25)*

Le striatum est composé de plusieurs populations neuronales se différenciant essentiellement par des critères morphologiques (taille du soma et aspect des prolongements neuritiques), ainsi que par les neurotransmetteurs qu'ils expriment (GABA, somatostatine, acétylcholine, neuropeptide Y, enképhaline...). Globalement, on distingue des neurones à corps cellulaire de taille moyenne (10 à 20  $\mu\text{m}$  de diamètre) qui représentent plus de 95 % des neurones striataux, et des neurones à gros corps cellulaire (20-60  $\mu\text{m}$  de diamètre), qui représentent seulement 2 à 3% de la population neuronale (voir pour revue Kawaguchi, 1997).

Au sein de la population de neurones à corps cellulaire de taille moyenne, on distingue les cellules portant des épines dendritiques et appelées plus communément "medium spiny neurons" ou encore "spiny neurons" de type I, qui sont les **neurones de projection du striatum** (DiFiglia et al., 1976 ; Wilson et Groves, 1980 ; Bishop et al., 1982 ; Chang et Kitai, 1982). Leur soma est de forme ovoïde ou polygonale et donne naissance à une arborisation locale importante (nombreuses collatérales intrinsèques), ainsi qu'à environ 7 à 10 troncs dendritiques primaires abondamment fournis en épines (Kemp et Powell, 1971 ; Bolam et al., 1983). L'arbre dendritique de l'une de ces cellules peut atteindre en moyenne 200  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ces neurones reçoivent des afférences corticales massives (Somogyi et al., 1981), bien que ces contacts ne soient pas exclusifs, et sont à l'origine des deux grandes voies issues du striatum et projetant soit vers le globus pallidus externe (GPe), soit vers la SNr et le globus GPi (Loopuijt et Van der Kooy, 1985 ; Beckstead et Cruz, 1986 ; Gerfen et Young, 1988 ; Kawaguchi et al., 1990). De nature GABAergique, ces neurones co-expriment, selon le territoire sur lequel ils se projettent, de l'enképhaline (neurones striato-pallidaux) ou de la dynorphine et de la substance P (neurones projetant sur la SNr et le GPi) (Haber et Watson, 1983 ; Beckstead et Kersey, 1985 ; Gerfen et Young, 1988). Les connexions qu'établissent ces neurones jouent un rôle déterminant dans l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base (Figure 7 page 25).

Parmi les neurones de taille moyenne, une faible proportion (<3 %) ne porte pas ou peu d'épines dendritiques (respectivement "aspiny neurons" de type I et III, et "spiny neurons" de type II) et constituent une **population interneuronale du striatum** (DiFiglia et al., 1976 ; Bishop et al., 1982). Certains interneurones sont de nature peptidergique et utilisent comme transmetteurs le neuropeptide Y et la somatostatine, tandis que d'autres sont essentiellement

GABAergiques et contiennent de la parvalbumine (Kita, 1993 ; Kubota et Kawaguchi, 1993 ; Kubota et al., 1993). Ces interneurons reçoivent également des contacts de type symétrique établis par des afférences dopaminergiques au niveau de leur soma et de leurs troncs dendritiques proximaux (Lehmann et Langer, 1983 ; Kubota et al., 1986a ; Kubota et al., 1986b ; Kubota et al., 1987a ; Kubota et al., 1987b ; Vuillet et al., 1989 ; Ovtcharoff, 1992). De plus, sur un type défini de neurone striatal efférent, la position des terminaisons dopaminergiques nigro-striées (cou des épines/tronc dendritique) joue un rôle stratégique pour réguler les entrées corticales et thalamiques situées à un niveau plus distal de l'arborisation dendritique (tête des épines) de ce même neurone. De ce fait, les afférences dopaminergiques nigro-striées peuvent influencer directement sur une large variété de neurones striataux.

Enfin, les neurones à gros corps cellulaire sont dépourvus d'épines dendritiques et correspondent à des interneurons de nature cholinergique (Lehman et Langer, 1983 ; Bolam et al., 1984 ; Yelnik et al., 1991 ; Kawaguchi et Kubota, 1993). Ils présentent un soma oblong, duquel partent des branches dendritiques relativement longues (250-400  $\mu\text{m}$ , voire plus selon les auteurs). Le champ dendritique ainsi formé pourrait couvrir une aire de plus d'un  $\text{mm}^2$  sans aucun axe d'orientation particulier.

Récemment, un autre type de **neurones striataux exprimant la TH et/ou la décarboxylase des acides aminés aromatiques** (enzyme qui convertit la L-Dopa en dopamine) a été caractérisé chez le rongeur (Tashiro, 1989a, 1989b ; Mura et al., 1995, 2000 ; Meredith et al., 1999 ; Baker et al., 2003), le singe (Ikemoto et al., 1996 ; Betarbet et al., 1997 ; Betarbet et Greenamyre, 1999 ; Smith et Kieval, 2000) et l'homme (Ikemoto et al., 1997 ; Cossette et al., 1999, 2003, 2004, 2005a). Plus précisément, les travaux de Cossette et al. (2003, 2005a) ont révélé l'existence de quatre types de neurones striataux positifs pour l'immuno-marquage de la TH :

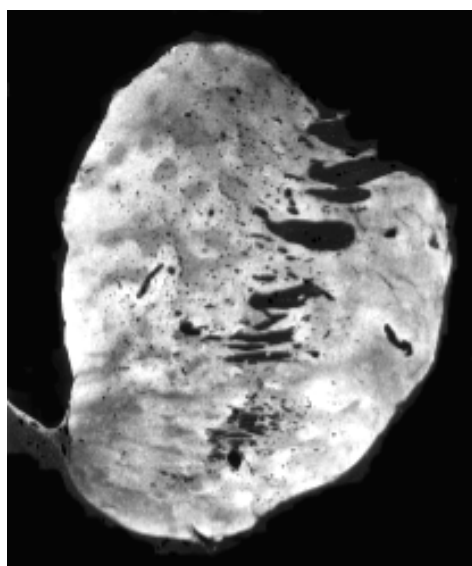
1) des neurones de taille moyenne ( $\approx 200 \mu\text{m}^2$ ), qui constituent la majeure part des neurones à TH (58%) ;

2) des neurones à corps cellulaire plus petit ( $\approx 140 \mu\text{m}^2$ ), qui représentent 35% des neurones à TH ;

3) des neurones à gros corps cellulaire (200-600  $\mu\text{m}^2$ ), qui possèdent des épines dendritiques et représentent environ 6,5% de ces neurones à TH ;

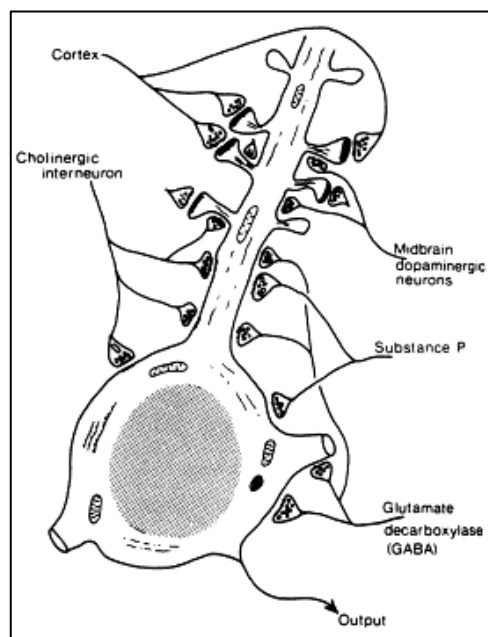
4) des cellules positives pour la TH qui possèdent une morphologie mixte neurone/cellule gliale. De plus, il semblerait que ces neurones soient pour la plupart des neurones matures (70%), qui tous exprimeraient l'isoforme 65000 Daltons de la glutamate

décarboxylase, l'enzyme de synthèse du GABA, et dont 30% exprimeraient également de la calrétinine (Cossette et al., 2005b).



**Figure 6 : Coupe coronale de cerveau humain réalisée au niveau striatal et traitée par marquage de l'enzyme acétylcholinestérase .**

Les striosomes, contenant peu d'acétylcholinestérase, sont faiblement marqués (zones plus claires), tandis que la matrice extra-striosomale riche en acétylcholinestérase apparaît plus sombre (zones gris foncé).



**Figure 7 : Principales afférences des neurones de projection striataux. (D'après Smith et Bolam, 1990a).**

Type de neurones	Structure-cible	Neurotransmetteur	Phénotype (molécules co-exprimées)
<i>Neurones de projection</i>			
medium spiny	GPe	GABA	Enkephaline, calbindine*
medium spiny	GPi/SNr	GABA	Substance P, calbindine*
medium spiny	SNc	GABA	Substance P
<i>Interneurones</i>			
large aspiny		ACh	
medium aspiny		GABA	
medium aspiny		GABA	NADPHd, NOS, somatostatine, neuropeptide Y, calbindine <sup>§</sup>
medium aspiny		GABA	Parvalbumine
small aspiny		GABA	Calretinine

**Tableau 2 : Récapitulatif non exhaustif des principaux types de neurones de projection et interneurones du striatum (D'après Alexi et al., 2000).**

\* et <sup>§</sup> : respectivement 75% et 20% de ces cellules contiennent de la calbindine. ACh : acétylcholine ; GPe, globus pallidus externe ; GPi, globus pallidus interne ; NADPHd, nicotinamide adénine diphosphate diaphorase ; NOS, nitric oxide synthase ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée.



### 3.2.1.2 Afférences striatales

Les structures projetant des fibres sur le striatum sont principalement issues de territoires dopaminergiques mésencéphaliques (A8, A9 et A10), du cortex et du thalamus (Figure 8A page 29).

#### **Afférences mésencéphaliques**

Les projections issues du mésencéphale, essentiellement de nature dopaminergique, ont été identifiées grâce aux techniques d'histofluorescence qui ont permis de différencier trois ensembles de corps cellulaires dopaminergiques dans le mésencéphale de rat :

- Le groupe A8, correspondant à l'extension postéro-latérale de la SNc,
- Le groupe A9, correspondant à la SNc,
- Le groupe A10, correspondant à l'ATV.

Deux systèmes de projection ascendants ayant leur origine parmi l'un ou l'autre de ces groupes ont été mis en évidence : le système méso-striatal et le système méso-cortico- limbique (Björklund et Lindvall, 1984 ; pour revue, Smith et Kieval, 2000).

Le **système méso-striatal** regroupe d'une part les projections de la SNc sur la région dorsale du striatum (avec quelques projections minoritaires provenant de la SNr, de la région latérale de l'ATV et du noyau rétro-rubral) constituant le système nigro-strié (Faull et Carman, 1968), et d'autre part les projections de l'ATV sur la région ventrale du striatum. Les corps cellulaires à l'origine du système nigro-strié, regroupés dans une région cérébrale restreinte, donnent naissance à des axones fins, non myélinisés, munis de varicosités régulièrement espacées et dont les nombreuses ramifications vont permettre l'innervation d'un large territoire au niveau striatal. Cette innervation divergente est organisée selon une topologie précise : les fibres issues de la région médiane de la SNc innervent la partie médiane du striatum tandis que celles partant de la partie antérieure de la SNc se projettent dans le striatum postérieur (Faull et Mehler, 1978). Les terminaisons issues des neurones dopaminergiques mésencéphaliques établissent des contacts synaptiques symétriques de type "en passant" (Freund, 1984 ; Kubota et al., 1987a) au niveau du cou des épines dendritiques, des troncs dendritiques proximaux et parfois même des corps cellulaires de ces neurones. Ceci a pu être identifié au niveau ultra-structural et immunohistochimique notamment en utilisant un marqueur de l'enzyme de synthèse de la dopamine, la TH (Arлуison et al., 1984 ; Bouyer et al., 1984 ; Freund et al., 1984 ; Voorn et al., 1986). Ces neurones appartiendraient d'ailleurs aussi bien à la voie efférente striato-nigrale (Kubota et al., 1986a) que striato-pallidale (Kubota et al., 1986b) que nous décrirons plus loin.

Le **système méso-cortico-limbique** comprend le **système méso-limbique**, dont les projections issues de l'ATV innervent le noyau accumbens, le septum et l'amygdale (Anden et al., 1966 ; Ungerstedt, 1971b), et le **système méso-cortical** issu de l'ATV et de la partie la plus médiane de la SNc, et dont les projections arrivent au niveau du septum, de l'amygdale, des cortex piriforme, cingulaire et entorhinal (Thierry et al., 1973 ; Faull et al., 1974).

Un troisième type de projection, cette fois de nature non dopaminergique, a été mis en évidence par les travaux de Rodríguez et González-Hernández (1999). Ces cellules seraient GABAergiques, et possèderaient des caractéristiques électrophysiologiques existant dans d'autres cellules GABAergiques nigrales se projetant sur le thalamus. En outre, leur pattern électrophysiologique deviendrait similaire à celui des neurones dopaminergiques suite à une lésion dopaminergique.

### **Afférences corticales**

Les projections cortico-striatales représentent la majeure partie des afférences du striatum. Elles sont de nature glutamatergique (Divac et al., 1977) et proviennent quasiment de toutes les régions du cortex (principalement cortex moteur, somatosensoriel, préfrontal et visuel). Elles innervent l'ensemble du striatum de manière redondante (aucune région striatale n'est reliée à une seule aire corticale) mais selon une somatotopie bien précise (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) mais aussi du bulbe olfactif directement ou via le cortex olfactif (Luskin et Price, 1983). L'organisation topographique des projections cortico-striatales respecte donc une régionalisation fonctionnelle. Concrètement, ces projections forment des synapses de type asymétrique sur la tête des épines dendritiques des neurones de projection striataux (Kemp et Powell, 1971 ; Albin et al., 1989 ; Reiner et Anderson, 1990 ; Gerfen, 1992).

Une étude récente de Lei et al. (2004) suggère que les neurones de projection striato-nigraux et striato-pallidaux recevraient des afférences issues de deux populations neuronales corticales distinctes. En effet, deux types de neurones cortico-striataux ont été différenciés au cours des vingt dernières années :

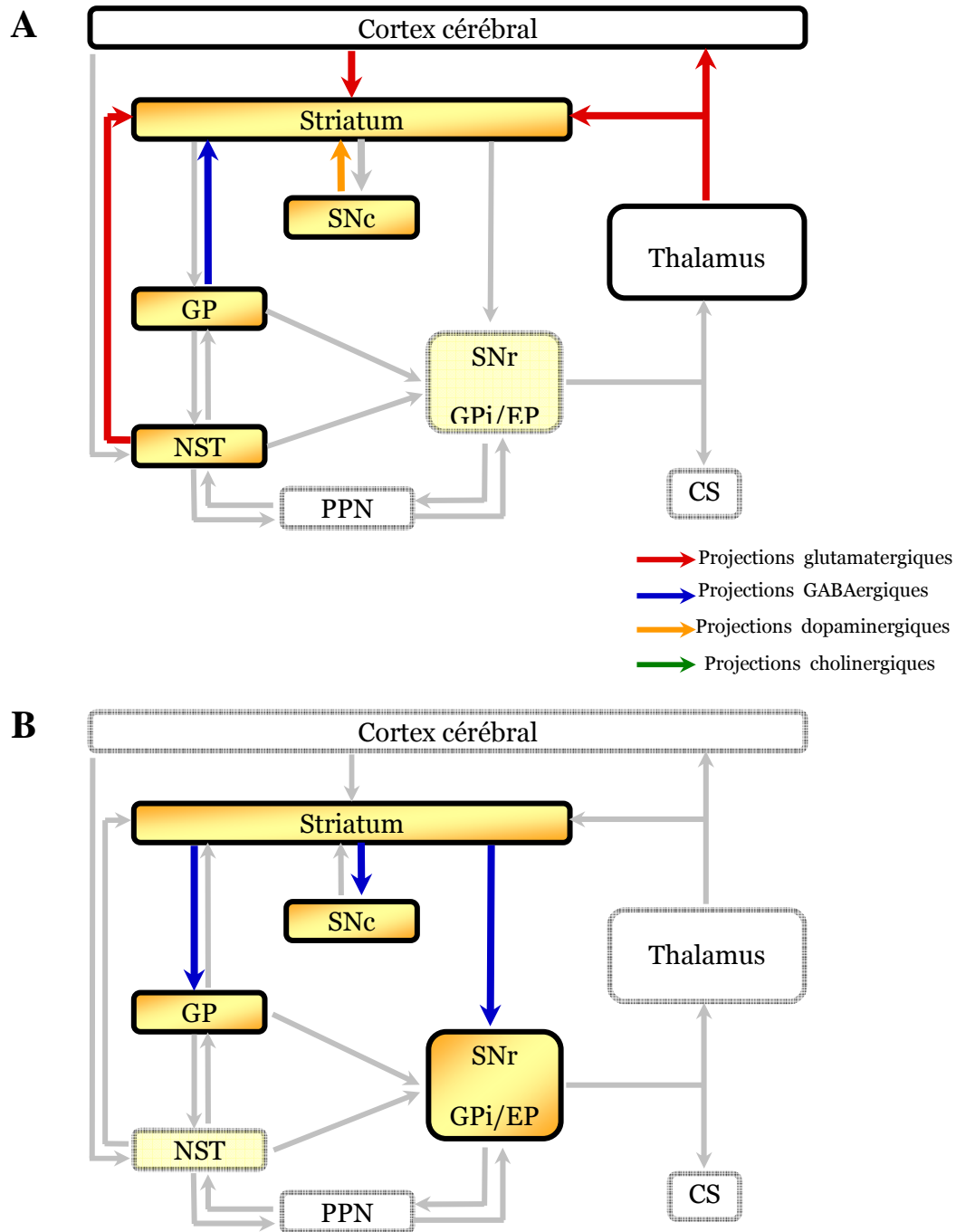
des neurones corticaux efférents qui se projettent sur le tractus pyramidal et qui créent des connexions via des collatérales axonales lors de leur passage dans le striatum (Wilson, 1987 ;

Cowan et Wilson, 1994 ; Lévesque et al., 1996a, 1996b; Lévesque et Parent, 1998 ; Reiner et al., 2003) des neurones intra-télecéphaliques, qui envoient des projections dans le striatum et d'autres régions corticales sans quitter le télecéphale (Landry et al., 1984 ; Wilson, 1987 ; Cowan et Wilson, 1994 ; Lévesque et al., 1996a, 1996b ; Lévesque et Parent, 1998 ; Wright et al., 1999, 2001 ; Reiner et al., 2003).

Selon les résultats de Lei et al. (2004), les neurones de projection striato-nigraux recevraient des afférences des neurones intra-télecéphaliques préférentiellement, tandis que les neurones striato-pallidiaux seraient la cible privilégiée des projections issues des neurones cortico-pyramidaux. Cette connectivité corticale différentielle pourrait appuyer le rôle des voies directe et indirecte, respectivement en favorisant les mouvements volontaires et en réprimant les mouvements involontaires.

### **Afférences thalamiques**

Les projections thalamo-striatales proviennent des noyaux intralaminaires caudaux du thalamus, et plus particulièrement du complexe centromédian-parafasciculaire (Deschenes et al., 1996 ; pour revue, Smith et al., 2004) chez le primate. Chez le rongeur, ce complexe n'est pas clairement délimité, et la partie latérale du noyau parafasciculaire est considéré comme étant l'homologue du noyau centromédian du primate, tandis que la partie médiane du parafasciculaire montre de fortes similarités avec le noyau parafasciculaire proprement dit du primate (Groenewegen et Berendse, 1994 ; Van der Werf et al., 2002). Le complexe centromédian-parafasciculaire (ou son équivalent chez le rongeur) se divise en cinq compartiments principaux qui, de par leurs projections, assurent une innervation de l'ensemble des régions striatales (Sadikot et al., 1992 ; Sidibe et al., 2002). De nature glutamatergique, ces afférences thalamiques représentent des entrées striatales similaires aux afférences corticales du fait de leurs contacts asymétriques et de leur forte modulation excitatrice sur les neurones à épines du striatum (Kemp et Powell, 1971). Elles sont organisées topographiquement selon les axes antéro-postérieur et médio-latéral (Van der Kooy, 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). En effet, les projections issues des noyaux intralaminaires caudaux du thalamus forment des synapses préférentiellement avec les neurones de projection striataux de la voie dite "directe", tandis que les neurones cortico-striataux se projettent de préférence sur les neurones striataux pallidiaux de la voie "indirecte" (Sidibe et Smith, 1996 ; Berretta et al., 1997 ; Parthasarathy et Graybiel, 1997).



**Figure 8 : Représentation schématique des principales projections afférentes (A) et efférentes (B) du striatum.**

CM/Pf : complexe noyau centromédian/noyau parafasciculaire ; CS : colliculus supérieur ; GP : globus pallidus (segment externe) ; GPi/EP : globus pallidus interne/noyau entopédonculaire ; NST : noyau subthalamique ; PPN : noyau pédonculo-pontin ; SNe : substance noire compacte ; SNr : substance noire réticulée ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus ; VL, noyau latéro-ventral du thalamus ; VM, noyau ventro-médian du thalamus.

De plus, les connexions synaptiques des deux types de projection ne se font pas exactement au même endroit : les projections thalamo-striatales visent principalement les dendrites des neurones de projection striataux, tandis que les projections cortico-striatales visent les épines (Smith et Bolam, 1990a ; Sadikot et al., 1992 ; Smith et al., 1994a ; Sidibe et Smith, 1996). Enfin, contrairement aux projections cortico-striatales, les projections thalamo-striatales ne montrent aucune connexion synaptique avec les afférences dopaminergiques sur les neurones de projection striataux (Smith et Bolam, 1990a ; Smith et al., 1994a).

La SNc, le cortex et le thalamus constituent donc l'origine des trois principales voies afférentes striatales. Cependant d'autres projections innervant le striatum et provenant notamment du globus pallidus, du noyau basolatéral de l'amygdale, du noyau sous-thalamique (NST) (Beckstead, 1983a ; Kita et Kitai, 1987), du noyau dorsal du raphé (Van der Kooy et Hattori, 1980a), de la formation réticulée et du noyau pédonculopontin (PPN) ont été également mises en évidence (Nauta et Cole, 1978 ; Veening et al., 1980 ; Mori et al., 1985 ; Parent, 1990).

### 3.2.1.3 Efférences striatales

Le striatum projette des fibres efférentes GABAergiques principalement vers le globus pallidus et la SNr via deux voies (Figure 8B page 29):

- **La voie striato-pallidale** est formée d'un contingent de fibres GABAergique denses issues des neurones striataux à épines de taille moyenne (Jessell et al., 1978) et se projetant sur les segments externe (GPe) et interne (GPi) du globus pallidus. Toutefois, cette innervation se caractérise par le fait que le GPe reçoit du striatum une afférence dans laquelle le GABA co-localise avec des enképhalines (Cuello et Paxinos, 1978 ; Del Fiacco et al., 1982), tandis que le GPi est innervé par des fibres striatales contenant du GABA associé à de la substance P et/ou de la dynorphine.

- **La voie striato-nigrale**, qui se projette dans la SNr, présente une organisation topographique remarquable. En effet, chaque région striatale projette sur toute la longueur de la SNr tout en respectant les relations topographiques dans le sens médiolatéral mais les inversant dans le sens dorsoventral (Deniau et al., 1996). Ce faisceau de projection présente une organisation topographique complexe selon une répartition lamellaire dite en "peau d'oignon" (Deniau et al., 1996). Les neurones à l'origine de cette voie sont de nature GABAergique (Jessell et al., 1978) mais pas exclusivement puisqu'une co-localisation avec des peptides de type substance P et dynorphine (Kanazawa et al., 1977) a également été décelée. Certains neurones situés dans la partie caudale du striatum se projettent de manière

mixte sur la SNr et la SNc (Jessel et al., 1978). Ces projections sont également de nature GABAergique et coexpriment la substance P (Bolam et Smith, 1990).

Il semble aujourd'hui que l'indépendance anatomique de ces deux voies soit controversée, et que des collatérales relient ces deux voies (Aizman et al., 2000 ; Wu et al., 2000).

### **3.2.2 *Le globus pallidus***

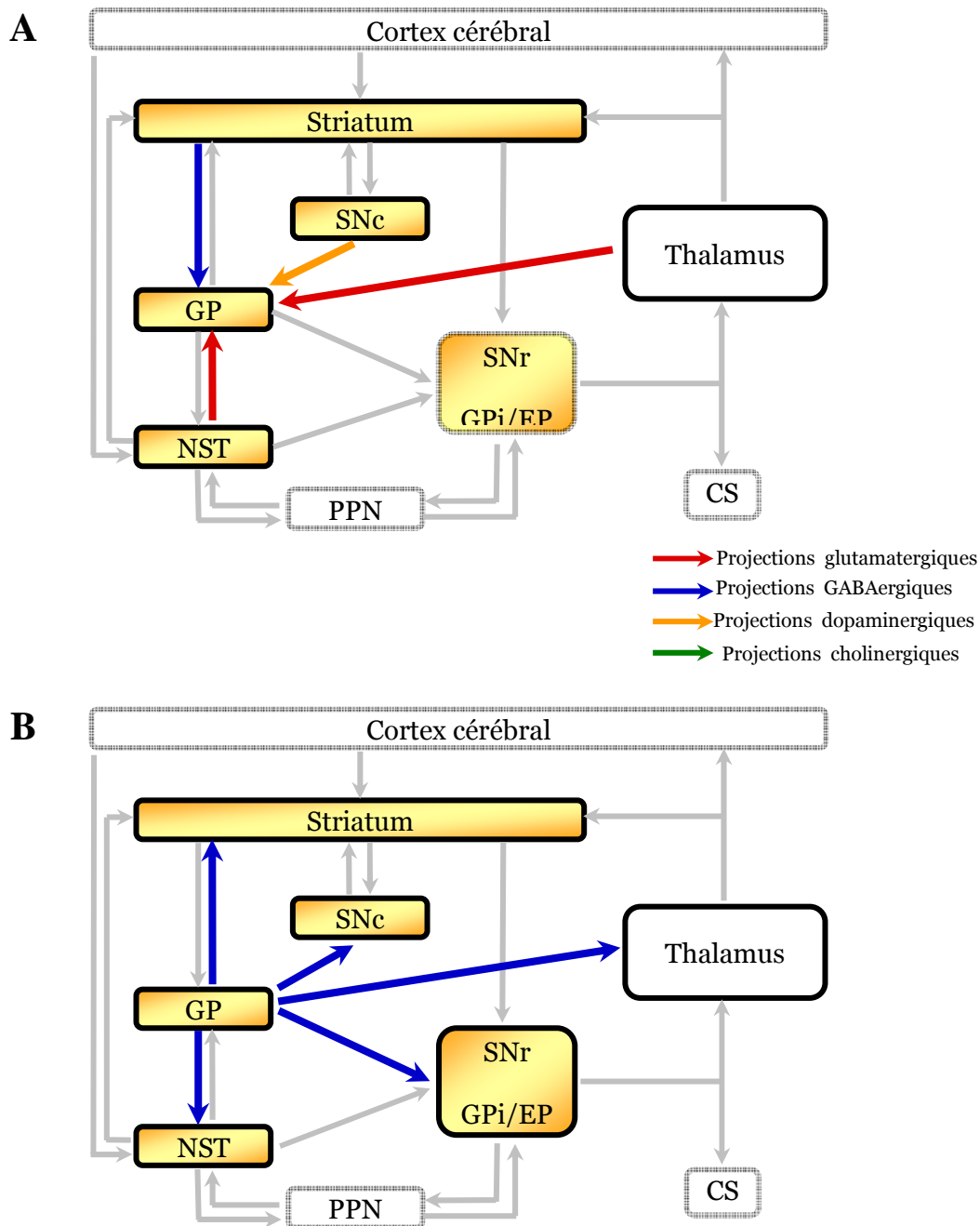
#### **3.2.2.1 Anatomie du globus pallidus**

Structure diencephalique située à la face ventro-médiane de la partie caudale du striatum, le GP est constitué d'un segment latéral externe et d'un segment médian interne. Chez l'homme et le singe, les deux segments étant séparés par la lame médullaire interne, on les désigne sous les termes de globus pallidus externe (GPe) et globus pallidus interne (GPi). Chez le rat, le segment interne, noyé dans la capsule interne et les pédoncules cérébraux, porte le nom de noyau entopédunculaire (EP), le terme globus pallidus (GP) désignant alors uniquement le segment externe.

Les neurones pallidiaux sont principalement de nature GABAergique. Ils s'individualisent en deux populations neuronales se différenciant par la présence ou non d'épines dendritiques (Difiglia et Rafols, 1988 ; Kita et Kitai, 1994). Les neurones ne portant pas d'épines présentent un soma relativement volumineux d'où émergent 3 à 5 dendrites émettant des segments secondaires, voire tertiaires avec quelques varicosités au niveau dendritique. Les neurones portant des épines ont un corps cellulaire de plus petite taille, cependant, la taille et la diffusion du champ dendritique apparaît similaire quel que soit le type de cellule. Les neurones pallidiaux sont de taille très variable, de 80 à 350 µm (Kita et Kitai, 1994) et utilisent comme neurotransmetteur le GABA (Oertel et al., 1984 ; Smith et al., 1987 ; Pasik et al., 1988), ce dernier pouvant être associé avec la parvalbumine (Kita, 1994) dans plus de 60% des neurones. L'existence d'une petite population de neurones cholinergiques a également été décrite (Fibiger, 1982 ; Grove et al., 1986).

#### **3.2.2.2 Afférences pallidales (Figure 9A page suivante)**

Les neurones du GP reçoivent des projections inhibitrices (Park et al., 1982) en provenance du striatum (Chang et Michaelis, 1981 ; Hedreen et DeLong, 1991 ; Wilson et Phelan, 1982), qui représentent en proportion près de 80 % des afférences pallidales. Ces projections forment une arborisation diffuse établissant des synapses symétriques avec les neurones pallidiaux sur toute la longueur de leurs dendrites (Difiglia et al., 1982 ; Park et al., 1982 ; Parent et Hazrati, 1995a ; Parent et Hazrati, 1995b ; Smith et al., 1998).



**Figure 9 : Représentation schématique des principales projections afférentes (A) et efférentes (B) du globus pallidus.**

CM/Pf, complexe noyau centromédian du thalamus-noyau parafasciculaire ; CS, colliculus supérieur ; GP, globus pallidus (segment externe) ; GPi/EP, globus pallidus interne/noyau entopédonculaire ; NST, noyau sous-thalamique ; PPN, noyau pédonculo-pontin ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus ; VL, noyau latéro-ventral du thalamus ; VM, noyau ventro-médian du thalamus.

Le globus pallidus reçoit aussi des afférences excitatrices glutamatergiques, provenant du NST (Kita et Kitai, 1987). Ces projections forment des synapses asymétriques avec les neurones pallidaux (Kita et Kitai, 1987 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980b ; Robledo et Féger, 1990), ainsi qu'avec les afférences thalamiques issues du complexe centromédian-parafasciculaire (Deschênes et al., 1996 ; Mouroux et al., 1997 ; Yasukawa et al., 2004). Ces projections thalamo-pallidales proviennent principalement de collatérales d'axones thalamo-striataux issues du noyau parafasciculaire (Deschênes et al., 1996 ; Yasukawa et al., 2004). Des afférences dopaminergiques provenant de la SNc ont également été décrites, que ce soit chez le rat, le singe ou l'homme (Gauthier et al., 1999 ; Jan et al., 2000 ; Prensa et al., 2000).

### 3.2.2.3 Efférences pallidales (Figure 9B page 32)

Un double marquage rétrograde a permis de mettre en évidence que les axones des neurones du GPe/GP se projettent sur les neurones de la SNr et du GPi/EP à la fois chez le singe et le rat (Haber et al., 1985 ; Schmued et al., 1989 ; Hazrati et al., 1990 ; Smith et Bolam, 1989, 1990b, 1991 ; Féger et Robledo, 1991 ; Bolam et Smith, 1992 ; Kita et Kitai, 1994 ; Smith et al., 1994b ; Shink et al., 1996). Des études ultrastructurales ont permis de préciser que ces projections pallidales établissaient 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 al., 1990).

Parallèlement à ces projections, les neurones pallidaux sont connectés par le biais de collatérales d'axones avec le NST, sur l'ensemble duquel ils établissent des contacts synaptiques (Kita et al., 1983a ; Smith et Bolam, 1990b ; Kita et Kitai, 1994). Ces projections pallido-sous-thalamiques respectent une topographie médio-latérale et rostro-caudale (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 ventro-médiane et dorso-médiane du tiers médian du NST (Parent et Hazrati, 1995a ; Smith et al., 1998). Des études conduites par Groenewegen et Berendse (1990) ont révélé via l'utilisation combinée d'un marqueur rétrograde (le fluorogold) et d'un traceur antérograde (PHA-L) la réciprocité de ces projections pallido-sous-thalamiques. Le GPe/GP aurait également un rôle modulateur sur les autres afférences du NST, et plus particulièrement sur celles en provenance du cortex (Fujimoto et Kita, 1993). L'activité des neurones pallidaux influence donc fortement l'activité des neurones du NST (Ryan et al., 1992), toutefois cette influence n'est pas exclusive (Hassani et al., 1996).



Il existe également des projections réciproques du GPe/GP vers le striatum (Beckstead, 1983a; Staines et al., 1981) et le noyau réticulaire du thalamus (Haber et al., 1985 ; Mogenson et al., 1987 ; Smith et al., 1998). La projection pallido-striatale doit être considérée comme une voie d'entrée striatale non négligeable sur les plans anatomique et fonctionnel car d'une part elle implique un nombre important de neurones pallidaux (Kita et Kita, 2001), et d'autre part chaque neurone du GPe/GP se projetant sur la SNr envoie une collatérale vers le striatum (Staines et Fibiger, 1984).

### ***3.2.3 Le noyau sous-thalamique***

Le NST, également dénommé corps de Luys, est un petit noyau fortement vascularisé qui contient 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. Il est "encapsulé" par de nombreuses fibres myélinisées qui l'isolent de la plupart des autres structures. Les méthodes récentes de traçage ont permis de mettre en évidence que le NST était plus qu'un simple 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 (Levy et al., 1997 ; Yasoshima et al., 2005).

#### **3.2.3.1 Anatomie du noyau sous-thalamique**

La grande majorité des neurones présents dans le NST forme une population homogène de neurones de projection de nature glutamatergique (Nakanishi et al., 1987 ; Robledo et Féger, 1990). D'un point de vue morphologique, ces neurones sous-thalamiques ne présentent pas de différence au niveau des dimensions de leur soma et de leurs ramifications dendritiques (Kita et al., 1983b ; Yelnik et Percheron, 1979). Le corps cellulaire, de taille moyenne, peut mesurer de 11 à 18  $\mu\text{m}$  (Kita et Kitai, 1987 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980b), et le champ dendritique se répartit dans le plan frontal et sagittal selon une forme ovoïde, plus allongée selon l'axe rostro-caudal (Kita et al., 1983a). Ces neurones possèdent généralement 3 à 4 dendrites primaires qui se segmentent en dendrites secondaires ou tertiaires. Ces dendrites présentent quelquefois des épines, situées dans leur partie la plus distale.

Cependant, de récentes expériences de marquage cellulaire dans le NST ont remis en question l'homogénéité de cette population neuronale. Sato et al. (2000) ont en effet montré que les neurones de projection sous-thalamiques pouvaient être subdivisés en plusieurs groupes chez le macaque, selon les cibles qu'ils innervent et l'ordonnement des

collatérales d'axones. Ainsi cinq sous-populations parmi les neurones de projection ont pu être différenciées. Parmi ces neurones, 21,3 % se projetteraient simultanément sur la SNr et sur les segments externe et interne du GP, 48 % sur les segments externe et interne du GP, 2,7% sur la SNr et le GPe/GP, 10,7 % sur le GPe/GP uniquement, et enfin 17,3 % sur le striatum.

A côté de cette population plus ou moins homogène de neurones de projection, une population de cellules intrinsèques du NST pouvant s'apparenter à des interneurones a été décrite par des études faisant appel à des préparations de Golgi et à la microscopie électronique chez le primate (Rafols et Fox, 1976 ; Hassler et al., 1982 ; Pearson et al., 1985). Les travaux plus récents de Lévesque et Parent (2005) réalisés sur l'humain post-mortem ont permis d'isoler une faible population de cellules de plus petite taille que les neurones de projection (environ 12,2 contre 24,7  $\mu\text{m}$  de diamètre) et positives pour l'immuno-marquage de la glutamate décarboxylase. De plus, ces cellules partagent avec les interneurones des caractéristiques morphologiques décrites chez le primate (Rafols et Fox, 1976 ; Hassler et al., 1982) : dendrites moins nombreux, plus fins et moins ramifiés, et large distribution cytoplasmique de granules de lipofuscine. Ces interneurones putatifs représenteraient environ 7,5 % de la population neuronale totale du NST.

### 3.2.3.2 Afférences du noyau sous-thalamique (Figure 10A page 37)

Le NST reçoit des projections massives du cortex (Kitai et Deniau, 1981 ; Rouzaire-Dubois et Scarnati, 1985 ; Canteras et al., 1990) et du GPe/GP (Carter et Fibiger, 1978) (Figure 10A). La SNc (Campbell et al., 1985 ; Hassani et al., 1997), l'ATV (Hassani et al., 1997), le NPP, le complexe centromédian-parafasciculaire et le raphé dorsal projettent aussi sur le NST (Gerfen et al., 1982 ; Groenewegen et Berendse, 1990 ; Féger et al., 1994 ; Parent et Hazrati, 1995).

Les **projections cortico-sous-thalamiques**, de nature glutamatergique, sont organisées de manière topographique. Ces projections sont issues du cortex moteur primaire, du cortex préfrontal, du cortex cingulaire antérieur et médian, de l'aire somato-sensorielle primaire et dans une moindre mesure, du cortex granulaire insulaire. Ces fibres afférentes proviennent majoritairement des neurones situés dans la couche V du cortex (Féger et al., 1994) et minoritairement des collatérales des fibres du faisceau pyramidal.

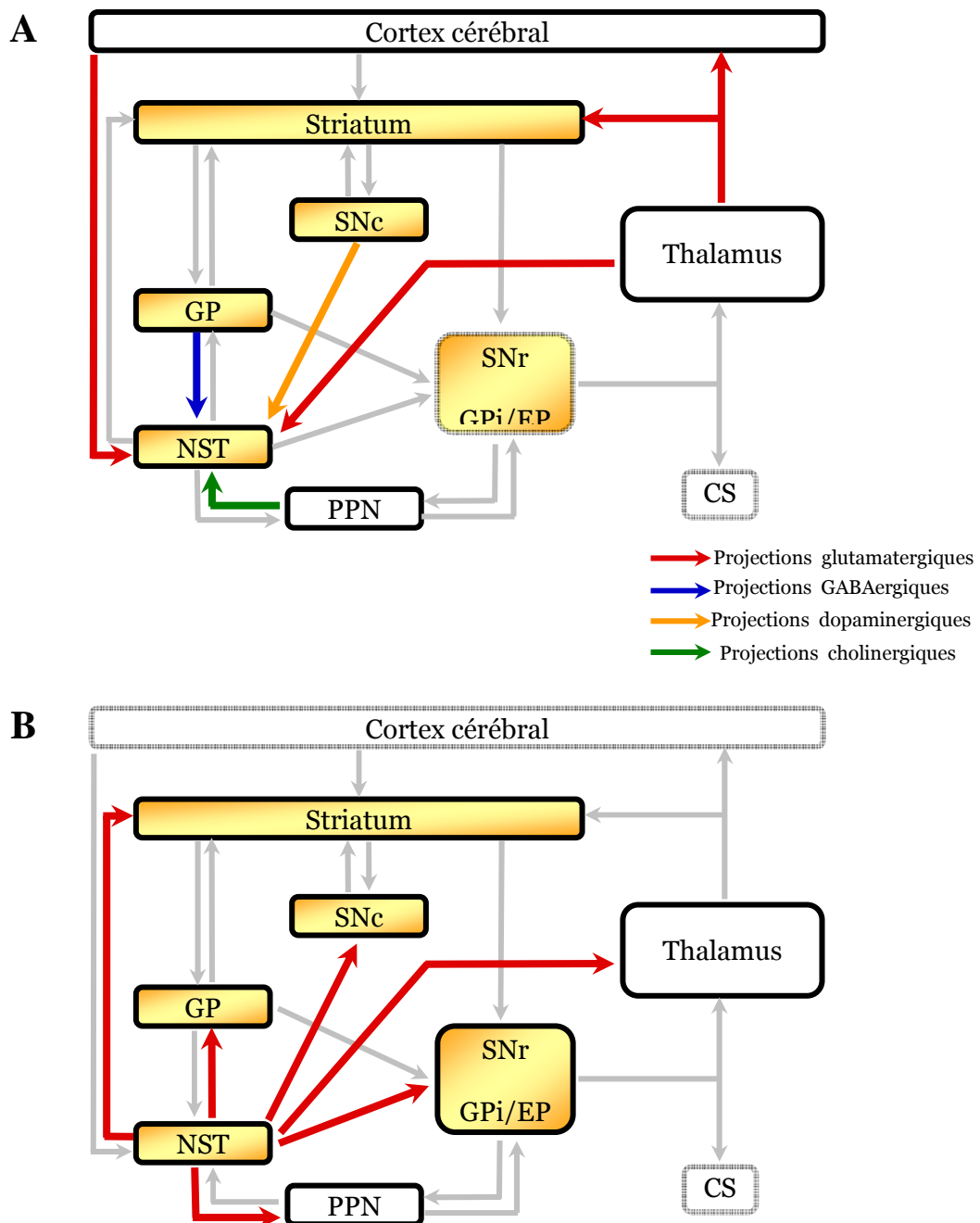
Certains neurones corticaux projettent à la fois sur le NST et sur le striatum. Le plus grand nombre d'entre eux provient du cortex pré-frontal. Ces projections cortico-subthalamiques forment des synapses asymétriques avec principalement des dendrites des neurones sous-

thalamiques (Bevan et al., 1995), et respectent une certaine organisation topographique. Ainsi, les afférences provenant du cortex moteur primaire se projettent sur la partie dorsolatérale du NST ; celles issues de l'aire pré-motrice, de l'aire motrice supplémentaire et des aires frontales adjacentes innervent principalement le tiers médian du NST alors que les cortex préfrontal médian et limbique projettent dans la région médiane supérieure de ce noyau (Afsharpour, 1985 ; Maurice et al., 1999). Un double marquage rétrograde chez le rat a permis de montrer que les corps cellulaires des neurones cortico-sous-thalamiques étaient principalement localisés dans la couche V du cortex (Féger et al., 1994). Il semble donc que le NST intègre et traite en parallèle différentes informations corticales en relation étroite avec les voies de sortie des ganglions de la base. Par ailleurs, ces afférences corticales seraient sous le contrôle de l'innervation dopaminergique du NST (Magill et al., 2001).

Les **projections pallido-sous-thalamiques** ont été décrites plus haut dans le paragraphe 3.2.2.3 concernant les afférences pallidales.

Les **projections thalamo-sous-thalamiques** provenant du complexe centromédian-parafasciculaire ont été décrites à la fois chez le rat (Gerfen et al., 1982 ; Sugimoto et Hattori, 1983 ; Groenewegen et Berendse, 1990 ; Féger et al., 1994) et chez le singe (Sadikot et al., 1992). Chez le singe, ces projections sont organisées fonctionnellement de telle sorte que les neurones sensori-moteurs de la région médiane du noyau centro-médian se projettent préférentiellement sur la partie dorso-latérale motrice du NST, tandis que les neurones limbiques et associatifs du noyau parafasciculaire se projettent presque exclusivement au niveau de la région limbique du NST (Sadikot et al., 1992). Une telle organisation topographique a également été retrouvée pour le rat (Lanciego et al., 2004), chez lequel les projections thalamo-sous-thalamiques proviennent principalement de la partie médiane du noyau parafasciculaire (Gerfen et al., 1982 ; Sugimoto et Hattori, 1983 ; Groenewegen et Berendse, 1990 ; Deschenes et al., 1996). Des expériences de double marquage rétrograde chez le rat ont montré que ces projections thalamo-sous-thalamiques provenaient de neurones distincts de ceux qui se projettent dans le striatum (Féger et al., 1994). Toutefois, les expériences plus récentes de marquage réalisées par Deschenes et al. (1996) donnent à penser que certains neurones thalamo-striataux envoient des collatérales d'axones sur le NST. Ces neurones thalamo-sous-thalamiques se terminent sur les neurones du NST qui projettent sur le GPe/GP (Sugimoto et Hattori, 1983 ; Lanciego et al., 2004). Des études neurochimiques, pharmacologiques et électrophysiologiques suggèrent fortement que ces projections thalamo-

sous-thalamiques sont excitatrices et utilisent le glutamate comme neurotransmetteur (Scatton et Lehmann, 1982 ; Nieoullon et al., 1985 ; Mouroux et al., 1995).



**Figure 10 : Représentation schématique des principales projections afférentes (A) et efférentes (B) du noyau sous-thalamique.**

CM/Pf, complexe noyau centromédian du thalamus-noyau parafasciculaire ; CS, colliculus supérieur ; GP, globus pallidus (segment externe) ; GPi/EP, globus pallidus interne/noyau entopédonculaire ; NST, noyau sous-thalamique ; PPN, noyau pédonculo-pontin ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus ; VL, noyau latéro-ventral du thalamus ; VM, noyau ventro-médian du thalamus.

La S<sub>Nc</sub> se projette également sur le NST (Mintz et al., 1986 ; Kita et Kitai, 1987 ; Groenewegen et Berendse, 1990 ; Hassani et al., 1997 ; Gauthier et al., 1999). La connaissance de cette projection dopaminergique provient de l'observation de varicosités axonales de nature dopaminergique dans cette structure (Brown et al., 1979). Cette projection ne semble pas avoir d'organisation topographique, bien qu'un gradient médio-latéral de densité de ces terminaisons dopaminergiques ait été rapporté (Hassani et al., 1997).

Des afférences de nature excitatrice (cholinergiques et/ou glutamatergiques) et inhibitrice (GABAergiques) provenant du NPP ont été décrites (Spann et Grofova, 1992 ; Bevan et Bolam, 1995), de même que des afférences sérotoninergiques provenant du raphé dorsal (Mori et al., 1985 ; Canteras et al., 1990).

Tout récemment, des afférences issues du colliculus supérieur ont été décrites par Redgrave et al. (35<sup>ème</sup> congrès de la Society for Neuroscience, novembre 2005, abstract n° 301.2). Cette étude anatomique, réalisée par injection de traceurs (BDA, True Blue et Fluorogold), montre l'existence d'une ségrégation fonctionnelle des projections colliculo-sous-thalamiques : la partie dorsale du NST serait reliée aux couches intermédiaires des colliculi supérieurs suivant une topographie rostro-caudale. En outre, il semblerait qu'une minorité de fibres colliculo-sous-thalamiques envoient également des collatérales dans la SNr.

### 3.2.3.3 Efférences du noyau sous-thalamique (Figure 10B page 37)

Les efférences du NST se projettent principalement sur le GPe/GP, le GPi/EP et la SNr en formant des synapses asymétriques (Hammond et al., 1978 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980b ; 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., 1983b), des études électrophysiologiques (Hammond et al., 1983a) et l'utilisation de traceurs (Bolam et Smith, 1992 ; Bevan et al., 1994) ont montré qu'un neurone sous-thalamique envoyait des collatérales sur le GP, l'EP et la SNr (Deniau et al. 1978 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980b). D'autres projections du NST, plus discrètes, ont été décrites sur la S<sub>Nc</sub> (Mintz et al., 1986 ; Kita et Kitai, 1987 ; Groenewegen et Berendse, 1990), le striatum (Beckstead, 1983b ; Kita et Kitai, 1987), le NPP (Hammond et al., 1983b ; Kita et Kitai, 1987) et la moelle épinière (Kita et Kitai, 1987 ; Takada et al., 1987).

En ce qui concerne les projections **sous-thalamo-pallidales**, les neurones localisés dans la partie latérale du NST projettent massivement sur la partie dorsale du GP, alors que ceux situés vers l'extrémité médiane du NST se projettent préférentiellement sur la partie

ventrale du GP. De plus, les techniques de double marquage antérograde ont révélé que les axones des neurones striataux et sous-thalamiques convergeaient sur les mêmes neurones pallidiaux (Kita et Kitai, 1991). Ces deux projections présentent cependant deux différences majeures. La première vient de la nature des neurotransmetteurs utilisés : les fibres sous-thalamo-pallidales, glutamatergiques, sont excitatrices, tandis que les fibres striato-pallidales, GABAergiques, ont un effet inhibiteur. La deuxième est basée sur la surface couverte par ces projections : les neurones sous-thalamiques stimulent uniformément les cellules pallidales, alors que les neurones striataux exercent une action inhibitrice ponctuelle sur une sous-population cellulaire pallidale donnée (Hazrati et Parent, 1993).

Les **projections sous-thalamo-striatales** sont caractérisées par de longs axones disséminés à travers le striatum (Parent et Hazrati, 1995b). Ces projections excitatrices (Parent et Hazrati, 1995b), bien moins importantes que les projections sous-thalamo-pallidales et sous-thalamo-nigrales, représentent 5% des afférences totales du striatum. Les neurones de la portion médiane du NST projettent cependant préférentiellement sur la partie rostrale et caudale du striatum (Takada et al., 1988 ; Groenewegen et Berendse, 1990) et le plus souvent sur les neurones à somatostatine présents dans cette structure.

Au niveau des **projections sous-thalamo-nigrales**, les neurones sous-thalamiques se projettent préférentiellement sur la SNr, et une partie moins importante converge vers la SNc. Ces afférences nigrales proviennent de neurones sous-thalamiques qui envoient également des axones vers le GPe/GP et le GPi/EP. L'organisation topographique des projections sous-thalamo-nigrales est faite de telle manière que l'axe médio-latéral du NST est transposé sur un axe dorso-ventral au niveau nigral (Groenewegen et al., 1990). Cette innervation est caractérisée par des axones émettant 3 à 5 branches à l'origine d'une arborisation importante, surtout dans la partie rostrale de la substance noire. Les terminaisons sous-thalamo-nigrales glutamatergiques réalisent des synapses asymétriques essentiellement avec les dendrites et, en plus petite proportion, avec les somas des neurones nigriques (Parent et Hazrati, 1995b). La SNr contient de nombreux boutons synaptiques dont seulement 10 % sont immuno-réactifs au glutamate, les autres boutons sont GABAergiques et proviennent des projections striatales et pallidales (Smith et Bolam, 1990a, 1990b). Ces deux types de boutons, glutamatergiques et GABAergiques, bien que morphologiquement très distincts, réalisent des contacts avec les mêmes neurones nigriques, ce qui sous-entend qu'un neurone de la SNr est à la fois sous la dépendance d'une activité inhibitrice et excitatrice (Parent et Hazrati, 1995a). Les projections du NST sur la SNc sont mentionnées dans de nombreuses études mais restent minoritaires

(Ricardo, 1980 ; Kita et Kitai, 1987 ; Groenewegen et Berendse, 1990 ; Damlama et Tepper, 1992), bien qu'elles soient d'une importance fonctionnelle non négligeable.

### **3.2.4 La substance noire**

#### 3.2.4.1 Anatomie de la substance noire

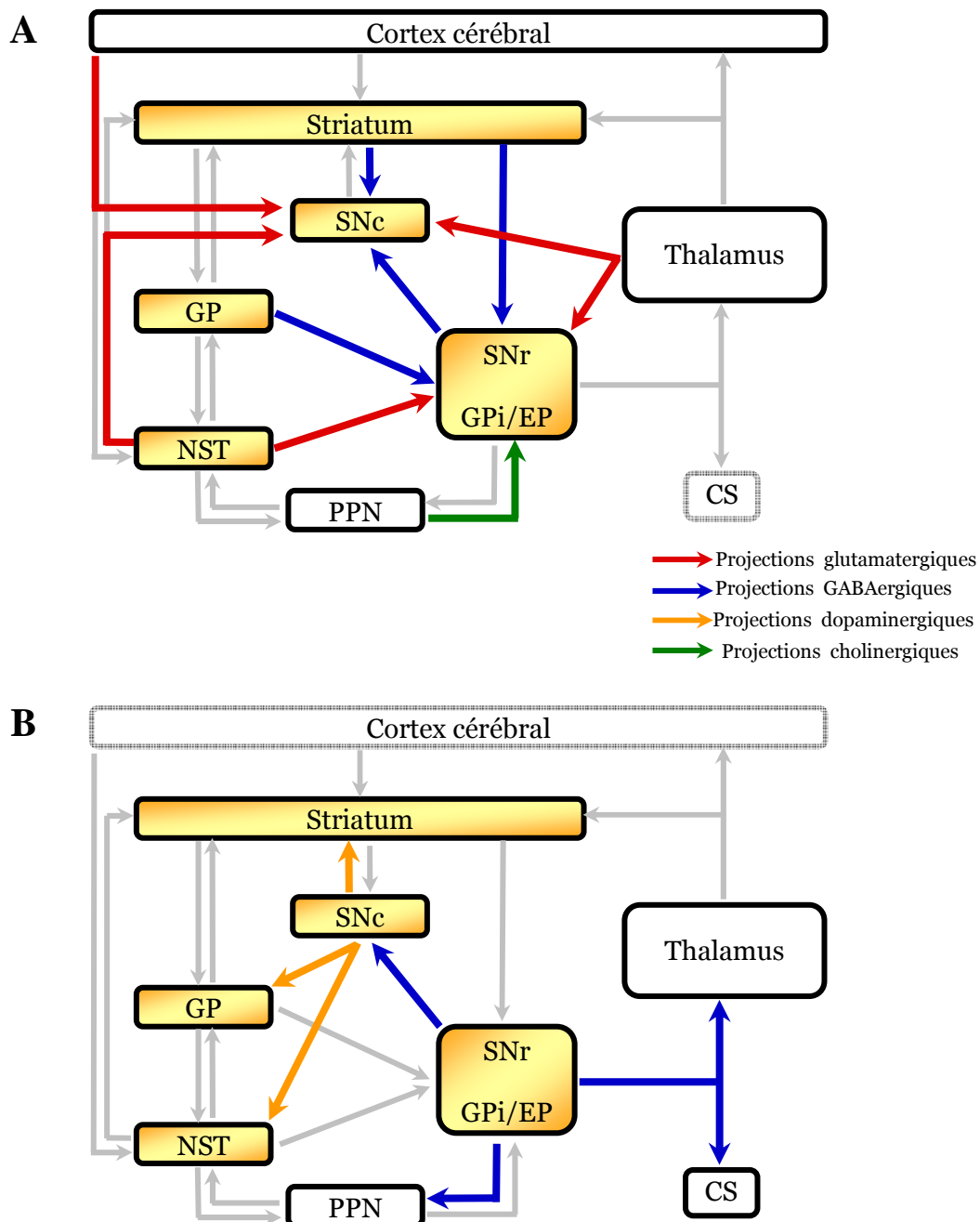
Située dans le mésencéphale ventral, la substance noire se divise en deux parties (Juraska et al., 1977) :

La **SNC**, la plus dorsale, est une structure dense contenant de nombreux corps cellulaires de nature dopaminergique. Quatre zones ont pu être différenciées au sein de cette structure :

- **L'extrémité médiane** de la SNC, jouxtant l'ATV ;
- **Le tiers dorsal**, constitué des neurones situés dans la partie la plus dorsale de la SNC, et dont les dendrites restent principalement localisés dans cette structure. Cette région se projette au niveau de la matrice du striatum (Paxinos, 2004) ;
- **Le tiers ventral**, représenté par des neurones situés dans la partie ventrale de la SNC, et dont les prolongements dendritiques s'étendent jusque dans la SNr (Tepper et al., 1987). Les fibres nigro-striatales issues de cette région se projettent sur les patches striataux (Paxinos, 2004) ;
- **L'extrémité latérale** de la SNC.

La **SNr**, située ventralement par rapport à la SNC, est plus volumineuse, mais présente paradoxalement une faible densité de corps cellulaires (Phillipson, 1979 ; Oades et Halliday, 1987). La population neuronale de la SNr est constituée de neurones GABAergiques multipolaires pouvant également contenir de la parvalbumine (François et al., 1987 ; Grofova et al., 1982). Les corps cellulaires de ces neurones peuvent mesurer 16 à 50  $\mu\text{m}$  sur leur grand axe, et 8 à 32  $\mu\text{m}$  sur leur petit axe. Le champ dendritique de ces neurones peut s'étendre sur une distance de 1 à 1,5 mm dans l'axe rostro-caudal, 700  $\mu\text{m}$  médio-latéralement et 400  $\mu\text{m}$  dans l'axe dorso-ventral, et couvrir 50 à 80 % de cette structure dans l'axe rostro-caudal et 70 % dans l'axe médio-latéral (François et al., 1987 ; Grofova et al., 1982). Cependant, l'orientation des dendrites varie selon la localisation des neurones à l'intérieur de la SNr. Les dendrites des neurones de la partie dorsale s'étendent dans toute la structure, tandis que ceux des neurones plus ventraux restent confinés au plan ventral de la structure. La SNr contient aussi quelques îlots de neurones dopaminergiques (Gerfen et al., 1982), ainsi qu'un réseau local de collatérales d'axones de nature GABAergique qui innerve les deux substances noires, compacte et réticulée (Juraska et al., 1977 ; Grofova et al., 1982). D'un point de vue

fonctionnel, la SNr forme avec le GPi/EP les structures dites "de sortie" du réseau des ganglions de la base.



**Figure 11 : Représentation schématique des principales projections afférentes (A) et efférentes (B) de la substance noire compacte et réticulée.**

CM/Pf, complexe noyau centromédian du thalamus-noyau parafasciculaire ; CS, colliculus supérieur ; GP, globus pallidus (segment externe) ; GPi/EP, globus pallidus interne/noyau entopédonculaire ; NST, noyau sous-thalamique ; PPN, noyau pédonculo-pontin ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus ; VL, noyau latéro-ventral du thalamus ; VM, noyau ventro-médian du thalamus.



#### 3.2.4.2 Afférences nigrales (Figure 11A page 41)

La SNc reçoit à la fois des afférences GABAergiques inhibitrices du striatum, du GPe/GP, et de la SNr (Bolam et Smith, 1990 ; Smith et Bolam, 1990b ; Hajos et Greenfield, 1994 ; Smith et al., 1998) et des afférences excitatrices de nature glutamatergique, minoritaires, issues du NST (Kita et Kitai, 1987 ; Parent et Hazrati, 1995a) et du cortex cérébral (Naito et Kita, 1994), ainsi que des afférences excitatrices cholinergiques provenant du NPP. En outre, des projections sérotoninergiques provenant du raphé (Corvaja et al., 1993; Moukhles et al., 1997), des afférences issues de l'habenula latérale (Herkenham et Nauta, 1979 ; Christoph et al., 1986) et du colliculus supérieur (Comoli et al., 2003 ; McHaffie et al., 2006) ont également été décrites.

La SNr reçoit des afférences GABAergiques du striatum, du GPe/GP et du noyau accumbens (Chevalier et Deniau, 1990 ; Deniau et al., 1994 ; Smith et al., 1998). Dans ces projections, déjà décrites précédemment, le GABA est colocalisé avec la substance P et/ou la dynorphine (Smith et Bolam, 1989, 1990b). Elles forment des synapses symétriques sur les parties distales et proximales des dendrites des neurones GABAergiques de la SNr. Les afférences glutamatergiques issues du NST forment des contacts synaptiques asymétriques sur la partie distale des dendrites des neurones de la SNr (Kita et Kitai, 1987 ; Nakanishi et al., 1987). Des afférences du cortex moteur, de l'amygdale, du raphé dorsal, du noyau parafasciculaire du thalamus et du NPP ipsi- et contro-latéral ont été également mises en évidence (Van der Kooy et Hattori, 1980a ; Gerfen et al., 1982).

#### 3.2.4.3 Efférences nigrales (Figure 11B page 41)

Les principales efférences de la SNc sont le striatum, le NST et le GPe/GP. La voie nigro-striée a déjà été décrite plus haut paragraphe 3.2.1.2. 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.

Le complexe SNr-GPi/EP projette des fibres GABAergiques essentiellement vers le thalamus (Beckstead et al., 1979 ; Bentivoglio et al., 1979 ; Beckstead, 1983c ; Kha et al., 2001 ; François et al., 2002), plus particulièrement vers le noyau ventro-médian chez le rat (Beckstead et al., 1979), et les noyaux ventral antérieur, ventro-latéral et dorso-médian chez le primate (Beckstead, 1983c), qui à leur tour se projettent sur le cortex. Il a été montré également que la SNr envoyait des projections vers le noyau parafasciculaire chez le rat (Beckstead et al., 1979 ; Tsumori et al., 2000) et chez le singe (Sidibe et al., 2002). Les neurones efférents GABAergiques de la SNr se projettent également sur la SNc (Deniau et al.,

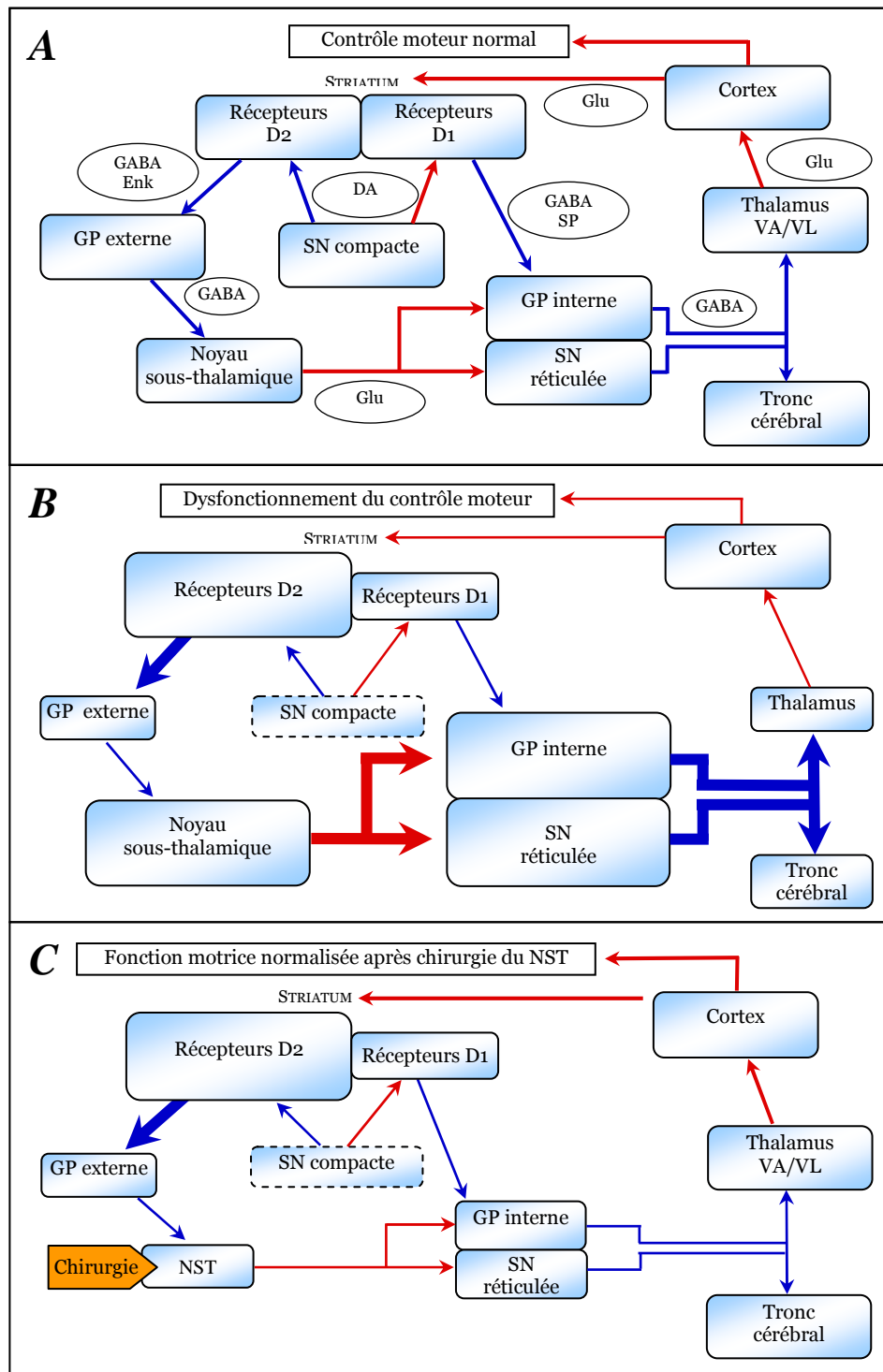
1982 ; Tepper et al., 1995), le NPP (Kang et Kitai, 1990) et le colliculus supérieur (Bentivoglio et al., 1979 ; Beckstead, 1983c ; Parent et Hazrati, 1995a).

### 3.3 Organisation fonctionnelle des ganglions de la base

#### 3.3.1 Le modèle fonctionnel "courant" des ganglions de la base

Les ganglions de la base forment un réseau neuronal mettant en jeu une circuiterie complexe et jouant un rôle essentiel dans la régulation des fonctions motrices extrapyramidales, ainsi que dans différentes formes d'apprentissage sensorimoteur, en particulier la mémoire procédurale. Cette régulation met en jeu une boucle cortico-baso-thalamo-corticale (Parent et Hazrati, 1995a ; Mink, 1996) dans laquelle les aires corticales frontales, pariétales, temporales et le cortex limbique envoient des informations aux ganglions de la base, qui en retour renvoient des projections sur les aires frontales, les cortex moteur, pré-moteur et l'aire motrice supplémentaire. Cinq circuits parallèles ont été individualisés, en particulier le **circuit moteur**, le **circuit oculomoteur** et les **circuits partant du cortex frontal dorso-latéral, orbito-frontal** ou **limbique**, impliqués dans le comportement, la motivation, les émotions et l'humeur (Albin et al., 1989 ; Alexander et Crutcher, 1990 ; DeLong, 1990 ; Marsden et Obeso, 1994 ; Féger, 1997 ; Obeso et al., 2000a). Le circuit moteur, le mieux connu, qui relie le cortex moteur primaire aux ganglions de la base passe par le thalamus moteur et remonte au cortex prémoteur, notamment l'aire motrice supplémentaire. Un dysfonctionnement des ganglions de la base peut être à l'origine de graves troubles moteurs tels que ceux rencontrés dans la MP, la chorée de Huntington, ou le syndrome de Gilles de la Tourette.

Selon le modèle "classique" de Albin et al. (1989) (Figure 12 page suivante), le striatum, qui reçoit de multiples afférences dont la plus importante est la projection excitatrice glutamatergique provenant du cortex, est considéré comme étant la principale structure d'entrée des ganglions de la base (Albin et al., 1989 ; Graybiel, 1990 ; Gerfen et al., 1990 ; Gerfen, 1992). Toujours selon ce modèle, les informations provenant du striatum seraient véhiculées jusqu'aux structures de sortie par deux différentes voies : la voie "directe" monosynaptique et la voie "indirecte" polysynaptique passant par le GPe/GP et le NST. La voie appelée "directe" est composée des fibres efférentes issues des neurones striataux GABAergiques dans lesquels le GABA est colocalisé avec la substance P et/ou la dynorphine, et qui se projettent directement sur la SNr et le GPi/EP (Bolam et Smith, 1990, 1992). La voie



**Figure 12 : Proposition d'un modèle fonctionnel des ganglions de la base.**  
(D'après Lang et Lozano, 1998)

Schéma A : Situation physiologique normale. Schéma B : Maladie de parkinson. Schéma C : Patients pour qui les fonctions motrices sont améliorées par une chirurgie ou une stimulation à haute fréquence du noyau sous-thalamique. Enk, enképhaline ; Glu, glutamate ; GP, globus pallidus ; NST, noyau sous-thalamique ; SN, substance noire ; SP, substance P ; VA, noyau ventral antérieur du thalamus, VL : noyau ventral latéral du thalamus.

"indirecte" met en jeu la voie striato-pallidale GABAergique (co-exprimant également de l'enképhaline) qui se projette sur le GPe/GP, et les voies pallido-sous-thalamo-nigrales qui mettent en jeu successivement le GABA (projection GPe/GP-NST) et le glutamate (projection NST-structures de sortie) (Parent et Cicchetti, 1998).

Selon Albin et al. (1989), les messages corticaux issus de l'ensemble du cortex cérébral et adressés aux ganglions de la base "transitent" donc par le striatum. Néanmoins, les données accumulées sur les ganglions de la base depuis la publication de ce modèle amènent progressivement à le remettre en cause, voire à le modifier. Ainsi, le NST est de nos jours considéré comme une structure d'entrée de ce système, puisqu'il reçoit des afférences corticales directes issues uniquement des cortex moteur et prémoteur, ainsi que du cortex préfrontal. 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 que celles-ci exercent sur les réseaux prémoteurs du thalamus et du colliculus supérieur. Ce processus de désinhibition est considéré comme central dans la physiologie des ganglions de la base et participerait à l'initiation du mouvement. La mise en jeu des voies trans-sous-thalamiques permettrait ce processus de désinhibition en exerçant un effet "opposé" excitateur sur les structures de sortie, et participerait de cette façon au contrôle de l'amplitude du mouvement et de l'inhibition de programmes moteurs inappropriés.

Selon l'organisation fonctionnelle proposée par ce modèle, le mouvement serait donc contrôlé par une régulation fine entre l'activité de ces deux voies directe et indirecte. Cet équilibre serait sous le contrôle des neurones dopaminergiques de la SNc, dont la dégénérescence est à l'origine de la MP. La dopamine libérée par les terminaisons nigrostriatales agirait sur des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 striataux, qui auraient des effets opposés (Stoof et Keibian, 1984 ; Keibian et Calne, 1979). Les récepteurs D1 seraient activateurs car couplés positivement à l'adénylate cyclase, et modèleraient principalement l'activité de la voie directe, tandis que les D2 seraient plutôt inhibiteurs et modèleraient surtout la voie indirecte (Albin et al., 1989 ; Alexander et al., 1990 ; Gerfen et al., 1995 ; Parent et Cicchetti, 1998). Toutefois cette séparation fonctionnelle entre ces deux voies impliquant les récepteurs D1 et D2 reste encore discutée (Kotter, 1994 ; Aizman et al., 2000).

C'est cependant sur la base de ce modèle, peut-être aujourd'hui trop "simpliste", que se sont appuyées depuis 20 ans un certain nombre d'études pour clarifier l'implication des ganglions de la base dans des maladies neurologiques affectant le mouvement (Smith et al., 1998). Le NST est apparu comme tenant une position stratégique dans la circuiterie complexe

des ganglions de la base, et ne devrait plus être considéré seulement comme une structure-relais de la voie indirecte reliant le striatum au GPi/EP et à la SNr, mais bel et bien comme une structure assurant l'entrée d'informations corticales dans le réseau des ganglions de la base, au même titre que le striatum.

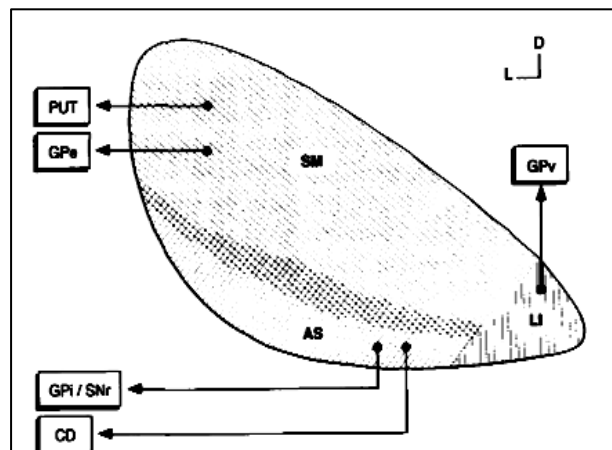
### 3.3.2 Aspect fonctionnel du NST dans les ganglions de la base

Plusieurs études électrophysiologiques et pharmacologiques ont montré que le NST exerçait une action excitatrice sur les structures de sorties des ganglions de la base par le biais de ses efférences glutamatergiques. Ce noyau est constitué de trois territoires (figure 13 ci-dessous) : un territoire limbique (partie médiane du NST), un territoire associatif (partie ventrale) et un territoire sensorimoteur (partie dorso-latérale) (Parent et Hazrati, 1995b).

D'un point de vue anatomique, les projections sous-thalamo-nigrales et sous-thalamo-pallidales sont issues des mêmes neurones sous-thalamiques (Deniau et al., 1978 ; Van Der Kooy et Hattori, 1980b ; Kita et Kitai, 1987 ; Rinvik et Ottersen, 1993 ; Shink et al., 1996). De plus, des études ultrastructurales ont nettement décrit que les neurones efférents pallidaux et nigriques présentaient des synapses asymétriques glutamatergiques émanant des projections sous-thalamiques (Smith et al., 1994b ; Shink et al., 1996).

**Figure 13 : Représentation schématique de la localisation des territoires associatif (AS), limbique (LI), et sensorimoteur (SM) du noyau sous-thalamique chez le primate.**

Les différents territoires sont déterminés principalement à partir des projections efférentes du NST sur les différents secteurs du noyau caudé-putamen. CD : noyau caudé ; GPe : globus pallidus externe ; GPi : globus pallidus interne ; GPv : zone ventrale du globus pallidus ; PUT : putamen ; SNr : substance noire réticulée. (D'après Parent et Hazrati, 1995b)



#### 3.3.2.1 Projections sous-thalamo-nigrales

Les études conduites par Rosales et al. (1997) ont permis de mettre en évidence que l'augmentation de l'activité des neurones du NST, induite par une injection in situ d'un agoniste cholinergique comme le carbachol, provoquait une augmentation de la libération à la fois de glutamate, de GABA et de dopamine au niveau de la SNr. En effet, la libération de

glutamate par les projections sous-thalamo-nigrales viendrait provoquer une libération dendritique de dopamine via l'activation de récepteurs NMDA situés sur les dendrites des neurones dopaminergiques de la SNc qui s'étendent dans la SNr. Cette augmentation de dopamine, en agissant sur les récepteurs D1 des terminaisons striato-nigrales et sous-thalamo-nigrales, pourrait être responsable d'une libération accrue de GABA et de glutamate dans la SNr. Cette étude met en évidence l'influence du NST sur l'activité des neurones de la SNr et la complexité des mécanismes mis en jeu au sein de cette structure par la libération de glutamate. En effet, toute augmentation de l'activité des neurones du NST semble donc induire une augmentation de glutamate au niveau nigral qui "s'auto-entretiendrait" par un rétrocontrôle positif utilisant la dopamine libérée par les dendrites des neurones dopaminergiques nigraux. D'autre part, la désinhibition des neurones du NST, induite par l'injection in situ d'un antagoniste GABA<sub>A</sub>, la bicuculline, provoque une activation des neurones de la SNr, qui est réversée par l'infusion dans cette même structure d'un antagoniste glutamatergique non sélectif comme l'acide kynurénique (Robledo et Féger, 1990 ; Smith et Grace, 1992).

Si les résultats obtenus par la manipulation pharmacologique des neurones du NST sont concordants, les données issues des expérimentations de stimulation électrique du NST sont contradictoires. Des études à la fois in vitro (Nakanishi et al., 1987) et in vivo (Hammond et al., 1983 ; Smith et Grace, 1992) mettent en évidence que des stimulations électriques du NST de 50 à 500 Hz auraient un effet plutôt excitateur sur la SNr. A l'inverse, d'autres études montrent un effet inhibiteur sur les neurones de la SNr lors d'une stimulation à 130 Hz du NST (Benazzouz et al., 1995 ; Tai et al., 2003). En accord avec ces données, nous avons pu montrer d'un point de vue neurochimique qu'une telle stimulation électrique à haute fréquence induisait une augmentation significative des taux de GABA extracellulaire dans la SNr à la fois chez des rats sains mais aussi chez des rats porteurs d'une lésion totale de la voie dopaminergique nigro-striée (Windels et al., 2000, 2005 ; Savasta et al., 2002). Ces résultats neurochimiques issus de notre équipe confirment l'importance du GABA dans l'impact fonctionnel de la SHF du NST et nous ont permis d'émettre une hypothèse de travail suggérant que la réduction des handicaps moteurs observée chez les malades parkinsoniens sous SHF du NST ne serait pas liée à une inhibition directe des neurones sous-thalamiques, mais plutôt à une inhibition des neurones de sortie au niveau de la SNr due à une action balancée et concomitante du glutamate et du GABA, avec un effet prédominant du GABA. Cet effet prédominant du GABA pourrait s'expliquer par la mise en jeu de fibres de passage

GABAergiques pallidales et par l'organisation anatomo-fonctionnelle des contacts synaptiques GABAergiques et glutamatergiques au sein de la SNr (Windels et al., 2005). Les terminaisons sous-thalamiques glutamatergiques établissent des contacts avec les dendrites des neurones de la SNr, tandis que les terminaisons GABAergiques pallidales se projettent préférentiellement sur les somas de ces neurones (Gerfen et Wilson, 1996).

Concernant la SNc, plusieurs études concordent pour suggérer que les neurones sous-thalamiques modulent le mode de décharge des neurones dopaminergiques (Smith et Grace, 1992), et plus particulièrement leur activité en "bouffées" (Robledo et Féger, 1990 ; Chergui et al., 1994 ; Galarraga et Bargas, 1995). Ce rôle modulateur du NST sur la SNc est primordial car les décharges en "bouffées" de ces neurones dopaminergiques semblent être le mode le plus efficace pour induire une libération de dopamine (Gonon et Buda, 1985). Ainsi, Chergui et al. (1994) ont montré que cette régulation par les projections sous-thalamo-nigrales s'exerçait probablement par le biais de récepteurs NMDA situés sur les dendrites dopaminergiques des neurones de la SNc au niveau de la région dorsale de la SNr. De plus, il a récemment été montré que la SHF à 130 Hz induisait une augmentation significative de la fréquence de décharge des neurones dopaminergiques chez le rat sain (Benazzouz et al., 2000a).

En conclusion, ces études montrent l'importance fonctionnelle de l'influence du NST sur la SNr et la SNr, et semblent indiquer qu'une augmentation de l'activité des neurones du NST peut induire une augmentation de glutamate et de GABA extracellulaire dans la SNr. La présence d'un certain nombre de boutons synaptiques GABAergiques mélangés aux boutons glutamatergiques pourrait expliquer une interaction entre ces deux neurotransmetteurs, suggérant une régulation fine de l'activité des neurones de la SNr (Booth et al., 2000).

### 3.3.2.2 Projections sous-thalamo-pallidales et sous-thalamo-entopédonculaires

Les études électrophysiologiques s'appuyant sur des manipulations pharmacologiques s'accordent pour montrer que l'activation des neurones du NST s'accompagne d'une augmentation de l'activité des neurones pallidaux (GPe et GPi), à la fois chez le rat et le singe. En effet, il a été décrit que des injections de bicuculline (antagoniste des récepteurs GABAa) dans le NST induisaient une levée d'inhibition de l'afférence GABAergique issue du GPe/GP, ce qui serait à l'origine d'une activation rapide des neurones du GPe/GP par l'activation de la voie sous-thalamo-pallidale (Robledo et Féger, 1990 ; Smith et Grace, 1992 ; Soltis et al., 1994). Des effets opposés sont obtenus par l'injection d'un agoniste GABAergique comme le

muscimol (agoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>) (Robledo et Féger, 1990). D'autres résultats allant dans le même sens ont montré qu'une lésion neurotoxique du NST chez le singe induisait une diminution d'activité des neurones du GPe/GP (Hamada et DeLong, 1992).

Par ailleurs, les résultats provenant d'expérimentations menées à partir d'une stimulation électrique des neurones du NST ont conduit à des résultats contradictoires. En effet, même si le mode de stimulation est différent entre ces études, certains auteurs observent une diminution de l'activité de la plupart des neurones du GP (Perkins et Stone, 1980) et de l'EP (Hammond et al., 1983a ; Benazzouz et al., 1995). Pour d'autres, elle entraîne une augmentation de l'activité des neurones du GP (Kita et Kitai, 1991 ; Benazzouz et al., 1995 ; Ni et al., 2000 ; Hashimoto et al., 2003) et de l'EP (Nakanishi et al., 1991). Toutefois, les différents paramètres de stimulation utilisés et les préparations spécifiques à chacune de ces études (tranches de cerveau ou animal anesthésié) sont probablement à l'origine des conclusions divergentes de ces travaux et de celles déduites lors de manipulations pharmacologiques. En outre, on pourrait penser que ces approches différentes (action pharmacologique versus stimulation électrique) mettent en jeu directement et/ou indirectement de façon spatio-temporelle distincte des structures membranaires différentes (canaux versus récepteurs), des corps cellulaires versus axones, des mécanismes métaboliques complexes.

Chez le rat, une lésion du GPe/GP peut induire un changement de la fréquence spontanée de décharge, voire du mode de décharge lui-même et du degré de coordination, des neurones sous-thalamiques adjacents (Ryan et al., 1992). A partir de ce travail, il a été suggéré que le GPe/GP pouvait moduler le seuil d'excitabilité des neurones du NST vis-à-vis de leurs afférences en les mettant en quelque sorte "au diapason" (Parent et Hazrati, 1995b). Toutefois, les conséquences induites par la lésion du NST ou sa manipulation pharmacologique décrites plus haut suggèrent que l'influence excitatrice du NST via le glutamate prévaut sur l'inhibition exercée sur le NST par le GPe/GP (Obeso et al., 1997). Les interactions complexes entre ces deux structures restent encore largement discutées à ce jour. Elles semblent dans tous les cas jouer un rôle important dans les mécanismes alternatifs d'inhibition et de désinhibition de cette voie pallido-sous-thalamo-pallidale (Parent et Hazrati 1995b ; Plenz et Kitai, 1999 ; Magill et al., 2000).

### 3.3.2.3 Projections sous-thalamo-striatales

La signification fonctionnelle de cette voie reste encore à clarifier. Cependant, il a été montré que l'injection de bicuculline dans le NST entraîne, outre l'augmentation de l'activité



des neurones du NST, un changement immédiat de l'activité spontanée des neurones striataux (Robledo et Féger, 1990). De plus, les travaux menés par Parent et Hazrati (1995b) suggèrent que ces projections sous-thalamo-striatales pourraient compléter l'action excitatrice des afférences corticales et thalamiques sur la régulation de l'activité des neurones striataux.

### ***3.3.3 Implication du NST dans la physiopathologie de la MP***

Le NST semble donc jouer un rôle clé dans le contrôle des voies de sortie des ganglions de la base et par conséquent un rôle important dans le contrôle du mouvement. Son implication dans les pathologies affectant le mouvement résulte d'observations cliniques montrant qu'un accident cérébral vasculaire affectant le NST induit chez l'homme des mouvements hémiballiques (Martin, 1927 ; Whittier, 1947 ; Buruma et Lakke, 1986). Ces mouvements anormaux ont pu être reproduits chez le primate non humain en lésant le NST par injection d'une neurotoxine (Whittier, 1947 ; Whittier et Mettler, 1949 ; Hammond et al, 1979) ou encore en inhibant l'activité des neurones du NST par des injections locales d'agonistes GABAergiques (Crossman et al., 1984).

Durant ces vingt dernières années, les études expérimentales conduites chez 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. De nombreuses études neuroanatomiques, neurochimiques, pharmacologiques et électrophysiologiques se sont efforcées, et s'efforcent encore aujourd'hui, de mieux cerner les interactions complexes existant entre ces noyaux des ganglions de la base dans des situations normales et/ou pathologiques. Plusieurs de ces études ont démontré récemment que le NST était impliqué dans la physiopathologie de la MP. Des travaux conduits notamment par Bergman et collaborateurs ont certainement permis une grande avancée des connaissances concernant l'implication du NST dans la MP, en montrant 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 conduits chez le rat 6-OHDA ou chez le singe MPTP ont montré que le NST était le siège de multiples altérations :

- Augmentation de la fréquence de décharge des neurones sous-thalamiques (Bergman et al., 1994 ; Kreiss et al., 1997) ;
- Surexpression de la sous-unité 1 de la cytochrome oxydase (CoI), complexe enzymatique impliqué dans la chaîne respiratoire mitochondriale, et directement lié au métabolisme oxydatif énergétique et à l'activité fonctionnelle neuronale (Vila et al., 2000) ;

- Perturbations métaboliques notamment mises en évidence par des méthodes utilisant le 2-déoxyglucose (Palombo et al., 1990).

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, du GP et de l'EP les modifications d'expression de la glutamate décarboxylase induites par la lésion à la 6-OHDA 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, ou du moins ses conséquences, ont fait l'objet d'un enjeu thérapeutique majeur dans le traitement de cette maladie, notamment par le développement d'approches neurochirurgicales, comme nous le verrons un peu plus loin.

### ***3.3.4 Récentes avancées dans la connaissance des ganglions de la base et remise en cause du modèle classique "voie directe- voie indirecte"***

Comme nous l'avons évoqué plus haut, l'organisation anatomo-fonctionnelle proposée dans les années 80 dans le but d'expliquer la physiopathologie des symptômes moteurs rencontrés dans la MP doit intégrer les données anatomiques, neurochimiques et électrophysiologiques acquises par des études très récentes. Une des critiques majeures du modèle proposé initialement par Albin et al. (1989), et repris par la suite par DeLong (1990), concerne la ségrégation des projections striatales efférentes. Il a été en effet montré que les neurones de projection du striatum, à l'origine des voies directe et indirecte, présentent de nombreuses collatérales, si bien que ces neurones sont en fait interconnectés étroitement (Yung et al., 1996). De même, les axones efférents du striatum présentent de nombreuses collatérales arborisantes qui peuvent à la fois connecter le GPe/GP et la SNr (Parent et Hazrati, 1995b).

Récemment, Reiner et al. (1999) ont confirmé chez le singe et l'homme que les neurones GABAergiques striataux se projetant sur le GPi contiennent à la fois de la substance P et de la dynorphine mais pas d'enképhaline, cette dernière étant exprimée uniquement dans les neurones se projetant sur le GPe. Toutefois, les neurones à l'origine de la voie directe se projetant sur la SNr contiennent de la substance P, mais pas de dynorphine. De plus, quelques neurones GABAergiques contenant de l'enképhaline expriment aussi de la substance P

(Reiner et al., 1999). De ce fait, la répartition de la population neuronale GABAergique colocalisant tel ou tel peptide n'est pas encore clairement établie chez le primate. En outre, l'administration intra-striatale d'un agoniste D1 (SKF 38393) ou d'un agoniste D2 (quinpirole) chez le rat induit des changements métaboliques identiques dans les trois principales cibles du striatum, la SNr, l'EP et le GP (Blandini et al., 2000). Ces observations remettent ainsi partiellement en cause le principe admis de deux voies de sortie individualisées, et d'une ségrégation des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 régulant chacune des deux voies.

De récentes découvertes doivent être prises en compte dans la re-évaluation du schéma d'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base.

1) Plusieurs études ont montré il y a quelques années l'existence de projections directes reliant le GPe/GP au GPi/EP et à la SNr (Parent et Hazrati, 1995a ; Smith et al., 1998). Ainsi, contrairement au modèle classique, il semble que le GPe/GP puisse interagir directement avec les voies de sortie des ganglions de la base sans passer par le NST. L'aspect fonctionnel de ces projections a été confirmé depuis par des études électrophysiologiques (Kita et al., 2005) et neurochimiques (Windels et al., 2000, 2005 ; Boulet et al., 2006).

2) Le NST reçoit des afférences excitatrices directement issues du cortex moteur primaire (Canteras et al., 1990 ; Smith et al., 1998). Plus important encore, la SNc et le NST interagissent par des projections réciproques (Hassani et al., 1997 ; Smith et al., 1998 ; Cossette et al., 1999 ; Hedreen, 1999), ce qui suggère un possible effet direct de la perte d'innervation dopaminergique sur l'activité du NST lors du processus dégénératif parkinsonien.

Des études neuroanatomiques étudiant l'expression de l'ARN messager codant pour la glutamate décarboxylase chez des rats 6-OHDA (Chesselet et al., 1987), ou pour CoI chez des singes MPTP (Vila et al., 1997), ont révélé que l'expression de ces protéines était normale ou augmentée dans le GP, alors que, selon le "modèle courant", on aurait pu s'attendre à une diminution de cette expression (Chesselet et Delfs, 1996 ; Levy et al., 1997). Ces données laissent penser que l'activité des neurones GABAergiques du GP n'est pas diminuée lors de la dégénérescence parkinsonienne. Ceci indique clairement que l'influence inhibitrice du GPe/GP sur le NST n'est pas quantitativement altérée chez le malade parkinsonien (Levy et al., 1997 ; Obeso et al., 1997 ; Obeso et al., 2000a). De plus, plusieurs études s'intéressant au métabolisme cellulaire ont montré que l'activité de CoI était comparable chez des groupes de sujets normaux et parkinsoniens (Blandini et Greenamyre, 1995 ; Levy et al., 1997 ; Salin et al., 2002).

Les conséquences des modifications d'activité des neurones sous-thalamiques sur l'activité du GPe méritent donc d'être encore explorées et suggèrent, outre des régulations électrophysiologiques, des adaptations neurochimiques et métaboliques subtiles. De même, l'absence de diminution d'activité dans le GPe peut être expliquée fonctionnellement par l'influence antagoniste de ses afférences striatales GABAergiques et sous-thalamiques glutamatergiques (Parent et Hazrati, 1995 ; Smith et al., 1998). En outre, des données électrophysiologiques ont montré que l'hyperactivité du NST ne dépend pas uniquement du niveau d'activité du GPe, et que d'autres structures se projetant sur le NST telles que le NPP, le noyau parafasciculaire ou la SNc pourraient jouer un rôle dans l'apparition de cette hyperactivité (Hollerman et Grace, 1992 ; Hassani et al., 1996 ; Kreiss et al., 1997 ; Ni et al., 2000).

L'hyperactivité des neurones sous-thalamiques dans le cas de la MP semble cependant se confirmer, et être acceptée par la communauté scientifique. La complexité des interactions existantes entre les différentes structures des ganglions de la base fait qu'il est encore difficile d'identifier avec certitude l'origine de l'hyperactivité du NST, qui doit probablement résulter d'une somme d'informations excitatrices ou désinhibitrices.

## **4- Traitements de la maladie de Parkinson**

Les traitements actuels de la MP ont considérablement bénéficié des progrès réalisés dans la compréhension de la physiopathologie de la MP. La stratégie thérapeutique est envisagée en fonction de la forme clinique et du stade évolutif de la maladie. Les progrès portent essentiellement sur une meilleure connaissance anatomique et biochimique des différents circuits évoqués précédemment. Toutefois, les traitements disponibles ne sont à ce jour que symptomatiques. Ainsi, bien que les troubles moteurs soient améliorés, la dégénérescence des neurones dopaminergiques se poursuit.

Nous évoquerons ici les deux principales approches thérapeutiques de la MP : l'approche médicamenteuse et l'approche chirurgicale.

### **4.1 Approche médicamenteuse**

La MP est l'une des rares maladies dégénératives du système nerveux central dont la symptomatologie peut être améliorée par des thérapeutiques médicamenteuses. Le traitement essentiel de la MP repose depuis les années 1960 sur l'administration de L-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-Dopa), et demeure encore à ce jour le meilleur traitement

symptomatique de cette maladie (Fehling, 1966 ; Cotzias et al., 1968). Ce traitement a rapidement été associé à des inhibiteurs de la dopa-décarboxylase (DDC) périphérique, enzyme qui convertit la L-Dopa en dopamine, afin de venir à bout des effets secondaires de la L-dopa sur le système nerveux périphérique (Celesia et Wanamaker, 1976 ; Pinder et al., 1976). A ce traitement se sont ajoutés les inhibiteurs des enzymes de dégradation de la dopamine, qui permettent de prolonger l'effet de la prise de L-Dopa (Birkmayer et al., 1975 ; Lyytinen et al., 1997). Dans les années 1970, la synthèse d'agonistes dopaminergiques agissant directement sur les récepteurs dopaminergiques post-synaptiques et possédant une durée de vie plus longue que la L-Dopa, a permis de compléter le champ d'action de la dopa-thérapie (Claveria et al., 1975 ; McDowell et Sweet, 1975).

#### ***4.1.1 Les médicaments du système dopaminergique***

##### **4.1.1.1 La L-Dopa**

Le choix de la L-Dopa comme outil thérapeutique est lié à deux de ses propriétés : 1) son statut de précurseur immédiat de la dopamine, et 2) sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique, propriété que ne possède pas la dopamine.

##### **a) Transformation de la L-Dopa**

D'après la voie de synthèse des catécholamines, la L-Dopa est transformée en dopamine par la DDC, encore appelée "décarboxylase des acides aminés aromatiques", enzyme présente à la fois dans les compartiments central et périphérique (pour mémoire, voir figure 16 page 72). Toutefois, la décarboxylation périphérique limitant le passage encéphalique de la L-Dopa et provoquant des effets indésirables (hypotension artérielle, nausées et vomissements), l'association de la L-Dopa à des inhibiteurs de la DDC périphérique a été généralisée dès les années 1970. Ces inhibiteurs, comme le benserazide ou la carbidopa, ont permis de réduire considérablement ces effets indésirables et de multiplier par 10 la biodisponibilité de la L-Dopa dans le cerveau. D'autre part, la L-Dopa pouvant également être métabolisée en 3-O-méthyl-dopa par la catéchol-O-méthyl transférase (COMT) périphérique (Kuruma et al., 1972 ; Da Prada et al., 1984 ; Männistö et al., 1992), l'association du traitement L-Dopa avec des inhibiteurs de la COMT s'avère nécessaire afin de potentialiser au mieux la synthèse de dopamine (Männistö et al., 1992 ; Da Prada et al., 1994 ; Kaakkola et al., 1994a ; Kaakkola et al., 1994b ; Davis et al., 1995 ; Kaakkola et al., 1995 ; Jorga et al., 1997).

Chez l'animal sain, la conversion de la L-Dopa en dopamine se produit essentiellement dans les neurones dopaminergiques. Toutefois, environ 20 % de l'activité

DDC du striatum est conservée après dégénération de la voie dopamine nigro-striée (Hefti et al., 1981), ce qui signifie que d'autres cellules de nature non dopaminergique expriment la DDC et peuvent assurer la décarboxylation de la L-Dopa en dopamine. Il existe à l'heure actuelle de nombreuses controverses sur l'identité de ces cellules (Lopez et al., 2001). Certains de ces types cellulaires positifs à l'immuno-marquage de la DDC ont été identifiés dans le striatum comme étant des terminaisons de neurones sérotoninergiques (Ng et al., 1972 ; Hökfelt et al., 1973 ; Hefti et al., 1981 ; Lopez et al., 2001 ; Maeda et al., 2005), des neurones noradrénergiques (Hökfelt et al., 1973), des cellules gliales (Nakamura et al., 2000), des cellules endothéliales des capillaires cérébraux (Bertler et al., 1966), des interneurons striataux et enfin des neurones efférents du striatum (Hefti et al., 1981). Les terminaisons sérotoninergiques, qui innervent de manière dense le striatum (Jacobs et Azmitia, 1992 ; Van der Kooy et Hattori, 1980a), sont considérées à l'heure actuelle comme étant les acteurs les plus vraisemblables pour la transformation de la L-Dopa en dopamine dans le striatum porteur d'une forte lésion dopaminergique (Tison et al., 1991 ; Tanaka et al., 1999). En outre, on observe une hyper-innervation sérotoninergique consécutive à une dégénérescence des terminaisons dopaminergiques dans le striatum (Snyder et al., 1986 ; Luthman et al., 1987 ; Zhou et al., 1991 ; Guerra et al., 1997 ; Maeda et al., 2003). Ce phénomène serait lié à la perte du contrôle inhibiteur exercé par le système dopaminergique nigro-strié sur l'innervation sérotoninergique issue du raphé. En effet, plusieurs études menées chez le rat (Zhou et al., 1991 ; Guerra et al., 1997 ; Balcioglu et al., 2003 ; Maeda et al., 2003 ; Liu et al., 2004) montrent que lorsque l'innervation dopaminergique nigro-striée diminue dans le striatum, une hyper-innervation du système sérotoninergique se développe rapidement.

Il existe également de nombreux points de vue divergents quant au devenir de la dopamine formée après conversion de la L-Dopa. Dans des conditions physiologiques normales, la dopamine est évacuée de l'espace extracellulaire par recapture, dégradation enzymatique ou diffusion. Dans un striatum porteur de lésion dopaminergique, la dopamine peut être :

- Soit stockée dans l'espace cytoplasmique extra-vésiculaire (Melamed et al., 1985 ; Wong et al., 1993), et libérée de manière totalement (Abercrombie et Zigmond, 1990 ; Mizoguchi et al., 1993) ou partiellement (Wong et al., 1993) indépendante de l'activité neuronale.
- Soit stockée dans des vésicules synaptiques de cellules non dopaminergiques, pour être finalement libérée par exocytose comme un "faux" neurotransmetteur par ces neurones non dopaminergiques (Miller et Abercrombie, 1999 ; Kannari et al., 2000, 2003).

A l'inverse de la dopamine endogène, la libération de la dopamine consécutive à la conversion de L-Dopa exogène dans le striatum déplété en dopamine ne serait pas régulée par les récepteurs dopaminergique D2 présynaptiques, ce qui confirmerait que la transformation de L-Dopa en dopamine puisse s'opérer également dans des cellules non dopaminergiques du striatum (Maeda et al., 1999).

Le striatum ne serait cependant pas l'unique site d'action de la L-Dopa. La SNc, siège de la dégénération des neurones dopaminergiques, semblerait jouer un rôle non négligeable, voire prépondérant, dans la néo-synthèse de dopamine à partir de L-Dopa (Orosz et Bennett, 1992). En effet, il semblerait que les corps cellulaires et les terminaisons dopaminergiques ne possèdent pas la même sensibilité à l'effet de la neurotoxine 6-OHDA. Ainsi, les corps cellulaires dopaminergiques de la substance noire dégénèreraient plus graduellement que les terminaisons dopaminergiques au niveau du striatum (Kirik et al., 1998 ; Sarre et al., 2004), assurant une innervation dopaminergique quasi-normale sur une durée plus longue. Ainsi, une étude de microdialyse menée chez le rat porteur de lésion 6-OHDA a révélé que, jusqu'à 90 % de perte neuronale dopaminergique chez les rats lésés, les taux de dopamine extracellulaire au niveau de la SNc restent similaires aux taux observés chez des rats sains (Sarre et al., 2004), tandis qu'au niveau striatal les taux de dopamine chutent dramatiquement lorsque la perte d'innervation dopamine atteint les 80 %. En outre, Sarre et al. (1998) ont également montré que la perfusion locale de L-Dopa dans la SNc via la technique de microdialyse in vivo chez le rat normal entraîne une augmentation des taux de dopamine extracellulaire au niveau nigral qui ne se répercute pas au niveau striatal (du côté ipsilatéral à la perfusion), ce qui suggère l'existence d'un contrôle étroit des taux de dopamine entre la SNc et le striatum.

#### b) Effets de la L-Dopa sur les systèmes glutamatergique et GABAergique

Par son effet sur la dopamine, l'administration exogène de L-Dopa a nécessairement des répercussions sur d'autres systèmes de transmission au sein des ganglions de la base. Dans le cadre de ce travail doctoral, nous nous sommes intéressés exclusivement aux systèmes glutamatergique et GABAergique.

##### *Le glutamate*

C'est au niveau striatal qu'ont été réalisées la plupart des études concernant l'impact de l'administration de L-Dopa sur le glutamate. Il semblerait que l'effet de la L-Dopa sur la libération de glutamate soit, au moins en partie, dépendant des paramètres d'administration. En effet, pour des doses dites faibles ou "thérapeutiques" de L-Dopa, certains auteurs ont observé une simple normalisation de l'hyperactivité glutamatergique consécutive à la lésion

dopamine chez des rats 6-OHDA (Picconi et al., 2004). A l'inverse, une augmentation des contenus en glutamate extracellulaire consécutive à l'administration de L-Dopa a été observée pour des doses plus fortes (Jonkers et al., 2002 ; Picconi et al., 2002). Ces doses fortes de L-Dopa semblent être également capables d'influer sur l'expression de transporteurs et de récepteurs glutamatergiques (Liévens et al., 2001 ; Robelet et al., 2004).

Une forte disparité au niveau de l'effet de la L-Dopa a été cependant observée chez plusieurs auteurs utilisant pourtant des doses semblables de L-Dopa. Elle pourrait être liée à des différences dans les modèles et les protocoles expérimentaux mis en œuvre, notamment la durée du traitement, le mode d'injection (intraveineux ou intrapéritonéal), les proportions L-Dopa/inhibiteur de la DDC périphérique utilisées, ou encore la nature des techniques utilisées (microdialyse, imagerie ou biologie cellulaire, études in vivo ou in vitro).

En dehors du territoire striatal, l'administration de L-Dopa semble activer la libération de glutamate dans la SNr de rats hémiparkinsoniens (Ochi et al., 2004 ; Robelet et al., 2004). Les auteurs ont également montré l'absence d'effet de la L-Dopa sur le glutamate au niveau du GP chez ces mêmes rats.

En résumé, la diversité des techniques utilisées pour les expériences que nous venons de citer rend difficile l'émergence d'un consensus clair sur le rôle de la L-Dopa sur le système glutamatergique striatal.

### *Le GABA*

Les systèmes glutamatergique et GABAergique étant étroitement liés (métaboliquement et fonctionnellement) au sein des ganglions de la base, l'influence de la L-Dopa sur le premier est susceptible d'affecter le second, notamment via l'expression de la glutamate décarboxylase, l'enzyme neuronale qui convertit le glutamate en GABA. Ainsi, une augmentation de l'expression ou de l'activité de la glutamate décarboxylase peut être considérée comme un signe d'hyperactivité GABAergique (Lindfors, 1993), tandis qu'une diminution de l'expression ou de l'activité de cette même enzyme peut être corrélée avec une diminution de la synthèse de GABA (Mason et al., 2001).

Une majorité d'articles parus rapporte une augmentation de l'expression de la glutamate décarboxylase (Zeng et al., 1995 ; Soghomonian et al., 1996 ; Bacci et al., 2002 ; Nielsen et Soghomonian, 2003, 2004) ou de son activité (Juncos et al., 1989 ; Engber et al., 1991) dans le striatum déplété en dopamine. Plus précisément, c'est l'isoforme GAD67 qui est affectée après lésion dopaminergique. Son expression est augmentée au niveau striatal (Soghomonian et al., 1996) et pallidal (Stephenson et al., 2005) chez des singes MPTP, mais



également chez des rats hémiparkinsoniens au niveau entopédonculaire et sous-thalamique (Nielsen et Soghomonian, 2003). Là encore, comme dans le cas du glutamate, les résultats obtenus après traitement L-Dopa révèlent des différences fortement corrélées à la fréquence du traitement administré. Ainsi, un traitement L-Dopa chronique intermittent (1 à 2 injections par jour sur plusieurs semaines) exacerberait l'augmentation de l'expression ou de l'activité de la GAD consécutive à une lésion dopaminergique, tandis qu'un traitement chronique continu (utilisation d'une pompe osmotique) ne changerait pas les modifications engendrées par la lésion dopaminergique (Juncos et al., 1989 ; Engber et al., 1991 ; Soghomonian et al., 1996 ; Katz et al., 2005). Néanmoins, d'autres études montrent que la L-Dopa administrée de manière chronique intermittente ou continue reverse totalement (Nielsen et Soghomonian, 2003, 2004) ou partiellement (Zeng et al., 1995) l'augmentation de glutamate décarboxylase striatale (GAD67 principalement) induite par la lésion 6-OHDA.

Outre son effet sur la glutamate décarboxylase, la L-Dopa peut également agir directement sur la libération de GABA. Utilisant la microdialyse intracérébrale, Ochi et al. (2004) décrivent une augmentation de la libération de GABA dans la SNr, mais pas dans le globus pallidus. Cette augmentation pourrait être liée à une facilitation de la transmission GABAergique via la voie "directe", car la voie indirecte ne semble pas affectée. Aceves et al. (1991), qui ont travaillé in vitro sur des coupes de cerveau de rat 6-OHDA, ont montré que la L-Dopa était capable d'induire la libération de GABA au niveau de la SNr, de l'EP, du GP et du striatum du côté ipsilatéral à la lésion dopaminergique, et que cet effet était dépendant des récepteurs dopaminergiques D1 présynaptiques.

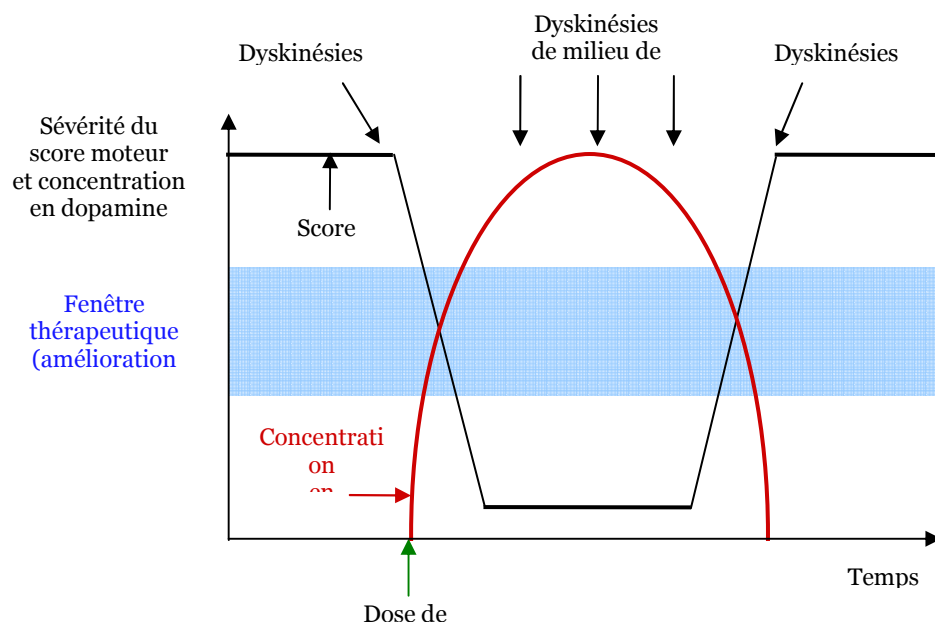
Pour résumer, la L-Dopa agirait donc indirectement via sa bio-transformation en dopamine (Lopez et al., 2001), et cette dopamine néo-formée interagirait à son tour avec les autres neurotransmetteurs (glutamate, GABA...) de manière encore très discutée dans la littérature à ce jour. Ces interactions en cascade avec les autres systèmes de transmission et les caractéristiques pharmacocinétiques de la L-Dopa sont à l'origine d'une perte de contrôle moteur progressive au fur et à mesure de l'avancée de la maladie (et donc de la perte neuronale dopaminergique), et de l'apparition de manifestations motrices involontaires et invalidantes, que nous allons exposer dans le prochain paragraphe.

### c) Origine des fluctuations motrices et des dyskinésies induites par la L-Dopa

Comme tout traitement actif, la L-Dopa, aussi efficace soit-elle, n'est pas exempte d'effets secondaires indésirables dont les plus connus sont les mouvements anormaux involontaires, encore appelés dyskinésies. Les principaux problèmes posés par la prise de

cette molécule sont d'ordre pharmacocinétique, en raison d'une demi-vie plasmatique assez courte (de l'ordre d'une heure et demie à trois heures). Dans les premiers temps de la maladie, les neurones dopaminergiques survivants assurent l'amortissement de cette cinétique grâce à leur capacité de stockage et de sécrétion endogène de dopamine, et l'effet de la L-Dopa reste stable sur une longue durée. Mais lorsque la perte neuronale devient majeure, la dopathérapie seule ne permet plus d'assurer une stimulation stable du système dopaminergique. L'état moteur du patient fluctue parallèlement à la concentration plasmatique en L-Dopa, et apparaissent alors des troubles moteurs tels que les dyskinésies et les fluctuations motrices (Figure 14 ci-dessous), résultant probablement d'une stimulation intermittente des récepteurs dopaminergiques, voire d'une modification de leur sensibilité (Fabbrini et al., 1988).

Les troubles moteurs surviendraient essentiellement au moment où la concentration plasmatique de L-Dopa est la plus forte (dyskinésies), ou la plus faible (dystonie "off" L-Dopa). La cause de ces troubles n'est pas encore précisément établie, mais elle semblerait résulter à la fois de l'étendue des lésions dopaminergiques et du traitement L-Dopa, puisqu'une étude a montré que des personnes saines traitées par erreur pendant des années à la L-Dopa ne présentent pas de dyskinésies (Scigliano et al., 1990). Toutefois, une étude très récente menée chez le primate traité au MPTP a montré que l'apparition de dyskinésies n'est pas corrélable avec l'étendue et la configuration des lésions dopaminergiques nigrostriatales (Guigoni et al., 2005).



**Figure 14 : Représentation de l'évolution de la concentration en dopamine et de la sévérité du score moteur en fonction du temps lors de l'administration d'une dose de L-Dopa.**

Pour résumer, la L-Dopa apparaît depuis de nombreuses années comme le traitement "standard" de la MP, mais ses inconvénients majeurs (apparition de fluctuations motrices et de dyskinésies au cours du temps) ont poussé au développement d'autres stratégies pharmacologiques qui, en association avec la L-Dopa, sont destinées à pallier ses insuffisances et limiter au mieux ses effets indésirables. En tête de liste de ces substances thérapeutiques figurent les agonistes dopaminergiques.

#### 4.1.1.2 Les agonistes dopaminergiques

Les agonistes dopaminergiques sont souvent prescrits en première intention pour retarder l'utilisation de la L-Dopa, et ainsi limiter l'apparition des dyskinésies. Leur demi-vie est plus longue, et ils entraînent moins de mouvements involontaires (Damier, 2000 ; Schwarz, 2003). Néanmoins, leur effet est moins puissant que celui de la L-Dopa, et ils partagent avec cette dernière certains effets secondaires en rapport avec la stimulation du système dopaminergique : troubles digestifs, hypotension, hallucinations visuelles et confusion. C'est la raison pour laquelle une association avec la L-Dopa s'avère nécessaire au bout de quelques années. Les agonistes dopaminergiques agissent directement sur les récepteurs dopaminergiques postsynaptiques, indépendamment du stock de neurones dopaminergiques restants (Playford et Brooks, 1992). Tous les agonistes dopaminergiques stimulent les récepteurs D2, initialement considérés comme étant seuls impliqués dans les effets moteurs de la dopamine.

On distingue toutefois deux classes d'agonistes :

- Les plus anciens sont dérivés des alcaloïdes de l'ergot de seigle ou "ergopeptines", comme par exemple la bromocriptine, le lisuride, le pergolide et la cabergoline. Ils possèdent en outre des propriétés alpha-adrénergiques et sérotoninergiques, responsables d'effets indésirables (vasospasme, œdème des membres inférieurs, fibrose pulmonaire ou rétropéritonéale).

- Les agonistes plus récents sont des composés synthétiques plus spécifiques des récepteurs D2, présentant moins d'effets indésirables, comme l'apomorphine, le ropinirole et le pramipexole, entre autres. Certains effets adverses restent cependant communs aux agonistes dopaminergiques et à la L-Dopa, en particulier les effets psychiatriques (confusion, hallucinations). Ils seraient liés à une stimulation des récepteurs cortico-limbiques D3 et D4, mais peut-être également sérotoninergiques, si l'on s'en réfère à la plus forte incidence de ces manifestations rencontrées avec des molécules possédant une activité agoniste sérotoninergique (bromocriptine, lisuride).

#### 4.1.1.3 Les inhibiteurs enzymatiques

L'objectif de ces molécules est de prolonger l'effet thérapeutique de la L-Dopa en inhibant les enzymes participant à sa dégradation.

##### a) Les inhibiteurs de la monoamine oxydase

La monoamine oxydase (MAO) a été la première cible pharmacologique dans ce domaine, aboutissant à la commercialisation en Europe dans les années 1970 de la sélégiline, un inhibiteur non compétitif sélectif de la MAO<sub>B</sub>. Ce produit possède un léger effet symptomatique propre et prolonge effectivement la durée d'action de la L-Dopa (Lees et al., 1977 ; Schachter et al., 1980). Il traverse bien la barrière hémato-encéphalique, sa demi-vie plasmatique est longue, de l'ordre de 40 heures, mais l'effet thérapeutique est bien plus prolongé, puisque lié au "turn-over" de la monoamine oxydase, voisin de 10 jours. Un hypothétique effet neuroprotecteur a été proposé à l'issue de l'étude DATATOP (Parkinson Study Group, 1996a, 1996b) mais reste difficile à prouver du fait d'une intrication avec l'effet symptomatique (Olanow et al., 1995 ; Ahlskog, 1996).

##### b) Les inhibiteurs de la COMT

Tous les médicaments de cette classe pharmacologique sont des inhibiteurs compétitifs sélectifs de la COMT, qui peuvent agir au niveau central (tolcapone) ou périphérique (entacapone). Tous ces inhibiteurs augmentent la biodisponibilité et la demi-vie plasmatique de la L-Dopa. L'effet thérapeutique peut ainsi être considéré comme un lissage des concentrations plasmatiques de L-Dopa. Ces molécules sont efficaces dans le traitement des fluctuations d'effet d'intensité modérée (augmentation de la durée des périodes "on")(voir pour revue Deane et al., 2004), et ont récemment montré une diminution de l'apparition des dyskinésies chez un modèle de singe MPTP (Jenner, 2004).

### **4.1.2 Les médicaments non dopaminergiques**

#### 4.1.2.3 Les anticholinergiques

Les anticholinergiques réduisent l'hyperactivité cholinergique striatale résultant de la réduction du tonus inhibiteur dopaminergique. Classiquement, ils sont sensés agir préférentiellement sur la rigidité et le tremblement (Fahn, 1998), mais ont peu d'action sur les autres symptômes cliniques de la maladie (Uitti, 1998). L'utilisation de l'atropine a été introduite en France vers 1870 par Charcot, qui avait remarqué son 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 MP avant

l'avènement de la L-Dopa. Actuellement, ils ne sont plus utilisés, leurs effets indésirables (confusion, troubles mnésiques), directement liés à l'activité muscarinique, étant favorisés par une détérioration intellectuelle ou leur utilisation à un âge avancé.

#### 4.1.2.2 Les antagonistes glutamatergiques

L'utilisation d'antagonistes du glutamate est liée à deux observations. La première est l'hyperactivité caractéristique des neurones glutamatergiques du NST lors de la MP, semblant jouer un rôle clé dans la physiopathologie de la maladie (Bergman et al., 1990). La seconde, reposant en partie sur cette hyperactivité du NST, fait allusion au processus dégénératif engendré par l'excitotoxicité du glutamate. L'inhibition de la transmission glutamatergique pourrait donc apporter des effets bénéfiques au niveau de la symptomatologie de la maladie, et ralentir le processus dégénératif (Greenamyre et al., 1994) si toutefois son implication était clairement démontrée.

Les antagonistes des récepteurs glutamatergiques à l' $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionate (AMPA) et au N-méthyl-D-aspartate (NMDA) ont des effets bénéfiques sur les symptômes de la MP quand ils sont administrés de manière systémique chez les modèles rongeur et primate de la MP (Carlsson et Carlsson, 1990 ; Klockgether et al., 1991 ; Löschmann et al., 1991 ; Greenamyre et al., 1994 ; Starr, 1995). De plus, ces antagonistes glutamatergiques interagissent en synergie avec la L-Dopa pour produire des effets anti-parkinsoniens à faible dose (Carlsson et Carlsson, 1990 ; Greenamyre et al., 1994 ; Jonkers et al., 2000). Chez les patients, ces effets concernent davantage l'akinésie et la rigidité que le tremblement (Parkes et al., 1974 ; Koller, 1986), et permettraient de réduire les dyskinésies induites par la L-Dopa (Blanchet et al., 1998). Cependant, l'inconvénient majeur de ces antagonistes à large spectre est leur manque de spécificité, à l'origine d'effets indésirables tels que les psychoses (voir pour revue Riederer et al., 1991 ; Rogawski, 1993).

## 4.2 Approche neurochirurgicale

### 4.2.1 Les lésions

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 ; Guiot, 1958). 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 et al., 1992 ; Baron et al., 1996 ; Lang et al., 1997). Les effets de cette chirurgie

prédominant 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) apparaissent 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 et al., 2002).

Les lésions du thalamus, et plus particulièrement du thalamus ventromédian, ont montré une efficacité particulière dans le traitement des tremblements essentiels et parkinsoniens (Schuurman 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 sous-thalamotomie 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 sous-thalamotomie 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. Cependant la sous-thalamotomie 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 sous-thalamotomie 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).

### ***4.2.2 La stimulation cérébrale profonde et ses cibles***

Les années 1990 ont été marquées par le retour de la neurochirurgie comme traitement de la MP (Obeso et al., 1997 ; Lang et Lozano, 1998). Ce renouveau découle de plusieurs observations et d'avancées dans la connaissance des circuits moteurs :

- 1) Les limites du traitement dopaminergique sur une longue durée, en particulier le défi thérapeutique que représentent les fluctuations motrices "on/off" et les dyskinésies ;
- 2) La démonstration que l'ablation sélective du pallidum interne entraîne une amélioration nette des signes parkinsoniens, ceci avec un risque opératoire et des complications post-opératoires devenues faibles par comparaison avec les résultats antérieurs (Laitinen et al., 1992) ;
- 3) Les progrès réalisés dans les techniques de chirurgie stéréotaxique, grâce notamment à l'utilisation de micro-électrodes d'enregistrement dans les noyaux gris centraux, et aux nouvelles méthodes d'imagerie médicale, particulièrement l'IRM.

La première cible neurochirurgicale choisie fut le noyau ventromédian intermédiaire du thalamus. La technique de stimulation chronique du thalamus a d'abord été utilisée dans le cadre du traitement de certaines douleurs chroniques, avant d'être proposée dans le traitement de la MP (Hosobushi et al., 1973 ; Ray et Burton, 1980). La SHF était initialement utilisée pendant les interventions pour repérer la cible de thalamotomie (Guiot., 1968). Il fut ensuite proposé de réaliser une stimulation chronique à haute fréquence (130 Hz) du noyau ventromédian intermédiaire du thalamus chez des patients parkinsoniens atteints de tremblements sévères et ayant déjà subi, du côté controlatéral, une thalamotomie (Benabid et al., 1987). La stimulation thalamique s'avérant aussi efficace que la thalamotomie, celle-ci fut rapidement supplantée, ce qui permit de réduire les effets secondaires tout en ayant l'avantage d'être pratiquée de façon bilatérale (Benabid et al., 1991; Blond et Siegfried, 1991, Blond et al., 1992 ; Caparros-Lefebvre et al., 1993 ; Nguyen et Degos, 1993 ; Pollak et al., 1997).

Toutefois, la stimulation thalamique ne se révélant efficace que sur le tremblement parkinsonien et n'empêchant pas l'apparition secondaire ou l'aggravation des autres signes de la maladie, ni la survenue de dyskinésies et de fluctuations motrices, d'autres cibles chirurgicales ont été recherchées pour la stimulation cérébrale profonde. Plusieurs groupes ont ainsi développé une technique de stimulation pallidale comme alternative à la pallidotomie (Siegfried et Lippitz, 1994 ; Bejjani et al., 1997 ; Gross et al., 1997 ; Krack et al., 1998a, 1998b), mais les résultats sont apparus hétérogènes et variables selon les équipes. En effet, la stimulation pallidale peut avoir des effets opposés sur l'akinésie, le tremblement et les

dyskinésies selon le positionnement de l'électrode et les paramètres utilisés (Bejjani et al., 1997 ; Krack et al., 1998b). En effet, la stimulation de la zone ventrale du pallidum est efficace sur les dyskinésies, mais tend à aggraver l'akinésie, alors que la stimulation de la zone postéro-dorsale du pallidum tend à améliorer le syndrome akinéto-rigide et moins les dyskinésies (Bejjani et al., 1997). Tout se passe comme si la stimulation pallidale bloquait l'effet anti-akinétique de la L-Dopa (Krack et al., 1998a). Ceci rend plus complexes les réglages et la compréhension de l'effet de la stimulation pallidale. De plus, les doses de L-Dopa et d'agonistes dopaminergiques des patients ne sont pas réduites, et doivent parfois même être augmentées après chirurgie.

L'ensemble de ces résultats cliniques montre que le choix de la cible est primordial pour la reproductibilité des effets de la SHF. L'essor de la stimulation du NST est venu des limites ou des difficultés rencontrées avec la stimulation thalamique ou pallidale. 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 du NST (Bergman et al., 1990 ; Aziz et al., 1991 ; Guridi et al., 1993). Par la suite, l'équipe bordelaise du Pr Bioulac a été la première à démontrer toute l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST chez le singe MPTP (Benazzouz et al., 1993). En effet, le Dr Benazzouz a pu clairement observer que l'effet de cette SHF du NST était comparable à celui d'une lésion. C'est sur la base de ces observations, mais aussi grâce à la venue du Dr Benazzouz à Grenoble pour un stage post-doctoral et à l'expérience technique acquise par les équipes grenobloises des Prs Benabid et Pollak sur les stimulations thalamiques que la première application chez l'homme de la SHF du NST s'est faite à Grenoble il y a plus de dix ans (Pollak et al., 1993). Dès lors, la SHF du NST est devenue une technique 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 et al., 1995, 1998 ; Pollak et al., 1996 ; Thobois et al., 2002 ; Krack et al., 2003). L'apparition de mouvements involontaires a été rapportée dans quelques cas, mais ces effets secondaires peuvent être facilement supprimés en modifiant les paramètres de stimulation (Limousin et al., 1996). Enfin, la stimulation du NST permet de réduire considérablement voire de supprimer les doses quotidiennes de médication dopaminergique (L-Dopa et agonistes) prescrite 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 SHF du thalamus, du GPi et du NST sur les différents symptômes de la MP (Tableau 3 ci-dessous) montre que la thérapie neurochirurgicale doit être ajustée au profil symptomatique de chaque patient.

	Thalamus		GPi		Noyau sous-thalamique	
	Lésion	SHF	Lésion	SHF	Lésion	SHF
<b>Bradykinésie</b>	-	-	+	++	+	++
<b>Tremblement</b>	++	++	+	+	+	++
<b>Rigidité</b>	+	+	+	+	+	++
<b>Dyskinésies</b>	+/-	+/-	++	++	+	++
<b>Réduction du traitement pharmacologique</b>	-	-	-	-	+	++

**Tableau 3 : Récapitulatif des principaux effets de la lésion ou de la SHF du thalamus, du GPi et du NST sur les principaux symptômes moteurs de la maladie de Parkinson (D'après Thobois et al., 2005).**

#### *4.2.3 La stimulation électrique à haute fréquence du NST et mécanismes évoqués*

Comme nous l'avons déjà indiqué plus haut, durant ces vingt dernières années, les études expérimentales conduites sur 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 pu démontrer récemment que le NST était le siège de multiples altérations à l'état parkinsonien (Cf. paragraphe 3.3.3). Ainsi, sur la base de ces observations, l'hyperactivité du NST s'est révélée comme un élément clé dans l'apparition des symptômes moteurs de 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 venons d'évoquer.

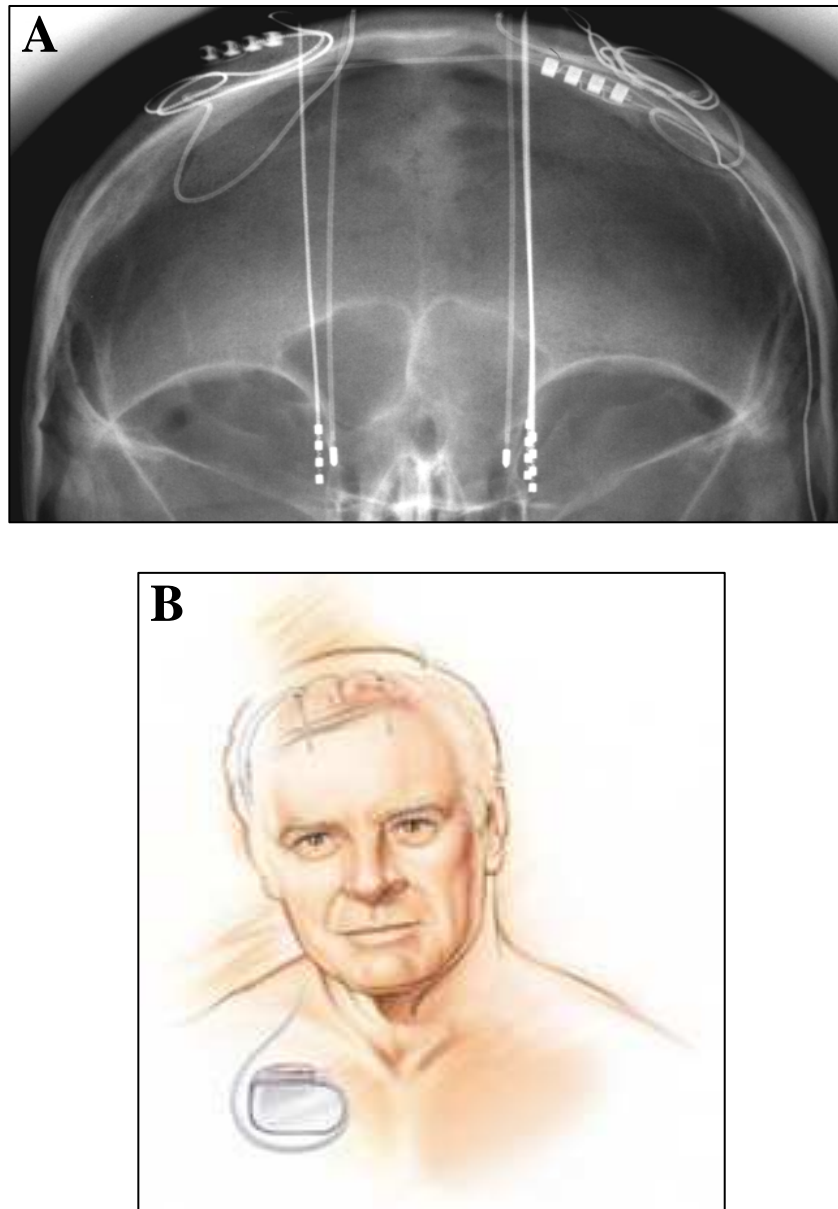
Il est incontestable que la SHF du NST représente à ce jour le traitement le plus efficace des différents types de perturbations motrices du patient parkinsonien (Benabid et al., 1991 ; Krack et al., 1997) et des dyskinésies tardives induites par la L-Dopa (Limousin et al., 1995 ; Krack et al., 1997) (Figure 15 page 68). 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, 2002b ; McIntyre et al., 2004a, 2004b ; 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 ; Magariños-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 de la CoI dans le NST (Tai et al., 2003) et une baisse de l'activité de la SNr et de l'EP chez le rat après stimulation du NST (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. 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 celles utilisées 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 engendrait une excitation des neurones sous-thalamiques (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/EP, structure de projection du NST (Hashimoto et al., 2003). Enfin, des études de microdialyse réalisées chez le rat sain ont permis d'observer une augmentation des taux de glutamate 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 et soma et les axones, de même que les fibres passant à travers ou à proximité de la structure stimulée (McIntyre et al., 2004c, 2004d).



**Figure 15 : Dispositif utilisé pour la stimulation électrique du noyau sous-thalamique.**

A) Radiographie montrant l'implantation bilatérale d'une électrode de stimulation dans le noyau subthalamique chez un malade parkinsonien opéré à Grenoble (Cliché service de neurochirurgie, Pr Benabid, CHU Grenoble). B) Les deux électrodes de stimulation implantées dans le noyau subthalamique sont reliées au neurostimulateur par un fil passant sous le scalp et derrière l'oreille. Le neurostimulateur, sorte de pacemaker, est lui-même positionné sous la clavicule (source Medtronic)

De plus, des études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques montrent que les effets de la SHF sont largement dépendants des paramètres de stimulation utilisés. A basse fréquence, 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, quelle que soit la valeur des autres paramètres de stimulation (Garcia et al., 2005). Cette absence d'effet s'accompagne d'une absence de modification des taux de glutamate et de GABA dans la SNr chez le rat (Windels et al., 2003). Enfin, Maurice et al. ont montré en 2003 qu'au cours de la SHF du NST, l'activité des neurones de la SNr de rats anesthésiés dépendait de l'intensité de stimulation. Ainsi, pour des fortes intensités ( $> 80\mu\text{A}$ ), les neurones étaient activés alors qu'ils étaient inhibés à de faibles intensités (20-80  $\mu\text{A}$ ).

Pour des paramètres classiquement utilisés en clinique humaine (130-185  $\mu\text{A}$ , 60-100  $\mu\text{s}$ , 1-3mA), 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) au cours de 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<sub>A</sub>, dans la SNr permettait d'abolir l'inhibition de l'activité initialement induite au sein de cette structure par la SHF du NST (Maurice et al., 2003). D'autre part, des études de microdialyse réalisées chez le rat 6-OHDA ont permis d'observer qu'une stimulation d'une heure induisait une augmentation des taux de GABA au sein de la SNr (Windels et al., 2005 ; Boulet et al., 2006). La voie GABAergique pallido-nigrale semble directement impliquée dans l'inhibition de l'activité des voies de sortie exercée par la SHF du NST. En effet, la lésion du GPe/GP 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/GP par une application locale de gabazine, un antagoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>, permet de bloquer l'inhibition des neurones du GPi/EP induite par la SHF du NST chez le singe (Kita et al., 2005).

Les recherches récentes 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/EP et le NST de singes traités 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 du NST et d'autres structures des ganglions de base pourrait expliquer en partie son efficacité thérapeutique (Meissner et al., 2005 ; Foffani et al., 2006). En ce qui concerne le devenir de la médication dopaminergique post-opératoire, les doses quotidiennes de L-Dopa et d'agonistes dopaminergiques peuvent être diminuées de moitié dès les premiers jours après l'intervention, voire stoppées dans certains cas (Limousin et al., 1998 ; Moro et al., 1999), diminuant ou faisant disparaître de ce fait les complications motrices liées à la L-Dopa (Russmann et al., 2004). Une étude clinique menée par Moro et collaborateurs en 2002 a montré que la stimulation bilatérale chronique du NST tendait à diminuer la magnitude de la réponse motrice de courte durée engendrée par la prise de L-Dopa (qui correspond aux variations de la réponse motrice suivant la concentration plasmatique de L-Dopa, en relation avec la sévérité de la maladie), sans toutefois changer la durée et la latence de cette réponse. En outre, cette même stimulation induirait une diminution significative des dyskinésies L-Dopa-induites proportionnelle à la durée de la stimulation. Un tel effet de la stimulation du NST dans la diminution des dyskinésies a été décrit par d'autres auteurs, qui ont observé une diminution substantielle de ces mouvements anormaux chez des patients stimulés, sans que leurs doses de L-Dopa soient réduites après chirurgie (Rodriguez et al., 1998 ; Figueiras-Mendez et al., 1999). Au final, il semblerait que la stimulation continue du NST induise une désensibilisation lente et partielle du système dopaminergique, qui aurait pour conséquence de réduire les mouvements anormaux involontaires liés à la dopathérapie.

De nos jours, très peu d'études ont abordé la question des interactions possibles entre les effets d'un traitement à la L-Dopa et ceux induits par la SHF du NST. Cette question fait partie des investigations expérimentales que nous avons conduites au cours de ce travail doctoral et que nous développerons plus loin.

Au final, l'amélioration des handicaps moteurs induite par la SHF du NST pourrait résulter d'une diminution de l'hyperactivité pathologique du complexe de sortie SNr-GPi/EP, restaurant ainsi une activité normale des structures connectées aux voies de sortie des ganglions de la base.

## 5- Les neurotransmetteurs étudiés

### 5.1 La dopamine

Connue depuis 1911, la dopamine a été détectée au niveau de la substance noire en 1957 par Montagu, puis au niveau du striatum par Carlsson en 1959. Son rôle dans les fonctions d'éveil et de motricité a été établi durant les années suivantes.

#### 5.1.1 Synthèse de la dopamine

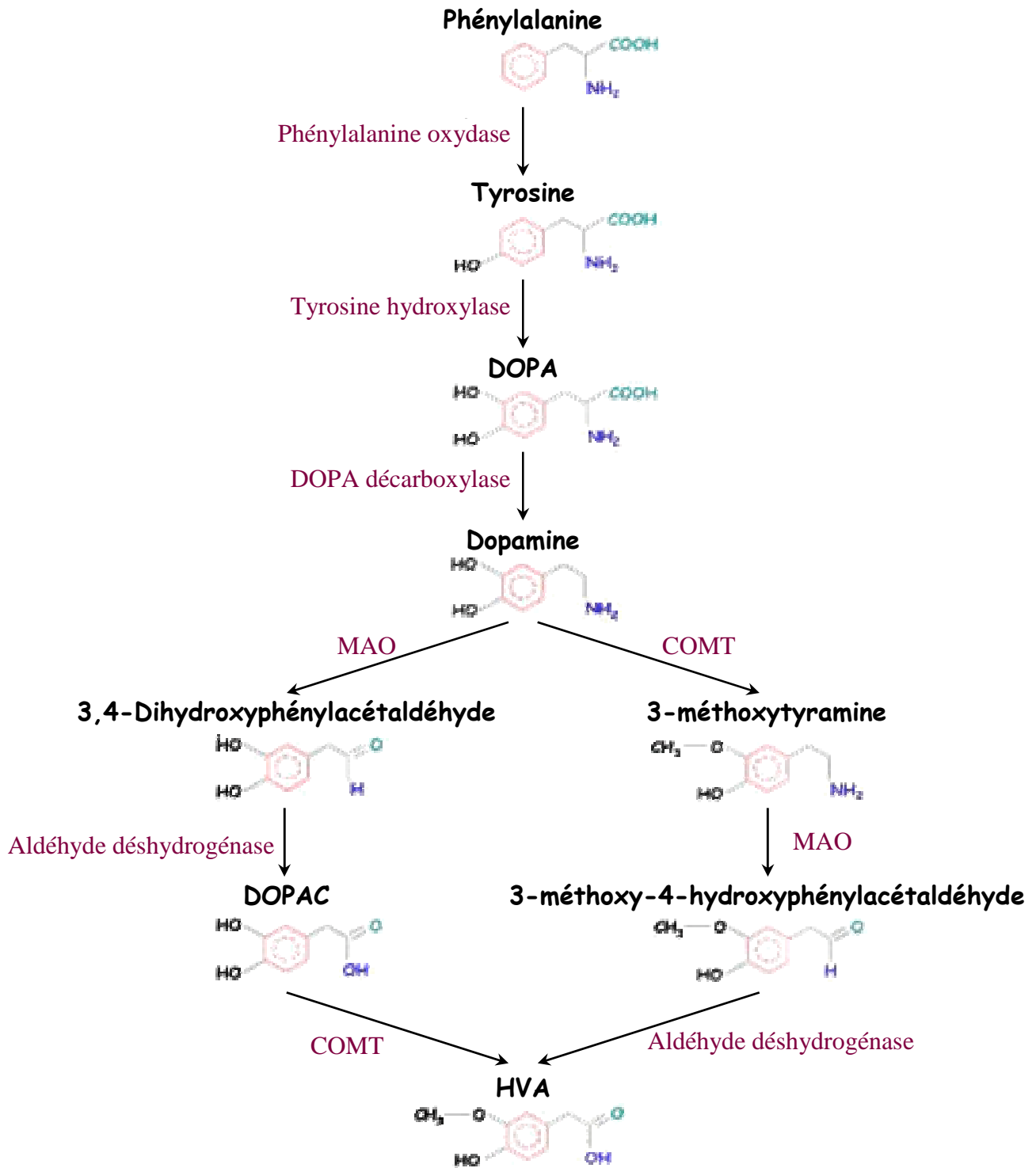
La synthèse de dopamine, intra-neuronale, se déroule principalement au niveau des terminaisons, bien qu'une part importante soit également synthétisée dans le corps cellulaire, le trajet axonal et ses dendrites.

Deux étapes enzymatiques sont nécessaires pour transformer la L-tyrosine en dopamine (figure 16 , page suivante) :

- La première étape consiste en la **transformation de L-tyrosine en L-Dopa**, et se déroule dans la phase soluble du cytoplasme. Cette réaction est catalysée par la **tyrosine hydroxylase** et constitue **l'étape limitante de la synthèse de dopamine**. En effet, bien que la tyrosine paraisse toujours en quantité suffisante pour saturer les sites actifs de l'enzyme, l'augmentation de la disponibilité en L-tyrosine n'accroît pas la quantité de dopamine formée. A l'inverse, la moindre inhibition apportée à l'activité de la tyrosine hydroxylase (par l'alpha-méthyl-p-tyrosine) diminue la formation de L-Dopa.

- La deuxième étape est caractérisée par la **formation de dopamine à partir de L-Dopa**. L'enzyme responsable de cette réaction est la **dopa-décarboxylase** ou décarboxylase des acides aminés aromatiques. Cette enzyme est également d'origine cytosolique mais n'est pas limitante de la réaction. C'est la raison pour laquelle l'administration de L-Dopa exogène permet d'accroître la synthèse de dopamine.

Une partie de la dopamine synthétisée est ensuite stockée dans des vésicules synaptiques présentes en très grandes quantités au niveau des terminaisons neuronales. Il existe également de la dopamine cytoplasmique sous forme libre mais en faible quantité, qui est régulée en permanence par une enzyme de dégradation intracellulaire : la monoamine oxydase (MAO). Cette enzyme peut être dans ou hors des neurones (Cooper et al., 1996). De cette manière, malgré une libération permanente de dopamine, les concentrations intracellulaires de ce transmetteur au niveau des terminaisons restent relativement stables.



**Figure 16 : Métabolisme de la dopamine.**

COMT : catéchol-O-méthyl transférase ; DOPA : dihydroxyphénylalanine ; DOPAC : acide 3,4-dihydroxyphénylacétique ; HVA : acide homovanillique ; MAO : monoamine oxydase.

### **5.1.2 Libération de la dopamine**

Lors de l'arrivée d'un potentiel d'action, la libération de dopamine dans l'espace synaptique se fait par **exocytose** au niveau des terminaisons pré-synaptiques (Figure 17, page 75). Quelle que soit l'origine intracellulaire de la dopamine, 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 dopamine, 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 dopamine (DA-T) qui assure habituellement la recapture du neuromédiateur. En effet, ce DA-T peut, selon le gradient de dopamine, fonctionner en sens inverse et permettre la sortie de ce neurotransmetteur. Si on introduit de la tyrosine tritiée dans le milieu, celle-ci est suivie immédiatement par une détection de dopamine marquée, donc fraîchement synthétisée. Les cellules dopaminergiques libèrent donc préférentiellement de la dopamine qui vient d'être synthétisée. Les réserves de dopamine viendraient alors plutôt de stocks plus anciens de dopamine ou d'excédents de synthèse (voir pour revue Fuxe et Agnati, 1985). Une libération dendritique  $Ca^{2+}$ -dépendante de dopamine a également été mise en évidence, et semble avoir un rôle physiologique important (Rosales et al., 1997).

La dopamine ainsi libérée peut se fixer sur les récepteurs dopaminergiques pré- ou post-synaptiques, être dégradée directement dans la fente synaptique ou après recapture dans les cellules gliales ou bien recaptée par les terminaisons dopaminergiques qui l'ont libérée (dans 80 % des cas), puis soit recyclée, soit dégradée dans les neurones (Figure 17, p.75).

### **5.1.3 Récepteurs dopaminergiques**

La dopamine, une fois libérée dans la fente synaptique, va entrer en contact avec des récepteurs dopaminergiques (Figure 17, p.75). Cinq types de récepteurs dopaminergiques ont été clonés (voir pour revue Costentin, 1991), et sont regroupés en deux familles :

- Les récepteurs de type  $D_1$  ou "D<sub>1</sub>-like", qui regroupent les récepteurs  $D_1$  proprement dits, et les récepteurs  $D_5$  ;
- Les récepteurs de type  $D_2$  ou "D<sub>2</sub>-like", qui comprennent les récepteurs  $D_2$  proprement dits, ainsi que des récepteurs  $D_3$  et  $D_4$ .

L'ensemble de ces récepteurs appartient à la super famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G de nature excitatrice ou inhibitrice. Les récepteurs



"D<sub>1</sub>-like" sont couplés positivement à l'adénylate cyclase (Billard et al., 1984 ; Hess et al., 1986). Les "D<sub>2</sub>-like" sont couplés négativement à ou sont indépendants de l'activité adényl cyclasique (Kebabian et Calne, 1979 ; Clark et White, 1987).

La répartition encéphalique de ces divers types de récepteurs permet de déduire leur implication dans divers processus fonctionnels. Ainsi, les récepteurs D<sub>1</sub>, post-synaptiques et plutôt ubiquitaires bien que spécialement abondants dans le striatum, seraient impliqués dans l'activité motrice et, au niveau du cortex, dans la "mémoire de travail" (mémoire à court terme) (Bartus, 1978 ; voir pour revue Barch, 2004). Les récepteurs D<sub>2</sub>, pré- et post-synaptiques, sont essentiellement présents dans les noyaux gris centraux et impliqués dans la motricité. Les récepteurs D<sub>3</sub> et D<sub>4</sub> sont préférentiellement localisés au niveau du système limbique. Les états de confusion et les hallucinations observés pendant certains traitements anti-parkinsoniens seraient dus à leur stimulation. Des interactions entre récepteurs existeraient au niveau synaptique. Ainsi, la stimulation simultanée des récepteurs D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> serait synergique, comme en témoigne la plus grande efficacité chez le parkinsonien des agonistes dopaminergiques associant une activité D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> (Andersen et Gazzara, 1993 ; Bonuccelli et al., 2002).

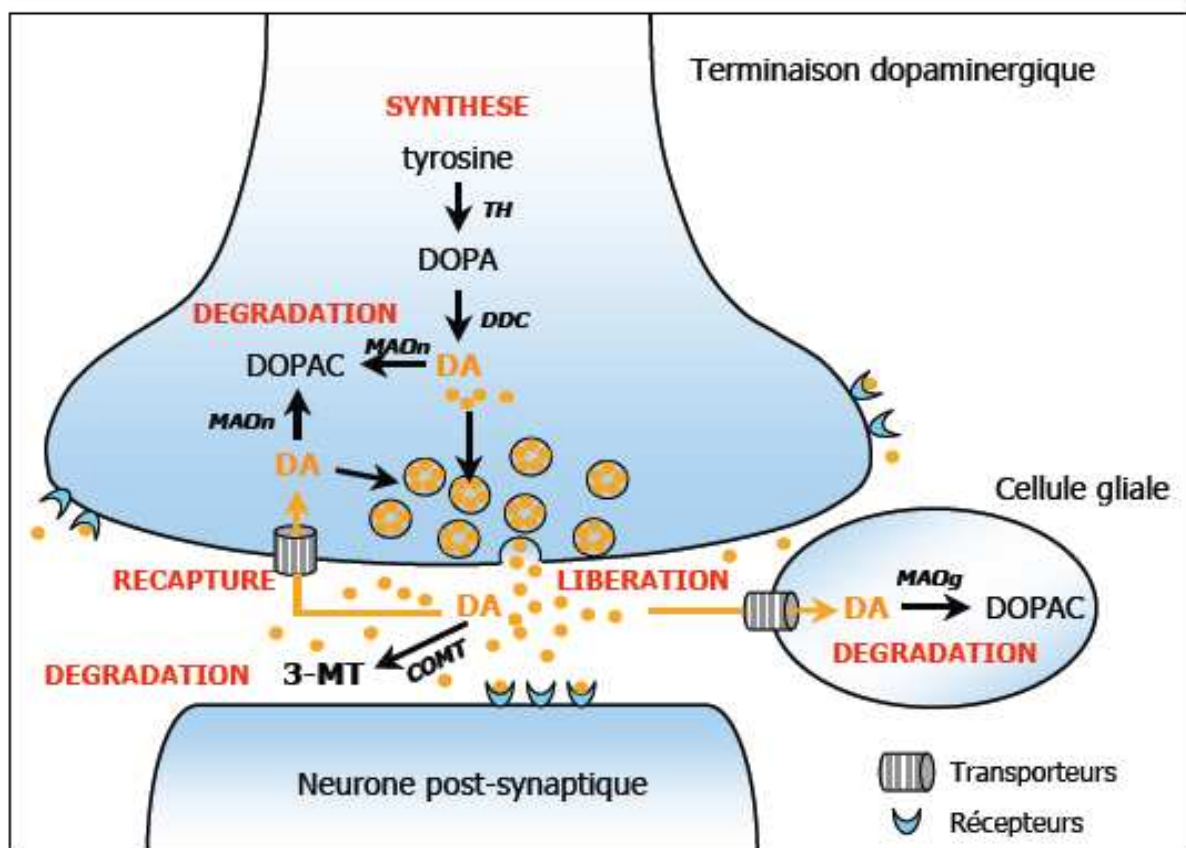
Une hyperactivité pathologique des transmissions dopaminergiques peut conduire à des accès maniaques, des bouffées délirantes, une dyskinésie, une hyperkinésie et des dystonies. On peut également réduire la transmission dopaminergique en inhibant soit la synthèse de dopamine avec par exemple de l'alpha-méthyl-p-tyrosine (Corrodi et al., 1967), soit son stockage vésiculaire (réserpine), ou en utilisant un antagoniste des récepteurs dopaminergiques avec des neuroleptiques tels que la chlorpromazine et l'halopéridol (Meltzer et al., 1994).

#### ***5.1.4 Dégradation de la dopamine***

Près de 80 % de la dopamine libérée dans la fente synaptique sont recaptés par les terminaisons des neurones dopaminergiques pré-synaptiques. La dopamine recaptée est alors soit recyclée, c'est-à-dire "restockée" dans les vésicules synaptiques en attente d'une nouvelle dépolarisation, soit catabolisée en DOPAC par les MAO neuronales (Figure 17). La dopamine libérée restant dans la fente synaptique peut être dégradée en 3-méthoxytyramine (3-MT) par l'enzyme catéchol-O-méthyl transférase (COMT) présente sur les membranes des neurones du striatum, ou bien en DOPAC par les MAO gliales après recapture (Figure 17 page suivante). Près de 90 % de la dopamine cérébrale est métabolisée en DOPAC (Westerink et

Spaan, 1982). Le DOPAC ainsi formé serait un bon index de la synthèse de dopamine, puisqu'une quantité substantielle de DOPAC est dérivée du pool de dopamine nouvellement synthétisée (Zetterström et al., 1988). Le DOPAC libéré dans l'espace extracellulaire et la 3-MT sont à leur tour transformés en acide homovanillique (HVA) par les enzymes COMT et MAO, respectivement. Quatre vingt pour cent des contenus de HVA étant dérivés essentiellement de la métabolisation du DOPAC (Westerink et Spaan, 1982), les changements des contenus tissulaires et extracellulaires en HVA reflètent ceux du DOPAC (Westerink, 1985).

Il existe deux types d'enzymes MAO : la MAO-A et la MAO-B, qui sont respectivement et sélectivement inhibées par la cloglyline et le déprényl. La dopamine 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+.



**Figure 17 : Représentation schématique d'une synapse dopaminergique.**

3-MT : 3-méthoxytyramine ; COMT : catéchol-O-méthyltransférase ; DA : dopamine ; DDC : dopa-décarboxylase ; DOPA : dihydroxyphénylalanine ; DOPAC : acide dihydroxyphénylacétique ; MAOg : monoamine oxydase gliale ; MAOn : monoamine oxydase neuronale ; TH : tyrosine hydroxylase.

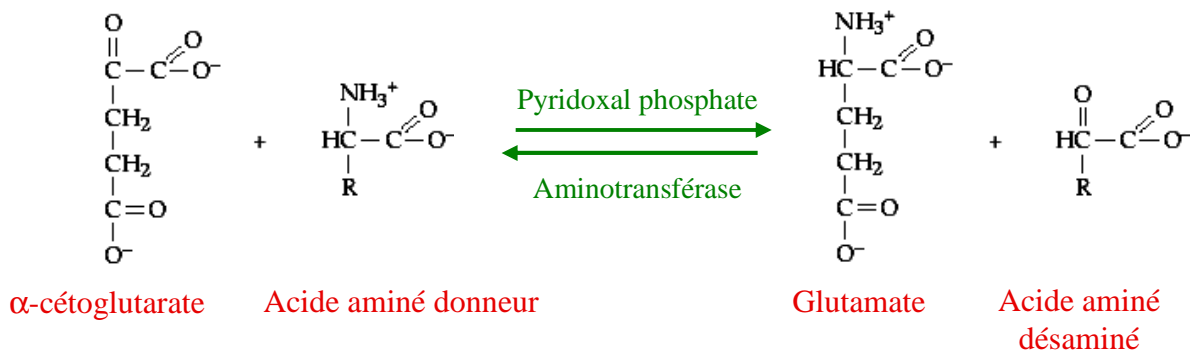
## 5.2 Le glutamate

Le glutamate, ou acide glutamique, fait partie des neurotransmetteurs excitateurs majeurs du système nerveux central. Il joue également un rôle important dans le métabolisme cellulaire, avec la synthèse des protéines.

### 5.2.1 Synthèse du glutamate

Le glutamate ne passant pas la barrière hémato-encéphalique, il doit être synthétisé in situ dans le système nerveux central. Deux voies de synthèse du glutamate sont connues à ce jour, et sont localisées au niveau mitochondrial, dans les neurones et les cellules gliales. Le glutamate peut être produit à partir de la transamination de l'alpha-cétoglutarate issu du cycle de Krebs, et en présence d'aspartate, grâce à l'enzyme aspartate aminotransférase, ainsi qu'à partir de la désamination de la glutamine par la glutaminase (Krebs, 1935 ; Krebs et al., 1948) (Figure 18, ci-dessous).

#### Transamination de l'alpha-cétoglutarate



#### Désamination de la glutamine

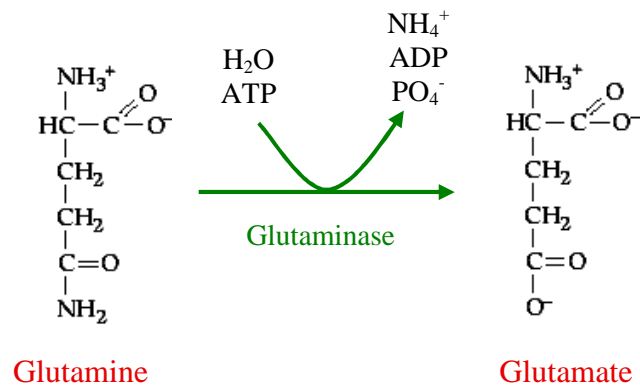


Figure 18 : Réactions de synthèse du glutamate.

### 5.2.2 Libération du glutamate

Après sa synthèse, le glutamate peut être libéré dans le milieu extracellulaire suivant deux modes (Nicholls et Attwell, 1990 ; Danbolt et al., 2001) :

- Un mode de **libération vésiculaire neuronale** "classique", c'est-à-dire par exocytose consécutive à la stimulation du neurone par un potentiel d'action avec entrée de calcium dans la terminaison axonale (Sanchez-Prieto et al., 1987).
- Un mode de **libération non vésiculaire**, essentiellement gliale, se produisant hors de l'espace synaptique et destiné à **maintenir l'homéostasie glutamatergique** dans les compartiments intra- et extracellulaires. Ce mécanisme impliquerait des transporteurs mixtes de glutamate et d'autres acides aminés (D et L-aspartate, L-cystéate), les transporteurs glutamate-cystine, et ceux impliqués dans les échanges avec d'autres composés.

Une fois libéré dans l'espace synaptique, le glutamate peut soit se fixer à ses récepteurs post-synaptiques, soit être recapté par l'élément présynaptique ou les cellules gliales via des transporteurs, soit enfin diffuser hors de la fente synaptique et se lier aux récepteurs présynaptiques ou être capturé par des transporteurs pérисynaptiques astrocytaires (Figure 19, p.79).

### 5.2.3 Récepteurs glutamatergiques

Il existe deux grandes familles distinctes de récepteurs au glutamate : les récepteurs ionotropiques (voir pour revue Danbolt, 2001 ; Kew et Kemp, 2005) et les récepteurs métabotropiques (voir pour revue Danbolt, 2001 ; Pin et Acher, 2002 ; Ferraguti et Shigemoto, 2006).

1- Les **récepteurs ionotropiques** sont des canaux ioniques (à cations) responsables de l'effet rapide du glutamate. Ils se subdivisent en récepteurs de type non NMDA et récepteurs de type NMDA, d'après la capacité du N-méthyl-D-aspartate ou NMDA à se fixer ou non à ces récepteurs.

Parmi les **récepteurs non NMDA**, on trouve :

- Les **récepteurs AMPA** sont caractérisés par la liaison spécifique de l' $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-isoxazole (AMPA). Ces canaux pentamériques sont perméables principalement au Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>, et participent à la transmission synaptique rapide. Ils comprennent différentes sous-unités : GluR1, GluR2, GluR3 et GluR4.

- Les **récepteurs au kaïnate/quisqualate** possèdent une perméabilité importante aux ions  $Ca^{2+}$ . Ils sont localisés aux niveaux pré- et postsynaptique, essentiellement dans l'hippocampe (CA3), les fibres moussues et la couche granulaire du cervelet. Ces récepteurs sont constitués des sous-unités KA1 et KA2, qui ont une forte affinité pour le kaïnate, ainsi que GluR5, GluR6 et GluR7.

Les **récepteurs NMDA**, de localisation essentiellement post-synaptique, sont caractérisés par la liaison de leur agoniste, le NMDA. Perméables aux ions  $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ , ces récepteurs-canaux sont responsables de la phase tardive des potentiels post-synaptiques excitateurs. Ces récepteurs possèdent un fonctionnement particulier lié à la présence d'un ion  $Mg^{2+}$  bloquant l'entrée du canal lorsque la membrane est à son potentiel de repos. Cet ion est chassé uniquement lorsque la membrane atteint un seuil de dépolarisation suffisant. Les récepteurs NMDA possèdent une structure pentamérique impliquant les sous-unités NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D et NR3A

2- Les **récepteurs métabotropiques**, notés mGluR, sont des récepteurs à sept segments transmembranaires couplés aux protéines G. Ces récepteurs sont divisés en trois groupes :

- Le **groupe I**, qui comprend les récepteurs mGluR1 et mGluR5 couplés à la phospholipase C.
- Le **groupe II**, avec les récepteurs mGluR2 et mGluR3, couplés à une protéine de type  $G_i$  inhibant l'adénylate cyclase.
- Le **groupe III** : récepteurs mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8, avec couplage à une protéine G inhibitrice.

#### ***5.2.4 Transporteurs du glutamate***

Les systèmes de capture du glutamate jouent un rôle important dans l'inactivation de ce neurotransmetteur au niveau synaptique. Ils sont formés de différentes familles de transporteurs selon les ions auxquels ils sont couplés, et selon leur localisation gliale et/ou neuronale. Plusieurs transporteurs du glutamate ont été décrits, la quasi-totalité étant couplée au sodium et au potassium. Parmi ces transporteurs, deux, GLT-1 et GLT-2, sont situés essentiellement sur la membrane des cellules gliales. Un troisième, EAAC-1, est essentiellement neuronal. Un transporteur glial, GLAST, assure le transport mixte du glutamate et de l'aspartate. On trouve également des transporteurs des acides aminés excitateurs (EAAT), dont EAAT-3, qui est neuronal et glial, EAAT-5, neuronal, et enfin EAAT-4 qui est en fait un récepto-transporteur neuronal, localisé principalement dans les cellules de Purkinje (Gadea et Lopez-Colome, 2001a ; voir pour revue Shigeri et al., 2004).

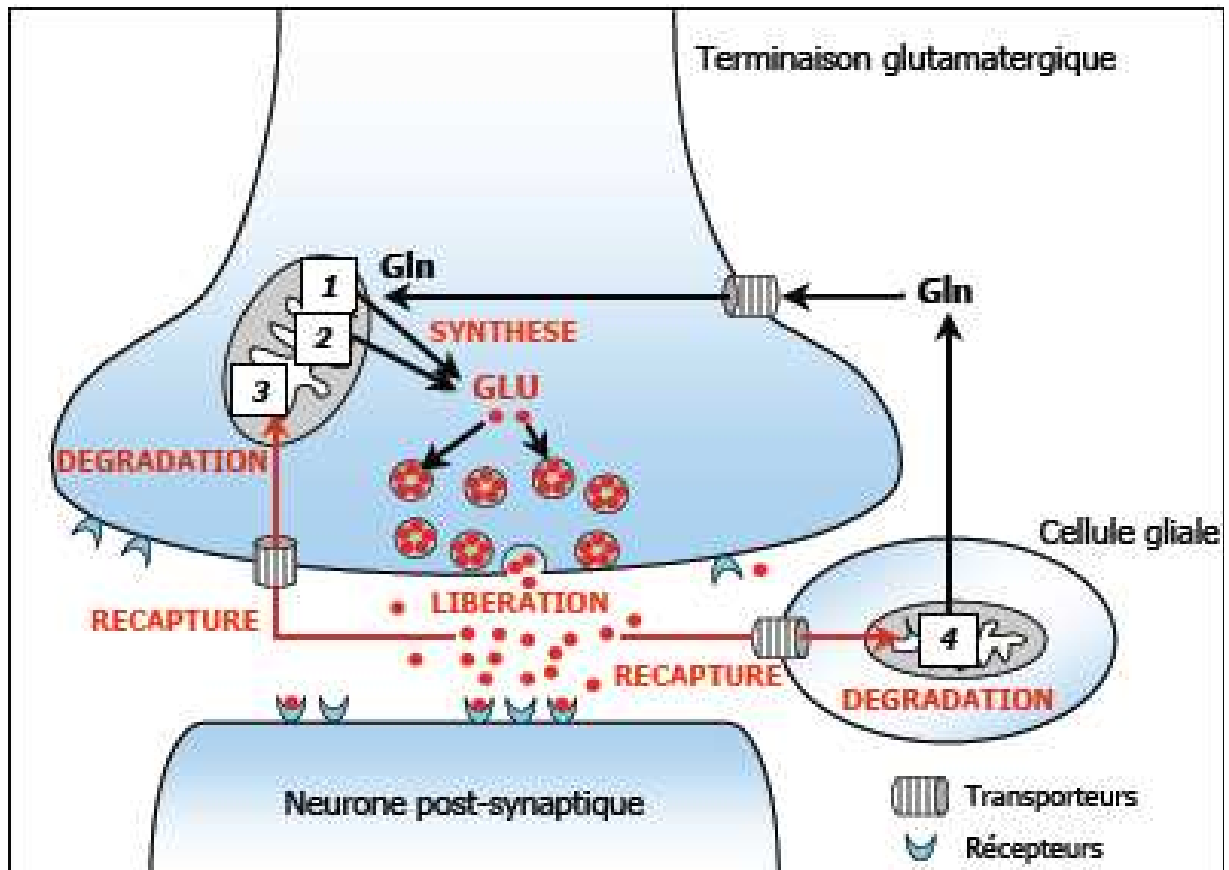


Figure 19 : Représentation schématique d'une synapse glutamatergique.

1 : Glutaminase ; 2 : aspartate amino-transférase ; 3 : glutamate déshydrogénase ; 4 : glutamine synthétase. Gln, glutamine ; GLU, glutamate.

### 5.2.5 Dégradation du glutamate

Il n'existe pas d'enzyme susceptible de transformer de manière significative le glutamate présent dans le milieu extracellulaire. Par conséquent, le glutamate doit être éliminé de la fente synaptique par diffusion simple ou bien être recapté par les cellules nerveuses, neurones ou cellules gliales. Au sein de ces dernières, il est converti en glutamine par la glutamine synthétase, enzyme exclusivement gliale (Figure 20, page suivante). La glutamine est par la suite libérée dans l'espace extracellulaire et recapturée par les terminaisons nerveuses via des transporteurs. En outre, le glutamate peut être transformé en alpha-cétoglutarate par la glutamate déshydrogénase (Figure 20, page suivante).

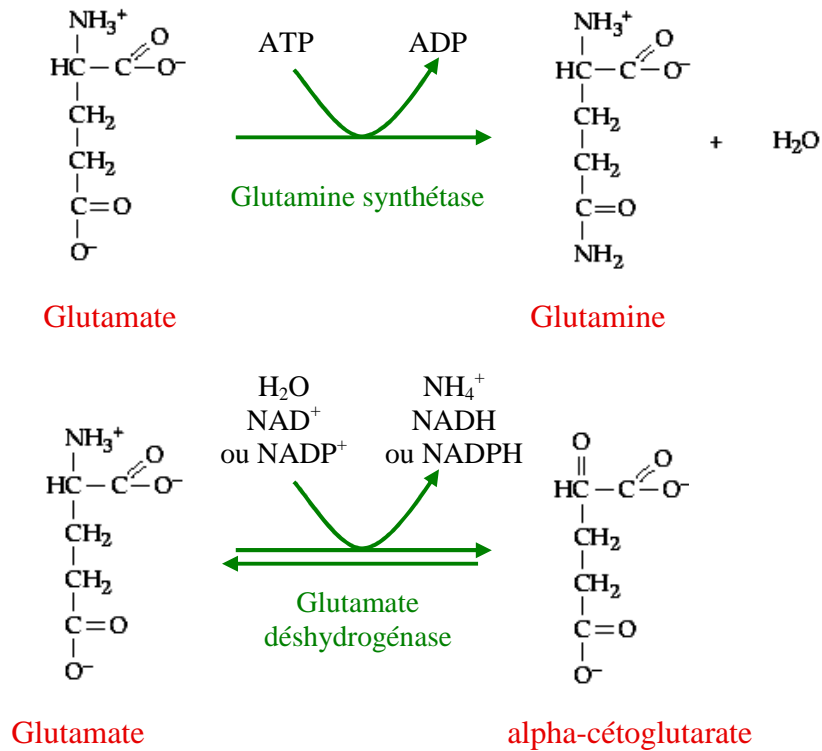


Figure 20 : Réactions de catabolisme du glutamate

### 5.3 Le GABA

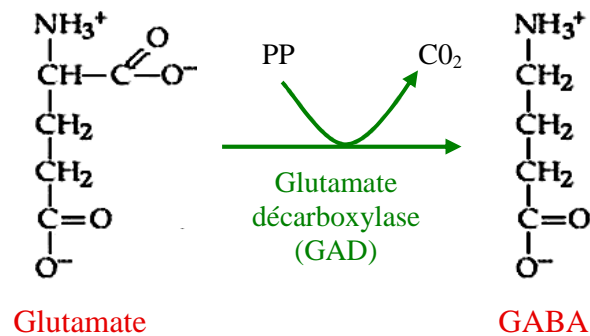
L'acide gamma-amino-butyrique, plus communément appelé GABA, est un acide aminé intervenant dans le métabolisme oxydatif, et qui remplit en outre un rôle de neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central.

#### 5.3.1 Synthèse du GABA

A l'instar du glutamate, le GABA est spécifique du tissu nerveux, où l'on le retrouve au niveau neuronal et glial, mais sa synthèse est exclusivement neuronale. Le GABA provient de la décarboxylation du glutamate par la glutamate décarboxylase (GAD), avec la participation du pyridoxal phosphate (PP) (Figure 21, page suivante). Cette enzyme neuronale existe sous deux isoformes de propriétés différentes (Kaufman et al., 1991 ; Soghomonian et Martin, 1998), dénommées selon leur poids moléculaire :

- **GAD65**, protéine de 65 kDa, est localisée préférentiellement dans les terminaisons neuronales. Cette apoenzyme, inductible par l'activité neuronale, est présente en taux élevés dans les neurones activés de manière phasique, tels ceux de la SNr.

- **GAD67**, de 67 kDa, est exprimée au niveau du soma ou des terminaisons nerveuses de manière à peu près équivalente. Il s'agit d'une holoenzyme constitutivement active et non inductible, que l'on retrouve en grande quantité dans les neurones toniquement actifs (neurones du néocortex et des colliculi inférieurs par exemple).



**Figure 21 : Réaction de synthèse du GABA.**

### 5.3.2 Libération du GABA

La libération du GABA se produit par exocytose neuronale "classique", dépendante du calcium et du potentiel de membrane. Après libération, le GABA se lie à ses récepteurs et/ou est rapidement évacué de la fente synaptique par des systèmes de recapture à haute affinité, gliaux ou neuronaux, puis métabolisé (Figure 22, page suivante).

### 5.3.3 Récepteurs GABAergiques

Trois types de récepteurs au GABA, indexés A,B,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<sub>A</sub>** sont des canaux ioniques perméables au chlore et localisés sur la membrane postsynaptique. Il existe plusieurs sous-types de récepteurs GABA<sub>A</sub> : les RGABA<sub>A</sub>-1/6, les RGABA<sub>A</sub>-0, les RGABA<sub>A</sub>-0r ou RGABA<sub>C</sub>.

Les **récepteurs GABA<sub>B</sub>** sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à une protéine G inhibitrice, Gi(α) ou Gi(βγ), activant les canaux calciques et potassiques. Ces récepteurs peuvent être localisés sur la membrane pré- ou post-synaptique.

Les **récepteurs GABA<sub>C</sub>** sont également couplés à un canal chlore. A l'inverse des récepteurs GABA<sub>A</sub> qui sont largement répandus dans le système nerveux central, les récepteurs GABA<sub>C</sub> sont concentrés au niveau de la rétine.



Alors que les récepteurs GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>C</sub> sont impliqués dans des inhibitions synaptiques rapides, les récepteurs GABA<sub>B</sub> sont impliqués dans des processus plus lents et durables.

### 5.3.4 Transporteurs du GABA

Quatre transporteurs électrogéniques du GABA ont été identifiés : GAT-1, GAT-2, GAT-3 et BGT-1 (voir pour revue Gadea et Lopez-Colome, 2001b). Tous sont couplés au sodium et au chlore, et seraient localisés à la fois sur la membrane des neurones et des astrocytes. Un autre transporteur, le transporteur vésiculaire des acides aminés inhibiteurs (VIAAT), c'est-à-dire du GABA et de la glycine, a été identifié en 1997 (Sagné et al., 1997). Ce transporteur est aussi appelé "transporteur vésiculaire du GABA" ou VGAT (McIntire et al., 1997), bien qu'il soit également présent dans des terminaisons nerveuses glycinergiques (Chaudhry et al., 1998 ; Dumoulin et al., 1999).

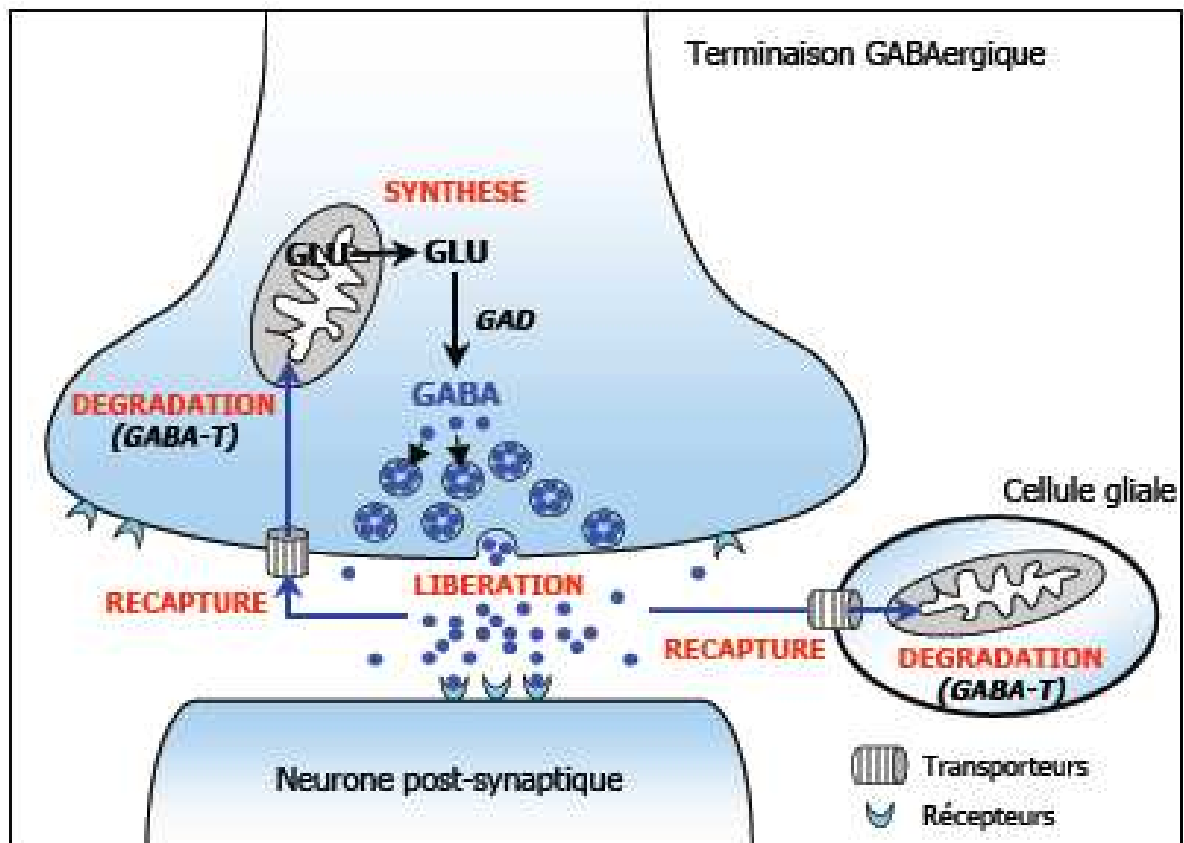
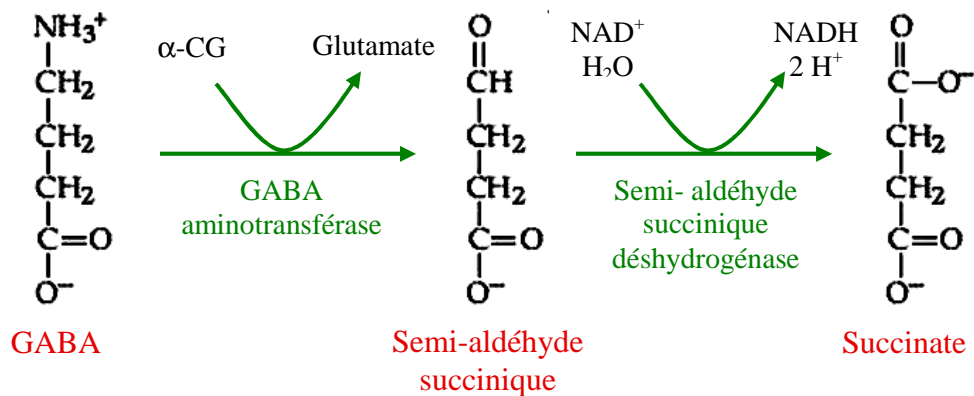


Figure 22 : Représentation schématique d'une synapse GABAergique.  
GABA-T, GABA amino-transférase, GAD, glutamate décarboxylase, GLU, glutamate

### 5.3.5 Dégradation du GABA

A l'instar du glutamate, il n'existe pas d'enzyme de dégradation du GABA dans la fente synaptique. Par conséquent, le GABA doit être recapturé par les cellules neuronales et/ou gliales pour être dégradé. Le GABA est alors transformé en acide succinique au niveau de la mitochondrie, suivant deux étapes assurées en premier lieu par l'enzyme GABA aminotransférase, et en second lieu l'enzyme semi-aldéhyde succinique déshydrogénase (Figure 23 ci-dessous). Une fois formé, le succinate formé réintègre le cycle de Krebs. Ces étapes du catabolisme du GABA sont étroitement associées au compartiment glial.



**Figure 23 : Réaction de catabolisme du GABA.**

$\alpha\text{-CG}$  :  $\alpha$ -cétoglutarate ;  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  : respectivement, formes oxydée et réduite du nicotinamide adénine dinucléotide.



## 1. Animaux

Nos expériences ont été réalisées sur des rats mâles O.F.A Sprague Dawley (Elevage Janvier, le Genest-St-Isle, France) d'environ 180g (pour les lésions) ou 300g (pour la microdialyse), maintenus dans une animalerie thermostatée (22°C) avec hygrométrie contrôlée, sous un cycle lumière/obscurité de 12 heures. Ils ont reçu nourriture et boisson ad libitum. L'ensemble des expériences conduites sur ces animaux a été réalisé en accord avec la Directive Européenne de 1986 (86/609/EEC) et le ministère de l'agriculture (autorisation numéro 38-R 1001).

## 2. Chirurgie

### 2.1 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 du striatum chez le rat sont celles données par la 4<sup>ème</sup> 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.

### 2.2 Lésion unilatérale de la substance noire compacte (SNc)

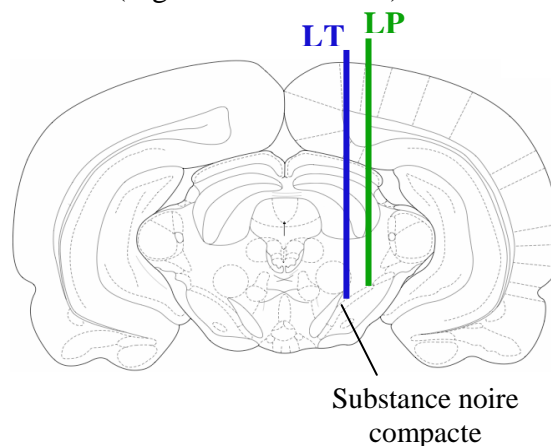
Les lésions ont été réalisées à l'aide d'une neurotoxine, la 6-hydroxydopamine (6-OHDA), dont la structure est analogue à la dopamine et qui détruit sélectivement les neurones catécholaminergiques (pour détails, voir le mode d'action de la 6-OHDA, paragraphe 2.2.2 de l'introduction). Afin de préserver les neurones noradrénergiques de l'effet toxique de la 6-OHDA, les animaux ont reçu une injection de désipramine (25 mg/kg/ sous-cutané) environ une demi-heure avant la lésion.

Les rats ont été d'abord anesthésiés par injection intra-péritonéale d'hydrate de chloral (400 mg/kg) puis sont placés dans un cadre stéréotaxique (David Kopf Instruments, Tujunga,

USA). La peau du crâne est incisée sur sa longueur et les aponévroses sont écartées à l'aide de coton-tiges. L'os du crâne est perforé avec une micro-perceuse au niveau des coordonnées calculées pour l'injection. La canule d'injection (acier inoxydable,  $D_{\text{ext}} = 250 \mu\text{m}$ , Plastic One, Roanoke, VA, USA), reliée au cadre par un bras stéréotaxique (côté droit), est fixée perpendiculaire à l'axe horizontal puis descendue dans le parenchyme cérébral selon les coordonnées (barre d'incisives placée à -3 mm, sous le plan interaural) indiquées dans le tableau 4. Le site d'injection de la neurotoxine, choisi en vue de l'obtention d'une lésion totale de la SNc, est situé dans la partie médiane et antérieure de la SNc, alors que pour les lésions partielles, celui-ci est plutôt situé latéralement (Figure 24 ci-dessous).

**Figure 24 : Coupe coronale d'un cerveau de rat montrant le positionnement de la canule d'injection de 6-OHDA au niveau de la substance noire compacte pour réaliser une lésion soit totale (LT), soit partielle (LP) de cette structure.**

(D'après l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson, 1986).



Pour les lésions totales, les animaux ont reçu une injection unilatérale (côté gauche) de 3  $\mu\text{l}$  (lésion totale) 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. Pour les lésions partielles, seulement 1  $\mu\text{L}$  de 6-OHDA a été injecté. La vitesse d'injection était toujours fixée à 0,5  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Après l'injection, la canule a été laissée en place pendant quelques minutes pour permettre une bonne diffusion tissulaire de la neurotoxine, puis retirée délicatement afin d'éviter les phénomènes d'aspiration. La peau de l'animal a ensuite été suturée à l'aide d'agrafes chirurgicales et désinfectée avec de la Bétadine<sup>®</sup> (Polyvidone iodée, Viatrix Manufacturing, Merignac, France).

**Tableau 4 : Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour réaliser les lésions unilatérales totales ou partielles de la substance noire compacte.** Les coordonnées sont exprimées en mm par rapport à la ligne interaurale (d'après l'atlas de Paxinos et Watson, 1986).

	<b>Antériorité (en mm)</b>	<b>Latéralité (en mm)</b>	<b>Profondeur (en mm)</b>
<b>Lésion totale</b>	+ 3	2	+ 2,4
<b>Lésion partielle</b>	+ 3	2,4	+ 2,9

Un délai de 3 à 4 semaines post-injection a été 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.

### 2.3 Implantation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation

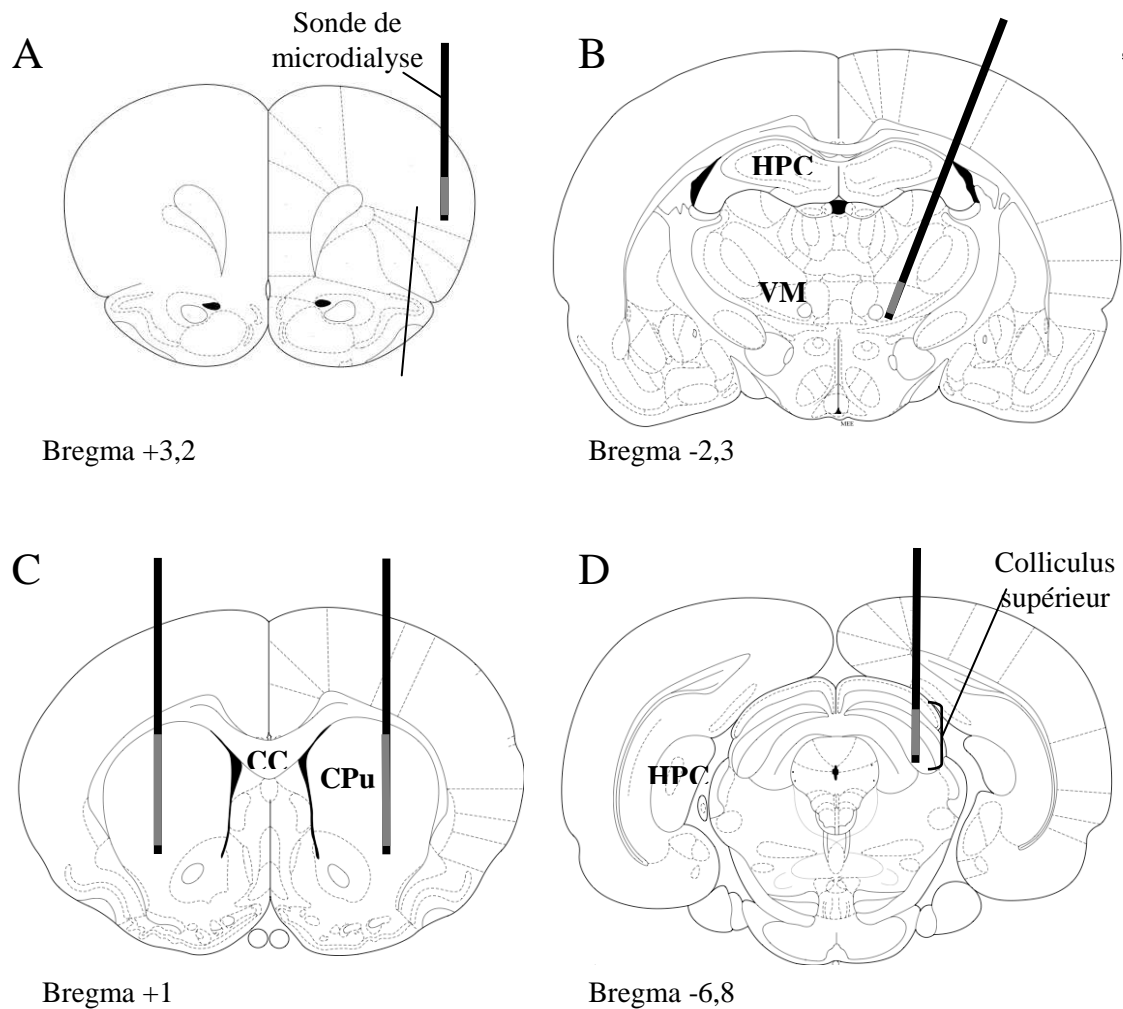
Les animaux ont été anesthésiés dans une enceinte où circule un mélange d'air médical (22 % O<sub>2</sub>, 78 % N<sub>2</sub> ; 1 L/min) contenant 5 % d'halothane (Halothane vétérinaire, Belamont, Boulogne Billancourt, France). Ils sont ensuite maintenus anesthésiés pendant toute la durée de l'intervention 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 %.

Avant chaque expérience de microdialyse, chaque animal appartenant aux différents groupes expérimentaux a subi une implantation unilatérale ou bilatérale des sondes de dialyse suivant les structures étudiées: implantation unilatérale (côté gauche) pour le noyau ventromédian (VM) du thalamus, le colliculus supérieur (CS) et le cortex Fr3 (Ctx Fr3), et implantation bilatérale pour le striatum (Figure 25 page 88). Une électrode de stimulation bipolaire concentrique (modèle SNEX-100, Rhodes Medical Instruments, Phymep), a été implantée unilatéralement (côté gauche et correspondant au côté ipsilatéral à la lésion de la SNc pour les rats lésés) dans le noyau sous-thalamique, au niveau de sa région médio-dorsale (figure 26 page 89). Le tableau ci-dessous indique les coordonnées stéréotaxiques utilisées pour chacune des implantations pratiquées.

**Tableau 5 : Coordonnées stéréotaxiques utilisées pour l'implantation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation dans le noyau sous-thalamique.**

Les coordonnées présentées sont en millimètres (mm) par rapport au bregma pour l'antériorité et la latéralité, et par rapport à la dure-mère pour la profondeur (d'après l'atlas de Paxinos et Watson, 1986).

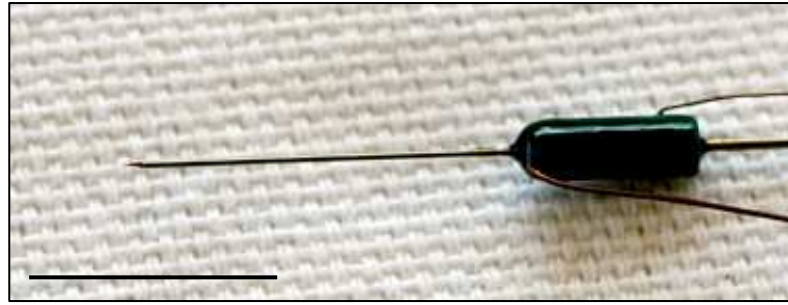
Coordonnées des structures	Antériorité (en mm)	Latéralité (en mm)	Profondeur (en mm)	Angle d'inclinaison
<b>Striatum</b>	+ 1	+ 3 et - 3	-7	-
<b>Noyau VM du thalamus</b>	- 2,3	4	- 8,7	21 degrés
<b>Colliculus supérieur</b>	- 6,8	2,3	- 5,8	-
<b>Cortex Fr3</b>	+ 3,2	4	- 4,1	-
<b>Noyau sous-thalamique (Electrode de stimulation)</b>	- 3,7	2,4	- 7,8	-



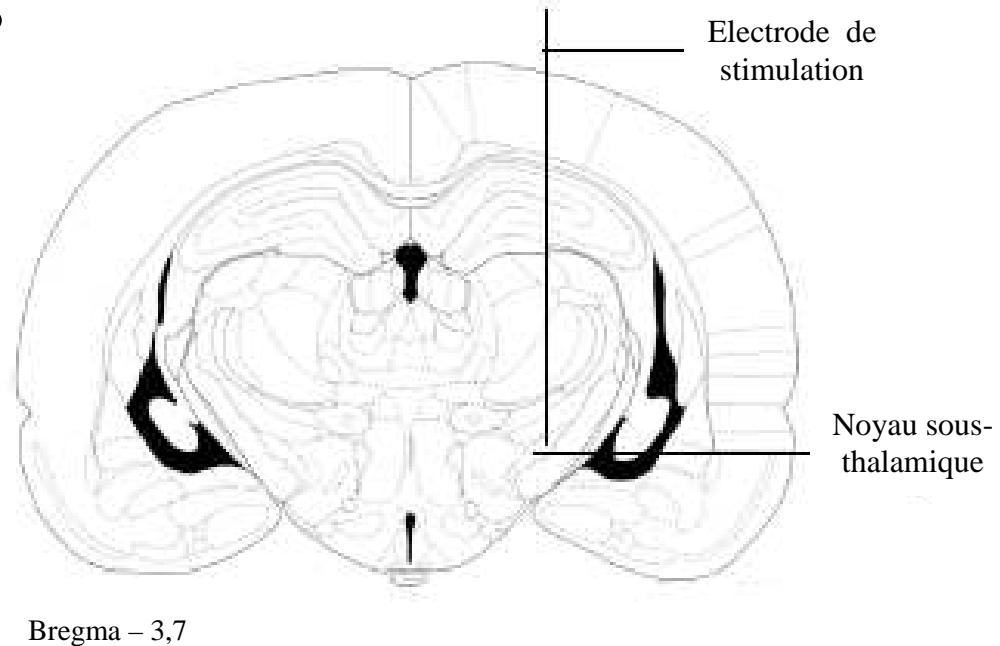
**Figure 25 : Coupes coronales de cerveau de rat montrant le positionnement des sondes de microdialyse dans la région Fr3 du cortex moteur (A), dans le noyau ventro-médian du thalamus (inclinaison de 21°) (B), dans le striatum (C) et dans le colliculus supérieur (D) (D'après l'atlas de Paxinos et Watson, 1986).**

La partie grisée des sondes représente l'emplacement de la membrane de microdialyse, c'est à dire de la zone « active » de dialyse. CC : corps calleux ; CPu : noyau caudé-putamen ; HPC : hippocampe ; VM : noyau ventromédian du thalamus.

A



B



**Figure 26 : Implantation de l'électrode de stimulation.**

A) Photographie du type d'électrode de stimulation utilisé. Le modèle SNEX-100 est une électrode bipolaire concentrique, dont le diamètre du pôle stimulant (extrémité située à gauche) est de 250  $\mu\text{m}$ . La barre d'échelle représente 1 cm. B) Schéma d'une coupe coronale de cerveau de rat montrant le positionnement de l'électrode de stimulation dans le noyau sous-thalamique. (D'après l'atlas de Paxinos et Watson, 1986).

### 3. Traitements à la L-Dopa

#### 3.1 Traitement chronique

Les animaux traités de manière chronique avec la L-Dopa ont reçu pendant 3 semaines deux injections quotidiennes de L-Dopa (50 mg/kg ; Sigma, St Quentin Fallavier, France) associée à de la benserazide (12,5 mg/kg ; Sigma) selon le protocole présenté dans la figure 27. Les produits ont été dissous dans de l'eau stérile injectable, et administrés en bolus



intrapéritonéal de 1 mL. Au terme du traitement, deux jours d'arrêt des injections ont été respectés pour chacun des animaux avant les expériences de microdialyse afin de s'affranchir de l'effet immédiat des injections. Le déroulement de la séance de microdialyse est semblable à celui représenté par la figure 31 page 97.

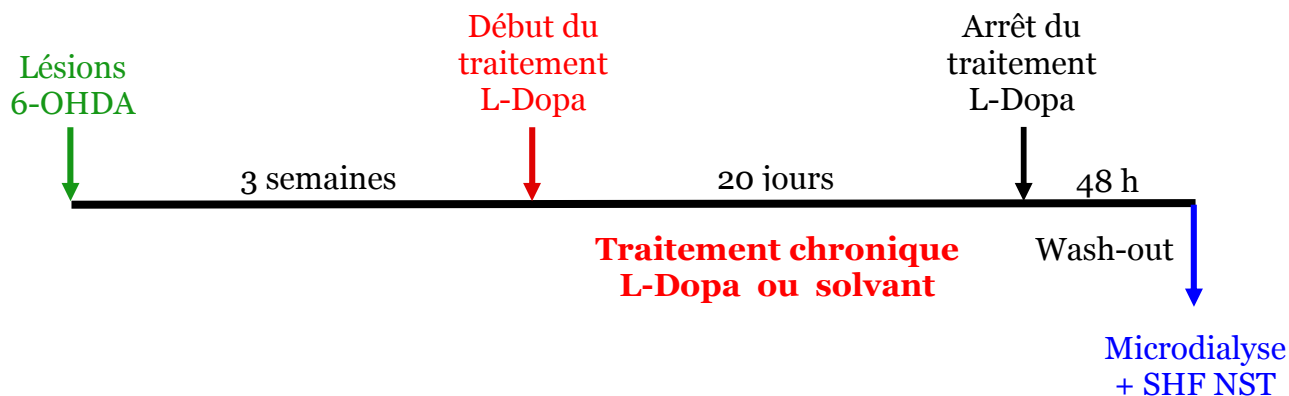


Figure 27 : Déroulement des différentes étapes du traitement L-Dopa chronique.

### 3.2 Traitement aigu

Le traitement aigu à la L-DOPA a été réalisé au cours des expériences de microdialyse dont le déroulement est présenté dans le paragraphe 5.4.2 (page 80). Ce traitement aigu a consisté en une injection unique par voie intra-péritonéale d'une solution de L-Dopa (50 mg/kg ; Sigma) associée à de la bensérazide (12,5 mg/kg ; Sigma). Ce traitement a été pratiqué chez des animaux (rats sains et rats porteurs d'une lésion partielle de la SNc) ayant subi ou non une SHF du NST. Cette injection a toujours eu lieu à la fin des recueils des 4 dialysats permettant de déterminer les taux de base des neurotransmetteurs étudiés. Les variations des taux de neurotransmetteurs induites par cette injection ont été suivies par la suite pendant 4 heures, comme l'indique la figure 28.

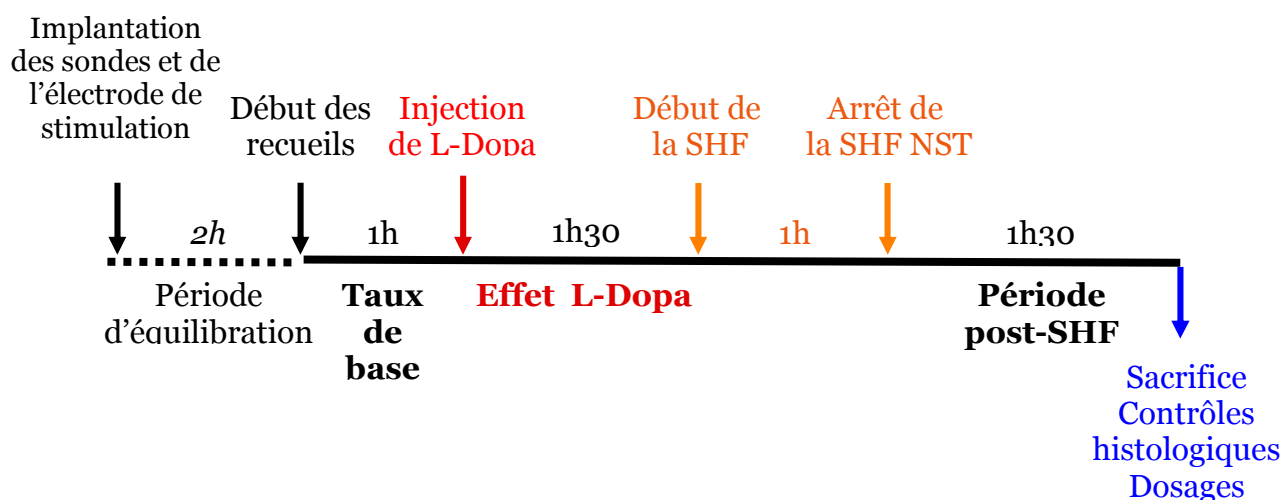


Figure 28 : Déroulement des différentes étapes de la séance de microdialyse pour les rats recevant le traitement L-Dopa en aigu.

## 4. Stimulation Haute Fréquence du NST

Dans toutes les expériences réalisées, la SHF du NST a été appliquée via une électrode bipolaire concentrique en tungstène (SNEX-100, Rhodes Medical Instruments, Phymep).

Les paramètres de stimulation utilisés précédemment au laboratoire par François Windels et Nicolas Bruet (130 Hz, 60  $\mu$ s, 500  $\mu$ A; Bruet et al., 2001, 2003; Windels et al., 2000, 2005) dans le cadre de leur travail doctoral, étaient directement inspirés des travaux réalisés par Benazzouz et al. (1995) et correspondaient globalement aux paramètres utilisés en clinique humaine pour la stimulation du noyau sous-thalamique chez le malade parkinsonien. Cependant, des études conduites plus récemment sur le rat éveillé notamment au cours des travaux de Nicolas Bruet et de Sabrina Boulet sur le rat "freely-moving" (Bruet, 2003 ; Boulet, 2006 ; Boulet et al., 2006) ont clairement montré qu'une intensité de 500  $\mu$ A était excessive pour une stimulation du NST chez le rat. Une telle intensité, capable de diffuser à distance, touche très probablement des structures et des fibres de passage bien au-delà du NST, entraînant des artefacts susceptibles d'affecter tant la réponse comportementale du rat que la libération de neuromédiateurs au sein de structures efférentes et mettant en doute la spécificité de l'effet observé. Face à ces observations, nous avons choisi de réajuster l'intensité de stimulation pour nos études menées chez le rat anesthésié, afin d'assurer un minimum de cohérence entre les études conduites sur animal anesthésié et celles menées sur animal éveillé, libre de ses mouvements. Les intensités de stimulation utilisées par N. Bruet et S. Boulet étant comprises entre 80 et 250  $\mu$ A, nous avons choisi de fixer notre seuil d'intensité à 200  $\mu$ A.

Dès lors, les paramètres qui ont été utilisés au cours de ce travail ont été les suivants :

- fréquence : 130 Hz ;
- intensité : 200  $\mu$ A ;
- largeur d'impulsion : 60  $\mu$ s ;
- durée : 1 heure.

Comme précisé plus haut, les stimulations électriques du NST ont été réalisées avec une électrode bipolaire concentrique de type SNEX 100, d'un diamètre de 250  $\mu$ m. La cathode est implantée au niveau du NST. Le signal électrique a été produit par un générateur d'impulsion (Acupulser A 310, World Precision Instrument, Stevenage, Angleterre) relié à un isolateur (Stimulus Isolator A 360, World Précision Instrument). Cet ensemble permet de

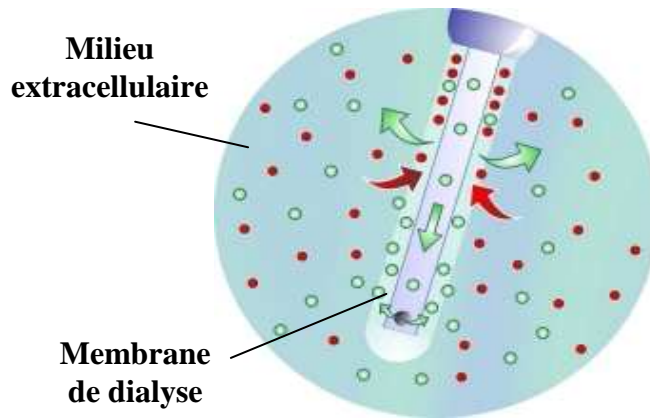
délivrer un signal de courant "carré" dont la fréquence, l'intensité et la largeur d'impulsion sont réglables.

## **5. Microdialyse intracérébrale chez le rat anesthésié**

La microdialyse intracérébrale est un outil qui permet une analyse dynamique des variations d'une ou de plusieurs substances présentes dans le milieu extracellulaire cérébral (neurotransmetteurs, hormones...) et cela 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 dernier cas, une fois collectés, les dialysats sont conservés à - 80° C.

### **5.1 Principe de la microdialyse intracérébrale**

Basée sur le principe de l'osmose, la microdialyse permet le recueil d'échantillons de liquide représentatif au niveau quantitatif et qualitatif de la composition du milieu extracellulaire (Benveniste, 1989 ; Lindefors et al., 1989). La microdialyse repose sur une diffusion simple des substances de faible poids moléculaire à travers une membrane semi-perméable (implantée dans la structure d'intérêt) en fonction de leur gradient de concentration. Grâce à la perfusion d'un liquide à faible débit, 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 (Figure 29 page suivante). Dans ce dernier cas, la drogue étant plus concentrée dans le liquide de perfusion, elle passera naturellement au niveau de la structure par diffusion.



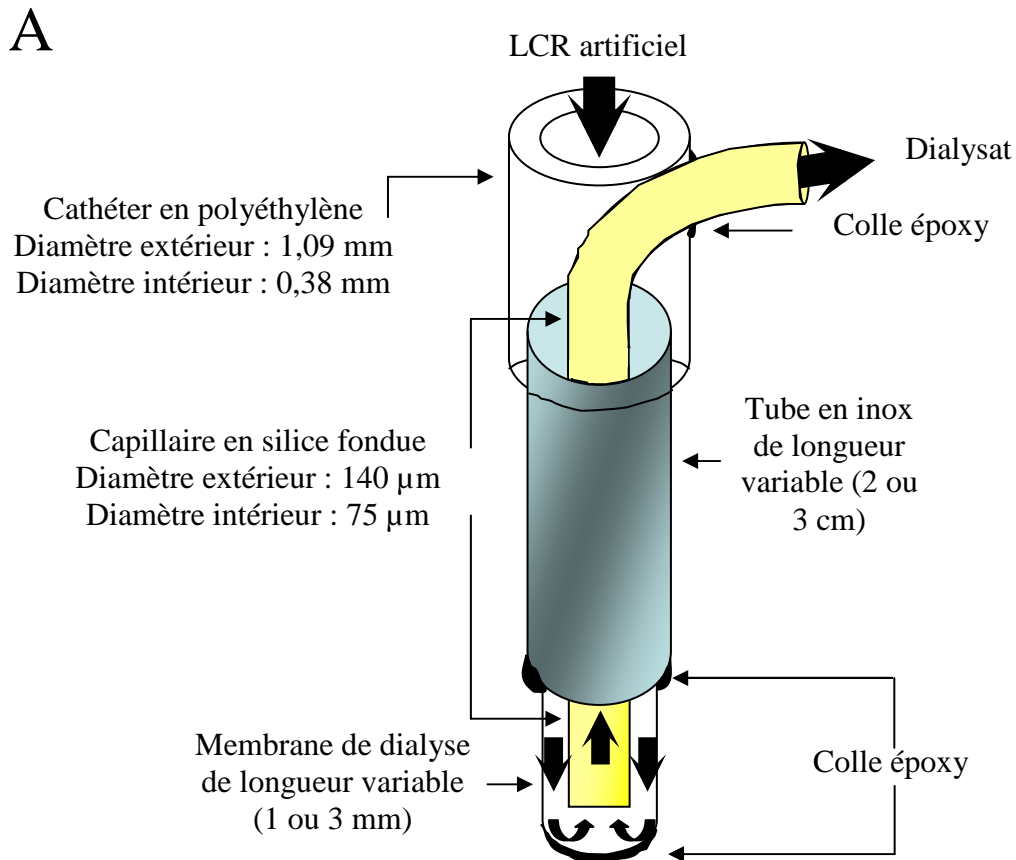
**Figure 29 : Principe de la microdialyse *in vivo*.**  
(Source : [www.microdialysis.se/www/md\\_pic\\_int.htm](http://www.microdialysis.se/www/md_pic_int.htm))

## 5.2 Préparation des sondes de microdialyse

Les sondes de microdialyse que nous utilisons sont réalisées au laboratoire. Un tube de polyéthylène d'un centimètre de long environ ( $D_{\text{int}} = 0,38 \text{ mm}$ ,  $D_{\text{ext}} = 1,09 \text{ mm}$  ; PE 30 Biotroll Diagnostic, Chennevières –Les-Louvres, France) est emboîté à l'extrémité d'un tube en inox de longueur adaptée à la structure à dialyser ( $D_{\text{int}} = 24 \text{ gauges}$  ; 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 ( $D_{\text{int}} = 75 \mu\text{m}$ ,  $D_{\text{ext}} = 150 \mu\text{m}$  ; 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 en cuprophane (Hospal, France) 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 (Figure 30 page suivante).

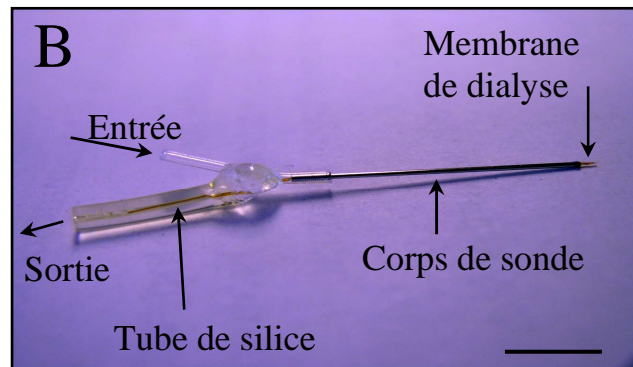
## 5.3 Rendement des sondes *in vitro*

Avant leur utilisation, les sondes de dialyse ont été testées *in vitro*, leur débit vérifié et leur rendement calculé de la manière suivante :  $\text{Rendement} = [C_{\text{dialysat}}] / [C_{\text{standard}}] * 100$ . Ceci permet d'écartier les sondes non fonctionnelles et de vérifier l'homogénéité des lots utilisés. Le calcul du rendement nous a permis de sélectionner des sondes dont les rendements sont comparables en vue de leur implantation ultérieure.



**Figure 30 A et B : Sondes de microdialyse.**

- A) Représentation schématique du prototype de sonde de microdialyse concentrique utilisée au laboratoire.
- B) Photographie d'une sonde de microdialyse. La barre d'échelle représente 1 cm.



Pour ce faire, les sondes sont placées dans un béccher contenant une solution standard d'acides aminés ou de catécholamines de concentration connue et perfusées en continu avec du liquide céphalo-rachidien artificiel à un débit de 1  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Ces solutions standards ont été préparées dans une solution aqueuse d'HCl 0,05 M, et leur concentration était de 0,53  $\mu\text{M}$  pour la dopamine, 0,59  $\mu\text{M}$  pour le DOPAC, 5,5  $\mu\text{M}$  pour le HVA, 1,36  $\mu\text{M}$  pour le glutamate et 0,485  $\mu\text{M}$  pour le GABA. Après 1h30 d'équilibration, des micro-fractions sont recueillies et dosées dans des conditions identiques à celles des expérimentations *in vivo*.

## 5.4. Protocole de dialyse

### 5.4.1. Importance et choix des paramètres de dialyse

De nombreux paramètres rentrent en compte dans la reproductibilité et l'optimisation des résultats d'une microdialyse 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, 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 ; MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM ; CaCl<sub>2</sub> 1,2 mM, Glucose 5,4 mM. Le pH a ensuite été ajusté à 7,3 à l'aide d'un tampon phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 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 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 µL/min (De Lange et al., 2000 ; Khan et Shuaib, 2001). Le débit est généralement 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. Au cours de nos expériences, nous avons donc choisi d'utiliser un débit de perfusion de 1 µL/min chez le rat.

#### *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. La longueur de cette membrane a donc été déterminée

suivant la structure dialysée : 3 mm pour le striatum, et 1 mm pour le noyau ventromédian du thalamus, le colliculus supérieur et le cortex Fr3.

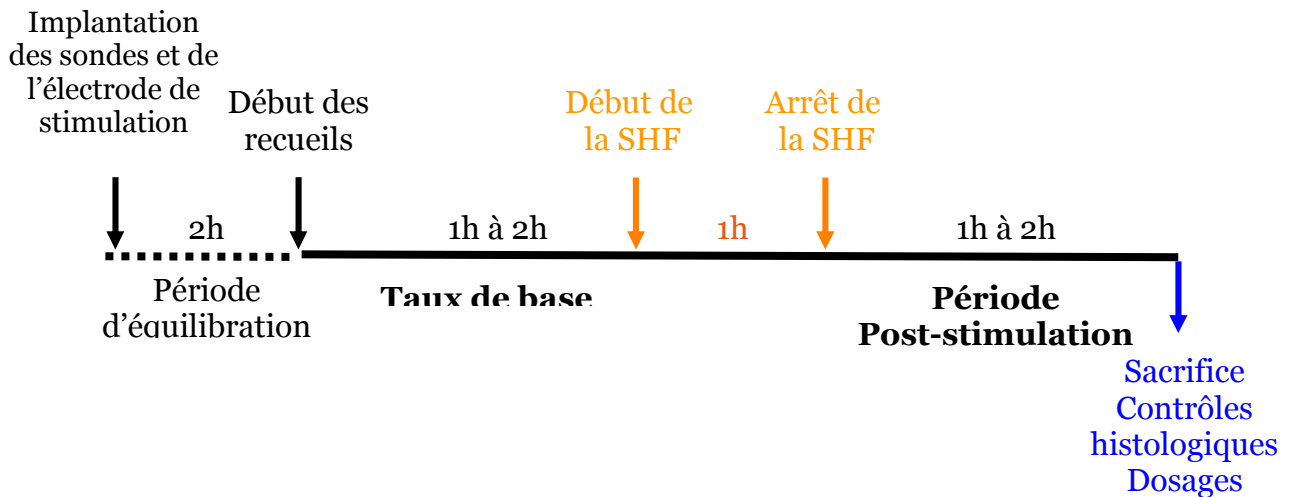
Le matériau utilisé pour la membrane dialysante doit être biocompatible, avec une taille de pores adaptée au passage des molécules qu'on souhaite étudier. Chez le rat, nous avons utilisé du Cuprophane, une membrane de cellulose biocompatible (Hospal Industry, Meyzieu, France). Sa limite de perméabilité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

#### ***5.4.2. Déroulement de la microdialyse in vivo***

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  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

Le jour de la dialyse, le débit à la sortie du système de dialyse sur animal anesthésié est vérifié. La sonde de dialyse est ensuite descendue dans le parenchyme cérébral. Les dialysats obtenus durant les 2 heures qui suivent l'implantation de la sonde de dialyse sont écartés par sécurité afin d'éliminer les perturbations provoquées par l'implantation de la sonde dans le tissu cérébral. Les fractions sont ensuite collectées durant 5h à raison de trois périodes : (1) une première période de 1h à 2h suivant les expériences avant l'application de la SHF du NST, ce qui permet de déterminer les valeurs des taux de base des neurotransmetteurs étudiés; (2) une seconde période de 1h correspondant à la durée de la stimulation ; et (3) une dernière période de 1h30 à 2h après l'arrêt de la stimulation, afin de déterminer l'effet post-stimulation (Figure 31 page suivante). Naturellement, la durée exacte de chaque période sera précisée pour chaque expérience lors de la présentation des résultats.

Les fractions sont recueillies par un micro-collecteur réfrigéré à 4°C (Microsampler 820, Univentor, Phymep, Paris, France), soit toutes les 15 minutes pour le striatum, soit toutes les 5 minutes pour le VM, le CS et le Ctx Fr3, le volume final collecté par échantillon étant donc de 15  $\mu\text{L}$  ou de 5  $\mu\text{L}$ . Le volume minimal de liquide extracellulaire à recueillir est conditionné par la sensibilité de la technique de CLHP utilisée pour doser les neurotransmetteurs. Les échantillons recueillis sont maintenus à basse température (4°C) puis congelés et stockés à -80°C jusqu'au dosage des contenus en dopamine, DOPAC, HVA et/ou glutamate et GABA par CLHP.



**Figure 31 : Déroulement des différentes étapes d'une séance de microdialyse avec stimulation haute fréquence (SHF) du NST utilisée lors de nos expériences.**

## 6- Dosage des neurotransmetteurs étudiés par 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.

Chaque dialysat recueilli a donc été analysé par chromatographie liquide haute performance (CLHP), couplée à une détection ampérométrique pour la dopamine, le DOPAC et l'HVA d'une part, et à une détection fluorimétrique pour le glutamate et le GABA d'autre part.

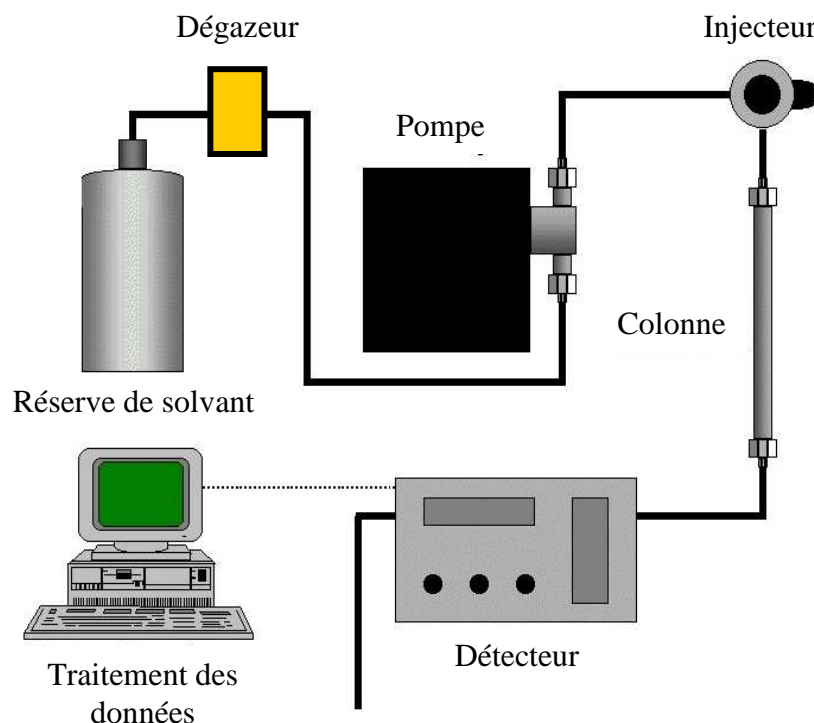
### 6.1 Composition d'une chaîne de CLHP

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. L'ordre de ces différents éléments dont nous rappellerons brièvement le rôle ci-après est représenté par le schéma suivant, et illustré par la figure 32 page suivante. Toutes les chaînes de CLHP sont organisées suivant le même principe :

**SOLVANT → DÉGAZEUR → POMPE → INJECTEUR → COLONNE → DÉTECTEUR**



Après passage dans un dégazeur, le solvant (phase mobile) est envoyé sur une colonne de séparation (phase stationnaire) via une pompe et un injecteur. Dernière étape de la chaîne, le détecteur permet l'identification des différentes molécules.



**Figure 32 : Dispositif pour la CLHP.**

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.

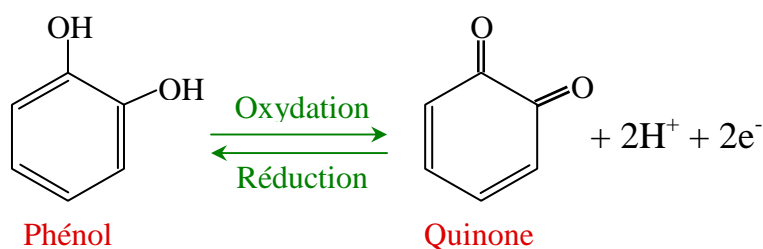
La **pompe** assure le passage de la **phase mobile** dans tout le système, pompe-injecteur-colonne-phase stationnaire, de façon continue et à débit constant. La **phase mobile** peut être constituée d'un ou de plusieurs solvants dont le pouvoir éluant dépend de leur propre polarité. La phase mobile 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.

## 6.2 Dosage des catécholamines

Le dosage des catécholamines contenues dans les dialysats est assuré par la CLHP couplée à une détection électrochimique.

### 6.2.1 Principe de la détection

En raison de la présence de groupements possédant des propriétés oxydo-réductrices, la méthode de détection choisie pour les catécholamines est de nature électrochimique : l'ampérométrie. Le principe de la détection électrochimique repose sur la mesure du courant circulant dans une cellule d'électrolyse lors de l'oxydation ou de la réduction de la molécule à doser contenue dans la phase mobile. Les catécholamines peuvent s'oxyder en quinones selon la réaction suivante :



**Figure 33 : Réaction chimique à l'origine de la détection des catécholamines.**

La cellule de détection électrochimique est composée d'un système à trois électrodes :

- une **électrode de travail**, en carbone vitreux, 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.

Une conduction électrique suffisante de l'éluant conditionne le bon fonctionnement de ces détecteurs. Lors de la réaction électrochimique, les variations de courant enregistrées au niveau de l'électrode de travail sont amplifiées et traduites par 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.

### **6.2.2 Matériel utilisé**

Le système chromatographique comporte une pompe isocratique à doubles pistons réciproques (modèle LC-10AD, Shimadzu, France), un injecteur automatique réfrigéré par effet Peltier (modèle Famos, Dionex, France) équipé d'une seringue Hamilton de 25  $\mu\text{L}$  et d'une vanne Valco, une micro-colonne analytique en phase reverse RP 18 (Aquasil 150x1mm ; 3  $\mu\text{m}$ , 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).

### **6.2.3 Paramètres analytiques**

Tous les solvants utilisés présentent une qualité compatible avec la CLHP, et sont filtrés sur filtres Millipore 0,22  $\mu\text{m}$  avant injection.

La **phase mobile** est composée de phosphate de sodium diacide ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 50 mM (Merck), d'acide octane sulfonique-1 sel de sodium 1,7 mM (Merck), d'acide éthylène-dinitrilotétraacétique disodique (EDTA) 200  $\mu\text{M}$  (Merck). Le pH de cette solution est ajusté à 3 avec de l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) concentré, et on ajoute 5% d'acétonitrile à la solution finale. Le débit de la phase mobile est fixé à 60  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

La **préparation des standards** consiste à réaliser des solutions mères de dopamine (3-4 dihydroxyphényléthylamine, Aldrich), de DOPAC (acide 3,4 dihydroxyphénylacétique, Sigma) et de HVA (acide 4-hydroxy-3-méthoxyphénylacétique, Sigma) à 1 mg/mL dans de l'HCl 0,1 M qui sont aliquotées et congelées à  $-80^\circ\text{C}$  pendant 2 mois maximum. Ces solutions mères sont ensuite utilisées quotidiennement pour la préparation de standard, ou solution étalon, dont les concentrations finales sont de 10  $\text{pg}/\mu\text{L}$  pour la dopamine, 200  $\text{pg}/\mu\text{L}$  pour le DOPAC et 1000  $\text{pg}/\mu\text{L}$  pour l'HVA. Une fois préparés, les standards sont conservés au réfrigérateur. Le volume d'échantillon injecté est de 5  $\mu\text{L}$ .

Le **détecteur** nécessite une programmation. Le potentiel d'oxydation de l'électrode de travail est fixé à + 750 mV. Ce potentiel correspond à un compromis entre les potentiels redox de la

dopamine, du DOPAC et du HVA. La sensibilité du détecteur est de 1 nA pour la dopamine, 50 nA pour le DOPAC et 10 nA pour l'HVA.

Les limites de détection, correspondant à un rapport signal sur bruit égal à 2, sont pour les catécholamines étudiées :

<b>Limites de détection</b>	<b>nmoles/Litre</b>
<b>Dopamine</b>	1,6
<b>DOPAC</b>	3
<b>HVA</b>	2,7

#### ***6.2.4 Validation de la technique analytique***

Les méthodes analytiques utilisées ont été validées par trois tests : la répétabilité, la reproductibilité et la linéarité.

##### Répétabilité

La répétabilité intra-essais est testée en effectuant des injections répétées (n=10) de la même solution de standards. Elle est estimée au travers du coefficient de variation (écart-type/moyenne), exprimé en pourcentage, et correspondant aux erreurs de répétabilité.

	<b>Dopamine</b>	<b>DOPAC</b>	<b>HVA</b>
<b>coefficient de variation</b>	1,98 %	1,20 %	0,57 %

##### Reproductibilité

La reproductibilité inter-essais est estimée en effectuant des injections répétées (n=10) de différentes solutions standards de catécholamines sur 3 jours. Ce paramètre est apprécié via le coefficient de variation des mesures et ne doit pas dépasser 5%.

	<b>Dopamine</b>	<b>DOPAC</b>	<b>HVA</b>
<b>coefficient de variation</b>	4,92 %	4,00 %	4,07 %

##### Linéarité

La linéarité est la capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels aux différentes concentrations en dopamine, DOPAC et HVA, c'est à dire qu'il doit exister une relation

linéaire entre les différentes concentrations (5 points de calibration) en dopamine, DOPAC et HVA et la surface des pics correspondants. Elle est appréciée via un coefficient de corrélation, qui doit être le plus proche de 1 pour un intervalle de concentration défini.

	DA	DOPAC	HVA
Coefficient de corrélation	0,9996	0,9999	0,9996

### 6.3 Dosage des acides aminés

L'évolution du matériel analytique du laboratoire au cours de ma thèse a permis l'analyse des acides aminés sur deux chaînes CLHP distinctes, mais restant similaires dans le principe de l'analyse et de la détection. Tous les dialysats provenant du striatum ont été dosés sur la chaîne avec une détection spectrofluorimétrique standard, et les recueils issus du VM, du CS et du Ctx Fr3 ont été dosés sur la chaîne avec détection spectrofluorimétrique par induction laser (LIF), qui offre une sensibilité de mesure plus importante.

#### 6.3.1 Principe de la détection

Le phénomène de fluorescence est évoqué 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 doit être greffé sur leur structure moléculaire. Ce processus est appelé "dérivation" ou "dérivatisation".

##### 6.3.1.1 Détection spectrofluorimétrique standard

Le fluorophore utilisé est l'orthophtaldialdéhyde (OPA), qui réagit avec les acides aminés en présence de béta-mercapto-éthanol pour donner naissance au dérivé fluorescent (Figure 34 ci dessous).

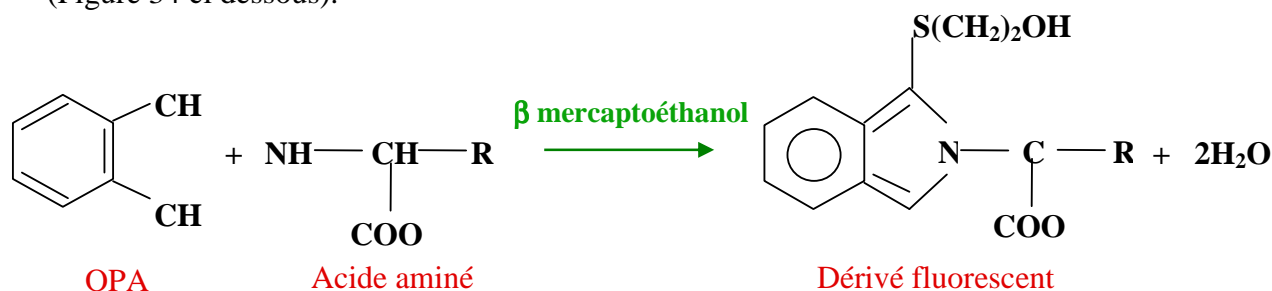
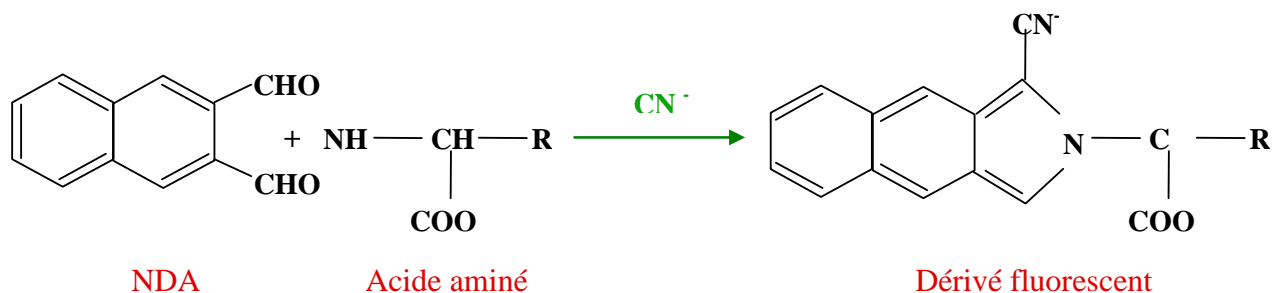


Figure 34 : Réaction chimique avec l'OPA à l'origine de la méthode de détection standard des acides aminés.

### 6.3.1.2 Détection LIF

L'utilisation du détecteur fluorimétrique à induction laser augmente d'un facteur 30 la sensibilité de détection. Nous avons utilisé comme fluorophore le naphthalène-2,3-dicarboxyaldéhyde (NDA,  $\lambda=442 \mu\text{m}$ ), qui réagit avec les acides aminés en milieu basique (tampon borate, pH 8,7) en présence d'ions cyanure ( $\text{CN}^-$ ) réducteurs (Figure 35 ci-dessous).



**Figure 35 : Réaction chimique avec le NDA à l'origine de la méthode de détection par LIF des acides aminés.**

### 6.3.2 Matériel utilisé

#### 6.3.2.1 Détection spectrofluorimétrique standard

Le système chromatographique utilisé se compose d'un dégazeur (DG 1310, Shimadzu, France), d'un sélecteur de solvant (FCV 10 AL, Shimadzu), de deux pompes (LC 10-AT, Shimadzu), d'un injecteur automatique réfrigéré (SIL 10 AXL, Shimadzu) et d'un détecteur fluorimétrique (RF 10 AXL, Shimadzu, France). Un logiciel spécifique (Class LC 10, Shimadzu) pilote le système analytique et traite les données.

#### 6.3.2.2 Détection LIF

Le système utilisé est le même que pour la détection spectrofluorimétrique standard, mis à part l'injecteur automatique thermostaté (Triathlon, Polymeres Laboratories, France), et bien entendu le détecteur LIF (Zetalif, Picometrics, Toulouse, France), qui est monté à la place du détecteur fluorimétrique standard. Le logiciel utilisé pour le pilotage de la chaîne et le traitement des données est le même (Class LC 10, Shimadzu).

### 6.3.3 Paramètres analytiques

Tout comme pour les catécholamines, les solvants utilisés pour les acides aminés sont de qualité CLHP. Toutes les solutions sont filtrées sur filtres Millipore aréactifs de porosité  $0,22 \mu\text{m}$  (solutions aqueuses) ou  $0,45 \mu\text{m}$  (solutions organiques).

### 6.3.3.1 Détection spectrofluorimétrique standard

La **phase mobile** est constituée de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  40 mM ajusté à pH 5,8 avec de l'hydroxyde de sodium 10N, et additionné de 12 % d'acétonitrile. Le débit de la phase mobile est fixé à 1,2 mL/min. Les **solutions standards** sont préparées à partir de solutions mères stockées à  $-80^\circ\text{C}$  pendant 2 mois maximum. Ces dernières contiennent séparément le glutamate et le GABA à la concentration de 1 mg/mL dans du HCl 0,05 M. La concentration finale de la solution standard obtenue par dilution aqueuse de la solution mère est de 0,1 ng/ $\mu\text{L}$  pour le glutamate et 0,025 ng/ $\mu\text{L}$  pour le GABA. La **dérivatisation** est réalisée automatiquement par l'auto-injecteur thermostaté à  $4^\circ\text{C}$ . Pour la détection standard, 6  $\mu\text{L}$  d'échantillon sont mélangés avec 5  $\mu\text{L}$  d'une solution d'OPA contenant le béta-mercapto-éthanol. Après 3 min de contact, 9  $\mu\text{L}$  de produit dérivé sont injectés sur la colonne. Le temps de contact entre la solution et le dialysat a été ajusté pour permettre une fluorescence optimale des acides aminés. La **colonne** est une colonne RP 18 de 100 mm de long, 4,6 mm de diamètre interne et 3  $\mu\text{m}$  de granulométrie. Le **détecteur** est paramétré pour une longueur d'onde d'excitation de 350 nm, et une longueur d'onde d'émission de 455 nm.

### 6.3.3.2 Détection LIF

La **phase mobile** est constituée de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  40 mM ajusté à pH 6, additionné de 12 % d'acétonitrile. Le débit de la phase mobile est fixé à 0,35 mL/min. Les **solutions standards** sont préparées à partir de solutions mères à 1 mg/mL dans le tampon borate (pH 8,7), stockées à  $-80^\circ\text{C}$  pendant 2 mois maximum. La concentration finale de la solution standard injectée est de 1 pg/ $\mu\text{L}$  pour le glutamate et le GABA. La **dérivatisation** est réalisée automatiquement par l'auto-injecteur thermostaté à  $20^\circ\text{C}$ . Deux microlitres d'échantillon sont mélangés à 2  $\mu\text{L}$  d'un mélange tampon borate-NaCN et 1  $\mu\text{L}$  de NDA. Après 10 minutes de contact, 2  $\mu\text{L}$  de produit dérivé sont injectés sur la colonne. La **colonne** est une colonne RP 18 de 150 mm de long, 2,1 mm de diamètre interne et 3,5  $\mu\text{m}$  de granulométrie. Le **détecteur** est paramétré pour une longueur d'onde d'excitation de 442 nm, et une longueur d'onde d'émission de 490 nm.

**Tableau 6 : Récapitulatif des paramètres analytiques appliqués pour le dosage des acides aminés en détection spectrofluorimétrique standard et LIF.**

	<b>standard</b>	<b>LIF</b>
<b>Phase mobile</b>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 40 mM pH 5,8 12 % ACN	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 40 mM pH 6 12 % ACN
<b>Débit</b>	1,2 mL/min	0,35 mL/min
<b>Dérivation</b>	6 µL d'échantillon 5 µL d'OPA	2 µL d'échantillon 2 µL tampon borate+CN 1 µL NDA
<b>Volume injecté</b>	9 µL	2 µL
<b>Colonne RP 18</b>	100 mm x 4,6 mm, 3 µm	150 mm x 2,1 mm 3,5 µm
<b>Détecteur</b>	$\lambda_{ex}$ : 350 nm $\lambda_{em}$ : 455 nm	$\lambda_{ex}$ : 442 nm $\lambda_{em}$ : 490 nm
<b>Limites de détection</b>	Glutamate : 3,3 nM GABA : 4,8 nM	Glutamate : 0,0068 nM GABA : 0,48 nM

#### 6.3.4 Validation de la technique analytique

Comme pour les catécholamines, la méthode analytique utilisée pour les acides aminés a été validée par trois tests : la répétabilité, la reproductibilité et la linéarité.

##### 6.3.4.1 Détection spectrofluorimétrique standard

###### - Répétabilité

La répétabilité intra essais est testée en effectuant des injections répétées (n=10) de la même solution d'intérêt. Elle est mesurée par le coefficient de variation, exprimé en pourcentage et correspondant aux erreurs de répétabilité. Celui-ci ne doit pas dépasser 5%.

	<b>glutamate</b>	<b>GABA</b>
<b>coefficient de variation</b>	1,53 %	1,22 %



## - Reproductibilité

La reproductibilité inter essais est estimée en effectuant des injections répétées (n=10) de différentes solutions standard d'acides aminés sur 3 jours. Ce paramètre est apprécié par le coefficient de variation, exprimé en pourcentage. Là encore, celui-ci ne doit pas dépasser 5 %.

	<b>glutamate</b>	<b>GABA</b>
<b>coefficient de variation</b>	2,38 %	4,52 %

## - Linéarité

La linéarité est la capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de l'acide aminé dans l'échantillon. Elle est estimée par le coefficient de corrélation, qui doit être le plus proche de 1 pour un intervalle de concentration défini.

	<b>Glutamate (0,1 - 2) ng/μL</b>	<b>GABA (0,0025 - 0,1) ng/μL</b>
<b>coefficient de corrélation</b>	0,9997	0,9997

## 6.3.4.2 Détection spectrofluorimétrique par LIF

## - Répétabilité

La répétabilité intra essais est testée en effectuant des injections répétées (n=10) de la même solution d'intérêt. Elle est estimée par le coefficient de variation, exprimé en pourcentage, et correspondant aux erreurs de répétabilité. Celui-ci ne doit pas dépasser 5 %.

	<b>glutamate</b>	<b>GABA</b>
<b>coefficient de variation</b>	4,1 %	1,9 %

## - Reproductibilité

La reproductibilité inter essais est estimée en effectuant des injections répétées (n=10) de différentes solutions standard d'acides aminés sur 3 jours. Ce paramètre est estimé par un coefficient de variation, exprimé en pourcentage. A nouveau, celui-ci ne doit pas dépasser 5 %.

	<b>glutamate</b>	<b>GABA</b>
<b>coefficient de variation</b>	3,2 %	2,7 %

### - Linéarité

La linéarité est la capacité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de l'acide aminé dans l'échantillon. Elle est estimée via le coefficient de corrélation qui doit être le plus proche de 1.

	<b>Glutamate (0,2-5) pg/<math>\mu</math>L</b>	<b>GABA (0,05-5) pg/<math>\mu</math>L</b>
<b>coefficient de corrélation</b>	0,9994	0,9992

## 7. Contrôles histologiques

### 7.1 Localisation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation

#### 7.1.1 Chez les rats intacts

Après sacrifice par décapitation, les cerveaux ont été prélevés et congelés dans de l'azote liquide avant d'être débités en coupes frontales de 25  $\mu$ m d'épaisseur à l'aide d'un cryostat à congélation (Microm HM 500, France). Des coupes aux niveaux striatal et sous-thalamique ont été recueillies sur des lames de microscopie préalablement silanées (2% d'APTS dans de l'acétone), puis colorées au crésyl violet selon un protocole classique : 5 minutes dans un bain de crésyl, et après un rapide rinçage dans l'eau distillée, 1 minute dans des bains successifs d'alcool de concentration croissante (70, 90 puis 100 %). Les lames ont ensuite été plongées dans deux bains de xylène successifs pendant 15 minutes. Immédiatement après, une lamelle a été apposée sur les lames avec un milieu de montage au xylène (DPX, BDH, Poole, Angleterre).

Après séchage, les lames ont été observées au microscope photonique. Le moindre doute sur l'implantation de l'électrode de stimulation ou des sondes de microdialyse nous a fait écarter l'animal du groupe expérimental. De la même manière, toute observation d'une hémorragie au sein du parenchyme cérébral nous a également poussé à ne pas prendre en compte l'animal dans le groupe expérimental.

#### 7.1.2 Chez les rats lésés à la 6-OHDA

A la fin de chaque expérience, les animaux lésés à la 6-OHDA ont été sacrifiés par une perfusion intracardiaque de NaCl 0,9 %, suivie d'une solution de paraformaldéhyde (PFA) préparée à 4 % dans du tampon phosphate salin pour fixer les tissus. Après dissection, les

cerveaux ont été post-fixés une nuit à 4°C dans le PFA 4 %. Ils ont ensuite été cryoprotégés dans une solution de sucrose 20 % pendant une nuit. Ils ont enfin été congelés dans de l'isopentane refroidi à -40°C, et débités en coupes frontales de 20 µm d'épaisseur au cryostat. Comme précédemment, des coupes aux niveaux striatal et sous-thalamique ont été recueillies sur des lames de microscopie préalablement silanées, et ont été colorées au crésyl violet afin de contrôler l'implantation des sondes de microdialyse et de l'électrode de stimulation. Ici aussi, seuls les animaux pour lesquels l'implantation de la sonde et de l'électrode était correcte ont été pris en compte dans les groupes expérimentaux.

Parallèlement, des coupes aux niveaux striatal et nigral ont été utilisées pour l'immunohistochimie de la TH afin de vérifier l'amplitude de la dénervation dopamine induite par la lésion à la 6-OHDA. Pour cela, ces coupes flottantes ont été recueillies dans des puits en plastique remplis d'une solution d'antigel (20 % de glycérol, 30 % d'éthylène glycol, 37,5 % d'H<sub>2</sub>O, dans un tampon phosphate, pH 7,3) et stockées à -30°C jusqu'à leur utilisation.

## **7.2. Evaluation de l'étendue de la lésion dopaminergique**

Classiquement, la sévérité des lésions du système dopaminergique induites 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, 1996a). 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, 1971a). 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 sous-cutanée d'une solution d'apomorphine (0,08 mg/kg), agoniste dopaminergique mixte D1 et D2, diluée dans une solution de NaCl 0,9 % contenant de l'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 vérification anatomique post-mortem 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 immuno-marquage est réalisé au niveau sur des coupes de SNc et du striatum, principale structure de projection de la SNc, réalisées à partir de cerveaux post-fixés au PFA.

### ***7.2.1. Protocole d'immunohistochimie de la tyrosine hydroxylase***

Des coupes au niveau de la substance noire et du striatum obtenues à partir des cerveaux fixés des rats lésés ont été préparées comme décrit plus haut (coupes flottantes). Ces coupes ont par la suite été placées dans un tampon Tris HCl salin 0,1 M (TBS) et subi deux rinçages de 10 minutes dans du TBS. Après une phase de pré-incubation d'une heure dans un tampon TBST (TBS additionné de 0,3 % de Triton 100X, Sigma) contenant 3 % de sérum normal de chèvre (GPI, Miles), les coupes ont ensuite été mises à incuber avec l'anticorps primaire monoclonal de souris anti-TH (Boehringer), pendant une nuit à 4°C. Cet anticorps a été utilisé à une dilution de 1/250<sup>ème</sup> dans du TBST contenant 1 % de GPI.

Le lendemain, les coupes ont été rincées deux fois 10 minutes dans du TBST, puis mises à incuber 2 heures avec l'anticorps secondaire biotynilé (anticorps de lapin anti-IgG de souris, Sak) dilué au 1/100<sup>ème</sup> dans du TBS comprenant également 1 % de GPI. Après deux rinçages de 10 minutes au TBS, les coupes ont été incubées pendant deux heures dans un complexe ABC streptavidine-biotine (préparé 30 minutes avant l'incubation). La solution a été préparée à partir de TBS à 1 % de GPI, dans lequel la streptavidine et la peroxydase biotynilée ont été diluées chacune au 1/200<sup>ème</sup>. Enfin, les tissus ont été rincés deux fois dans du TBS, et deux fois dans du TB (tampon Tris HCl).

La révélation du marquage a été réalisée par une réaction à la diaminobenzidine 0,05 % (Sigma) additionnée de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,01 % (Merck), le tout dilué dans du TB. La diaminobenzidine est un chromogène qui réagit avec la peroxydase en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conduisant ainsi à la formation d'un précipité marron indicateur de la fixation de l'anticorps primaire sur la TH. La durée de la réaction est fonction de l'intensité de la coloration obtenue (environ 5 minutes pour la TH). Au terme de la coloration, les coupes ont été rapidement transférées dans du TB, et rincées 2x10 minutes dans du TBS.

Les coupes ainsi marquées ont ensuite été montées sur des lames silanées. Après séchage à température ambiante, elles ont d'abord été déshydratées dans des bains d'alcool de concentration croissante de cinq minutes chacun (70°, 95° puis 100°), puis plongées dans un bain de xylène et pour finir, montées avec du milieu de montage (DPX, BDH, Poole, Angleterre).

### ***7.2.2 Analyse de l'étendue de la lésion***

La perte cellulaire au niveau nigral ainsi que la déafférentation dopaminergique au niveau striatal chez les rats partiellement lésés ont pu être évaluées grâce à l'analyseur d'image S.A.M.B.A. (SAMBA 2005, SAMBA Technologies, Meylan, France)

Ce système est composé d'un microscope (Zeiss, Axiophot), d'un banc macroscopique, d'une caméra (CCD monochrome CP-9003, Tokina Optical Co., Tokyo, Japon) et d'un micro-ordinateur (IBM PC) relié à un écran vidéo couleur. Cet ensemble permet de mesurer pixel par pixel la densité optique, qui correspond au logarithme du rapport des intensités lumineuses en aval et en amont de la coupe tissulaire analysée, au sein des coupes immuno-marquées.

Au niveau striatal, les coupes de tissu ont été numérisées via une caméra, et la densité optique moyenne pour chaque coupe a été calculée par le logiciel Autoradio V4.03 (SAMBA Technologies). La densité optique a été mesurée du côté lésé pour les animaux porteurs de lésions partielles et totales, ainsi que du côté non lésé afin de mesurer un marquage contrôle. Les valeurs de densité optique ainsi mesurées ont permis de délimiter la surface du territoire dénervé chez les rats porteurs de lésion partielle, qui a été exprimée en pourcentage par rapport à la surface du côté controlatéral à la lésion.

Pour les coupes de SNC, le nombre de neurones immunomarqués restant a été évalué du côté lésé et non lésé sous microscope grâce au programme de comptage cellulaire IPS 32 (SAMBA 2005, SAMBA Technologies). Le nombre de neurones comptés a été exprimé en nombre moyen de neurones par coupe, et la proportion de perte neuronale ramenée en pourcentage par rapport au côté controlatéral à la lésion.

## **8- La spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (SRM)**

Une des questions expérimentales abordées au cours de ce travail doctoral m'a conduite à essayer d'analyser les variations des contenus en glutamate au sein du striatum en utilisant la technique de spectrométrie par résonance magnétique nucléaire (SRM). Ce travail

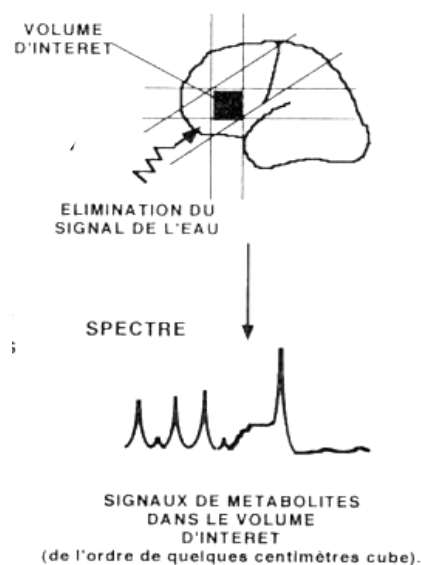
expérimental a fait l'objet d'une collaboration avec les Drs Nils Kickler et Chantal Rémy de l'équipe de Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique dirigée par le Dr Christoph Segebarth (équipe 5 de l'Institut des Neurosciences de Grenoble, unité Inserm 836, ex unité U594). Une partie de ce travail a également fait intervenir le Pr. Franck Durif et le Dr Carine Chassain de Clermont-Ferrand (Equipe INRA QuaPA-STIM, Centre de Recherche INRA Clermont-Ferrand/Theix) pour les analyses in vitro par SRM haute résolution. Nous décrivons ici très succinctement le principe des outils utilisés, ainsi que le protocole expérimental suivi.

## 8.1 Principe de la SRM

La SRM est une technique d'analyse non invasive, basée sur la propriété magnétique de certains noyaux atomiques. Elle permet ainsi d'identifier les types de molécules contenues dans un volume parfaitement défini d'un tissu biologique (volume d'intérêt), et leurs concentrations respectives (Figure 36 ci-dessous). La spectrométrie du proton est très répandue dans le domaine des applications médicales et biomédicales, du fait de l'abondance très élevée de l'hydrogène (99,98 %) d'une part, et de son fort moment magnétique d'autre part, ce qui facilite l'observation des signaux.

La résonance magnétique nucléaire est une technique de spectrométrie appliquée aux noyaux nucléaires de spin non nul. En effet, pour avoir une réponse en résonance magnétique nucléaire, il faut que les nombres de masse A (ou de nucléons) et de numéro atomique Z (nombre de protons) du noyau atomique ne soient pas simultanément pairs, les noyaux les plus utilisés étant ceux dont le spin est égal à 1/2 (par exemple  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ou  $^{31}\text{P}$ ). Ces particules possèdent, associé à leur spin, un moment magnétique, de sorte que l'on peut les comparer à de petits aimants.

Quand des spins de moment magnétique non nul sont soumis à un champ magnétique statique  $B_0$  très puissant (par rapport au champ magnétique terrestre), ils peuvent prendre deux orientations différentes : soit ils s'orientent dans la même direction que celui-ci, soit ils s'orientent dans la direction contraire. Le champ  $B_0$  exerce alors une force sur le moment magnétique des spins. Les spins orientés dans la même direction que le champ  $B_0$  (position

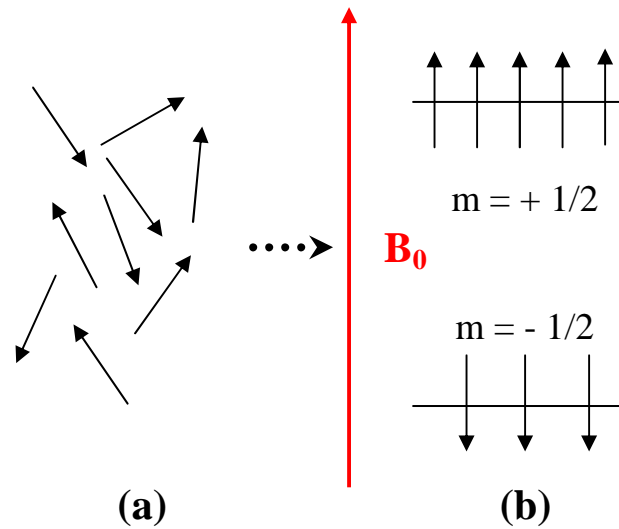


**Figure 36 :**  
**Principe de la SRM.**

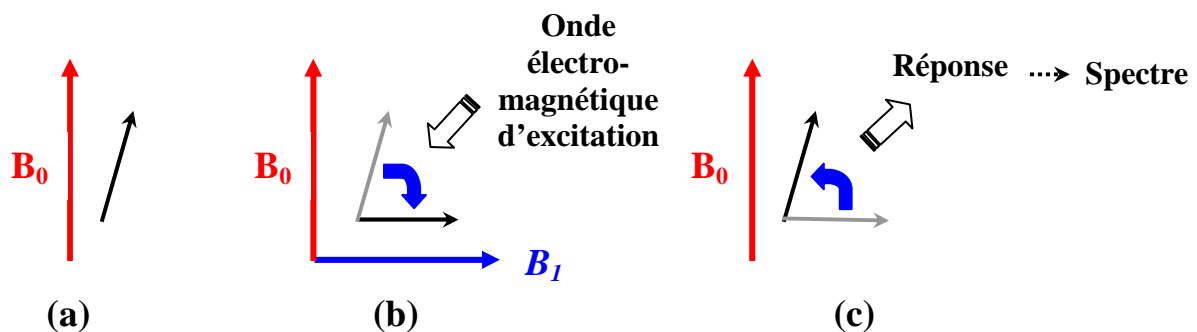
parallèle, la plus stable) ont une énergie un peu plus basse que ceux qui sont orientés dans la direction contraire (position anti-parallèle, moins stable).

(a) Spins dans l'état dégénéré en l'absence de champ  $B_0$ . Les spins s'orientent de manière aléatoire dans l'espace.

(b) Quand on applique un champ magnétique  $B_0$ , les spins s'orientent préférentiellement dans la direction du champ ( $m = +1/2$ , où  $m$  représente le moment magnétique), mais peuvent également s'aligner dans la direction opposée ( $m = -1/2$ ). Pour simplifier, les spins ont été représentés parallèles à  $B_0$ .



Pour observer un signal, il faut rompre cet équilibre en soumettant les spins à une onde électromagnétique de caractéristiques adéquates. Il est possible de faire passer les noyaux d'un niveau d'énergie inférieur (état basal, cf. schéma **a** ci-dessous) à un niveau supérieur (état excité, cf. schéma **b**). La différence énergétique qui sépare ces deux niveaux dépend de l'intensité du champ magnétique appliqué : plus fort est ce champ, plus grande est la différence entre les niveaux. Le champ magnétique  $B_1$  de l'onde électromagnétique envoyée doit être perpendiculaire au champ produit  $B_0$  par l'aimant. A l'arrêt de l'application du champ  $B_1$ , le système retourne à son état d'équilibre en émettant une onde électromagnétique (c). Ce phénomène, qui constitue la réponse des particules à la perturbation apportée, est à l'origine du spectre de RMN.

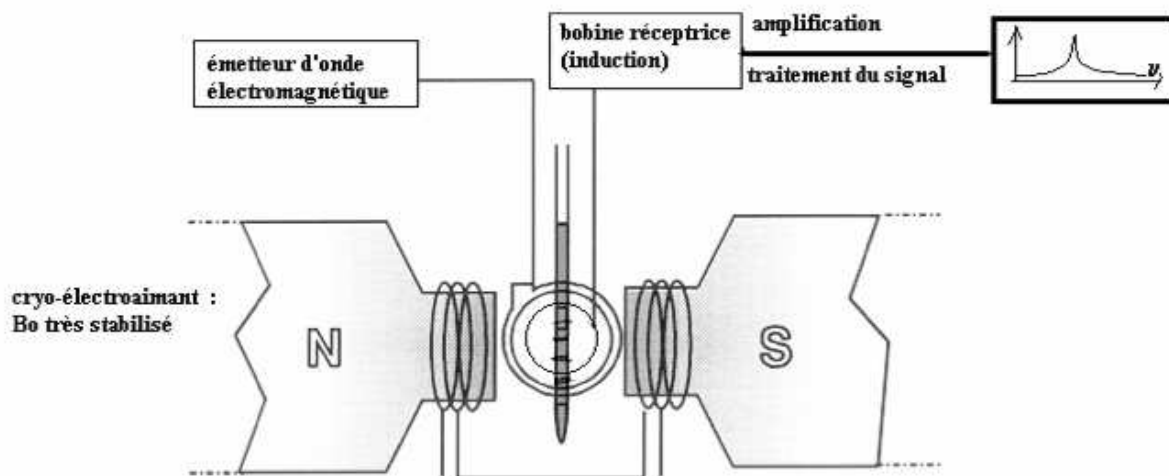


Le champ magnétique utilisé doit être le plus élevé possible de façon à augmenter l'intensité du signal RMN, ainsi que la résolution du spectre.

## 8.2 Matériel et paramètres utilisés dans notre étude

Les expériences ont été réalisées avec la SRM du proton, dans un champ magnétique de 7 Tesla. Le dispositif expérimental (voir pour modèle Figure 37 ci-dessous) se compose d'un aimant supraconducteur horizontal cylindrique comportant une ouverture centrale de 20 cm de diamètre (Magnex, Scientific Ltd, Abington, Royaume-Uni), connecté à une console SMIS (Surrey Medical Imaging, Guildford, Royaume-Uni). Une bobine de surface de 25 mm<sup>2</sup> fabriquée au laboratoire a été utilisée pour l'émission de l'onde électromagnétique excitatrice et la réception du signal.

Concrètement, chaque animal a été placé sur une barre de 8 cm de largeur et de 1m de longueur, sa tête étant maintenue en position fixe par des barres d'oreille non métalliques. Un réseau de tuyaux de plastique et de cathéters a permis de maintenir l'animal sous anesthésie une fois dans l'aimant, de contrôler sa température et d'injecter des produits à distance. Une bobine a ensuite été fixée au-dessus de la tête de chaque animal en veillant qu'il n'y ait pas de contact entre les deux, puis l'ensemble du dispositif expérimental a été introduit dans l'aimant.



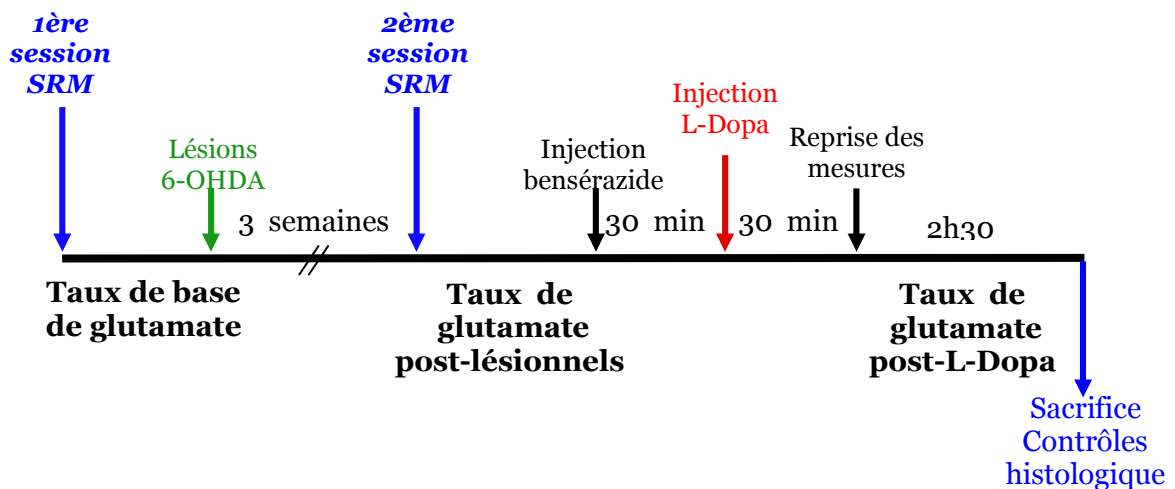
**Figure 37 : Schéma de l'appareillage RMN.**

Le cryo-aimant (aimant supraconducteur) produit le champ statique  $B_0$  qui est stabilisé par des bobines correctrices. Le champ d'excitation  $B_1$  est généré par l'émetteur d'onde électromagnétique, et la réponse des particules du volume d'intérêt transite via une bobine réceptrice jusqu'au dispositif d'amplification et de traitement du signal.



### 8.2.1 Déroulement des expériences

Le déroulement temporel de l'expérience est représenté sur la figure 38 ci-dessous. Brièvement, les mesures ont été effectuées en deux temps : une première session de SRM, destinée à mesurer les taux de base de glutamate, a été effectuée sur des rats sains, chez qui on a pratiqué par la suite une lésion unilatérale totale de la substance noire (pour le protocole, voir paragraphe 2.1). Après un délai post-lésionnel de 4 semaines, les rats ont fait l'objet d'une seconde session de SRM afin de visualiser l'effet de la lésion dopaminergique sur les contenus striataux en glutamate d'une part, et de mesurer leurs variations induites par une injection aiguë de L-Dopa d'autre part. Après la mesure bilatérale des taux de base post-lésionnels de glutamate, chaque animal a reçu une injection de bensérazide (12,5 mg/kg, Sigma), suivie d'une injection de L-Dopa (50 mg/kg, Sigma) 30 minutes plus tard. Après une nouvelle attente de 30 minutes, délai nécessaire pour atteindre le pic d'effet de la L-Dopa, nous avons suivi à travers une dernière mesure de RMN l'évolution des taux de glutamate sous L-Dopa pendant 2h30. A la fin des expériences, les rats ont été sacrifiés par décapitation, et leur cerveau prélevé puis congelé dans l'azote et stocké à -80°C.



**Figure 38 : Déroulement des expériences de mesure du glutamate striatal par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRM).**

Pour chaque séance de SRM, les rats ont été anesthésiés avec 5% d'isoflurane dans un air enrichi à 35% d'O<sub>2</sub>, puis maintenus sous anesthésie avec 1 à 1,5% d'isoflurane par le biais d'un masque. La température corporelle a été maintenue à 37°C et contrôlée tout au long de l'expérience grâce à une couverture chauffante couplée à une sonde rectale.

Une fois l'animal placé dans l'aimant, le volume d'acquisition (ou voxel) de 3x3x3mm<sup>3</sup> a été positionné au niveau de la région dorso-latérale du striatum, puis des ajustements localisés de la fréquence de résonance, de l'intensité de la radiofréquence B<sub>1</sub> et une homogénéisation du

champ magnétique  $B_0$  (shim) ont été effectués. L'opération de "shimming" consiste à modifier le champ magnétique statique  $B_0$  afin de le rendre le plus homogène possible au niveau du volume d'acquisition. Des bobines dites de "shim" permettent, grâce aux champs magnétiques faibles qu'elles produisent, de compenser les distorsions du champ  $B_0$  causées par l'introduction du rat dans l'aimant. Après élimination du signal de l'eau (procédé VAPOR, Tkac et al., 1999), l'acquisition de spectres d'une largeur spectrale de 10 kHz a été effectuée sur 1024 points (512 avant et après le signal maximum de l'écho de spins), avec un temps de répétition de 3s. Les spectres étaient précédés de 8 scans sans acquisition afin d'établir un état d'équilibre du système.

Les spectres ont été traités par le langage de programmation IDL (RSI, Boulder, CO). Pour la quantification des métabolites, une somme de formes Lorentziennes (tracés théoriques) a été ajustée aux spectres expérimentaux aux signaux observés à 2,0 parties par million (ppm) (principalement le N-acétyl aspartate), 2,3 ppm (signal du glutamate, de la glutamine, du N-acétyl aspartate et du GABA), 3,0 ppm (créatine et phosphocréatine), 3,2 ppm (choline, phosphocholine et glycérophosphorylcholine, avec un peu de signal de taurine et de myo-inositol), et enfin 3,4 ppm (taurine et myo-inositol).

Afin d'estimer la composition du pic observé à 2,3 ppm des expériences sur des solutions de glutamate, glutamine, NAA et GABA ont été effectuées dans les mêmes conditions d'acquisition et d'analyse que les expériences *in vivo*. Ces solutions ont été préparées dans un tampon phosphate contenant 100 mmol/L de métabolite (glutamate, glutamine, NAA ou GABA), 0,2 mmol/L de complexe Gadolinium chélaté comme relaxant, 37 nmol/L de sodium-d-(triméthylsilyl) propionate (TSP) comme référence de fréquence et de phase, et 0,5 ml de pénicilline-streptomycine. Les spectres ont ensuite été obtenus sur la base de concentrations relatives de 11,3 mmol/kg pour le glutamate, 5,5 mmol/kg pour la glutamine, 8,9 mmol/kg pour le N-acétyl aspartate et 1,7 mmol/kg pour le GABA. Suite à ces expériences, nous avons pu estimer qu'approximativement 80% de la surface du signal observé à 2,3 ppm provient du glutamate.

Après les dernières expériences de SRM (après L-Dopa), les rats 6-OHDA, ainsi que quelques rats sains témoins, ont été décapités, et leur cerveau rapidement prélevé et brièvement rincé dans du NaCl 0,9% refroidi. Le cerveau a été sectionné une première fois dans le sens coronal pour séparer la partie antérieure du cerveau contenant le striatum de la partie postérieure, puis sectionné une seconde fois afin de séparer les hémisphères droit et gauche de la partie antérieure du cerveau. Ces segments de tissu cérébral ont été pesés et

rapidement congelés dans l'azote liquide, puis conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à leur analyse in vitro par SRM haute résolution réalisée par C. Chassain au Centre de Recherche INRA Clermont-Ferrand/Theix (équipe INRA QuaPA-STIM), à Saint Genès Champanelle (voir paragraphe 8.2.2 ci-après).

La partie postérieure de l'encéphale des rats lésés a également été congelée, puis coupée au cryostat en tranches de  $20\ \mu\text{m}$  d'épaisseur au niveau de la substance noire compacte afin de contrôler la réussite des lésions. Les coupes ainsi obtenues ont été recueillies sur des lames silanées, post-fixées 20 minutes dans une solution de PFA à 4% puis rincées 2 fois 10 minutes dans du PBS 1X, avant d'être utilisées pour une immunohistochimie de la tyrosine hydroxylase selon un protocole identique à celui décrit paragraphe 7.2.1 du chapitre "Matériel et Méthodes".

### ***8.2.2 Analyse in vitro par SRM haute résolution***

Cette partie de l'étude, réalisée par Carine Chassain de l'équipe INRA QuaPA-STIM à Clermont-Ferrand, était destinée à réaliser un dosage plus précis du glutamate striatal de nos expériences grâce à un dispositif de SRM plus puissant et basé sur la détection du  $^{13}\text{C}$ .

Pour chaque animal, les extraits de tissu correspondant à la partie antérieure de l'encéphale ont été homogénéisés avec de l'acide perchlorique à 4%. Les solutions contenant les métabolites à analyser ont été préparées à partir d'extraits de tissu cérébral à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons, puis centrifugés pendant 15 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$  (9600 tours par minute). Le surnageant a été recueilli et neutralisé avec du carbonate de potassium ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). Les précipités de chlorure de potassium (KCl) ont été séparés par centrifugations répétées pendant 10 minutes ( $4^{\circ}\text{C}$ , 9600 tours par minute). Le surnageant obtenu a été lyophilisé puis resuspendu dans une solution d'oxyde de deuterium ( $\text{D}_2\text{O}$ ). Après ajustement du pH à 7,4, les échantillons ont été stockés à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Pour la quantification de la concentration absolue des métabolites, chaque échantillon a été placé dans un tube SRM, à proximité d'un tube contenant une solution de TSP à 5 mM. Les spectres ont été obtenus dans un champ électromagnétique de force 9,4 Tesla, avec une séquence "standard pulse-acquire" (128 moyennes, délai de répétition 9,1 secondes).

## **9. Traitement des résultats et analyse statistique**

### **9.1 Présentation des résultats**

En ce qui concerne les expériences de microdialyse, les résultats ont fait l'objet d'un même traitement : pour chaque animal, la concentration en neurotransmetteurs mesurée par HPLC a été convertie en pourcentage de variation par rapport à la moyenne des taux de base considérée comme étant le 100% de référence. Chaque animal a donc été son propre contrôle pour apprécier les modifications de contenus de neurotransmetteurs induites par la SHF du NST. Par la suite, ces pourcentages individuels ont été moyennés dans chaque groupe expérimental, et l'erreur standard à la moyenne (SEM) calculée.

### **9.2 Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats de microdialyse a été effectuée par un test U de Mann et Whitney afin de comparer chaque recueil de période de stimulation et post-stimulation au dernier recueil des taux de base, et afin de comparer ces recueils entre deux groupes expérimentaux. Les résultats de ces tests ont été considérés comme significatifs pour des probabilités inférieures ou égales à 0,05. L'homogénéité des taux de base des différents groupes a elle-même été contrôlée par un test ANOVA.

Pour les expériences de SRM, l'analyse statistique a été effectuée avec un test d'analyse de variance à deux facteurs, que sont la période (avant/après lésion et avant/après L-Dopa) et l'hémisphère cérébral considérés. Un test de Wilcoxon pour échantillons appariés a été utilisé pour déterminer les interactions et effets significatifs. Pour l'effet L-Dopa, les spectres après injection ont tous été sommés pour chaque animal, hormis les spectres de mauvaise qualité, puis soumis au test de Wilcoxon pour échantillons appariés.



# PARTIE I

## MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES INDUITES PAR LA SHF DU NST AU NIVEAU DE STRUCTURES CEREBRALES EXTERIEURES AUX GANGLIONS DE LA BASE.

### 1. Vérifications préliminaires

#### 1.1 Stabilité des taux d'acides aminés dans nos conditions expérimentales

Afin de s'assurer de la reproductibilité de nos résultats et du fait 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 dans chaque structure cérébrale étudiée pour une durée de 3h30 (après 2h de stabilisation) pendant laquelle nous avons observé les variations des contenus extracellulaires de glutamate et de GABA. Les conditions expérimentales utilisées étaient similaires à celles décrites dans le chapitre "Matériels et Méthodes" (paragraphe 5.4.2) mais sans jamais appliquer de stimulation du NST au cours de la dialyse. Ces expériences ont été pratiquées uniquement sur des animaux sains avec les effectifs suivants :  $n = 5$  pour le noyau ventromédian du thalamus (VM), et  $n = 6$  pour le cortex Fr3 (Ctx Fr3) et le colliculus supérieur (CS).

La figure 39 page 121 présente les résultats obtenus et montre les fluctuations des concentrations extracellulaires de glutamate et de GABA au niveau de chaque structure étudiée au cours de notre protocole de dialyse. On note que les concentrations de glutamate et de GABA sont relativement stables. Les valeurs moyennes des concentrations de glutamate et de GABA après stabilisation, obtenues sur les 5-6 rats étudiés, étaient respectivement pour le Ctx Fr3, le VM et le CS :  $6 \pm 1,4$  pM,  $700 \pm 67$  pM et  $27 \pm 4$  pM pour le glutamate, et  $0,65 \pm 0,1$  pM,  $19 \pm 2$  pM et  $5 \pm 1,1$  pM pour le GABA, respectivement (Tableau 7, page suivante). Ces données confirment que les perturbations mécaniques induites par l'introduction de la sonde de dialyse au niveau du parenchyme cérébral de ces structures n'entraînent pas de modifications transitoires des taux d'acides aminés si un délai de stabilisation d'au moins 1h30 est respecté, comme l'ont montré de précédents travaux au laboratoire (Windels, 2001 ; Bruet, 2003 ; Boulet, 2006). Ces données et nos résultats nous ont donc permis : 1) de fixer un

délai minimal de 2h à respecter entre l'implantation de la sonde et le début de la collecte des dialysats afin d'avoir l'assurance d'obtenir des taux de base stables ; 2) de nous assurer qu'après cette stabilisation, les taux de glutamate et de GABA restaient stables pendant au moins 3h30 (durée de notre protocole) et que donc les éventuelles variations de concentrations que nous pourrions observer sous stimulation électrique du NST ne seraient pas artéfactuelles.

**Tableau 7 : Valeurs moyennes des concentrations basales de glutamate et GABA exprimées en pM mesurées dans le cortex Fr3, le noyau ventromédian du thalamus et le colliculus supérieur chez le rat sain.**

en pM	glutamate	GABA
<b>Cortex Fr3</b>	6 ± 1,4	0,65 ± 0,1
<b>Noyau ventromédian du thalamus</b>	700 ± 67	19 ± 2
<b>Colliculus supérieur</b>	27 ± 4	5 ± 1,1

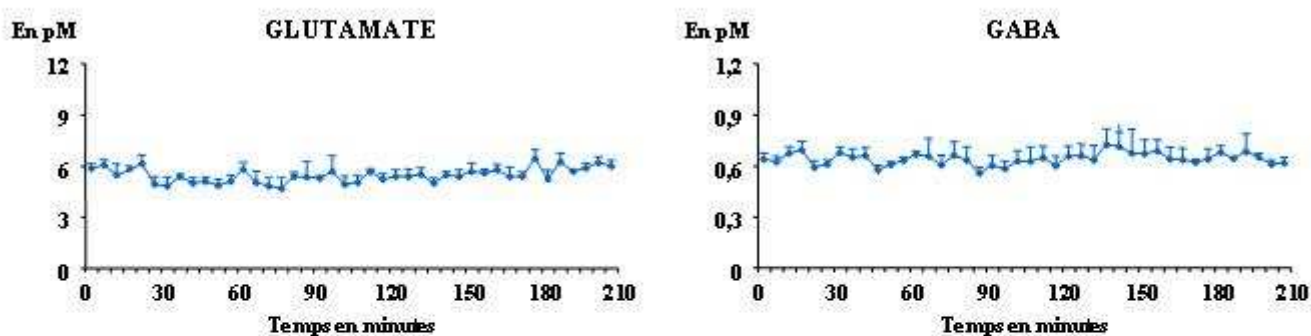
## 1.2. Rendement de sondes in vitro

Comme nous l'avons précisé plus haut (chapitre "Matériel et Méthodes", paragraphe 5.3 page 79), 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, le glutamate et le GABA. Les rendements in vitro exprimés en pourcentage (moyenne ± SEM) pour les études conduites dans le Ctx Fr3, le CS et le VM vous sont présentés ci dessous :

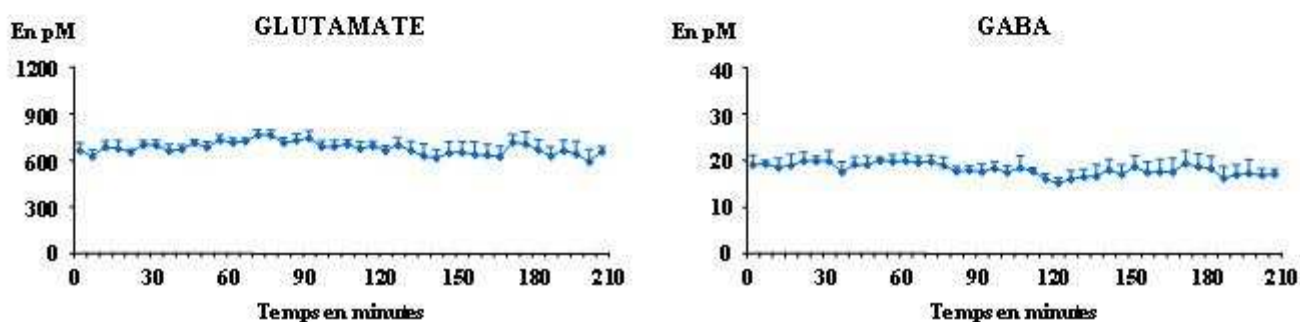
	<b>Membrane dialysante : cuprophane</b> Longueur : 1 mm
<b>Glutamate</b>	9,5 ± 0,89 %
<b>GABA</b>	8,98 ± 0,65 %

Les rendements de sonde que nous avons obtenus sont globalement similaires à ceux obtenus précédemment par d'autres étudiants en thèse au laboratoire, notamment François Windels (Windels et al., 2000, 2003, 2005), Nicolas Bruet (Bruet et al., 2001, 2003) et Sabrina Boulet (Boulet et al., 2006) qui avaient utilisé le même type de sondes pour leurs études chez le rat anesthésié ou éveillé.

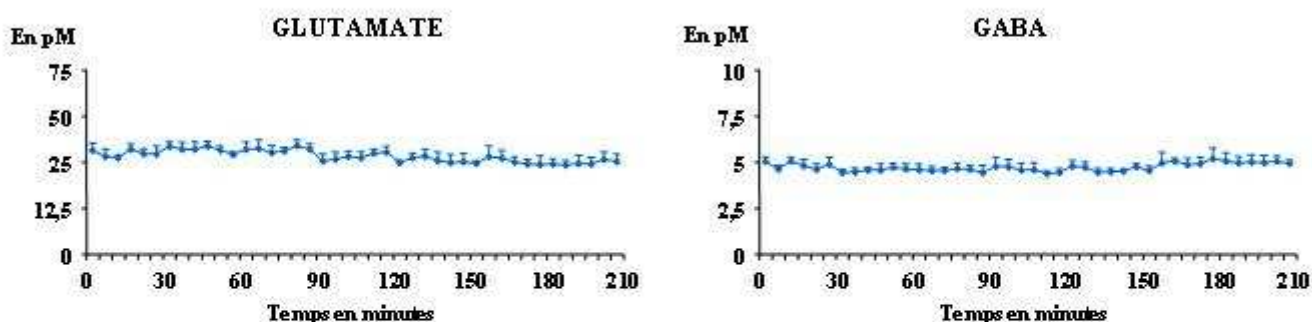
## CORTEX Fr3



## NOYAU VENTROMEDIAN DU THALAMUS



## COLLICULUS SUPÉRIEUR



**Figure 39 : Fluctuations des taux de base extracellulaires en glutamate et en GABA mesurées dans les dialysats recueillis au niveau du cortex Fr3 (n = 6), du noyau ventromédian du thalamus (n = 5) et du colliculus supérieur (n = 6) durant 3h30 de dialyse chez le rat sain anesthésié.**

Les recueils démarrent 1h30 après implantation des sondes de microdialyse. Chaque point correspond à la moyenne en picomolaires (pM)  $\pm$  SEM des rats pour chaque recueil.



## **2- Effet de la SHF du NST sur les taux extracellulaires de glutamate et GABA dans le cortex Fr3, le noyau ventromédian du thalamus et le colliculus supérieur chez le rat sain anesthésié**

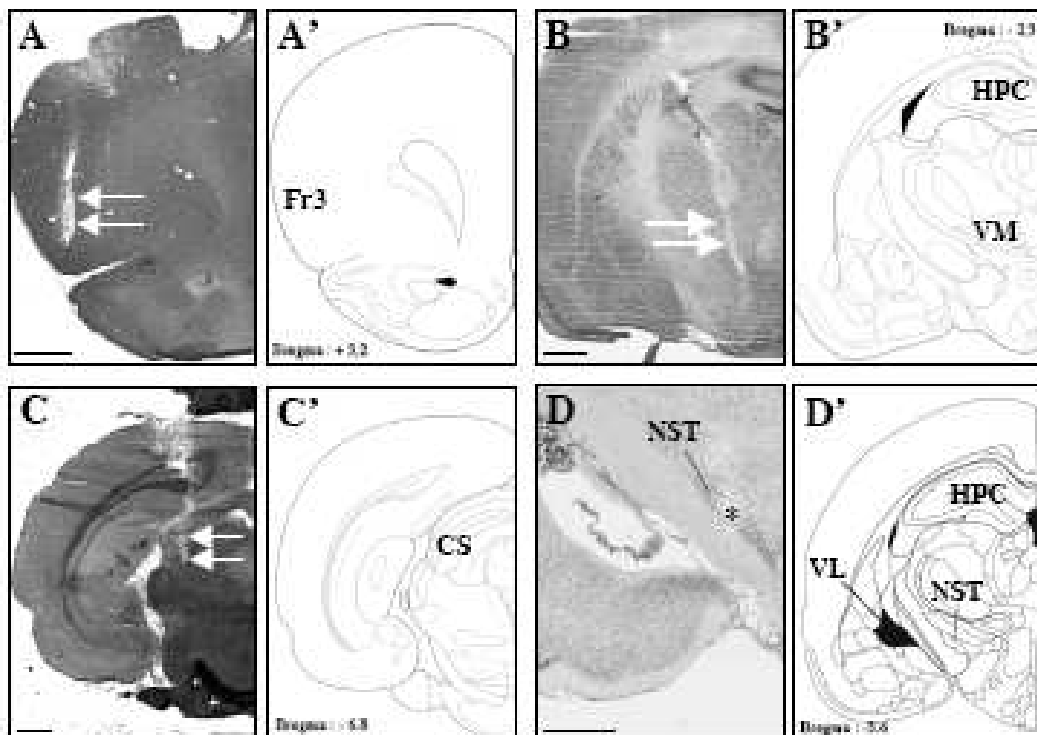
Comme nous l'avons indiqué dans l'introduction, l'objectif des expériences de cette première partie expérimentale a consisté à étudier les conséquences neurochimiques de la SHF du NST (fréquence 130 Hz, largeur d'impulsion 60  $\mu$ s et intensité 200  $\mu$ A) dans le cortex Fr3 (Ctx Fr3), le noyau ventromédian du thalamus (VM) ou encore le colliculus supérieur (CS) qui sont des structures ne faisant pas partie du réseau des ganglions de la base, mais qui sont reliées sur le plan anatomique, et probablement fonctionnel, à ce réseau. Nous avons donc essayé de voir si la SHF du NST pouvait induire des modifications neurochimiques au niveau : 1) du Ctx Fr3, qui se projette sur le NST via des axones qui pourraient être activés de manière antidromique par la SHF du NST ; 2) du VM du thalamus, qui reçoit des fibres GABAergiques provenant des structures de sortie des ganglions de la base, la SNr et l'EP, et dans lequel on pourrait s'attendre à des modifications des taux de GABA liées à la SHF du NST ; 3) du CS, une cible des projections GABAergiques issues des structures de sortie des ganglions de la base qui est également une afférence au NST et qui pourrait donc être activée par la SHF du NST de manière à la fois orthodromique et antidromique.

Les effectifs des groupes expérimentaux étaient de n = 5 rats pour les études conduites sur le Ctx FR3, de n=5 rats pour celles réalisées sur le VM et de n=6 rats pour celles concernant le CS. Les expériences de microdialyse au niveau de ces structures ont été réalisées sur des rats sains sous anesthésie à l'halotane. Chaque dialysat a été collecté toutes les 5 minutes après une période de stabilisation de 2 heures que nous nous sommes imposée. Les périodes de pré-stimulation (1h30, échantillons 1 à 18), de stimulation du NST (1h, échantillons 19 à 30) et de post-stimulation (1h30, échantillons 31 à 48) ont permis le recueil de 18, 12 et 18 dialysats respectivement. Les variations des concentrations en acides aminés mesurées dans les dialysats issus de chaque structure étudiée ont été exprimées en pourcentage par rapport aux taux de base de glutamate et de GABA. La valeur de ces taux de base de référence, ramenée à 100 % a été établie en moyennant les valeurs des concentrations de glutamate et de GABA, obtenues durant les recueils de la période de pré-stimulation. Chaque histogramme présenté reflète la variation des taux extracellulaires de glutamate et de GABA 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 du pourcentage de variation.

## 2.1 Contrôles histologiques

Les emplacements de la sonde de dialyse 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 de l'électrode et de la sonde ont été retenues et intégrées dans les résultats. La figure 40 illustre respectivement les implantations correctes de la sonde de dialyse dans le parenchyme du Ctx Fr3 (Figure 40A), du VM (Figure 40B) et du CS (Figure 40C). La figure 40D illustre l'implantation de l'électrode de stimulation dans le NST. On peut noter que le pôle stimulant de l'électrode (cathode) est bien localisé dans cette structure.



**Figure 40 : Photographies de coupes coronales de cerveau de rats au niveau du cortex Fr3 (A), du noyau ventromédian du thalamus (B), du colliculus supérieur (C) et du noyau sous-thalamique (D) après coloration au crésyl violet.**

A', B', C' et D' sont des représentations schématiques tirées de l'atlas de Paxinos et Watson (1986) correspondant aux photographies A, B, C et D respectivement. Notez la localisation correcte de la sonde de microdialyse signalée par les flèches blanches dans le cortex Fr3 (A), le noyau ventromédian du thalamus (B) et le colliculus supérieur (D). Notez aussi la localisation de l'électrode de stimulation dans le noyau sous-thalamique, l'étoile signale l'emplacement du pôle stimulant. Fr3, cortex Fr3 ; CS, colliculus supérieur ; HPC, hippocampe ; NST, noyau sous-thalamique ; VL, ventricule latéral ; VM, noyau ventromédian du thalamus. Pour chaque figure, la barre d'échelle représente 1 mm.

## **2.2 Variations des contenus extracellulaires de glutamate et de GABA induites par la SHF du NST**

### ***2.2.1 Au niveau du cortex Fr3***

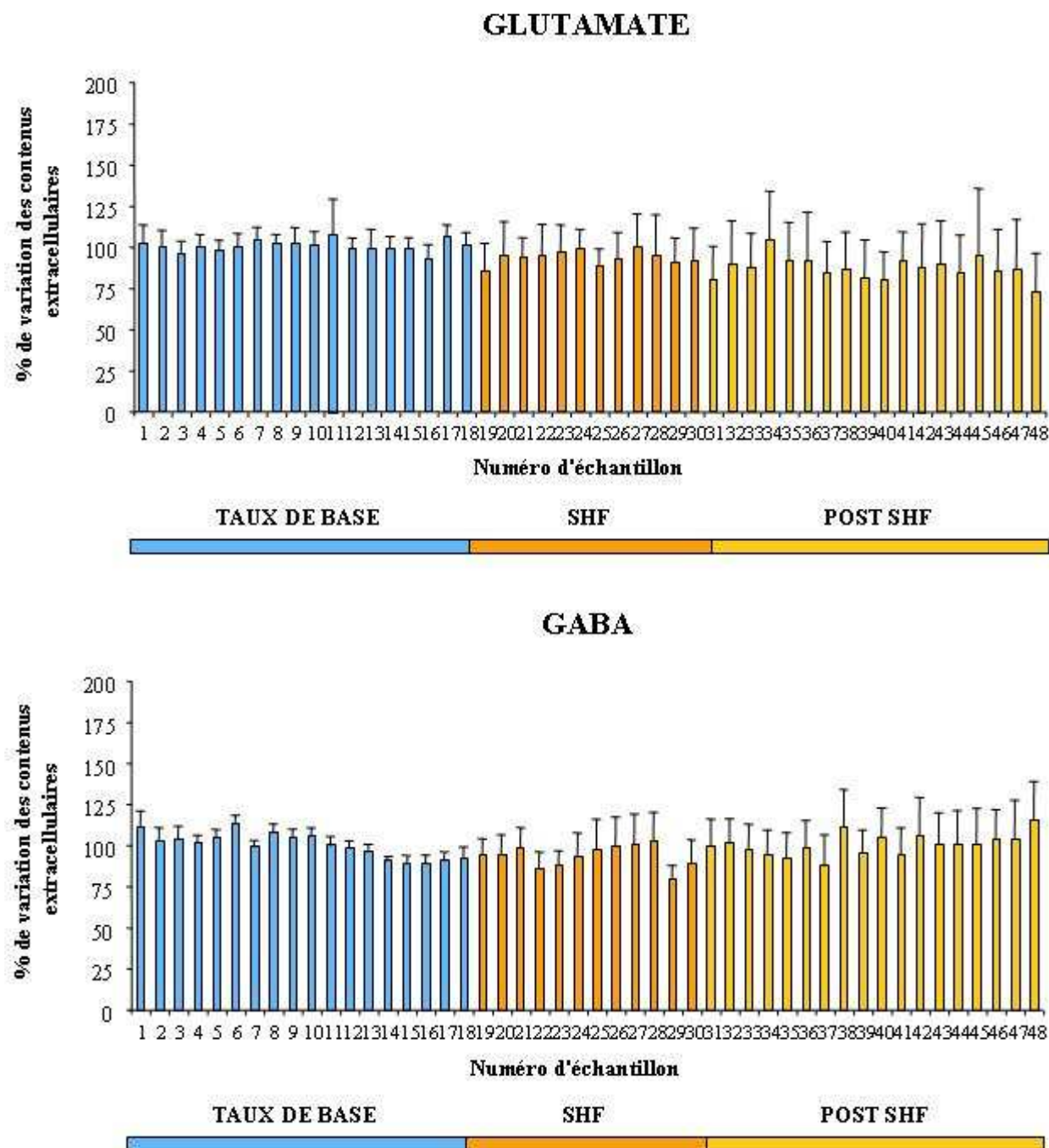
Les concentrations moyennes de glutamate et de GABA mesurées dans les dialysats issus du Ctx Fr3 des animaux sains et correspondant à notre 100% de référence, étaient respectivement de  $6,8 \pm 0,5$  pM pour le glutamate et  $0,7 \pm 0,18$  pM pour le GABA. Suite à la période de recueil des taux de base, l'application d'une heure de SHF du NST n'entraîne aucune modification statistiquement significative des contenus extracellulaires de glutamate et de GABA (échantillons 19 à 30). On constate également que ces mêmes contenus ne sont pas affectés pendant toute la période de post-stimulation (échantillons 31 à 48) (Figure 41 page 125).

### ***2.2.2 Au niveau du noyau ventromédian du thalamus***

Les concentrations moyennes de glutamate et de GABA mesurées dans les dialysats issus du VM étaient respectivement de  $680 \pm 43$  pM pour le glutamate et  $21 \pm 5,8$  pM pour le GABA. On remarque que pendant la période de pré-stimulation et plus particulièrement pour glutamate, les valeurs des concentrations sont particulièrement stables. La SHF du NST n'entraîne aucune modification statistiquement significative des contenus extracellulaires de glutamate et de GABA (échantillons 19 à 30) au niveau du VM. De même, ces contenus restent également stables et comparables aux valeurs basales pendant toute la période de post-stimulation (échantillons 31 à 48) (Figure 42 page 126).

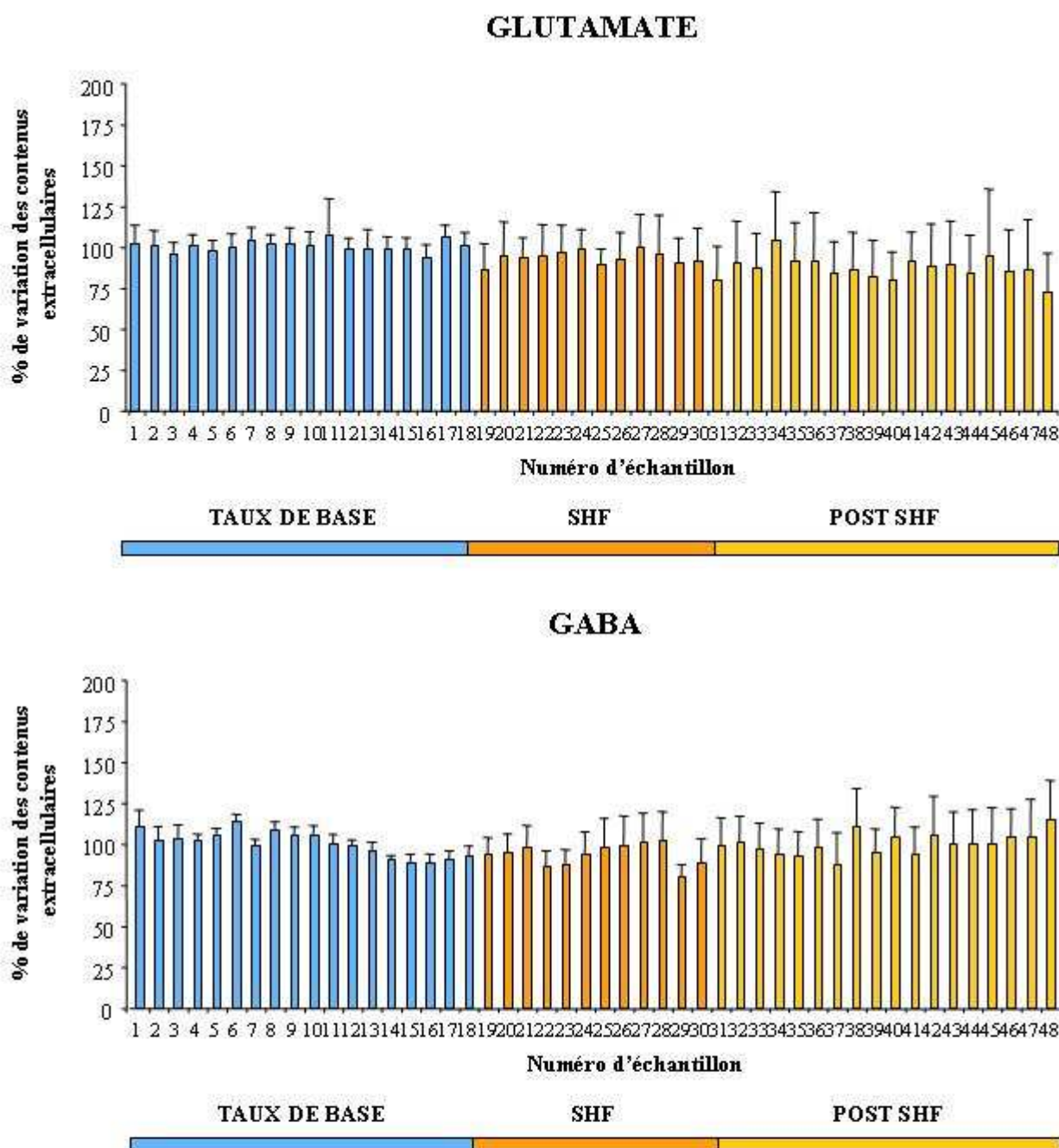
### ***2.2.3 Au niveau du colliculus supérieur***

Durant la période de pré-stimulation, les contenus en glutamate et en GABA restent très homogènes, à l'instar des taux du Ctx Fr3 et du VM. Les concentrations moyennes de glutamate et de GABA mesurées dans les dialysats issus du CS étaient respectivement de  $22,1 \pm 6,5$  pM pour le glutamate et  $4,3 \pm 0,96$  pM pour le GABA. Là encore, aucune modification significative des taux de glutamate ou de GABA n'a pu être observée pendant ou après la SHF du NST (Figure 43 page 127).



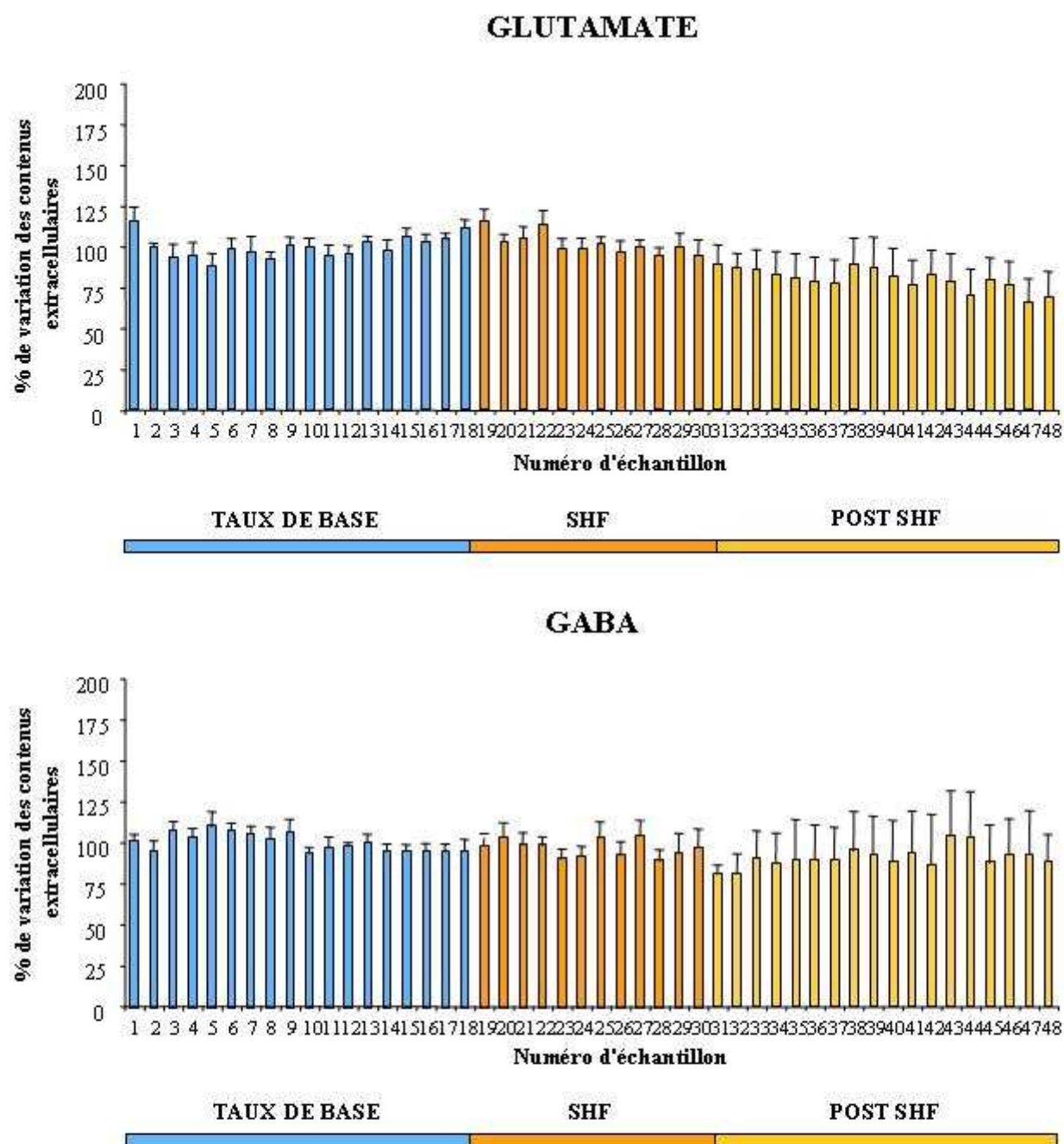
**Figure 41 : Variations des taux extracellulaires de glutamate et GABA au sein du cortex Fr3 induites par une SHF du NST chez le rat sain.**

Les résultats présentés correspondent au côté ipsilatéral à la SHF. Les périodes de pré- et de post-stimulation comprennent chacune 18 fractions, tandis que la période de stimulation (SHF) en comprend 12. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne  $\pm$  SEM des valeurs obtenues chez 5 rats. La moyenne  $\pm$  SEM des 18 dialysats collectés avant la période de SHF correspond à la ligne de base arbitrairement fixée à 100%. Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par rapport à la moyenne de ces taux de base (échantillons 1 à 18).



**Figure 42 : Variations des taux extracellulaires de glutamate et GABA au sein du noyau ventromédian du thalamus induites par une SHF du NST chez le rat sain.**

Les résultats présentés correspondent au côté ipsilatéral à la SHF. Les périodes de pré- et de post-stimulation comprennent chacune 18 fractions, tandis que la période de stimulation (SHF) en comprend 12. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne  $\pm$  SEM des valeurs obtenues chez 5 rats. La moyenne  $\pm$  SEM des 18 dialysats collectés avant la période de SHF correspond à la ligne de base arbitrairement fixée à 100%. Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par rapport à la moyenne de ces taux de base (échantillons 1 à 18).



**Figure 43 : Variations des taux extracellulaires de glutamate et GABA au sein du colliculus supérieur induites par une SHF du NST chez le rat sain.**

Les résultats présentés correspondent au côté ipsilatéral à la SHF. Les périodes de pré- et de post-stimulation comprennent chacune 18 fractions, tandis que la période de stimulation (SHF) en comprend 12. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne  $\pm$  SEM des valeurs obtenues chez 5 rats. La moyenne  $\pm$  SEM des 18 dialysats collectés avant la période de SHF correspond à la ligne de base arbitrairement fixée à 100%. Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par rapport à la moyenne de ces taux de base (échantillons 1 à 18).

*En résumé, les résultats neurochimiques obtenus montrent qu'une SHF du NST appliquée durant 1 heure n'induit aucune variation significative des contenus en glutamate et en GABA au sein du Ctx Fr3, du VM et du CS. De même, ces contenus restent stables durant toute la période de post-stimulation. Finalement, on note que ces concentrations en glutamate et en GABA sont particulièrement stables pendant toute la durée de l'expérimentation et que leurs valeurs oscillent autour des valeurs basales.*

### **3- Discussion**

Les résultats obtenus au cours de cette première partie expérimentale n'ont montré aucune variation des concentrations de glutamate et de GABA sous l'effet de la SHF du NST, et ce, dans les trois structures étudiées, le Ctx Fr3, le CS et le VM. Nous allons essayer de discuter ces résultats dans les paragraphes suivants.

Pour commencer cette discussion, nous allons nous intéresser au VM et au CS, qui reçoivent tous les deux des afférences directes provenant à la fois de la SNr et du noyau entopédonculaire (Beckstead, 1983c).

Sur le plan anatomique, le VM fait partie des noyaux moteurs du thalamus, et reçoit des afférences glutamatergiques issues du cortex (Herkenham, 1979), des afférences cholinergiques issues du cervelet (MacLeod et James, 1984) et enfin, des afférences GABAergiques issues des structures de sortie des ganglions de la base (Kilpatrick et al., 1980 ; MacLeod et al., 1980), qui exercent une inhibition tonique sur les neurones du VM *via* des récepteurs GABA<sub>A</sub> (Timmerman et Westerink, 1997). A son tour, le VM envoie des projections glutamatergiques principalement sur le cortex (Arbuthnott et al., 1990b) et le striatum (Cheatwood et al., 2003).

Les effets de la SHF du NST sur le thalamus, et en particulier sur les noyaux ventromédian et ventro-latéral, ont déjà été étudiés à l'aide des techniques d'électrophysiologie. Elles ont permis de montrer qu'une SHF du NST appliquée avec une intensité de stimulation de l'ordre de 300 à 400  $\mu$ A entraînait une augmentation du taux de décharge des neurones appartenant à ces deux noyaux du thalamus (Gao et al., 1997 ; Benazzouz et al., 2000b), couplée à une diminution d'activité des neurones de la SNr. Ces deux observations sont en faveur du rôle central joué par la SHF du NST dans la levée de l'influence inhibitrice exercée par les structures de sortie sur les neurones thalamiques. Cette levée d'inhibition sur le thalamus serait donc liée à une diminution de l'activité neuronale de la SNr. En effet et

comme nous l'avons précisé dans nos rappels bibliographiques, même si les mécanismes de cette SHF du NST ne sont pas totalement élucidés, la question de la nature excitatrice ou inhibitrice de l'effet de la SHF sur le NST ne semble pas posséder une réponse simple. Toutefois, 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., 2004a, 2004b). De plus, des études comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques montrent que les effets de la SHF sont largement dépendants des paramètres de stimulation utilisés puisque, à basse fréquence (10-50 Hz), 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, quelle que soit la valeur des autres paramètres de stimulation (Garcia et al., 2005). Cette absence d'effet s'accompagne d'une absence de modification 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 faibles intensités (20-80  $\mu\text{A}$ ) (Maurice et al., 2003).

Ainsi, pour des paramètres classiquement utilisés en clinique humaine (130-185 Hz, 60-100  $\mu\text{s}$ , environ 3 V), 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, au cours de laquelle la transmission GABAergique semblerait jouer un rôle primordial. Les résultats d'un nombre croissant d'études vont dans ce sens. Des données électrophysiologiques obtenues chez le rat anesthésié ont montré que l'application iontophorétique de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>, 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., 2003). D'autre part, 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 ; Boulet et al., 2006), cette augmentation pouvant être annulée par une lésion du GP (Windels et al., 2005). La voie GABAergique pallido-nigrale semble donc être directement impliquée dans l'inhibition de l'activité des voies de sortie induite par la SHF du NST. De même, le blocage de l'activité du GPe par une application



locale de gabazine, un antagoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub> 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).

Pour en revenir aux modifications neurochimiques induites par la SHF-NST au niveau du VM, il a été montré que l'injection intranigrale de GABA stimule l'activité des neurones thalamo-corticaux, et plus particulièrement de ceux localisés dans le VM ipsilatéral (Deniau et Chevalier, 1985). Dès lors, selon les hypothèses actuelles concernant les mécanismes de cette SHF du NST, celle-ci induirait une inhibition de la SNr via l'action du GABA, nous aurions dû pouvoir retrouver une diminution des contenus extracellulaires de GABA au niveau du VM, ce qui n'a pas été le cas. Toutefois, rappelons que nos expériences ont été conduites chez le rat sain, et donc ne reproduisant les perturbations en cascade des activités électrophysiologiques induites par la perte de dopamine au sein des ganglions de la base. De fait, la réactivité de ce réseau "sain" pourrait être totalement différente dans une situation lésionnelle dopaminergique. Les études neurochimiques conduites au laboratoire chez des animaux sains sous anesthésie (Windels et al., 2000) ou éveillés (Boulet et al., 2006) ont clairement montré qu'il existait une augmentation à la fois de glutamate et de GABA au sein de la SNr. On pourrait donc penser que, d'après les données que nous venons d'évoquer, la modulation de l'activité des neurones de la SNr par la mise en jeu de la balance glutamate/GABA serait plus subtile, et n'induirait pas une inhibition d'activité de la SNr chez des rats sains. De ce fait, les répercussions de la SHF sur le VM ne pourraient pas être appréciées par la simple mesure des contenus extracellulaires de GABA.

En ce qui concerne le CS, là encore aucune variation des contenus en glutamate et en GABA n'a pu être détectée sous l'effet de la SHF du NST. Structure d'intégration et de

traitement de l'information visuelle qui joue un rôle clé dans la modulation des mouvements de la tête et du tronc lors de l'adaptation au déplacement de la cible visuelle, le CS reçoit des afférences : 1) GABAergiques *via* les structures de sortie des ganglions de la base (Beckstead, 1983c) ; 2) glutamatergiques provenant du pédoncule et du tractus optique (Chevalier et al., 1981), ainsi que du cervelet (Westby et al., 1994). Il est important de noter que, par ailleurs, il existe des projections tecto-sous-thalamiques (Tokuno et al., 1994), qui pourraient être activées de manière rétrograde par la SHF et modifier ainsi les phénomènes neurochimiques intervenant dans le CS.

Jusqu'à ce jour, seule une expérience se basant sur les techniques électrophysiologiques a été réalisée sur les neurones du CS pour étudier les effets de la SHF du NST (Bressand et al., 2002). Cette étude montre que la SHF du NST augmente le taux de décharge des neurones du CS mais seulement lorsque celle-ci est appliquée avec une intensité de 500  $\mu$ A (130 Hz et 60  $\mu$ s). Elle resterait en effet sans conséquence pour une intensité de stimulation de 200  $\mu$ A. L'absence de variation des taux extracellulaires de GABA et de glutamate que nous observons dans notre étude pourrait donc s'appuyer sur l'absence de réactivité des neurones du CS à une intensité de stimulation du NST de 200  $\mu$ A. Toutefois la durée de stimulation étant très différente entre ces deux études (5ms versus 1h dans notre cas), cette explication reste donc fragile.

Par ailleurs, et bien que deux populations de neurones aient été différenciées selon leur réponse électrophysiologique à la SHF et que cette ségrégation semble avoir une origine anatomique (les neurones des couches profondes du CS répondent à la SHF, mais pas ceux des couches intermédiaires), l'emplacement de notre sonde de microdialyse, à cheval sur les deux types de couches, pourrait ne pas permettre de discriminer d'un point de vue neurochimique la réponse à la SHF qui serait pour ainsi dire masquée.

Qu'en est-il d'une structure corticale comme la région Fr3 du cortex sensorimoteur, qui reçoit indirectement des informations des ganglions de la base et se projette directement sur le NST ? Peut-on mesurer par microdialyse intracérébrale dans cette région du cortex des variations neurochimiques pouvant provenir d'une activation antidromique par la SHF des fibres cortico-sous-thalamiques ?

Des études électrophysiologiques ont prouvé que la SHF du NST active les projections aux aires motrices corticales chez des patients parkinsoniens (MacKinnon et al., 2005). Plus précisément, il semblerait que la SHF du NST module l'activité corticale en réduisant la propagation d'une activité désynchronisée aux régions fronto-centrales d'une part, et en

augmentant l'activité du cortex sensorimoteur primaire durant la préparation et l'exécution du mouvement d'autre part (Devos et al., 2004). En outre, une étude présentée par Li et al. lors du 36<sup>ème</sup> congrès de la Society for Neuroscience (2006) apporte la preuve électrophysiologique que la SHF du NST à 120 Hz est capable d'activer les couches profondes du cortex moteur ipsilatéral commandant les mouvements du coude. Cette étude, basée sur des enregistrements intracellulaires et des mesures de potentiels de champs locaux et de "spikes" antidromiques chez le rat anesthésié montre que l'activation corticale consécutive à la SHF se répercute par la suite sur les autres couches corticales. Ces changements d'activité électrique pourraient éventuellement être associés à une libération de neuromédiateurs au niveau cortical. Cependant, nous n'avons pas mesuré de modification des contenus corticaux de glutamate et GABA. On ne peut cependant pas exclure que la SHF puisse activer les corps cellulaires des neurones du Ctx Fr3 ainsi que des collatérales d'axones, et induise de ce fait la libération de neurotransmetteurs dans d'autres régions corticales et/ou d'autres structures efférentes au cortex Fr3, à distance de notre sonde de microdialyse.

Reste le problème de l'influence de l'anesthésique sur les systèmes glutamatergiques et GABAergiques. En tant qu'anesthésique, l'halothane potentialise l'action du système GABAergique en agissant sur les récepteurs ionotropiques GABA<sub>A</sub> (Antkowiak et Helfrich-Forster, 1998). Malgré cela, cet anesthésique ne semble pas affecter la libération de GABA basale (Westphalen et Hemmings, 2006) ou induite par dépolarisation (Mantz et al., 1995 ; Lechary et al., 1995), ce qui signifie que l'absence de modification des taux extracellulaires de GABA observée dans notre étude ne serait pas un artefact dû à l'anesthésie générale par l'halothane. Par ailleurs, les modifications neurochimiques sous SHF du NST étant comparées à des valeurs basales également mesurées sous anesthésie, nous ne pensons pas que l'effet de l'anesthésique utilisé sur le GABA soit déterminant dans nos résultats.

Contrairement au GABA, le glutamate serait plus sensible à l'effet des anesthésiques. En effet, les anesthésiques volatils, dans notre cas l'halothane, sont connus pour déprimer la transmission glutamatergique (MacIver et al., 1996 ; Westphalen et Hemmings, 2006) et réduire les potentiels d'action spontanés au niveau cortical (Antkowiak et Helfrich-Forster, 1998 ; Hentschke et al., 2005). Cela pourrait également expliquer pourquoi on ne détecte aucune variation de glutamate dans nos trois structures. Néanmoins, une précédente étude menée au laboratoire pour mesurer les effets de la SHF du NST sur les contenus en glutamate et GABA dans la SNr a montré des résultats similaires chez des rats anesthésiés et chez des

rats éveillés libres de leurs mouvements (Bruet, 2003). Cela suggère que les variations de glutamate que nous observons sous microdialyse dans nos conditions expérimentales semblent être indépendantes de l'anesthésique, tout comme les variations de GABA, mais faut-il encore s'en assurer pour les trois structures étudiées ici.

On ne peut bien évidemment pas écarter l'hypothèse que les interactions entre la SHF du NST et les contenus en neurotransmetteurs dans nos trois structures dialysées puissent bel et bien exister, mais soient trop faibles pour être mesurables par microdialyse. En outre, la microdialyse permet de mesurer des contenus extracellulaires en neurotransmetteurs, sans que l'on puisse séparer dans nos dialysats la part de neurotransmetteurs qui est issue d'une libération synaptique (sous l'effet d'un influx nerveux orthodromique ou antidromique) de la part de neurotransmetteurs qui serait libérée de manière extrasynaptique (glie, transporteurs ou échangeurs passifs neuronaux...).

Pour conclure, la SHF du NST, appliquée dans nos conditions expérimentales, n'entraîne aucune variation des taux extracellulaires de glutamate et GABA au sein de structures situées en aval des structures de sortie des ganglions de la base. Ce travail constitue la phase préliminaire d'une étude de plus grande amplitude visant à cerner jusqu'où se propagent les effets neurochimiques de la SHF, en terme de nombre de synapses.

Néanmoins, et comme pour toutes les études préliminaires, certains aspects expérimentaux sont peut-être à revoir ou à compléter : 1) S'affranchir de l'anesthésie générale en travaillant sur animal éveillé libre de ses mouvements ; 2) Pratiquer la microdialyse de façon bilatérale, afin de mesurer les effets croisés de la SHF ; 3) Dupliquer les expériences chez des rats porteurs d'une lésion 6-OHDA, afin de se placer en situation "parkinsonienne" ; 4) Dialyser plusieurs structures simultanément, dont les structures de sortie des ganglions de la base (SNr), afin de suivre la propagation du signal induit en aval par la SHF ; 5) Coupler les expériences de microdialyse avec des enregistrements électrophysiologiques ; et enfin 6) Etendre l'analyse neurochimique à d'autres neurotransmetteurs comme la sérotonine et l'acétylcholine, qui joue un rôle non négligeable dans les projections issues du cervelet.

*En résumé, les variations neurochimiques induites par la SHF du NST et que nous avons été capables d'identifier au niveau de la SNr (Windels et al, 2000, 2003, 2005 ; Boulet et al., 2006), ne semblent pas avoir d'impact en aval, c'est-à-dire dans des structures de projection de la SNr comme le VM et le CS chez le rat sain anesthésié. De même, au niveau du Ctx Fr3, connu pour se projeter au niveau du NST, la SHF ne perturbe pas les*

*contenus de glutamate et GABA au sein de cette structure, suggérant que la mise jeu d'une activation antidromique des fibres cortico-sous-thalamiques n'a pas d'effet neurochimique au niveau du cortex lui-même, sans pour autant exclure de possibles effets au niveau des efférences du cortex Fr3, à distance de notre sonde de dialyse.*

## PARTIE II

# ETUDE DES INTERACTIONS ENTRE UN TRAITEMENT A LA L-DOPA ET LA SHF DU NST CHEZ LE RAT HEMIPARKINSONNIEN

Comme nous l'avons indiqué dans notre introduction, l'objectif de cette deuxième partie expérimentale a consisté à mettre en évidence l'existence d'une interaction entre un traitement à la L-Dopa et la SHF du NST. La SHF du NST est pratiquée à l'heure actuelle avec succès chez des patients parkinsoniens à un stade avancé de la maladie. Toutefois, ces malades parkinsoniens candidats à la stimulation ont généralement bénéficié d'un traitement à la L-Dopa durant de nombreuses années avant leur opération. La question abordée dans cette partie expérimentale, basée sur des observations cliniques, vise donc à voir si un traitement pharmacologique au long cours, qui n'est certainement pas anodin en termes d'adaptation métabolique et de plasticité synaptique, ne pourrait pas être un facteur déterminant de l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST. En effet, il est bien établi cliniquement qu'une réponse bénéfique à la L-Dopa chez le patient parkinsonien candidat à la stimulation, est un élément prédictif de l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST (Welter et al., 2002 ; Kleiner-Fisman et al., 2003 ; Pahwa et al., 2005). De même, des observations cliniques ont permis de montrer que la mise en place d'une SHF du NST, permettait de réduire les prises de L-Dopa de plus de 50 %, voire de les supprimer dans certains cas (Limousin et al., 1998), suggérant une possible influence de cette stimulation sur les contenus en dopamine au niveau cérébral.

Dans le cadre de cette partie expérimentale nous avons abordé, sur le plan expérimental, ces possibles interactions entre un traitement chronique à la L-Dopa et la SHF du NST, en nous focalisant sur les modifications des contenus striataux en dopamine (et de ses métabolites DOPAC et HVA), glutamate et GABA sur des rats sains et hémiparkinsoniens (porteurs d'une lésion totale ou partielle de la SNc) traités à la L-Dopa de manière chronique ou aiguë, et soumis ou non à une SHF du NST.

Deux séries d'expériences ont donc été conduites : l'une concerne les interactions entre un **traitement chronique à la L-Dopa** et la SHF du NST (*Expérience 1*) ; l'autre a été dédiée à l'étude de ces interactions lors d'un **traitement aigu à la L-Dopa** (*Expérience 2*).

Pour chacune de ces expériences, les groupes d'animaux étaient constitués de la manière suivante :

### ***Expérience 1 :***

Trois groupes expérimentaux ont été utilisés :

- **groupe 1: rats sains**, n=6, ayant reçu pendant 20 jours une injection quotidienne de solvant (eau stérile) pendant 20 jours ;

- **groupe 2: rats 6-OHDA-LT**, n=5, rats ayant subi une lésion totale unilatérale (LT) de la SNc et ayant reçu deux injections quotidiennes de 0,5 mL d'eau stérile pendant 20 jours;

- **groupe 3: rats 6-OHDA-LT + L-DOPA**, n=5) rats ayant subi une lésion totale unilatérale de la SNc et ayant reçu, pendant 20 jours, un traitement de deux injections quotidiennes de L-Dopa (50 mg/kg i.p. ; Sigma, St Quentin Fallavier, France) associée à de la bensérazide, un inhibiteur de la dopa-décarboxylase périphérique (12,5 mg/kg i.p. ; Sigma, St Quentin Fallavier, France).

Pour les rats porteurs d'une lésion totale de la SNc (groupes 2 et 3), le traitement quotidien à la L-Dopa+bensérazide ou au solvant a débuté 3 semaines après la lésion dopaminergique afin de permettre la stabilisation de la lésion.

### ***Expérience 2 :***

Globalement 2 groupes de rats ont été utilisés: l'un constitué de rats sains, l'autre comportant des rats porteurs d'une lésion partielle (LP) de la SNc. Tous les animaux ont reçu un traitement à la L-Dopa en aigu. Chacun de ces groupes (non lésés et lésés), a été subdivisé en deux sous-groupes selon l'application ou non d'une SHF du NST, ce qui a permis de différencier au final 4 groupes expérimentaux :

- **groupe 1: rats sains + L-DOPA, non stimulés**, n = 12, ayant reçu au cours de la microdialyse (juste après le recueil de dialysats servant à la détermination des taux de base des neuromédiateurs étudiés) une injection unique intrapéritonéale de L-Dopa (50 mg/kg i.p) et de bensérazide (12,5 mg/Kg i.p.);

- **groupe 2: rats sains + L-DOPA + STN-HFS**, n=13: rats sains recevant une injection intrapéritonéale de L-Dopa + bensérazide dans les mêmes conditions que celles décrites pour le groupe 1, suivie, 1h30 post-injection, d'une heure de SHF du NST;

- **groupe 3: rats 6-OHDA-LP + L-DOPA**, n = 5, rats ayant subi une lésion partielle unilatérale (LP) de la SNc et ayant reçu dans les mêmes conditions que pour celles décrites

pour les groupes précédents une injection unique intrapéritonéale de L-Dopa (50 mg/kg i.p) et de bensérazide (12,5 mg/Kg i.p.);

- **groupe 4: rats 6-OHDA-LP + L-DOPA + SHF-NST**, n = 8, rats ayant subi une lésion partielle unilatérale (LP) de la SNc et ayant reçu une injection unique intrapéritonéale de L-Dopa (50 mg/kg i.p) et de bensérazide (12,5 mg/Kg i.p.), suivie, 1h30 post-injection, d'une heure de SHF du NST.

Le choix d'utiliser au cours de l'expérience 2 des animaux porteurs d'une lésion partielle de la SNc plutôt qu'une lésion totale a découlé des résultats obtenus au cours de l'expérience 1. Ceci sera discuté plus loin. Par ailleurs, les résultats des expériences 1 et 2 seront discutés séparément car le type de lésion dopaminergique et les modalités du traitement à la L-Dopa diffèrent entre les deux expériences.

## **1- Vérifications préliminaires**

### **1.1 Stabilité des taux de dopamine (et de ses métabolites DOPAC et HVA), de glutamate et de GABA au sein du striatum dans nos conditions expérimentales**

Comme pour les expériences conduites dans la première partie expérimentale, il nous a fallu nous assurer ici encore de la reproductibilité de nos résultats et que les variations neurochimiques induites par un traitement à la L-Dopa (chronique ou aigu) tout comme celles provoquées par la stimulation électrique du NST, étaient bien liées à ces manipulations expérimentales. Nous avons donc vérifié que, dans nos conditions expérimentales, les concentrations des neurotransmetteurs étudiés restaient stables sur une période globalement équivalente à la durée des expériences 1 et 2.

L'analyse des modifications neurochimiques étudiées au cours des expériences 1 et 2 ayant été conduite de façon bilatérale (microdialyse intrastriatiale réalisée du côté gauche (stimulé) et droit (non stimulé), la vérification de la stabilité de ces taux de neuromédiateurs a donc été pratiquée aussi de façon bilatérale. Pour ce faire, nous avons réalisé des expériences de microdialyse bilatérale dans le striatum pendant une durée de 2h30 (après 2h de stabilisation afin d'éviter toute perturbation du parenchyme striatal liée à l'implantation des sondes et pouvant entraîner des artéfacts de mesure), et pendant laquelle nous avons observé les variations des contenus extracellulaires de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et de GABA. Les conditions expérimentales utilisées sont similaires à celles décrites dans le



chapitre "Matériels et Méthodes" (paragraphe 5.4.2) mais sans jamais appliquer de stimulation du NST au cours de la dialyse. Ces expériences ont été pratiquées uniquement sur des animaux sains (n = 6).

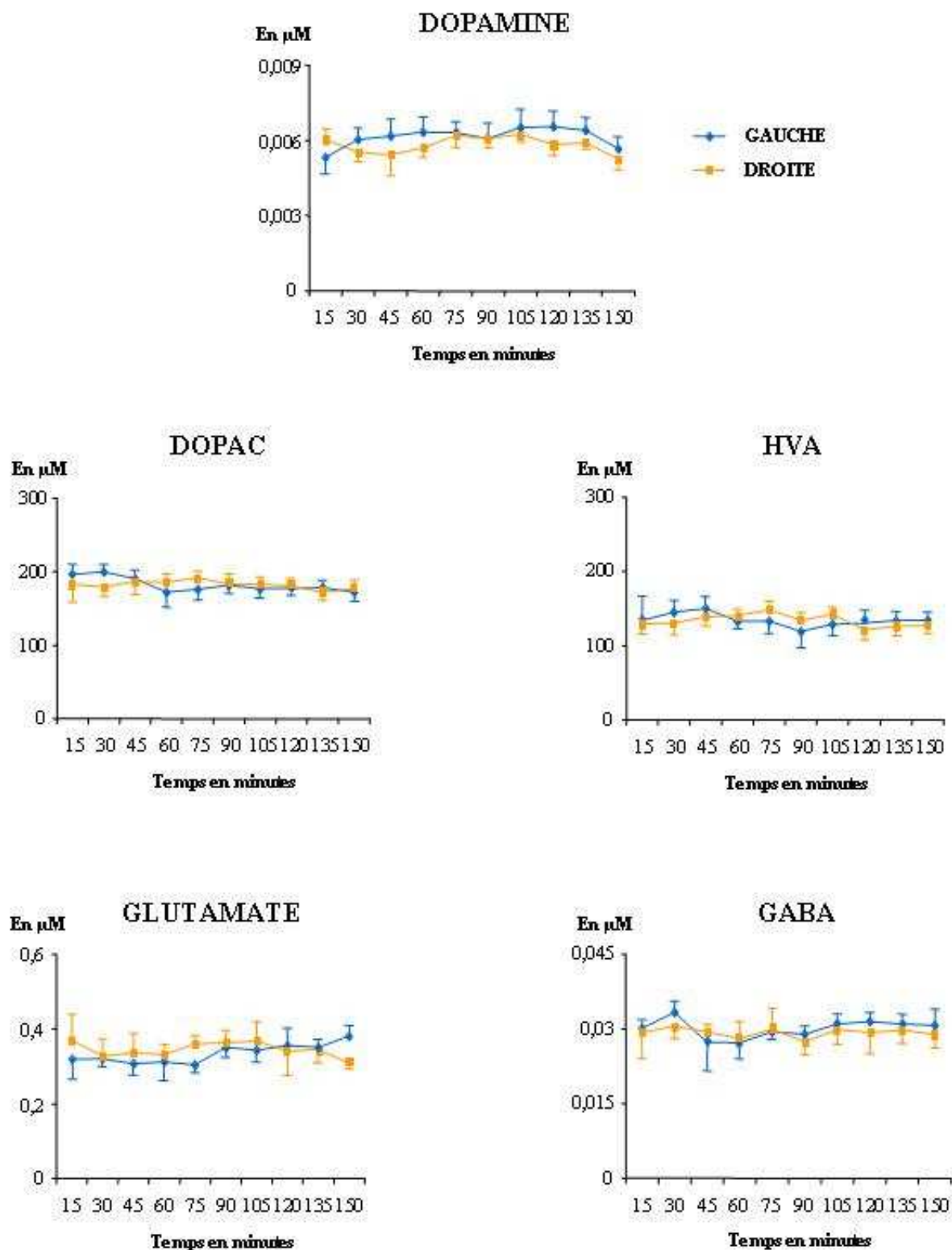
La figure 44 page 139 illustre les résultats obtenus et montre les fluctuations des concentrations extracellulaires de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et de GABA au niveau striatal étudiées durant 2h30 de dialyse effectuée. Quel que soit le neuromédiateur étudié, il apparaît clairement que leurs taux restent stables sur plusieurs heures, et ce, de manière bilatérale. Ces données confirment la pertinence des conditions expérimentales dans lesquelles sont réalisées nos études de microdialyse, que ce soit au niveau chirurgical, au niveau de l'état d'endormissement des animaux avec l'anesthésique utilisé ou encore au niveau du recueil et de l'analyse des échantillons.

Les valeurs moyennes des concentrations de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA après stabilisation, obtenues sur les 6 rats étudiés, étaient respectivement de  $0,060 \pm 0,0009 \mu\text{M}$ ,  $1,78 \pm 0,2 \mu\text{M}$ ,  $1,382 \pm 0,059 \mu\text{M}$ ,  $0,308 \pm 0,035 \mu\text{M}$  et de  $0,027 \pm 0,002 \mu\text{M}$  pour le côté gauche, et de  $0,0058 \pm 0,0007 \mu\text{M}$ ,  $1,82 \pm 0,17 \mu\text{M}$ ,  $1,453 \pm 0,06 \mu\text{M}$ ,  $0,357 \pm 0,04 \mu\text{M}$  et de  $0,03 \pm 0,004 \mu\text{M}$  pour le côté droit (Tableau 8 ci-dessous).

**Tableau 8 : Valeurs moyennes des concentrations basales de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA exprimées en  $\mu\text{M}$  mesurées dans le striatum chez le rat sain.**

	Côté Gauche ( $\mu\text{M}$ )	Côté Droit ( $\mu\text{M}$ )
<b>Dopamine</b>	$0,060 \pm 0,0009$	$0,0058 \pm 0,0007$
<b>DOPAC</b>	$1,78 \pm 0,2$	$1,82 \pm 0,17$
<b>HVA</b>	$1,382 \pm 0,059$	$1,453 \pm 0,06$
<b>Glutamate</b>	$0,308 \pm 0,035$	$0,357 \pm 0,04$
<b>GABA</b>	$0,027 \pm 0,002$	$0,03 \pm 0,004$

Ces données confirment que les perturbations mécaniques, induites par l'introduction de la sonde de dialyse au niveau du parenchyme striatal, n'entraînent pas de modification transitoire des taux de ces neuromédiateurs si un délai de stabilisation d'au moins de 2h est respecté. Ces résultats nous ont permis : 1) de fixer un délai minimal de 2 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 des neuromédiateurs restaient stables pendant au moins 2h30 (durée approximative de notre protocole) et que les



**Figure 44 : Fluctuations des taux de base extracellulaires en dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA mesurées dans les dialysats recueillis au niveau striatal durant 2h30 chez le rat sain anesthésié.**

Les recueils ont débuté 2h après l'implantation bilatérale des sondes de microdialyse. Chaque point correspond à la moyenne en  $\mu\text{M} \pm \text{SEM}$  des rats pour chaque recueil (n=6).

éventuelles variations de concentrations observées sous traitement L-Dopa et/ou stimulation électrique du NST seraient bien dues à ces traitements.

## 1.2. Rendement des sondes *in vitro*

Comme nous l'avons précisé plus haut (chapitre "Matériel et Méthodes", paragraphe 5.3), 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 molécule étudiée : dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA. Les rendements *in vitro* exprimés en pourcentage (moyenne  $\pm$  SEM) vous sont présentés ci-dessous dans le tableau 9.

**Tableau 9 : Rendement des sondes de dialyse exprimé en pourcentage.**

	Membrane dialysante : Cuprophane Longueur : 3 mm
<b>Dopamine</b>	10,3 $\pm$ 0,3 %
<b>DOPAC</b>	12,5 $\pm$ 0,2 %
<b>HVA</b>	13,5 $\pm$ 0,6 %
<b>Glutamate</b>	21 $\pm$ 3 %
<b>GABA</b>	18 $\pm$ 2,5 %

On constate que les rendements de sonde obtenus pour le glutamate et le GABA sont plus importants que ceux obtenus lors des études conduites dans la première partie expérimentale. Ceci s'explique tout simplement par le fait que la longueur de la membrane dialysante utilisée ici pour le striatum est 3 fois plus longue que celle utilisée pour le Ctx Fr3, le VM ou le CS. Dès lors il n'est pas surprenant que les rendements soient plus performants. Ces rendements de sonde restent tout à fait comparables à ceux obtenus lors d'études précédentes conduites au laboratoire par d'autres étudiants en thèse au laboratoire : Nicolas Bruet (Bruet et al., 2001, 2003), François Windels (Windels et al., 2000, 2003, 2005), et plus récemment Sabrina Boulet (Boulet et al., 2006) qui avaient utilisé le même type de sondes pour leurs études chez le rat anesthésié ou éveillé.

## 2- Modifications neurochimiques induites par la SHF du NST au niveau striatal chez le rat sain ou porteur d'une lésion totale de la SNc traité ou non chroniquement à la L-Dopa : Expérience 1.

## 2.1 Contrôles histologiques

L'efficacité des lésions de la SNc induite par la 6-OHDA ainsi que les emplacements de la sonde de dialyse et de l'électrode de stimulation ont été vérifiés *post-mortem* sur chaque animal.

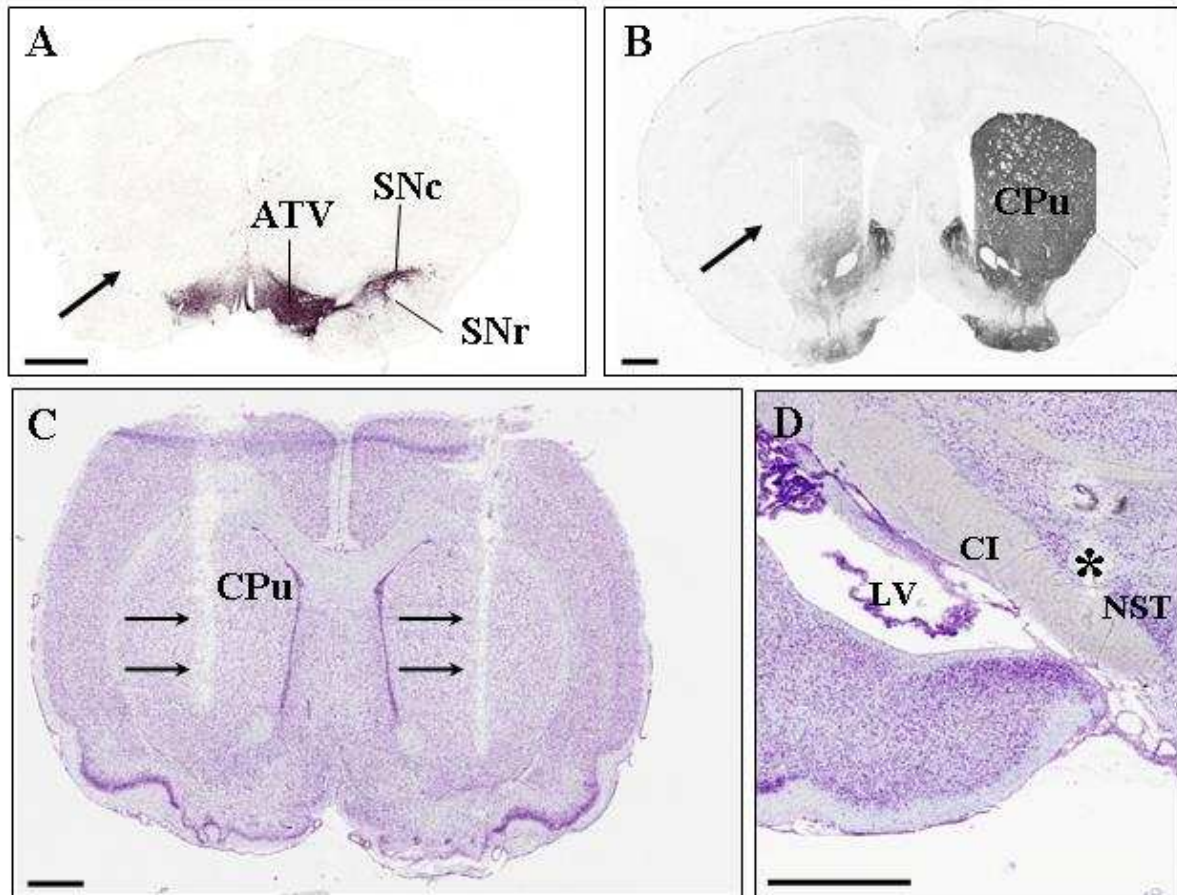
### 2.1.1 *Evaluation de la dénervation dopaminergique*

À la fin de chaque expérience, la perte des neurones dopaminergiques de tous les animaux ayant reçu une injection unilatérale de 6-OHDA (gauche) a été vérifiée. Pour les lésions totales de la SNc, seuls les animaux présentant une perte quasi-totale des neurones dopaminergiques de la SNc (> 95%) avec une relative bonne préservation de ceux de l'aire tegmentale ventrale (ATV) ont été inclus dans les résultats. La figure 45 donne un exemple représentatif de l'immuno-marquage TH, 7 semaines après l'injection de 6-OHDA (4 semaines post-lésion + 3 semaines traitement chronique L-Dopa). Du côté lésé, on observe une perte massive des neurones dopaminergiques au niveau de la SNc (Fig 45A page suivante) et des fibres dopaminergiques au niveau striatal (Fig 45B) 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.

### 2.1.2 *Localisation de l'électrode de stimulation et de la sonde de microdialyse*

Les emplacements de la sonde de dialyse 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) ont été retenues et intégrées dans les résultats. Les figures 45C et 45D illustrent respectivement les implantations bilatérales correctes des sondes de dialyse dans le parenchyme striatal et de l'électrode de stimulation dans le NST. La symétrie des implantations des sondes de microdialyse dans le striatum a été également vérifiée et nous a permis d'attester que les comparaisons gauche/droite étaient issues de régions anatomiques homologues. On remarque également que l'extrémité de l'électrode de stimulation (pôle négatif) est bien localisée dans la partie dorso-latérale de la structure comme l'atteste la petite lésion tissulaire réalisée en fin de manipulation par l'application d'un courant continu de 100  $\mu$ A pendant quelques secondes. Tous les animaux

ayant présenté un processus hémorragique au niveau des sondes de microdialyse et/ou de l'électrode de stimulation ont été écartés.



**Figure 45 : A, B : Photographies de coupes coronales de cerveau de rat au niveau nigral (A) et striatal (B) après immunomarquage de la TH. C, D : Photographies de coupes coronales de cerveau de rat au niveau striatal (C) et sous-thalamique (D) après coloration au crésyl violet.**

En A et B, noter la disparition de l'immunomarquage TH au sein de la SNc (A) et du striatum (B) du côté ipsilatéral à la lésion (flèches noires). En C, noter les traces laissées par l'implantation des sondes dans le striatum. En D, le symbole \* indique l'emplacement du pôle stimulant (pôle négatif) de l'électrode de stimulation. ATV, aire tegmentale ventrale ; CI, capsule interne ; CPu, noyau caudé-putamen ; NST, noyau sous-thalamique ; SNc, substance noire compacte ; SNr, substance noire réticulée ; LV, ventricule latéral. La barre d'échelle représente 1 mm.

## **2.2 Effet de la dénervation dopaminergique et du traitement chronique à la L-Dopa sur les taux de base de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA au niveau striatal**

### ***2.2.1 Effet de la dénervation dopaminergique***

Comme nous pouvions nous y attendre, la lésion unilatérale totale de la SNc provoque une diminution drastique et significative ( $p < 0,001$ ) des taux de dopamine, DOPAC et HVA du côté ipsilatéral à la lésion (côté gauche) par rapport au côté controlatéral (côté droit, non lésé) et également par rapport au côté non lésé (côté droit) des rats sains. Les concentrations basales détectées pour le côté lésé et non lésé sont respectivement de  $0,0014 \pm 0,0003 \mu\text{M}$  et  $0,0073 \pm 0,0011 \mu\text{M}$  (81% de diminution) pour la dopamine,  $0,145 \pm 0,026 \mu\text{M}$  et  $1,966 \pm 0,054 \mu\text{M}$  (92 % de diminution) pour le DOPAC, et  $0,178 \pm 0,037 \mu\text{M}$  et  $1,538 \pm 0,072 \mu\text{M}$  pour l'HVA (88,4 % de diminution). Les figures 46A,B et C (page 146) illustrent cette diminution du métabolisme dopaminergique et confirment d'un point de vue neurochimique les effets de la lésion de la SNc sur la transmission dopaminergique. On remarque également que les contenus en dopamine, DOPAC et HVA du côté controlatéral à la lésion chez les rats 6OHDA-LT sont pratiquement comparables à ceux du côté homologue chez les rats sains.

Concernant les acides aminés, les résultats obtenus ont été les suivants. Chez les rat 6-OHDA-LT on observe du côté lésé une diminution significative ( $p < 0,05$ ) des contenus en glutamate de l'ordre de 58,6 %. Les concentrations respectives pour le côté lésé et le côté non lésé chez ces rats étaient de  $0,12 \pm 0,007 \mu\text{M}$  et de  $0,29 \pm 0,02 \mu\text{M}$ . On remarque également qu'il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les contenus en glutamate du côté controlatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA-LT par rapport au côté homologue chez les rats sains. Cette différence se concrétise par une diminution de l'ordre de 44,7 % puisque les contenus en glutamate mesurés du côté droit (non lésé) chez les animaux 6-OHDA-LT et sains étaient respectivement de  $0,21 \pm 0,02 \mu\text{M}$  et de  $0,38 \pm 0,05 \mu\text{M}$  (Tableau 10) .

Pour le GABA, la lésion dopaminergique ne semble pas induire de différence de contenus entre le côté gauche (lésé) et le côté droit (non lésé) puisque les concentrations mesurées sont relativement homogènes :  $0,0165 \pm 0,001 \mu\text{M}$  pour le côté gauche et  $0,0155 \pm 0,002 \mu\text{M}$  pour le côté droit). Par contre, comme pour le glutamate, on note une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les contenus en GABA du côté controlatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA-LT par rapport au côté homologue chez les rats sains. Cette différence se concrétise par une diminution de l'ordre 48,2 % puisque les contenus en GABA mesurés du

côté droit (non lésé) chez les animaux 6-OHDA-LT et sains étaient respectivement de  $0,015 \pm 0,0019 \mu\text{M}$  et de  $0,029 \pm 0,004 \mu\text{M}$ .

### ***2.2.2 Effet du traitement chronique à la L-Dopa chez les rats 6-OHDA-LT***

En ce qui concerne la dopamine, la diminution des taux de dopamine chez les rats 6-OHDA-LT traités à la L-Dopa ( $0,0037 \pm 0,0005 \mu\text{M}$ ) est moindre que celle observée chez les rats 6-OHDA-LT non traités à la L-Dopa ( $0,0014 \pm 0,0003 \mu\text{M}$ ). Celle-ci est de l'ordre de 81% chez les rats 6-OHDA-LT alors qu'elle n'est que 40% chez les mêmes rats lésés traités à la L-Dopa, si l'on compare le côté ipsilatéral *versus* le côté controlatéral. Ces résultats pourraient suggérer un effet à long terme du traitement de substitution dopaminergique à base de L-Dopa. Cette diminution serait moindre (-32,7%,  $p < 0,05$ ) si l'on comparait le côté ipsilatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA traités à la L-Dopa ( $0,0037 \pm 0,0005 \mu\text{M}$ ) par rapport au côté homologue chez les rats sains non traités à la L-Dopa ( $0,0055 \pm 0,0006 \mu\text{M}$ ). Au niveau du DOPAC et de l'HVA, si l'on compare les valeurs mesurées chez les rats 6-OHDA-LT *versus* les rats 6-OHDA-LT traités à la L-Dopa, le traitement à la L-Dopa ne modifie pas leurs contenus. Les concentrations de DOPAC du côté ipsilatéral à la lésion sont de  $0,114 \pm 0,018 \mu\text{M}$  chez les rats 6-OHDA+L-DOPA et de  $0,145 \pm 0,026 \mu\text{M}$  chez les rats 6-OHDA. De même, les concentrations d'HVA du côté ipsilatéral à la lésion sont de  $0,189 \pm 0,012 \mu\text{M}$  chez les rats 6-OHDA+L-DOPA et de  $0,178 \pm 0,037 \mu\text{M}$  chez les rats 6-OHDA (Tableau 10).

Concernant les acides aminés, on observe du côté lésé que les contenus en glutamate se situent à un niveau intermédiaire entre celui observé chez les rats 6-OHDA-LT et celui mesuré chez les rats sains. Les concentrations mesurées chez les rats 6-OHDA traités à la L-Dopa sont de  $0,170 \pm 0,014 \mu\text{M}$  et représentent une augmentation de l'ordre de 28,2% par rapport à celles détectées chez les rats 6-OHDA non traités à la L-Dopa ( $0,122 \pm 0,0068 \mu\text{M}$ ). Là encore, un effet L-Dopa semble se discerner. Par contre, les contenus en GABA du côté lésé ( $0,011 \pm 0,001 \mu\text{M}$ ) restent inférieurs à ceux mesurés du même côté chez les rats 6-OHDA non traités à la L-Dopa ( $0,0165 \pm 0,001 \mu\text{M}$ ).

De manière intéressante, du côté controlatéral à la lésion, le traitement à L-Dopa chez les rats 6-OHDA semble normaliser les concentrations en glutamate ( $0,333 \pm 0,068 \mu\text{M}$ ) et en GABA ( $0,038 \pm 0,011 \mu\text{M}$ ) par rapport à celles mesurées du même côté chez les animaux sains non traités.

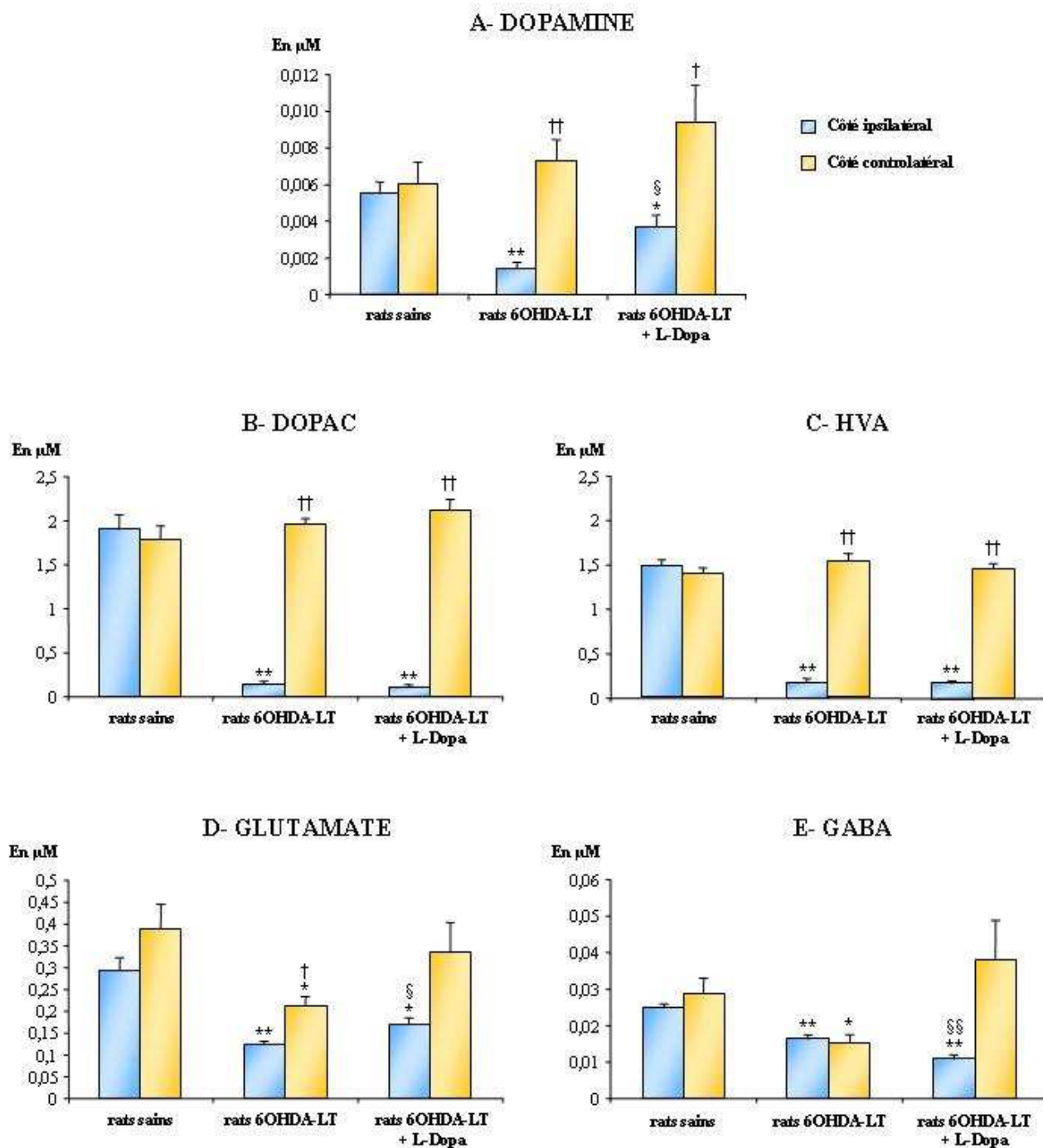
**Tableau 10 : Concentrations basales de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA exprimées en  $\mu\text{M}$  au niveau striatal .**

Le côté ipsilatéral correspond au côté stimulé chez les rats sains, ou stimulé et lésé chez les rats 6-OHDA-LT. Les valeurs présentées sont sous forme de moyenne  $\pm$  SEM. \* ( $p < 0,05$ ) ou \*\* ( $p < 0,001$ ) : *versus* rats sains ; \$ ( $p < 0,05$ ) ou \$\$ ( $p < 0,001$ ) : *versus* rats 6-OHDA-LT ; # ( $p < 0,05$ ) ou ## ( $p < 0,001$ ) : *versus* côté ipsilatéral.

en $\mu\text{M}$	Rats sains		Rats 6OHDA-LT		Rats 6OHDA-LT + L-Dopa	
	c <sup>TMt</sup> ipsilat <sup>r</sup>	c <sup>TMt</sup> controlat <sup>r</sup>	c <sup>TMt</sup> ipsilat <sup>r</sup>	c <sup>TMt</sup> controlat <sup>r</sup>	c <sup>TMt</sup> ipsilat <sup>r</sup>	c <sup>TMt</sup> controlat <sup>r</sup>
<b>dopamine</b>	0,0055 $\pm$ 0,0006	0,0060 $\pm$ 0,0012	0,0014 $\pm$ 0,0003 **	0,0073 $\pm$ 0,001 <sup>#</sup>	0,0037 $\pm$ 0,0005 <sup>\$*</sup>	0,0094 $\pm$ 0,001 <sup>§</sup>
<b>DOPAC</b>	1,899 $\pm$ 0,16	1,785 $\pm$ 0,15	0,145 $\pm$ 0,026 **	1,966 $\pm$ 0,054 <sup>#</sup>	0,114 $\pm$ 0,018 **	2,115 $\pm$ 0,122 <sup>#</sup>
<b>HVA</b>	1,484 $\pm$ 0,063	1,394 $\pm$ 0,0575	0,178 $\pm$ 0,037 **	1,538 $\pm$ 0,072 <sup>#</sup>	0,189 $\pm$ 0,012 **	1,457 $\pm$ 0,056 <sup>#</sup>
<b>glutamate</b>	0,292 $\pm$ 0,027	0,388 $\pm$ 0,054	0,122 $\pm$ 0,0068 **	0,211 $\pm$ 0,02 <sup>§*</sup>	0,170 $\pm$ 0,014 <sup>§*</sup>	0,333 $\pm$ 0,068
<b>GABA</b>	0,025 $\pm$ 0,001	0,029 $\pm$ 0,004	0,0165 $\pm$ 0,001 **	0,0155 $\pm$ 0,0019 <sup>*</sup>	0,011 $\pm$ 0,001 <sup>§§*</sup>	0,038 $\pm$ 0,0107

*En résumé, la lésion 6-OHDA affecte sévèrement les taux de dopamine, de DOPAC et de HVA au niveau striatal du côté ipsilatéral à la lésion. Elle diminue également les taux de glutamate et de GABA, et ce, de manière bilatérale. Le traitement L-Dopa chez les rats 6-OHDA-LT augmente les taux de dopamine du côté ipsilatéral à la lésion par comparaison avec les rats 6-OHDA-LT non traités, sans modifier les taux de DOPAC et HVA, et une normalisation des taux de glutamate et GABA du côté controlatéral à la lésion est également observée.*





**Figure 46 : Représentation graphique des taux de base de dopamine (A), DOPAC (B), HVA (C), glutamate (D) et GABA (E).**

Les histogrammes correspondent aux valeurs moyennes  $\pm$  SEM obtenues à partir de 6 animaux. \* (p < 0,05) ou \*\* (p < 0,001) : versus rats sains. § ou §§ : versus rats 6OHDA-LT. † ou †† : versus côté ipsilatéral.

## **2.3 Effets de la SHF du NST sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA au sein du striatum chez les rats sains ou porteurs d'une lésion totale de la SNc traités ou non chroniquement à la L-Dopa**

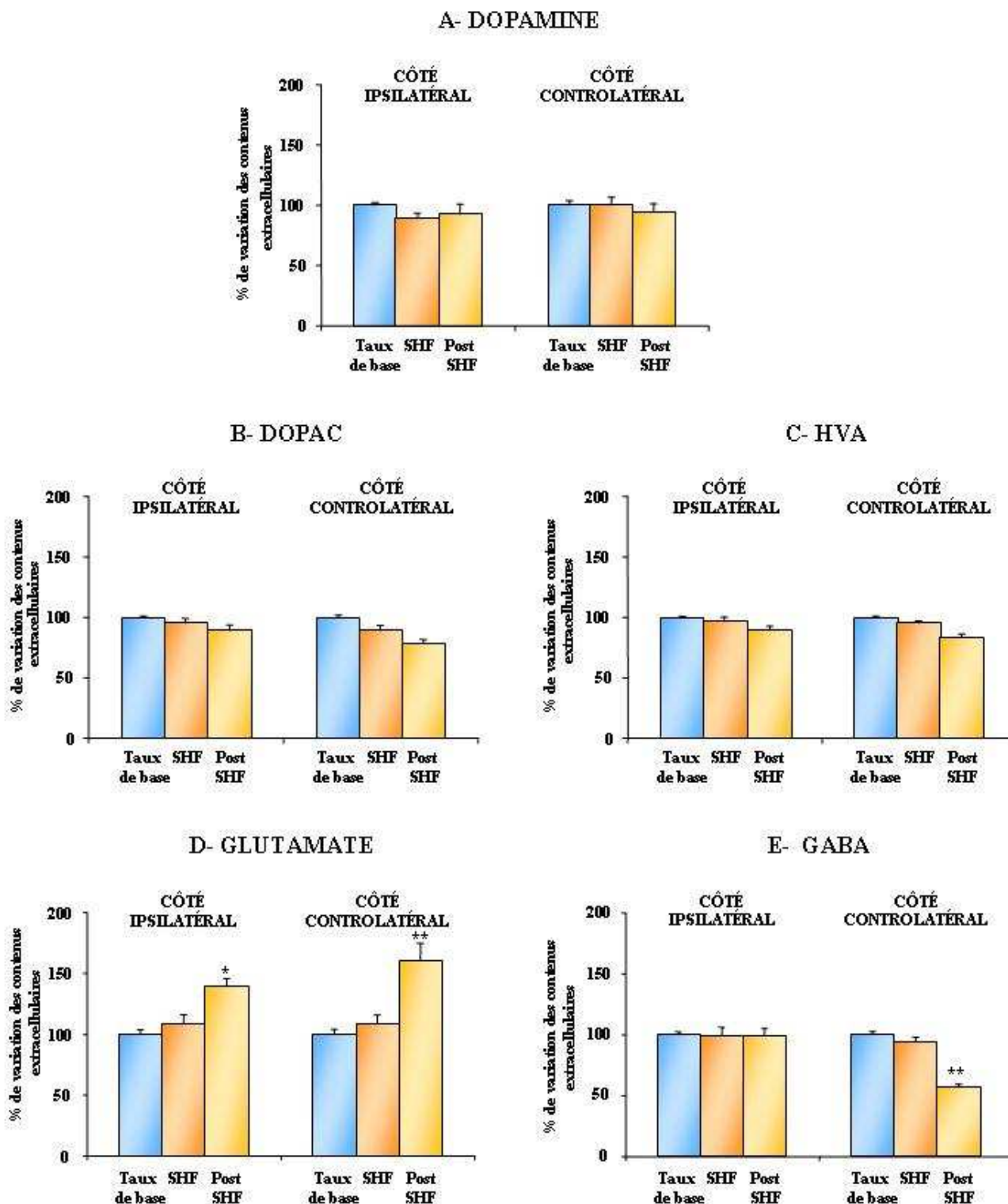
Afin de rendre plus lisible la présentation des résultats, nous avons décidé de moyenniser les valeurs obtenues à partir des dialysats recueillis distinctement lors de chaque période étudiée : 1) la période de taux de base (ou pré-stimulation) (moyenne  $\pm$  SEM de 4 recueils) qui nous permet de déterminer les valeurs basales des neuromédiateurs étudiés, 2) la période de stimulation (moyenne  $\pm$  SEM de 4 recueils) et 3) la période de post-stimulation (moyenne  $\pm$  SEM de 8 recueils). Les histogrammes représentés sur les figures 47 à 49 représentent donc les moyennes  $\pm$  SEM de ces différentes périodes exprimées en pourcentage par rapport à la moyenne des taux de base (ramenée à 100%) mesurée pendant la période de pré-stimulation et dont les valeurs sont présentées dans le tableau 10.

### ***2.3.1 Effets de la SHF du NST chez les rats sains***

La figure 47 (page suivante) illustre les variations observées sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA durant les périodes de pré-stimulation, de stimulation et de post-stimulation. On constate que l'application d'une SHF du NST pendant une heure aux paramètres de 130 Hz, 60 $\mu$ s et de 200  $\mu$ A, n'engendre aucune modification significative des taux extracellulaires de dopamine (Figure 47 A), DOPAC (Figure 47 B), et HVA (Figure 47 C) au niveau striatal, que ce soit du côté ipsilatéral ou controlatéral à la stimulation.

En revanche, pour les acides aminés, cette SHF du NST semble augmenter d'environ 45 % les taux extracellulaires de glutamate principalement lors de la période de post-stimulation, et ce, de façon bilatérale.

Cette augmentation est significative (Figure 47 D). Pour ce qui concerne le GABA, là encore aucune variation significative des taux n'est observable du côté ipsilatéral sous l'effet de la SHF du NST. Par contre, on observe une diminution significative de presque 50 % des taux de GABA lors de la période de post-SHF et ce, uniquement du côté controlatéral à la lésion (Figure 47 E).



**Figure 47 : Effet d'une SHF du NST (1 heure) sur les taux extracellulaires de dopamine (A), DOPAC (B), HVA (C), glutamate (D) et GABA (E) dans le striatum de rats sains (n=6).**

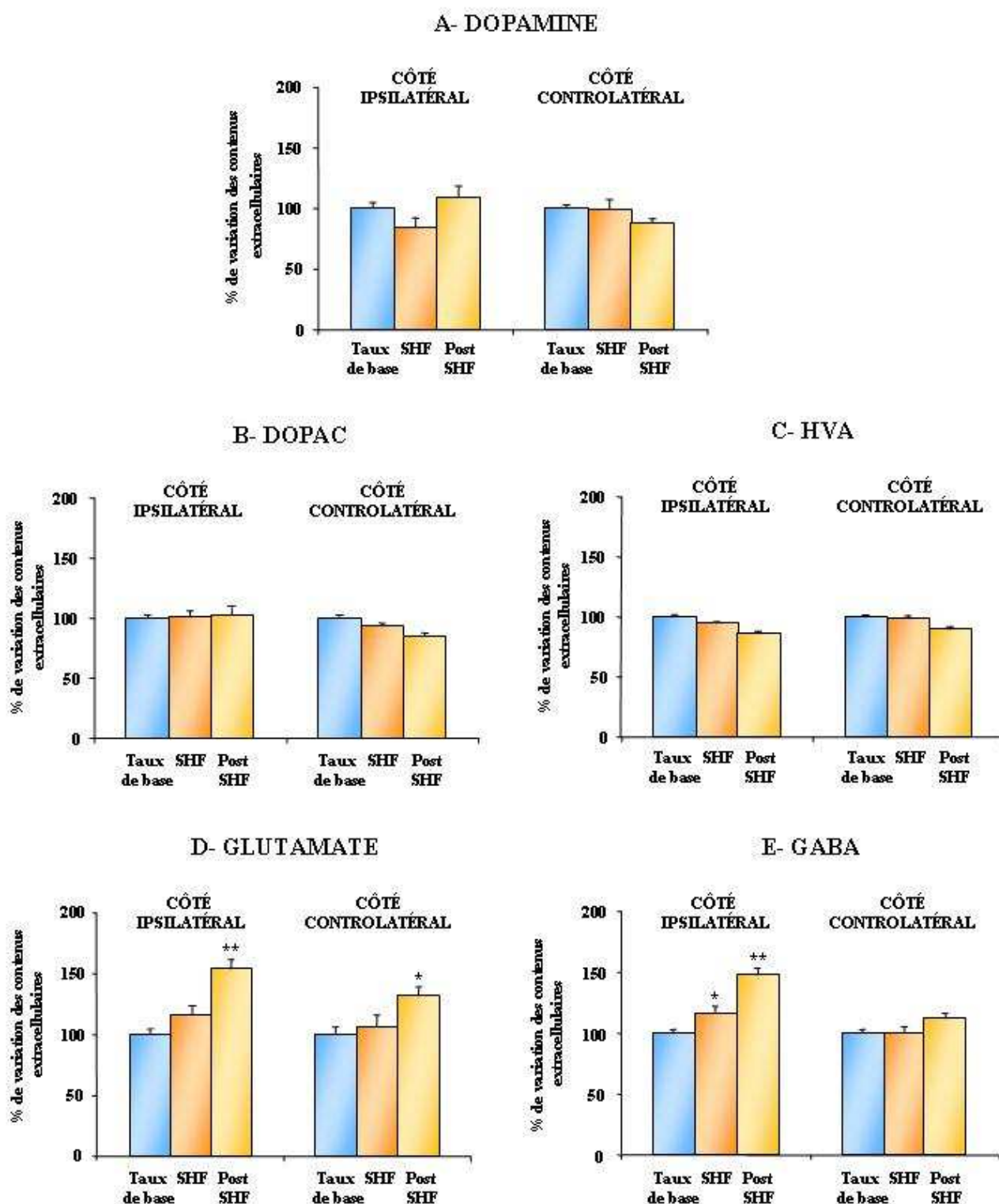
Les résultats, exprimés en % de variation par rapport à la moyenne des taux de base fixée à 100 %, sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM de tous les recueils des périodes « taux de base », « SHF » et « post-SHF ».

### ***2.3.2 Effets de la SHF du NST chez des rats 6OHDA-LP non traités ou traités chroniquement à la L-Dopa***

Chez les rats 6OHDA-LT non traités à la DOPA, aucune variation significative des taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA n'est détectable pendant ou après la période de stimulation du NST (Figures 48 A, B et C page suivante).

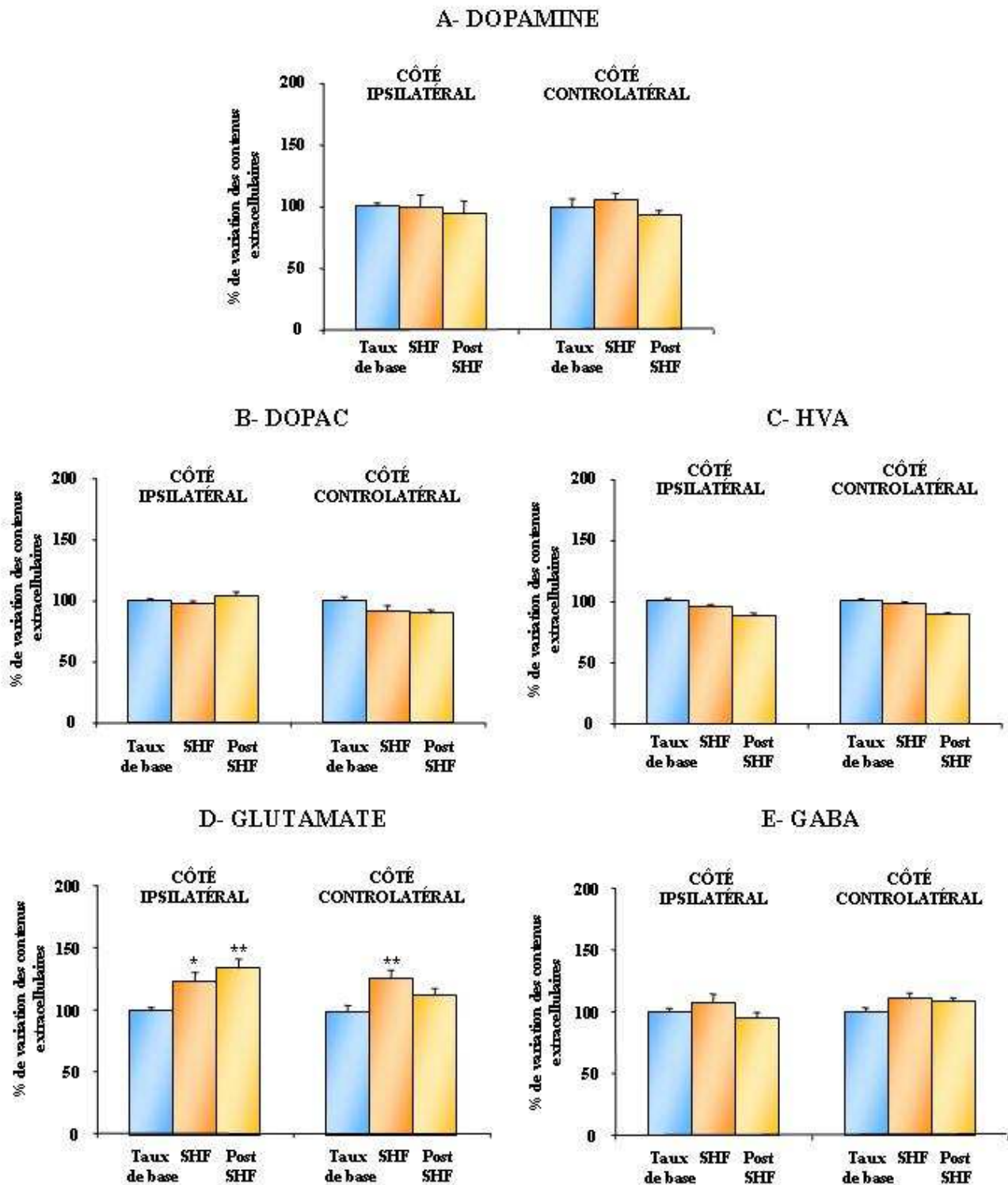
Au niveau des acides aminés (Figure 48 D et E), seuls les taux de glutamate pendant la période de post-stimulation sont augmentés, et ce, aussi bien du côté ipsilatéral que du côté controlatéral à la SHF du NST. Cette augmentation de l'ordre de 35% est significative ( $p < 0,001$  du côté ipsi et  $p < 0,05$  du côté contro). A l'instar du glutamate, la SHF du NST augmente significativement les taux de GABA du côté ipsilatéral à la SHF. Cette augmentation de l'ordre de 19% ( $p < 0,05$ ) s'accroît durant la période de post-stimulation et atteint +50 % ( $p < 0,001$ ). Aucune variation des contenus de GABA n'est à noter du côté controlatéral et ce, quelle que soit la période étudiée.

Chez les rats 6OHDA-LT traités chroniquement à la DOPA, les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA ne sont pas modifiés par l'application d'une heure de SHF du NST (Figure 49A, B et C page 151) et ce, quel que soit le côté analysé. Par contre, et de manière intéressante, les taux extracellulaires de glutamate sont significativement augmentés ( $p < 0,05$ ) du côté ipsilatéral à la lésion sous l'effet de la SHF du NST, cette augmentation s'accroît même en période post-stimulation ( $p < 0,001$ ) (Figure 49 D). Pour les taux de GABA (Figure 49 E), aucune variation statistiquement significative imputable à la SHF du NST n'est observable, que ce soit du côté ipsilatéral ou controlatéral à la stimulation.



**Figure 48 : Effet d'une SHF du NST (1 heure) sur les taux extracellulaires de dopamine (A), DOPAC (B), HVA (C), glutamate (D) et GABA (E) dans le striatum de rats 6OHDA-LT (n=5).**

Les résultats, exprimés en % de variation par rapport à la moyenne des taux de base, sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM de tous les recueils des périodes « taux de base », « SHF » et « post-SHF ».



**Figure 49 : Effet d'une SHF du NST (1 heure) sur les taux extracellulaires de dopamine (A), DOPAC (B), HVA (C), glutamate (D) et GABA (E) dans le striatum de rats 6OHDA-LT + L-Dopa (n=5).**

Les résultats, exprimés en % de variation par rapport à la moyenne des taux de base, sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM de tous les recueils des périodes « taux de base », « SHF » et « post-SHF ».

*En résumé, la SHF du NST n'induit aucune modification des contenus striataux de dopamine, DOPAC et d'HVA chez les rats sains et lésés à la 6-OHDA. On peut toutefois noter que les taux extracellulaires de glutamate et de GABA sont affectés par la SHF du NST chez les rats 6OHDA-LT mais principalement en période de post-stimulation et du côté ipsilatéral. De la même manière, la SHF du NST ne semble pas induire de modifications notables sur les contenus extracellulaires de dopamine, DOPAC et d'HVA chez les rats lésés à la 6-OHDA et ayant subi un traitement chronique à la L-Dopa pendant 20 jours. Seule une augmentation significative des taux de glutamate est observée lors de la SHF du NST du côté ipsi et contro-latéral et s'accroît en période post-stimulation du côté ipsilatéral.*

## 2.4 Discussion

*Variations des contenus extracellulaires de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA induites au niveau striatal par une lésion totale de la SNc et/ou un traitement chronique à la L-Dopa*

Les variations neurochimiques observées concernant le système dopaminergique nigrostrié ne sont pas surprenantes puisque la lésion 6-OHDA totale de la SNc entraîne une diminution très importante des taux extracellulaires de dopamine du côté lésé chez les rats 6OHDA-LT par rapport aux valeurs mesurées du côté controlatéral, qui sont par ailleurs comparables aux valeurs du côté homologue chez les rats sains. De la même manière, les taux de DOPAC et HVA connaissent également une diminution très significative du côté ipsilatéral à la lésion, par opposition au côté controlatéral. Les taux de base de dopamine chez les rats lésés traités à la L-Dopa de façon chronique restent très diminués du côté lésé, mais demeurent néanmoins supérieurs aux valeurs mesurées chez les rats 6OHDA-LT non traités à la L-Dopa. On ne retrouve cependant pas un tel effet pour le DOPAC et l'HVA. Il semblerait donc qu'un traitement chronique à la L-Dopa influe sur les concentrations basales de dopamine au niveau d'un striatum déafférenté sans pour autant affecter le métabolisme intra- (DOPAC) et extracellulaire (HVA) de ce neurotransmetteur. Un effet similaire a été rapporté par Pycock et al. (1982), qui avaient cependant observé une augmentation des métabolites de la dopamine. Cette augmentation des taux de dopamine observée même après un arrêt de 48h du traitement à la L-Dopa pourrait corroborer avec des observations cliniques qui mettent en exergue l'existence d'une "réponse longue durée" post-L-Dopa, se maintenant sur plusieurs jours (Muentner et Tyce, 1971 ; Nutt et al., 1992, 1995). Cette réponse, mesurée sur le plan

moteur chez l'homme, est définie comme une amélioration des symptômes moteurs qui se développe lentement après l'initiation du traitement L-Dopa et disparaît tout aussi graduellement plusieurs jours après l'arrêt de la prise de L-Dopa (Muenter et Tyce, 1971). La réponse longue durée est indépendante du taux plasmatique de L-Dopa, et connaît des changements relatifs à l'évolution de la maladie. En effet, cette réponse prédomine lors des premiers temps du traitement L-Dopa, lorsque la maladie est moins avancée, et serait responsable de la période dite de "lune de miel", durant laquelle l'effet de la L-Dopa est optimal (Nutt et al., 1995, 1997). A l'inverse, au fur et à mesure de l'avancée des symptômes, la durée de la réponse se raccourcit graduellement, créant un terrain favorable au développement de fluctuations motrices (Zappia et al., 1999). Dans notre étude, l'augmentation des taux de base de dopamine chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa n'a pas pu être directement reliée à une modification du score moteur des animaux lors de l'expérimentation, mais il est vraisemblable, à la lumière des nombreuses études existantes explorant la motricité, qu'une augmentation des contenus en dopamine dans le striatum améliore le comportement moteur. La mesure à intervalles réguliers (par exemple chaque semaine) des taux de base de dopamine pendant et après un traitement L-Dopa chronique pourrait s'avérer utile pour comprendre les phénomènes à l'origine de la réponse longue durée de la L-Dopa.

Concernant les acides aminés, nos résultats montrent chez les rats 6OHDA-LT non traités à la L-Dopa une diminution significative (environ 40 %) des taux de base de glutamate et de GABA par rapport aux taux mesurés du côté controlatéral à la lésion, mais aussi par rapport à ceux mesurés du côté homologue chez les rats sains. De manière intéressante, le traitement chronique à la L-Dopa ne reverse pas cette diminution de glutamate et de GABA du côté lésé chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa. Toutefois, les taux de base de glutamate mesurés chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa sont significativement plus élevés que ceux mesurés chez les rats 6OHDA-LT, tandis que les taux de GABA chez ces mêmes animaux restent diminués de manière significative. Par ailleurs, les taux de glutamate et de GABA du côté controlatéral à la lésion, diminués significativement chez les rats 6OHDA-LT non traités, retournent à leurs valeurs basales chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa.

Nos résultats concernant l'effet de la lésion 6-OHDA sur les taux de base de glutamate vont à l'encontre de la plupart des données de la littérature, qui rapportent au contraire des augmentations de la transmission glutamatergique dans le striatum. Ces augmentations ont pu être révélées par l'électrophysiologie, la microdialyse intracérébrale ou encore la microscopie



électronique (Lindfors et Ungerstedt, 1990 ; Calabresi et al., 1993 ; Meshul et al., 1999 ; Jonkers et al., 2002 ; Bruet et al., 2003). Comment expliquer alors une telle discordance ?

Le premier facteur qui pourrait expliquer une telle divergence concerne le délai post-lésionnel. En effet, dans la plupart des études publiées rapportant des augmentations des contenus striataux de glutamate, ces délais post-lésionnels varient entre 15 jours et 1 mois. A l'inverse, lorsque ces délais sont plus longs, comme c'est le cas dans l'étude de Meshul et al. (1999) où un délai post-lésionnel de 3 mois a été étudié, on observe alors une diminution de 30 à 40 % des taux extracellulaires de glutamate dans le striatum (Meshul et al., 1999 ; Touchon et al., 2004). Ces résultats corroborent davantage ceux obtenus dans notre expérience, au cours de laquelle le délai post-lésionnel se situait autour de 6 semaines. Cette diminution des taux de glutamate extracellulaire est également couplée à une augmentation de l'immunomarquage du glutamate au sein de terminaisons nerveuses striatales associées avec des synapses asymétriques (Meshul et al., 1999). Il est tout à fait possible que cette diminution au long cours des taux extracellulaires de glutamate résulte de la mise en place de phénomènes compensatoires adaptatifs destinés à réguler le stock extracellulaire de glutamate, tels qu'une diminution de la synthèse et/ou de la libération de glutamate (Meshul et al., 1999 ; Touchon et al., 2004).

Les augmentations des contenus en dopamine au niveau striatal (même si ces contenus restent bien inférieurs aux taux mesurés chez les animaux sains), tout comme la diminution des taux de GABA, observés après traitement L-Dopa chez les animaux 6OHDA-LT, pourraient expliquer les augmentations de glutamate observées au niveau striatal chez ces mêmes animaux via des interactions complexes glutamate/GABA/dopamine au sein de la circuiterie des ganglions de la base. On aurait pu s'attendre à ce qu'une déplétion dopaminergique induise une augmentation de l'activité spontanée des neurones striataux (Schult et Ungerstedt, 1978 ; Nieoullon et Kerkerian, 1992 ; Calabresi et al., 1993 ; Chang et Webster, 1997) par le biais d'une levée d'inhibition exercée par la dopamine sur les terminaisons glutamatergiques cortico-striées et sur les interneurons GABAergiques du striatum. Toutefois, les diminutions des taux de glutamate observées ici après lésion dopaminergique corroborent avec le modèle fonctionnel des ganglions de la base proposé par Albin et al. (1989). En effet, selon ce modèle, une perte du contrôle dopaminergique au niveau striatal induirait plutôt :

- 1) une diminution de l'activité des voies de sortie GABA/substance P qui se projettent sur la SNr et le GPi/EP, induisant par la suite une augmentation de l'activité des

voies de sortie SNr/EP GABAergiques qui se projettent elles-mêmes sur les noyaux moteurs du thalamus ;

ou 2) une augmentation de l'activité de la voie excitatrice glutamatergique sous-thalamo-nigrale, qui entraînerait en conséquence un accroissement de l'activité des voies de sortie GABAergiques se projetant elles aussi sur les noyaux moteurs du thalamus en induisant par la suite une diminution de l'activité de la voie thalamo-cortico-striatale.

Comme l'ont suggéré Meshul et al. (1999), l'action du GABA pourrait avoir des effets opposés, excitateur et inhibiteur, au niveau des noyaux moteurs du thalamus. En effet, il a été montré qu'une injection de GABA à faible concentration ( $10^{-5}$  M) dans le thalamus "moteur" de chat (Barbeito et al., 1989) ou de rat (Meshul et al., 1996) induisait une augmentation des taux de glutamate dans le striatum et que cet effet pouvait être reversé par une injection de GABA à plus forte concentration ( $10^{-3}$  M). Les mécanismes qui sous-tendent ces effets du GABA restent à ce jour mal connus. Cependant, il est possible que le GABA puisse stimuler des récepteurs GABAergiques pré-synaptiques situés sur les terminaisons GABAergiques dans le thalamus et bloquer ainsi sa libération, comme cela a été proposé par Barbeito et al. (1989), ou encore que l'administration de GABA entraîne les neurones thalamiques d'un état d'hyperpolarisation vers un état de dépolarisation liée au GABA (Staley et al., 1995). Si l'on tient compte de toutes ces possibilités, il n'est pas surprenant dès lors qu'une lésion dopaminergique induise des diminutions des contenus en glutamate et en GABA suite à une perte de contrôle de la boucle thalamo-cortico-striatale probablement potentialisée par l'hyperactivité du NST.

Il pourrait néanmoins exister une seconde alternative pour expliquer cette baisse des taux de base de glutamate après dénervation dopaminergique. Une étude menée par Reid et al. (1990a) a mis en évidence une diminution bilatérale et drastique de plus de 80 % des taux de base de glutamate dans le striatum après lésion de l'ATV. Cependant les contrôles histologiques de nos lésions dopaminergiques ne montrent pas d'atteinte importante de l'ATV (pour mémoire, voir figure 45), et la diminution des taux de base de glutamate est moins importante que celle observée par Reid et al. Néanmoins, et malgré les précautions prises lors de la réalisation de nos lésions, on ne peut pas écarter la probabilité que certains neurones dopaminergiques de l'ATV aient pu être lésés sous l'action de la 6-OHDA, entraînant une modification de la régulation striatale des taux de glutamate extracellulaire. D'autres travaux, allant également à l'encontre de la théorie de l'hyperglutamatergie striatale consécutive à la

perte d'innervation dopaminergique, ne rapportent pas de modification des taux de glutamate après lésion du faisceau médian du télencéphale (Abarca et Bustos, 1999 ; Galeffi et al., 2003). Or ce faisceau comprend des fibres issues de la SNc et de l'ATV, ce qui pourrait expliquer l'absence d'augmentation ou de diminution des taux de glutamate lors de ces expériences.

L'ensemble des données existant dans la littérature fait donc apparaître un certain nombre de divergence concernant les modifications des contenus striataux en glutamate et GABA suite à une dénervation dopaminergique. Ces divergences semblent être liées à un certain nombre de paramètres expérimentaux faisant intervenir essentiellement l'étendue de la lésion pratiquée, ainsi que le délai post-lésionnel observé. Par ailleurs, la technique de microdialyse intracérébrale utilisée dans le cadre de notre travail, et qui nous a permis de mesurer le glutamate extracellulaire, ne nous permet pas de distinguer l'origine neuronale ou gliale du glutamate mesuré. En effet, les variations de glutamate observées peuvent être le reflet d'une libération d'origine à la fois gliale et neuronale (Westerink et al., 1989 ; Herrera-Marschitz et al., 1996). Des études préliminaires conduites au laboratoire par Frédérique Bertholon et François Windels dans le cadre de leur thèse (Bertholon, 1998 ; Windels, 2001) ont pu montrer qu'une diminution de la concentration de calcium dans le tissu cérébral induite par une perfusion de LCR sans calcium et contenant un chélateur calcique (EGTA, 2 mM ; Semba et al., 1995) entraînait une diminution d'environ 30 % de la libération de glutamate dans le striatum. Toutefois, même si le calcium est étroitement impliqué dans la libération neuronale par exocytose des neurotransmetteurs, on ne peut pas être certain que les variations de glutamate induites par des modifications des concentrations en calcium dans le parenchyme cérébral soient directement liées à des diminutions de la libération de glutamate par exocytose. En effet, les interactions étroites au niveau synaptique entre les systèmes glutamatergiques et GABAergiques et d'autres systèmes de neurotransmission, comme le système dopaminergique, sont probablement indirectement responsables des modifications de la libération de glutamate et de GABA observées ici. De plus, on ne peut pas bien évidemment exclure qu'une partie des ces acides aminés soit libérée par des processus ne mettant pas en jeu des phénomènes d'exocytose, ceci ayant été avancé pour le glutamate (Jabaudon et al., 1999). Cette question de l'origine neuronale des acides aminés dans nos dialysats reste une question importante et délicate encore non résolue à ce jour par les expérimentateurs utilisant ce type d'approche technique. Des expériences consistant à induire des dépolarisations au niveau striatal par perfusion de potassium ont néanmoins montré qu'au

moins 65 % des contenus extracellulaires de glutamate dans cette structure sont d'origine neuronale (Meshul et al., 1999). Là encore, le potassium n'étant pas spécifique du système glutamatergique, il est difficile de certifier que les variations observées ne soient pas liées à des interactions avec d'autres systèmes de neurotransmission. Nous ne pouvons donc rester que réservés quant à l'origine de ces acides aminés striataux car cette question est loin d'être simple.

Si l'on revient à présent à l'effet induit par un traitement chronique à la L-Dopa, on pourrait penser que l'augmentation des taux de glutamate observée chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa pourrait être liée à une néosynthèse de dopamine consécutive au traitement L-Dopa. Cet apport de dopamine pourrait atteindre les neurones striataux innervés par les afférences issues de l'ATV et non affectées par la lésion 6-OHDA, et favoriser ainsi l'augmentation des contenus de glutamate extracellulaire basal.

Au delà de ces hypothèses concernant le délai post-lésionnel et l'étendue de la lésion à l'ATV, de récentes découvertes, relatives à l'incidence du mode d'injection des neurotoxines – aigu ou chronique – sur les taux de glutamate, se sont avérées assez troublantes par leurs divergences. Holmer et al. (2005) ont ainsi testé sur des souris les conséquences de protocoles aigus (une seule injection) et chroniques (injections répétées) d'administration du MPTP sur les contenus de glutamate extracellulaire striatal, et sont arrivés à des résultats contradictoires. En effet, après une intoxication aiguë et bilatérale au MPTP, une augmentation des taux extracellulaires de glutamate est observée dans les conditions basales, et se trouve reversée après un traitement L-Dopa chronique. A l'inverse, suivant une intoxication chronique au MPTP (injections répétées), les taux de base de glutamate sont diminués, puis ré-augmentent suite à une prise chronique de L-Dopa. Un tel impact du mode d'administration du MPTP sur les taux de base de glutamate avait déjà été montré par Robinson et al. en 2003. La vitesse des processus dégénératifs affectant les neurones dopaminergiques nigraux serait donc un paramètre important dans les changements observés concernant le tonus glutamatergique extracellulaire au niveau striatal. Le protocole d'intoxication à la 6-OHDA utilisé dans notre travail peut être qualifié d'"aigu" car il consiste en une injection unique d'une solution de 6-OHDA dans la SNc. Cette injection est suivie d'une période de stabilisation lésionnelle d'environ 3 semaines, mais cela ne nous assure pas que la dégénérescence des neurones dopaminergiques se fasse graduellement. En effet, de nombreuses études sur la chronologie de la dégénérescence des neurones dopaminergiques après lésion 6-OHDA ont montré

l'apparition d'altérations du système dopaminergique dès les premières heures suivant l'injection de 6-OHDA, suivies par un pic de mort neuronale durant la première semaine post-lésionnelle (Chritin et al., 1993 ; Jeon et al., 1995 ; Zuch et al., 2000). Bien que ce mode d'induction de lésion ne puisse pas être considéré comme chronique, nos résultats sont cependant très similaires à ceux obtenus avec un protocole d'intoxication avec injections répétées de neurotoxine.

En ce qui concerne le GABA, les diminutions des concentrations basales observées après lésion de la SNc à la 6-OHDA sont en contradiction avec de précédentes études. En effet, la dégénérescence des neurones dopaminergiques nigro-striés provoquée par une intoxication aiguë au MPTP ou à la 6-OHDA semble être capable d'induire une augmentation de l'expression des ARNm de la GAD67 couplée à une augmentation de la concentration et de la libération de GABA (Tanaka et al., 1986 ; Lindefors et al., 1989 ; Segovia et al., 1990 ; Soghomonian et al., 1996). Paradoxalement, certaines études basées sur des lésions du faisceau médian du télencéphale n'ont pas révélé de variations des taux de GABA (Abarca et Bustos, 1999 ; Galeffi et al., 2003). Dès lors, et contrairement au cas du glutamate, nous ne pouvons pas nous appuyer uniquement sur une atteinte partielle des neurones dopaminergiques de l'ATV pour expliquer cette diminution des taux extracellulaires de GABA.

Chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa, le traitement L-Dopa chronique semble exacerber la diminution des taux de base de GABA extracellulaire du côté lésé par rapport à celle mesurée chez les rats 6-OHDA non traités. Cela concorde avec des études post mortem chez des patients parkinsoniens traités avec de la L-Dopa montrant une diminution de l'expression des ARNm de l'enzyme GAD67 au niveau du noyau caudé-putamen (Levy et al., 1995). Cette enzyme, non inductible et exprimée préférentiellement au niveau des interneurones GABAergiques, est responsable de la synthèse basale de GABA (Martin et Rimvall, 1993), et influe par conséquent sur le tonus GABAergique extracellulaire que nous pouvons mesurer par microdialyse. Cette diminution des ARNm de GAD67 chez le parkinsonien traité à la L-Dopa a été expliquée comme étant la résultante à la fois du degré d'évolution de la maladie d'une part, et de l'effet inhibiteur exercé par la L-Dopa sur l'expression de cette enzyme d'autre part. En effet, d'après certaines études basées sur des modèles animaux, il semblerait que l'expression striatale des ARNm de la GAD67 après lésion dopaminergique soit augmentée durant les premiers jours post-lésionnels, pour retourner à la normale plusieurs mois après la lésion (Vernier et al., 1988). Dans le cadre de notre étude, la microdialyse

intracérébrale a été effectuée 7 semaines après la lésion pour les rats 6-OHDA, la période de stabilisation de la lésion étant estimée à 3-4 semaines. De manière surprenante, nous n'observons pas d'augmentation des contenus de GABA dans le striatum après lésion dopaminergique, ce qui est paradoxal par rapport aux variations de l'expression de l'ARNm de la GAD67. De plus, nous sommes loin des 4 mois post-lésionnels au terme desquels les taux d'ARNm de la GAD67 retournent aux valeurs des animaux contrôles. Compte tenu des liens métaboliques très étroits entre glutamate et GABA, il est probable que la baisse des taux de GABA observée dans nos expériences soit tout simplement consécutive à celle du glutamate.

En outre, il a déjà été montré que la modulation de la transmission dopaminergique pouvait stimuler ou inhiber les neurones GABAergiques striataux et la libération de GABA via son action sur les récepteurs D1 ou D2 respectivement (Reid et al., 1990b ; Harsing et Zigmond, 1997 ; Bruet et al., 2003), et que l'effet des récepteurs D2 prédominait sur celui des D1 (Harsing et Zigmond, 1997 ; Bruet et al., 2003). La libération accrue de dopamine induite par notre traitement chronique à la L-Dopa pouvant bien évidemment stimuler à la fois les récepteurs D1 et D2, cela pourrait peut-être expliquer pourquoi l'administration chronique de L-Dopa se traduit par une diminution de la concentration extracellulaire basale de GABA chez les rats 6-OHDA.

Quant à comprendre pourquoi les taux de glutamate et de GABA du côté controlatéral à la lésion sont également altérés, cela reste plus délicat. Certains travaux sont déjà parvenus à prouver que les projections nigro-striées des deux hémisphères étaient couplées, et qu'une lésion 6-OHDA unilatérale pouvait influencer la neurotransmission du côté opposé (Lindfors et Ungerstedt, 1990 ; Delfs et al., 1996 ; Roedter et al., 2001 ; Nikolaus et al., 2003), comme cela semble être le cas dans notre étude. Cette hypothèse est confortée par le fait qu'à la suite du traitement L-Dopa chronique, qui, de par sa diffusion affecte aussi bien le côté ipsilatéral que controlatéral, les contenus extracellulaires de glutamate et GABA retournent aux valeurs mesurées chez les rats sains.

### ***Effets de la SHF du NST sur les contenus striataux de dopamine, DOPAC, HVA, glutamate et GABA***

Lorsque l'on regarde les résultats de manière globale, on remarque que la SHF du NST n'exerce aucun effet sur les taux extracellulaires de dopamine, ni sur les taux de métabolites issus de la dégradation intra- (DOPAC) et extracellulaire (HVA) de cette même dopamine, et ce, quelque soit le groupe expérimental considéré.

Cette absence d'effet, notamment sur les rats sains, va à l'encontre de résultats précédemment obtenus au laboratoire par Bruet et al. (2001). Bien que les expériences ne concernent pas exactement les mêmes groupes, les conditions expérimentales en elles-mêmes, c'est-à-dire l'anesthésie, la durée et le matériel de microdialyse *in vivo* utilisé, l'électrode de stimulation et l'analyse par HPLC, ont été strictement les mêmes. Seule a changé l'intensité du courant de stimulation, passée de 500  $\mu\text{A}$  pour Bruet et al. à 200  $\mu\text{A}$  pour nos expériences. Comme cela a été explicité dans le paragraphe 4 "Stimulation Haute Fréquence du NST" de la partie "Matériel et Méthodes" (page 75), l'intensité de stimulation utilisée au laboratoire dans le cadre de nos expériences a été réduite à 200  $\mu\text{A}$  à la suite d'expériences réalisées sur rats éveillés et qui nous ont permis d'ajuster les valeurs d'intensité (80-200  $\mu\text{A}$ ) en fonction des effets comportementaux dont certains pouvaient s'assimiler à ceux observés chez les patients. Cinq cent microampères étant une intensité très élevée pour stimuler une structure aussi petite que le NST chez le rat, il a été avancé par Bruet et al. (2001) que le courant pourrait atteindre par diffusion des fibres dopaminergiques afférentes au striatum passant à proximité du NST. Il est donc vraisemblable qu'une intensité de 500  $\mu\text{A}$  atteigne les fibres dopaminergiques du faisceau médian du télencéphale passant au voisinage du NST, et que les effets obtenus observés ne soient pas spécifiques à une SHF du NST, mais soient reliés à une mise en jeu de fibres dopaminergiques suite à une diffusion de courant imposé. Nos résultats viennent donc contredire les résultats obtenus au laboratoire en 2001, et qui avaient été obtenus à l'époque en s'appuyant sur les paramètres de stimulation utilisés par Benazzouz et al. (1995).

Nos résultats corrélerent néanmoins avec les observations cliniques rapportant l'absence de libération de dopamine striatale sous SHF chez des patients parkinsoniens (Abosch et al., 2003 ; Hilker et al., 2003 ; Strafella et al., 2003b ; Thobois et al., 2003). Au final, il semblerait donc que l'effet bénéfique de la SHF du NST n'implique pas de libération accrue de dopamine au niveau striatal, que ce soit dans un système sain (rats sains) ou déplété en dopamine (rats 6-OHDA, patients parkinsoniens).

Les taux extracellulaires de DOPAC et HVA ne montrant également aucune variation dans les trois groupes expérimentaux, il semble que le métabolisme dopaminergique intra- et extracellulaire ne soit pas affecté par la SHF dans nos conditions expérimentales. Des expériences analogues réalisées par Paul et al. (2000) sur animaux anesthésiés, montrent qu'une SHF à une intensité de 225  $\mu\text{A}$  (130 Hz, 60  $\mu\text{s}$ , durée 20 minutes) ne modifie pas non plus les taux extracellulaires de DOPAC et HVA, tandis que des intensités plus fortes de 300  $\mu\text{A}$  (Paul et al., 2000) et 600  $\mu\text{A}$  (Meissner et al., 2001) augmentent ces taux de manière

significative. Il semblerait donc que les variations de DOPAC et HVA soient liées à l'intensité du courant de stimulation. De manière paradoxale, les études conduites par Bruet et al. (2001) ont permis de montrer qu'une SHF à une intensité de 500  $\mu$ A ne modifiait pas les taux de DOPAC et HVA chez des rats anesthésiés (Bruet et al., 2001). Dès lors, il est possible qu'un autre facteur que l'intensité entre en jeu. Le point commun entre les trois études que nous venons de citer et la nôtre est l'utilisation d'animaux anesthésiés, toutefois les anesthésiques utilisés ont été différents. En effet, notre étude, ainsi que celle de Bruet et al. (2001), a été réalisée sous anesthésie induite par halothane, un anesthésique volatil connu pour son effet sur les récepteurs GABA<sub>A</sub>, tandis que celles de Meissner et al. et Paul et al. ont été conduites sous anesthésie induite par l'hydrate de chloral, qui n'est certainement pas le meilleur. En effet, ce dernier est connu pour interférer avec la transmission dopaminergique, par exemple en générant une augmentation des taux de DOPAC et HVA au niveau du striatum (Westerink et Korf, 1976) et en facilitant la libération de dopamine induite par une adjonction de KCl (Chen et Kandasamy, 1996). De même, une altération du fonctionnement du transporteur de la dopamine a été décrite (Sabeti et al., 2003), ce qui est compatible avec une augmentation des contenus extracellulaires de HVA (Chen et Kandasamy, 1996). Par ailleurs, l'halothane peut aussi induire une augmentation des taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA (Stahle et al., 1990) qui serait dépendante de la dose d'halothane utilisée (Miyano et al., 1993), bien qu'une étude ultérieure montre que l'halothane inhibe la libération évoquée (par exocytose) de dopamine, sans modifier la libération non exocytotique (Adachi et al., 2001).

L'anesthésie induite par l'hydrate de chloral et l'halothane n'est pas anodine quant à son effet sur la transmission dopaminergique, et peut induire un biais au niveau des données obtenues, comme en témoignent les résultats obtenus par Paul et al. (2000), qui ont montré qu'une intensité de 225  $\mu$ A, sans effet chez le rat anesthésié au chloral hydrate, était suffisante pour augmenter les taux de DOPAC chez le rat non anesthésié. Dans nos expériences, nous avons utilisé la dose d'halothane minimale pour maintenir une anesthésie correcte (1 %), et il semblerait qu'à cette dose l'halothane n'interfère pas avec la libération de dopamine, ni de DOPAC, et ne modifie pas les taux extracellulaires de HVA (Miyano et al., 1993). Malgré de telles données, on ne peut jamais être sûr à 100 % de l'innocuité d'un anesthésique. C'est la raison pour laquelle les expériences de microdialyse menées dorénavant au laboratoire le sont uniquement chez l'animal éveillé.



En ce qui concerne les effets de la SHF du NST sur les taux extracellulaires de glutamate, nos résultats montrent chez les rats sains, comme chez les deux groupes de rats 6OHDA-LT traités ou non à la L-Dopa, que la SHF induit une augmentation bilatérale des taux extracellulaires de glutamate. Toutefois, cette augmentation n'est détectable que lors de la période de post-stimulation pour les rats sains et 6OHDA-LT, tandis qu'elle démarre pendant la période de SHF et se poursuit en période de post-stimulation chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa. Ces augmentations bilatérales de glutamate extracellulaire pendant ou après la SHF ont déjà été observées au niveau du striatum (Bruet et al., 2003), mais également au niveau d'autres structures des ganglions de la base, telles que le globus pallidus et la substance noire réticulée (Windels et al., 2000, 2003, 2005 ; Boulet et al., 2006). Néanmoins, nos résultats diffèrent de ceux de Bruet et al. (2003) par le "pattern" d'augmentation du glutamate : une augmentation strictement limitée à la durée de la stimulation pour Bruet et al. (2003) versus une augmentation se produisant essentiellement en période de post-stimulation pour nos résultats présentés ici, à l'instar de Boulet et al. (2006). L'intensité de stimulation utilisée dans nos expériences de SHF du NST (200  $\mu$ A) correspond globalement à celle utilisée par Sabrina Boulet chez l'animal éveillé. En dehors des aspects anesthésiques que nous avons déjà discutés plus haut, la différence de valeur d'intensité utilisée ici par rapport à celle utilisée par Bruet et al. (2003) pourrait expliquer les délais d'apparition des augmentations de glutamate observées. Il est possible que l'utilisation d'une intensité plus forte (500  $\mu$ A) puisse recruter une population de fibres glutamatergiques plus importante, issue ou non du NST, et qui, par son interaction directe avec le striatum, pourrait induire des modifications de glutamate immédiates, une fois la stimulation mise en marche. A l'inverse, une intensité plus modérée de 200  $\mu$ A pourrait être le reflet d'un effet de la SHF plus focalisé au niveau du NST, qui ne mettrait en action qu'une population de fibres glutamatergiques issues du NST. Dès lors, on pourrait penser que cette valeur d'intensité puisse correspondre à une action plus spécifique de la SHF sur le NST. Les augmentations de glutamate observées uniquement en période de post-stimulation résulteraient alors de la mise en jeu de la voie poly-synaptique sous-thalamo-nigro-thalamo-cortico-striée, et pourraient expliquer l'effet retardé de la SHF sur les contenus de glutamate striataux. Cette explication pourrait être cohérente chez les animaux sains et lésés à la 6-OHDA, mais elle semble ne pas l'être pour les animaux lésés et traités à la L-Dopa, puisque chez ces animaux les augmentations des taux de glutamate sont détectés dès la mise en action de la SHF du NST. Dès lors, il devient difficile d'expliquer l'action synergique de l'effet L-Dopa et de la SHF du NST sur l'augmentation des contenus de glutamate striatal en période de SHF.

Un autre paramètre important à considérer pour comprendre les conséquences d'une SHF est la chronaxie des fibres et neurones présents dans le striatum. En effet, non seulement les propriétés d'excitabilité des différents éléments neuraux du striatum, comme par exemple les neurones et fibres glutamatergiques, dopaminergiques et cholinergiques, peuvent différer les unes des autres (Farber et al., 1997), mais le soma et l'axone d'un même neurone peuvent réagir différemment à la stimulation (Grill et McIntyre, 2001). Suivant l'intensité, la largeur d'impulsion et la fréquence de courant utilisées, ainsi que la localisation du pôle stimulant de l'électrode, les éléments neuraux recrutés à proximité et à distance du foyer de stimulation ne sont pas les mêmes. Ceci pourrait donc expliquer pourquoi l'on observe ou pas des modifications des contenus de neurotransmetteurs, et pourquoi le délai entre stimulation et libération peut varier selon l'intensité du courant. Les afférences glutamatergiques du striatum proviennent majoritairement du cortex cérébral, mais également du NST et du thalamus. Il est donc probable que la libération de glutamate au niveau striatal sous SHF soit liée en premier lieu à une activation de la voie cortico-striatale, puisque celle-ci constitue la première source d'afférences glutamatergiques.

La SHF exerçant le même effet chez le rat sain et chez le rat 6-OHDA, il semblerait que la perte d'innervation dopaminergique striatale ne joue pas de rôle prépondérant dans la libération de glutamate induite par SHF du NST, du moins dans nos conditions expérimentales. Il serait toutefois intéressant de tester l'effet de la modulation des récepteurs dopaminergiques de type D1 et D2 par le biais d'agonistes et/ou d'antagonistes, et de voir si l'augmentation de glutamate extracellulaire post-stimulation est réellement indépendante de l'innervation dopaminergique. Il a en effet déjà été montré que le blocage des récepteurs D2 exacerbait la libération de glutamate et GABA induite par la SHF du NST, tandis que celui des D1 supprimait cette augmentation (Bruet et al., 2003). Néanmoins, on peut observer que l'augmentation de glutamate liée à la SHF apparaît plus tôt chez les rats 6-OHDA+L-Dopa (augmentation déjà significative en période de stimulation), comme si l'adjonction de L-Dopa accélérât en quelque sorte la libération de glutamate.

L'effet bilatéral de la SHF sur le glutamate chez les rats sains et 6-OHDA est très probablement lié à l'existence de collatérales de fibres innervant à la fois les deux hémisphères cérébraux. Ainsi, un effet bilatéral des neurones mésencéphaliques sur les contenus de glutamate striatal a déjà été décrit par Lindfors et Ungerstedt (1990), les fibres efférentes dopaminergiques innervant les deux hémisphères cérébraux (Roedter et al., 2001).

On ne peut évidemment pas écarter des relations cortico-corticales interhémisphériques à l'origine de ces interactions, et donc des modifications des contenus de glutamate observées.

De manière surprenante, les choses sont différentes pour le GABA. En effet, chez les rats sains, aucun changement significatif des taux extracellulaires de GABA concomitant ou postérieur à la SHF du NST n'a été observé du côté ipsilatéral à la stimulation. Du côté controlatéral, on trouve à l'inverse une diminution significative (-40%) des taux extracellulaires de GABA lors de la période de post-stimulation. Chez les rats 6OHDA-LT non traités, les taux extracellulaires de GABA augmentent significativement du côté lésé, pendant et surtout après SHF, augmentation que l'on ne retrouve pas chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa. Là encore, les explications relatives à ce résultat ne sont pas simples.

La transmission dopaminergique étant intacte ou partiellement rétablie avec la L-Dopa chez les rats sains et 6OHDA-LT + L-Dopa respectivement, il semblerait qu'elle joue un rôle inhibiteur dans la libération de GABA induite par la stimulation. En effet, il a été montré précédemment qu'une majorité de neurones GABAergiques striataux étaient sous influence inhibitrice tonique de la dopamine, et que l'augmentation de la transmission dopaminergique dans le striatum résultait en une diminution conjointe de la libération de GABA et de l'expression des ARNm de la GAD67 (voir pour revue, Lindfors, 1993). Cela pourrait peut-être expliquer pourquoi une diminution des taux de GABA du côté controlatéral à la SHF est observée chez les rats sains : la SHF pourrait en effet entraîner un rebond de l'activité de la transmission dopaminergique, qui aurait pour conséquence d'inhiber la libération striatale de GABA. L'effet serait plus important du côté opposé à la stimulation du fait du croisement des fibres nerveuses au niveau cérébral. Cela expliquerait également pourquoi la suppression de l'innervation dopaminergique basale du striatum par lésion résulte en l'augmentation de taux de GABA lors d'une stimulation excitatrice comme la SHF, et pourquoi cette augmentation n'est plus présente chez les rats 6-OHDA traités de manière chronique avec de la L-Dopa. Pour étayer cette hypothèse, une étude parue très récemment fait état d'un effet inhibiteur de la L-Dopa sur la libération de GABA induite par dépolarisation dans le globus pallidus (Silva et al., 2006). La L-Dopa pouvant diffuser librement à travers les tissus cérébraux, il n'est pas invraisemblable d'envisager qu'elle puisse avoir un effet similaire au niveau du striatum riche en interneurons et afférences GABAergiques (pour mémoire, voir la partie "Rappels bibliographiques"), et qu'elle inhibe par conséquent la libération exocytotique de GABA consécutive à la SHF.

Ce qui est néanmoins curieux dans ces données, c'est que seul le côté ipsilatéral à la lésion et à la SHF réagit de manière significative à la stimulation du NST par une augmentation chez les rats 6OHDA-LT, tandis que pour le glutamate l'augmentation liée à la SHF est bilatérale et du même ordre pour les deux côtés. Nous n'avons pas jusqu'à ce jour d'explication concernant ces résultats. Bien que la lésion soit unilatérale, il a été prouvé que le fonctionnement et le contenu neurochimique de certaines structures des ganglions de la base du côté non lésé était modifié (Sirinathsinghji et al., 1986 ; pour revue, Schwarting et Huston, 1996b), ainsi que l'expression de certaines molécules comme par exemple les récepteurs dopaminergiques D2 (Savasta et al., 1988 ; Nikolaus et al., 2003). Pour ce qui est des effets de la SHF, il a été montré en clinique que les effets bénéfiques de la SHF unilatérale, bien que bilatéraux, étaient majoritairement observés du côté controlatéral à la stimulation (Pollak et al., 1993). En fonction de cela, on peut émettre l'hypothèse que la SHF compenserait en priorité les effets de la lésion au niveau du côté controlatéral, ramenant ainsi le fonctionnement du réseau modifié par la lésion à un mode pouvant être considéré comme "normal", ou en tout cas équivalent à celui observé chez les rats sains, ce qui expliquerait pourquoi à l'instar de ce groupe non lésé on n'observe pas de modification des taux de GABA sous SHF.

### **3- Modifications neurochimiques induites par la SHF du NST au niveau striatal chez le rat sain ou porteur d'une lésion partielle de la SNc et traité ou non de façon aiguë à la L-Dopa : Expérience 2.**

#### **3.1 Contrôles histologiques**

L'efficacité des lésions partielles de la SNc induite par la 6-OHDA ainsi que les emplacements de la sonde de dialyse et de l'électrode de stimulation ont été là encore vérifiés *post-mortem* sur chaque animal.

##### ***3.1.1 Evaluation de la dénervation dopaminergique partielle***

L'immunomarquage observé au sein des groupes d'animaux porteurs d'une lésion DA partielle révèle une perte de cellules TH+ dans la partie latérale de la SNc alors que la région médiane de cette structure, un mois après la lésion, reste préservée (Figure 50 A page 167). La surface nigrale moyenne affectée par la neurotoxine a été évaluée environ à  $46 \pm 8 \%$  (n= 6)

de la surface totale de la SNc comparativement à la surface de la SNc controlatérale (Tableau 11 ci-après). La Figure 50A illustre une perte d'environ 50% de la population nigrale de cellules DA révélée par l'immunomarquage de la TH.

Au niveau striatal, la déafférentation des terminaisons DA révélée par l'immunomarquage TH, affecte préférentiellement la région dorso-latérale de cette structure (Figure 50B). La surface de déafférentation moyenne au niveau striatal a été évaluée à  $48 \pm 6\%$  (n=6) par rapport à la surface totale de cette structure (Tableau 11). En terme de densité de marquage on a pu remarquer que, dans cette aire, l'immunomarquage de la TH diminuait en moyenne de 70% ( $p < 0,001$ ) alors qu'une perte modérée de 10-25 % ( $p < 0,01$ ) était détectable dans la partie médiane du striatum (partie non dénervée) (Figure 50B). Cependant, un immunomarquage TH+ dense était détecté à travers le striatum (noyau caudé-putamen), le noyau accumbens et les tubercules olfactifs du côté intact chez les rats lésés partiellement (Figure 53B) aussi bien que chez les rats contrôles. Les mêmes observations ont pu être effectuées pour la SNc et l'ATV (Figure 50A).

Du fait de la variabilité inter-individuelle l'effet lésionnel induit par la 6-OHDA, un large éventail du degré de lésion de la SNc a été observé, allant de 30% à plus de 70%. Devant une telle disparité, nous avons sélectionné uniquement les animaux présentant un degré de lésion relativement homogène se situant entre 40 et 60% de perte neuronale dans la SNC par rapport au côté non lésé, ce qui représentait une majorité d'animaux lésés. Afin d'homogénéiser notre groupe d'animaux partiellement lésés, les rats présentant des lésions inférieures à 40% ou supérieures à 60% n'ont pas été intégrés dans notre étude.

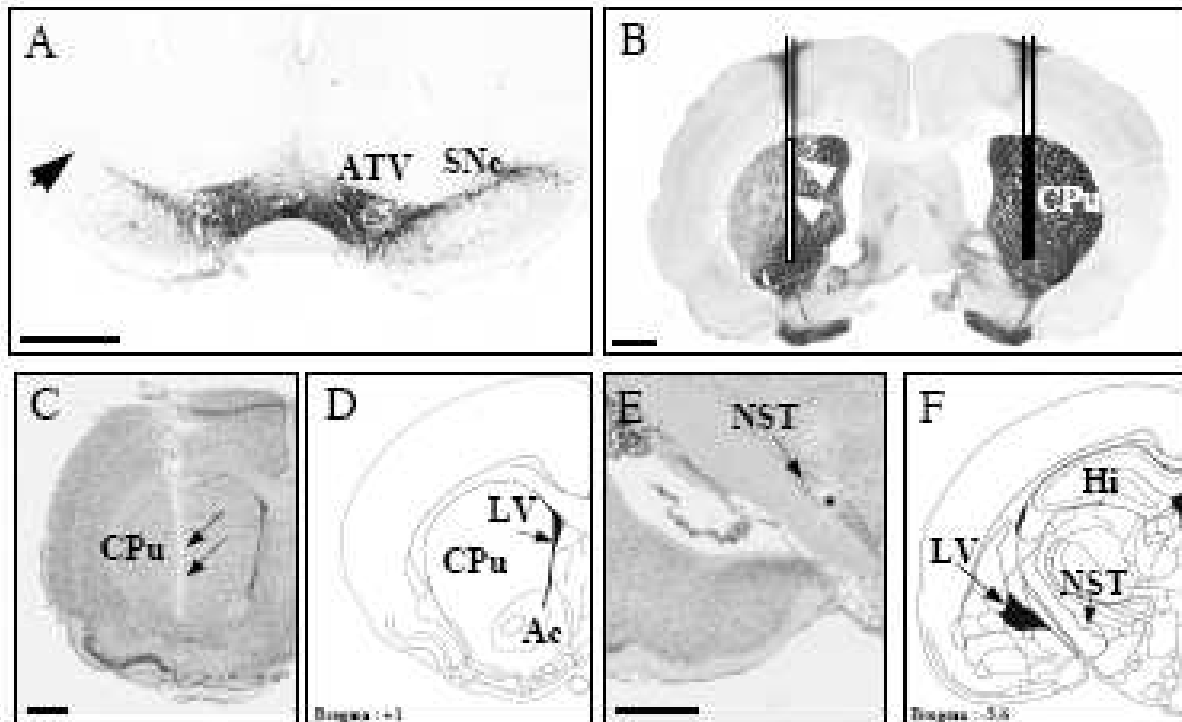
**Tableau 11 : Surface de dénervation aux niveaux nigral et striatal révélée par la perte de l'immunomarquage TH.**

Les pourcentages exprimés ont été évalués par rapport à la surface de la structure homologue du côté controlatéral.

<b>SUBSTANCE NOIRE COMPACTE</b> (Partie latérale)	<b>STRIATUM</b> (Région dorso-latérale)
$46 \pm 8 \%$ (n=13)	$48 \pm 6 \%$ (n=13)

**3.1.2 Localisation de l'électrode de stimulation et des sondes de microdialyse**

Comme le montre la figure 50E, sur une coupe coronale d'un cerveau de rat microdialysé colorée au crésyl violet et passant au niveau du NST, l'extrémité conductrice de l'électrode de stimulation (pôle négatif) est bien localisée dans la partie la plus large au niveau antérieur de cette structure.



**Figure 50 : Photographies de coupes coronales de cerveau de rat aux niveaux nigral (A), striatal (B, C) et sous-thalamique (E).**

A et B : Marquage immunohistochimique de la TH aux niveaux nigral et striatal chez les rats partiellement lésés un mois après lésion 6-OHDA. Notez en A la perte de cellules dopaminergiques dans la partie latérale de la SNc, et en B la disparition des terminaisons dopaminergiques afférentes dans la région dorso-latérale du striatum (CPu), avec l'emplacement des sondes de microdialyse (signalées par les flèches blanches) à la frontière des territoires dénervés et non dénervés.

C et E : photographies de coupes coronales colorées au crésyl violet montrant la localisation correcte de la sonde de microdialyse dans le striatum (C) et du pôle stimulant de l'électrode dans le noyau sous-thalamique (NST) (E).

D et F : Représentations schématiques du striatum (D) et du noyau sous-thalamique (F) tirées de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson correspondant aux photographies présentées en C et E, respectivement. Ac, noyau accumbens ; ATV, aire tegmentale ventrale ; CPu, noyau caudé-putamen ; Hi, hippocampe ; NST, noyau sous-thalamique ; SNc, substance noire compacte ; LV, ventricule latéral. Pour chaque photographie, la barre d'échelle représente 1 cm.

De la même manière, comme nous pouvons le voir sur la figure 50C, les sondes de microdialyse sont bien implantées au niveau du striatum et positionnées de façon à ce que le LCR perfusé atteigne un large territoire allant de la partie médiane jusqu'à la partie latérale de cette structure. Nous avons essayé d'évaluer, en injectant un colorant dans le liquide de perfusion, la surface de diffusion du LCR perfusé au sein d'une coupe coronale passant par le striatum. Cette surface est d'environ  $6 \text{ mm}^2$  : 2 mm de large sur 3 mm de hauteur autour de la sonde de dialyse. Cependant, les propriétés de perméabilité du colorant utilisé n'étant pas

connues, le volume d'échange ne reste qu'approximatif pour les molécules qui nous intéressent dans le présent travail. La localisation symétrique des sondes de microdialyse nous a permis de comparer les données obtenues à partir de régions anatomiques similaires. Chez les animaux porteurs d'une lésion dopaminergique partielle, les sondes de microdialyse étaient situées approximativement entre les parties dénervée et non dénervée du striatum. Comme pour les expériences précédentes seuls les animaux présentant une implantation correcte des sondes et de l'électrode, sans trace d'hémorragie, ont été pris en compte dans les résultats présentés.

### **3.2 Effet d'une lésion partielle de la SNc sur les taux de base en dopamine, DOPAC et HVA au niveau striatal.**

Pour des raisons techniques liées à des problèmes de conservation, les échantillons issus de nos expériences de dialyse et destinés à la mesure des concentrations des acides aminés n'ont malheureusement pas pu être utilisés. Aussi nous ne présenterons pour l'expérience 2 que les données concernant la dopamine, le DOPAC et l'HVA.

Les valeurs basales des concentrations de dopamine chez les rats sains et ceux porteurs d'une lésion partielle de la SNc (rats 6-OHDA-LP) ont été mesurées et comparées à partir des côtés ipsi- et controlatéral à la lésion. Les valeurs de ces concentrations basales sont dans les tableaux 12 (pour le côté gauche = ipsilatéral à la lésion) et 13 (pour le côté droit = côté non lésé).

Du côté du ipsilatéral à la lésion (Tableau 12 page 170), les valeurs des taux de base pour la dopamine, le DOPAC et l'HVA étaient de  $0,011 \pm 0,0001 \mu\text{M}$ ,  $1,7 \pm 0,08 \mu\text{M}$  et  $1,697 \pm 0,085 \mu\text{M}$  pour les rats sains ( $n=25$ ), et  $0,0124 \pm 0,0018 \mu\text{M}$ ,  $1,137 \pm 0,097 \mu\text{M}$  et  $1,145 \pm 0,085 \mu\text{M}$  pour les rats LP ( $n=13$ ). La lésion partielle de la SNc induit donc une augmentation de + 27% ( $p<0,001$ ) par rapport aux valeurs mesurées du côté controlatéral chez ces mêmes animaux et seulement une augmentation de +12% par comparaison avec les valeurs mesurées chez les rats sains du côté ipsilatéral, cependant cette augmentation n'apparaît pas ici significative. D'autre part, ces valeurs de taux de base pour la dopamine du côté ipsilatéral sont augmentées de + 35% (non significatif) par rapport aux valeurs mesurées du côté controlatéral chez ces mêmes animaux 6-OHDA-LP. A l'inverse, on observe une diminution significative des contenus en DOPAC (-33%,  $p<0,001$ ) et HVA. (-32,5%,  $p<0,001$ ) par comparaison avec les taux de base mesurés du même côté chez les rats sains et de -13% (non

significatif) pour le DOPAC et -11,5% pour l'HVA (non significatif) par comparaison avec les taux de base mesurés du côté controlatéral chez les animaux lésés.

Du côté controlatéral (Tableau 13 page 171), les valeurs des taux de base pour la dopamine, le DOPAC et l'HVA étaient de  $0,00866 \pm 0,00071 \mu\text{M}$ ,  $1,862 \pm 0,0495 \mu\text{M}$  et  $1,698 \pm 0,0575 \mu\text{M}$  pour les rats sains (n=25), et  $0,00915 \pm 0,00166 \mu\text{M}$ ,  $1,319 \pm 0,078 \mu\text{M}$  et  $1,294 \pm 0,0607 \mu\text{M}$  pour les rats 6-OHDA-LP (n=13). Là encore, on retrouve une très légère augmentation des taux de dopamine sous l'effet de la lésion (+ 6%) mais non significative par rapport au même côté chez les animaux sains. A l'instar des taux de DOPAC et HVA du côté ipsilatéral à la lésion, on retrouve également une diminution significative des taux de DOPAC (-29%,  $p < 0,001$ ) et HVA (-24%,  $p < 0,001$ ), dans des proportions comparables.

L'index de turn-over de la dopamine, calculé par le ratio (DOPAC+HVA)/DA, reflète la relation entre le métabolisme dopaminergique et la libération de dopamine. Les valeurs de ces ratios sont présentées dans le tableau 14 (page 172). Cet index présente une diminution significative chez les rats 6-OHDA-LP par comparaison avec les rats sains (-18%,  $p < 0,05$ ) du côté ipsilatéral à la lésion, témoin d'une perturbation du métabolisme dopaminergique chez ces animaux. Du côté controlatéral, cet index est plus faible chez les rats LP (-16% vs rats sains), mais cette diminution n'apparaît pas significative.



RATS SAINS		RATS 6OHDA-LP					
Taux de base	Effet L-DOPA	Port L-DOPA +SEP du NST	Port L-DOPA +post SEP	Taux de base	Effet L-DOPA	Port L-DOPA +SEP du NST	Port L-DOPA +post SEP
Dopamine ( $\mu\text{M}$ )	0,011 $\pm$ 0,0001	0,021 $\pm$ 0,0019 (+92% vs taux de base ; p<0,001)	0,0191 $\pm$ 0,0017 (+74% vs taux de base ; p<0,001) (-9% vs effet L-DOPA ; ns)	0,0154 $\pm$ 0,0014 (+40% vs taux de base ; p<0,05) (-52% vs effet L-DOPA ; p<0,05)	0,047 $\pm$ 0,0069 (+279% vs taux de base ; p<0,001)	0,0587 $\pm$ 0,0086 (+375% vs taux de base ; p<0,001) (+94% vs effet L-DOPA ; ns)	0,052 $\pm$ 0,0076 (+319% vs taux de base ; p<0,05) (+40% vs effet L-DOPA ; ns)
DOPAC ( $\mu\text{M}$ )	1,7 $\pm$ 0,08	3,638 $\pm$ 0,17 (+114% vs taux de base ; p<0,001)	4,182 $\pm$ 0,19 (+144% vs taux de base ; p<0,001) (+15% vs effet L-DOPA ; ns)	3,383 $\pm$ 0,16 (+99% vs taux de base ; p<0,001) (-7% vs effet L-DOPA ; ns)	3,821 $\pm$ 0,326 (+234% vs taux de base ; p<0,001)	5,732 $\pm$ 0,488 (+404% vs taux de base ; p<0,001) (+168% vs effet L-DOPA ; p<0,05)	4,242 $\pm$ 0,361 (+275% vs taux de base ; p<0,001) (+11% vs effet L-DOPA ; ns)
HVA ( $\mu\text{M}$ )	1,697 $\pm$ 0,085	2,885 $\pm$ 0,145 (+70% vs taux de base ; p<0,001)	3,292 $\pm$ 0,165 (+94% vs taux de base ; p<0,001) (+24% vs effet L-DOPA ; p<0,001)	3,787 $\pm$ 0,19 (+122% vs taux de base ; p<0,001) (+32% vs effet L-DOPA ; p<0,001)	2,622 $\pm$ 0,158 (-32,5% vs taux de base ; p<0,001) (-11,5% vs effet L-DOPA ; ns)	3,928 $\pm$ 0,237 (+243% vs taux de base ; p<0,001) (+114% vs effet L-DOPA ; p<0,001)	4,328 $\pm$ 0,262 (+278% vs taux de base ; p<0,001) (+149% vs effet L-DOPA ; p<0,001)

**Tableau 12 : Variations des concentrations striatales de dopamine, DOPAC et HVA, exprimés en  $\mu\text{M}$  (moyenne  $\pm$  SEM) mesurées du côté ipsilatéral à la lésion (côté gauche) chez des rats sains et porteurs d'une lésion partielle de la SNC (6OHDA-LP). ns : non significatif.**

RATS SAINS		RATS 6OHDA-LP						
	Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA + SHP du NST	Post L-DOPA + post SHP	Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA + SHP du NST	Post L-DOPA + post SHP
Dopamine	0,00866 ± 0,000712	0,0232 ± 0,00121	0,0209 ± 0,00172	0,0170 ± 0,00114	0,00915 ± 0,00166	0,0258 ± 0,00469	0,0232 ± 0,00422	0,0233 ± 0,00424
( $\mu$ M)		(+168% vs taux de base; p<0,001)	(+141% vs taux de base; p<0,001)	(+94% vs taux de base; p<0,001)	(+1% vs rats sains; ns)	(+182% vs taux de base; p<0,001)	(+134% vs taux de base; p<0,001)	(+155% vs taux de base; p<0,001)
			(-10% vs effet L-DOPA; ns)	(-27% effet L-DOPA; p<0,05)		(-10% vs effet L-DOPA; ns)		(-10% vs effet L-DOPA; ns)
DOPAC	1,862 ± 0,0495	3,744 ± 0,0995	3,930 ± 0,104	3,203 ± 0,0851	1,319 ± 0,078	3,378 ± 0,2	3,80 ± 0,225	3,285 ± 0,194
( $\mu$ M)		(+101% vs taux de base; p<0,001)	(+111% vs taux de base; p<0,001)	(+72% vs taux de base; p<0,001)	(-29% vs rats sains; p<0,001)	(+134% vs taux de base; p<0,001)	(+188% vs taux de base; p<0,001)	(+149% vs taux de base; p<0,001)
			(+5% vs effet L-DOPA; ns)	(-15% vs effet L-DOPA; p<0,05)		(+13% vs effet L-DOPA; ns)		(-3% vs effet L-DOPA; ns)
HVA	1,698 ± 0,0575	2,886 ± 0,0977	3,379 ± 0,114	3,650 ± 0,124	1,294 ± 0,0607	2,070 ± 0,0972	2,627 ± 0,123	3,494 ± 0,164
( $\mu$ M)		(+70% vs taux de base; p<0,001)	(+99% vs taux de base; p<0,001)	(+115% vs taux de base; p<0,001)	(-24% vs rats sains; p<0,001)	(+40% vs taux de base; p<0,001)	(+103% vs taux de base; p<0,001)	(+170% vs taux de base; p<0,001)
			(+17% vs effet L-DOPA; p<0,001)	(+27% vs effet L-DOPA; p<0,001)			(+27% vs effet L-DOPA; p<0,05)	(+69% vs effet L-DOPA; p<0,001)

**Tableau 13 : Variations des concentrations striatales de dopamine, DOPAC et HVA, exprimés en  $\mu$ M (moyenne  $\pm$  SEM) mesurées du côté controlatéral à la lésion (côté droit) chez des rats sains et porteurs d'une lésion partielle de la SNc (6OHDA-LP). ns : non significatif.**

CITE IFSILATERAL				SHF du NST			
Pas de SHF du NST				SHF du NST			
Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA (+1h)	Post L-DOPA (+2h30)	Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA + SHF	Post L-DOPA + post SHF
478,2 ± 36,9	560,1 ± 61	789,1 ± 130	1296,2 ± 213	478,2 ± 36,9	560,1 ± 61	779,2 ± 87,75	1037,5 ± 120,9
<b>Rats sains</b>	(+17% vs taux de base; ns)	(+43% vs taux de base; ns) (+41% vs effet L-DOPA; ns)	(+171% vs taux de base; p=0,001) (+131% vs effet L-DOPA; p=0,05)		(+17% vs taux de base; ns)	(+43% vs taux de base; p=0,001) (+39% vs effet L-DOPA; ns)	(+117% vs taux de base; p=0,001) (+83% vs effet L-DOPA; p=0,001)
391,4 ± 70,5	370,15 ± 67,6	1178,1 ± 216,1	1555,8 ± 187,6	391,4 ± 70,5	370,15 ± 67,6	488,7 ± 96,4	454,8 ± 63,3
<b>Rats 6 OHDA-LF</b>	(-18% vs Rats sains; p=0,05) (-5% vs taux de base; ns)	(+200% vs taux de base; p=0,001) (+218% vs effet L-DOPA; p=0,001)	(+297% vs taux de base; p=0,001) (+320% vs effet L-DOPA; p=0,001)	(-18% vs Rats sains; p=0,05) (-5% vs taux de base; ns)		(+23% vs taux de base; ns) (+32% vs effet L-DOPA; ns)	(+14% vs taux de base; ns) (+22% vs effet L-DOPA; ns)
CITE CONTROLATERAL				SHF du NST			
Pas de SHF du NST				SHF du NST			
Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA (+1h)	Post L-DOPA (+2h30)	Taux de base	Effet L-DOPA	Post L-DOPA + SHF	Post L-DOPA + post SHF
683,1 ± 59,3	768,6 ± 105,6	1086,15 ± 189,9	1341,5 ± 160,05	683,1 ± 59,3	768,6 ± 105,6	703,3 ± 79,8	755,5 ± 67,3
<b>Rats sains</b>	(+12,5% vs taux de base; ns)	(+59% vs taux de base; p=0,05) (+41% vs effet L-DOPA; ns)	(+94% vs taux de base; p=0,001) (+74,5% vs effet L-DOPA; p=0,05)		(+12,5% vs taux de base; ns)	(+3% vs taux de base; ns) (-8,5% vs effet L-DOPA; ns)	(+11% vs taux de base; ns) (-2% vs effet L-DOPA; ns)
796 ± 157,1	625,9 ± 143,7	1661,5 ± 366,7	1759 ± 323,4	796 ± 157,1	625,9 ± 143,7	565,7 ± 117,15	691,9 ± 104,5
<b>Rats 6 OHDA-LF</b>	(+14% vs Rats sains; ns) (-21% vs taux de base; ns)	(+109% vs taux de base; p=0,05) (+145% vs effet L-DOPA; p=0,05)	(+121% vs taux de base; p=0,001) (+181% vs effet L-DOPA; p=0,001)	(+14% vs Rats sains; ns) (-21% vs taux de base; ns)		(-29% vs taux de base; ns) (-10% vs effet L-DOPA; ns)	(-13% vs taux de base; ns) (+10,5% vs effet L-DOPA; ns)

**Tableau 14 : Ratios (DOPAC+HVA)/DA des rats sains ou porteurs d'une lésion partielle de la SNC, soumis ou non à une SHF du NST.**

Les valeurs présentées sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM. ns : non significatif.

### 3.3 Effets d'une injection unique de L-Dopa sur les taux de dopamine, DOPAC et HVA chez les rats sains et les rats partiellement lésés

#### *Remarque préliminaire :*

Afin de rendre plus lisible la présentation des résultats, nous avons décidé là encore de moyenniser les valeurs obtenues à partir des dialysats recueillis distinctement lors de chaque période étudiée. Ces périodes ont été les suivantes :

1) une période de **taux de base** correspondant à la période pré-stimulation et qui représente la moyenne  $\pm$  SEM des valeurs de concentration issues de 4 recueils, soit une durée d'une heure. Les mesures réalisées au cours de cette période nous ont permis de déterminer les valeurs basales des concentrations de dopamine, DOPAC et HVA avant l'injection de L-Dopa ;

2) une période que nous avons appelée "**Effet L-DOPA**" correspondant à la moyenne des valeurs concentrations mesurées  $\pm$  SEM des 2 recueils collectés entre 1h et 1h30 suite à l'injection d'une dose unique de L-Dopa. En effet, et comme nous le montrerons dans la figure 51 concernant le décours temporel de l'effet de cette injection, cette période correspond à l'effet maximal de la L-Dopa sur les variations des taux de dopamine mesurés. Il était donc important de prendre comme référence cet effet maximal par rapport à l'application ou non de la SHF du NST;

3) une première période de post-effet L-Dopa correspondant à la moyenne des valeurs de concentrations mesurées  $\pm$  SEM des 4 recueils collectés pendant l'heure qui a suivi l'effet maximum de la L-Dopa et que nous avons appelé "**Post-L-Dopa 1h**". Cette période, chez les animaux stimulés correspond à la période de SHF du NST. Chez les animaux non stimulés, cette période reflète le décours temporel de la L-Dopa et qui nous a servi pour établir des comparaisons ;

4) une deuxième période de post-effet L-Dopa correspondant à la moyenne des concentrations mesurées  $\pm$  SEM des 6 recueils collectés pendant l'heure et demi qui a suivi la précédente période et qui représente donc un délai de 2h30 suivant l'effet maximum de la L-Dopa et que nous avons appelé "**Post-L-DOPA 2h30**". Cette période, chez les animaux stimulés correspond aux post-effets de la SHF du NST (1h30) et de la L-Dopa (2h30). Chez les animaux non stimulés, cette période reflète le décours temporel à 2h30 de la L-Dopa et qui nous a servi pour établir des comparaisons.

Les histogrammes représentés sur les figures 52 et 53 (pages 177 et 180) représentent donc les moyennes  $\pm$  SEM de ces différentes périodes exprimées en pourcentage par rapport à la moyenne des taux de base (ramenée à 100%) mesurée pendant la période de pré-stimulation. Les valeurs moyennes correspondant aux 100 % correspondent aux concentrations des taux de base des rats sains et 6-OHDA-LP présentées dans chaque colonne "taux de base" des tableaux 12 et 13. Pour chaque côté ipsi- et contro-latéral à la lésion de la SNc et à la SHF du NST, nous avons contrôlé l'homogénéité des valeurs par un test ANOVA à mesures répétées. Par ailleurs, les conditions expérimentales étant strictement identiques entre les rats sains non stimulés et stimulés pour ce qui concerne les périodes "Taux de base" et "Effet L-Dopa", les valeurs de ces deux périodes ont été moyennées. La même chose a été faite pour les rats 6-OHDA-LP.

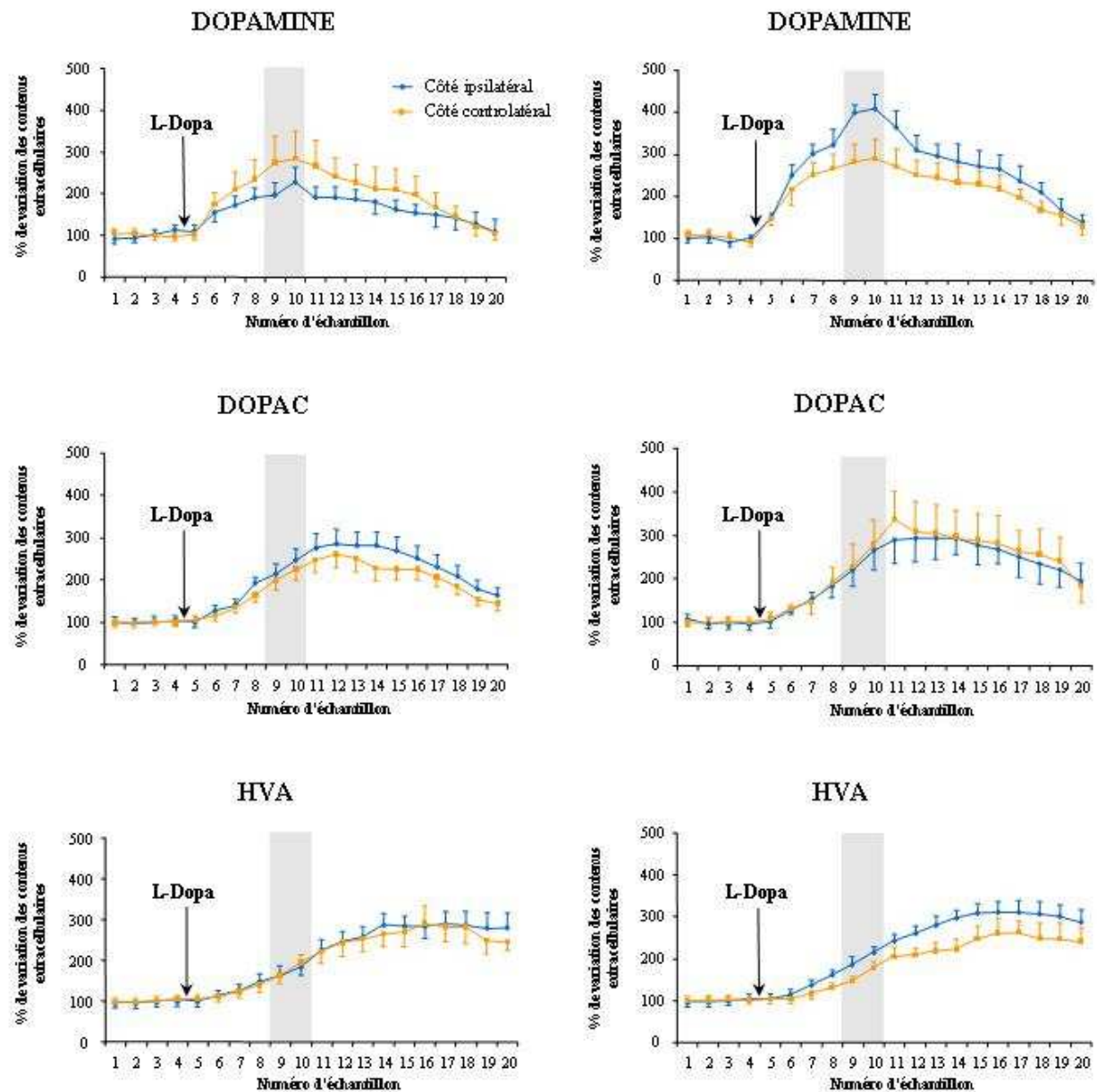
Si l'on regarde à présent les résultats de la figure 51 (page 175) présentant le décours temporel de l'effet d'une injection unique de L-Dopa, sur les taux de dopamine, DOPAC et HVA dans le striatum de rats sains et porteurs d'une lésion partielle de la SNc (6-OHDA-LP), on constate que la L-Dopa induit une augmentation progressive de leurs contenus suite à l'injection (Figure 51). Cette augmentation atteint son maximum autour du 10<sup>ème</sup> dialysat recueilli soit environ 1h 30 après l'injection. Les mêmes observations peuvent être faites également pour le DOPAC et l'HVA avec toutefois un petit décalage temporel sur la droite de la courbe pour l'effet maximum (voir Figure 51).

On remarque également que ces augmentations sont significativement plus prononcées du côté ipsilatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA-LP (+ 279%,  $p < 0,001$ ) que chez les rats sains (+ 92%,  $p < 0,05$ ) pour la dopamine (Figures 52 et 53 et Tableaux 12 et 13). Il en est de même, pour ce côté ipsilatéral, pour le DOPAC et l'HVA, dont les augmentations sont de + 236% et + 129% ( $p < 0,001$ ), respectivement, chez les rats 6-OHDA-LP versus + 114% et + 70% ( $p < 0,001$ ) respectivement, chez les rats sains (Tableau 12 page 170, Figure 52 page 177).

Du côté controlatéral, l'injection unique de L-Dopa engendre également une augmentation significative des taux de dopamine, DOPAC et HVA, dans des proportions de l'ordre de + 168% ( $p < 0,001$ ) chez les rats sains versus + 182% ( $p < 0,001$ ) chez les rats 6-OHDA-LP pour la dopamine, et de l'ordre + 101% ( $p < 0,001$ ) versus + 156% ( $p < 0,001$ ) pour le DOPAC, et de + 70% ( $p < 0,001$ ) versus + 60% ( $p < 0,001$ ) pour l'HVA (Tableau 13 et Figure 56). Néanmoins, on ne retrouve pas de ce côté de différence significative dans l'amplitude de l'effet L-Dopa entre rats sains et rats 6OHDA-LP comme nous avons pu le voir du côté ipsilatéral à la lésion (Tableau 12 page 170).

## A- Rats sains

## B- Rats 6OHDA-LP



**Figure 51 : Graphes représentant le décours temporel de l'effet d'une injection unique de L-Dopa sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA au niveau striatal (côté ipsilatéral et côté controlatéral) chez des rats sains (en A, n=12) et chez des rats 6OHDA-LP (en B, n=5).**

Le côté gauche est le côté ipsilatéral à la lésion. Notez l'augmentation rapide des taux de dopamine qui atteint son maximum autour des échantillons 9 et 10, et leur décroissance lente jusqu'aux valeurs basales. Notez également la progression plus lente des taux de DOPAC et HVA : le décalage temporel entre leur pic d'effet et celui de la dopamine reflète le délai nécessaire au métabolisme.

Les parties A des figures 52 et 53 illustrent les variations des contenus striataux de dopamine, DOPAC et HVA chez les rats sains (n=12) et 6OHDA-LP (n=5) après une injection de L-Dopa non suivie d'une SHF du NST, respectivement du côté ipsilatéral (Figure 52) et controlatéral (Figure 53) à la lésion. Comme nous l'avons indiqué plus haut, la L-Dopa induit une augmentation graduelle des taux de dopamine qui atteint son maximum 1h30 après l'injection. Cette augmentation se maintient chez les rats sains non stimulés pendant 1h après avoir atteint son effet maximum (période "post L-Dopa" 1h) mais amorce une descente significative vers les valeurs basales 2h30 après l'effet L-Dopa. Chez les rats 6OHDA-LP non stimulés, même si l'augmentation des taux de dopamine induite par la L-Dopa est plus prononcée que du côté ipsilatéral, comme cela a été mentionné précédemment, on retrouve globalement la même amorce à la descente 2h30 après que la L-Dopa ait produit son effet maximum, bien que les valeurs restent significativement supérieures à celles des taux de base. L'effet de la L-Dopa sur les taux de DOPAC suit approximativement la même évolution que pour la dopamine, à la fois chez les rats sains et les rats 6OHDA-LP, des deux côtés du striatum étudiés. Cependant, on n'observe pas de retour vers les valeurs basales comme cela était le cas pour la dopamine. A l'inverse, les taux de HVA continuent même à progresser 2h30 après avoir observé l'effet maximum sur les taux de dopamine (Figures 52 et 53, pages 177 et 180).

Que ce soit du côté ipsilatéral ou controlatéral à la lésion, l'index de turn-over de la dopamine, défini dans le paragraphe précédent (3.2), n'est pas affecté de manière significative par l'injection unique de L-Dopa (Tableau 14 page 172). A contrario, la valeur de cet index augmente lors des périodes "post L-Dopa" étudiées, après injection chez les rats sains et LP non stimulés excepté du côté controlatéral chez les rats 6OHDA-LP stimulés.

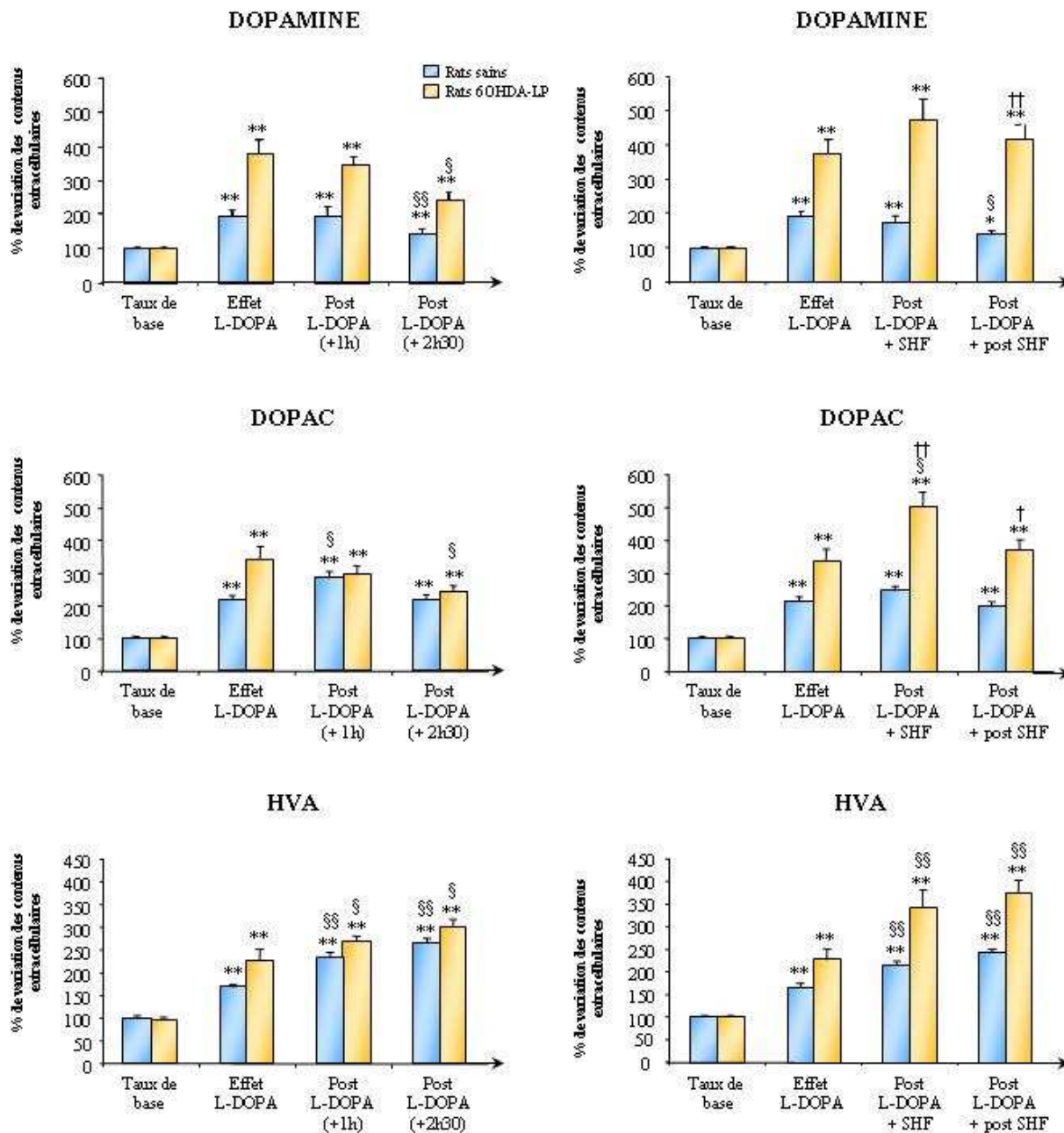
### **3.4 Effets de la SHF du NST sur les taux striataux de dopamine, DOPAC et de HVA augmentés par une injection unique de L-Dopa, chez les rats sains ou porteurs d'une lésion partielle de la SNc**

Les valeurs moyennes des concentrations de dopamine, DOPAC et HVA sous SHF du NST (période "Post L-Dopa + SHF du NST") du côté ipsilatéral à la lésion et à la stimulation sont respectivement de  $0,0191 \pm 0,0017 \mu\text{M}$ ,  $4,182 \pm 0,19 \mu\text{M}$  et  $3,292 \pm 0,165 \mu\text{M}$  pour les rats sains, et de  $0,0587 \pm 0,0086 \mu\text{M}$ ,  $5,732 \pm 0,488 \mu\text{M}$  et  $3,928 \pm 0,237 \mu\text{M}$  pour les rats 6OHDA-LP (Tableau 12). Du côté controlatéral, ces mêmes valeurs sont de  $0,0209 \pm 0,00172 \mu\text{M}$ ,  $3,930 \pm 0,104 \mu\text{M}$  et  $3,379 \pm 0,114 \mu\text{M}$  pour la dopamine, le DOPAC et HVA chez les

rats sains, et  $0,0232 \pm 0,0042 \mu\text{M}$ ,  $3,80 \pm 0,225 \mu\text{M}$  et  $2,627 \pm 0,123 \mu\text{M}$  pour les rats 6OHDA-LP (Tableau 13 page 171).

### A. Sans SHF du NST

### B. Avec SHF du NST



**Figure 52 : Variations des taux extracellulaires striataux de dopamine, DOPAC et HVA du côté ipsilatéral à la lésion dopaminergique et à la SHF du NST chez des rats sains ou porteurs d'une lésion partielle de la SNc ayant reçu une injection unique de L-Dopa et soumis (B) ou non (A) à une SHF du NST.**

Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par référence aux taux de base. Chaque barre représente la moyenne des variations calculée en fonction de l'effectif de chaque groupe (Sains non stimulés :  $n=12$  ; LP non stimulés :  $n=5$  ; sains stimulés :  $n=13$  ; LP stimulés :  $n=8$ ). \*  $p<0,05$ , \*\*  $p<0,001$  : versus taux de base ; § : versus effet L-DOPA ; † : versus rats 6OHDA-LP non stimulés. Les barres d'erreur représentent la SEM.



Chez les rats sains stimulés (Tableau 12 page 170, Figure 52B page 177), du côté ipsilatéral à la stimulation, la SHF du NST n'affecte pas les taux de dopamine et DOPAC augmentés par l'injection unique de L-Dopa, mais amplifie de manière significative l'augmentation des taux de HVA (+ 24% vs effet L-Dopa,  $p < 0,001$ ) durant la période "post L-DOPA+SHF". Lors de la période post-stimulation ("Post L-Dopa + post SHF"), les taux de dopamine diminuent significativement (- 52% vs effet L-Dopa,  $p < 0,05$ ), tandis que les taux d'HVA augmentent encore (+ 52% vs effet L-Dopa,  $p < 0,05$ ). C'est également le cas du côté controlatéral (Tableau 13, figure 53B), pour lequel les taux de dopamine diminuent de 27% en post-stimulation ( $p < 0,05$  vs effet L-Dopa), tandis que les taux de HVA continuent eux d'augmenter (+ 27% vs effet L-Dopa,  $p < 0,001$ ).

A l'inverse, les taux de DOPAC ne connaissent pas de variations significatives chez les rats sains stimulés du côté ipsilatéral, alors qu'ils amorcent une légère redescende du côté controlatéral (- 15% vs effet L-Dopa,  $p < 0,05$ ). On note cependant que même si on peut observer une amorce à la baisse de ces taux notamment pour la dopamine et le DOPAC, les valeurs de leurs concentrations, 2h30 après l'effet maximum induit par la L-Dopa, restent supérieures à leurs valeurs basales que ce soit du côté ipsi- ou controlatéral à la stimulation.

Il est intéressant de noter que le profil d'évolution de la dopamine et de ses métabolites chez les rats sains stimulés est assez comparable à celui des rats sains non stimulés.

On remarque également que l'index de turn-over de la dopamine augmente significativement du côté ipsilatéral chez les rats sains stimulés lors des périodes de stimulation (+ 63% vs taux de base,  $p < 0,001$ ) et post-stimulation (+ 117% vs taux de base,  $p < 0,001$  et + 85% vs effet L-Dopa,  $p < 0,001$ ). Fait curieux, on ne retrouve pas ces augmentations de l'index du côté controlatéral à la stimulation chez ces mêmes rats sains stimulés, chez lesquels l'index ne montre aucune variation significative au cours des quatre périodes.

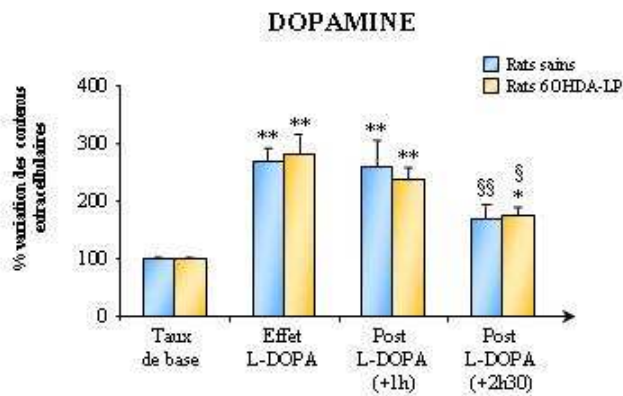
Chez les rats 6-OHDA-LP stimulés, la SHF du NST amplifie de manière significative les augmentations des taux de dopamine, DOPAC et HVA induites par l'injection unique de L-Dopa du côté ipsilatéral à la lésion et à la stimulation. Lors de la période de stimulation (post L-Dopa+SHF), ces augmentations sont de l'ordre de + 94% (mais non significatif), + 168% ( $p < 0,05$ ) et + 114% ( $p < 0,05$ ) pour la dopamine, le DOPAC et l'HVA respectivement (Tableau 12, Figure 52B). Pour la dopamine, ces augmentations se maintiennent lors de la période de post-SHF, durant laquelle on n'observe pas de retour des taux vers les valeurs basales. Ces taux de dopamine restent élevés, et s'avèrent significativement plus élevés que

les taux de dopamine mesurés chez les rats 6OHDA-LP non stimulés pour la même période au cours de laquelle nous avons observé un amorçage vers un retour aux valeurs basales ( $p < 0,001$ ). Il semble donc ici que cet effet soit bien lié à la SHF du NST.

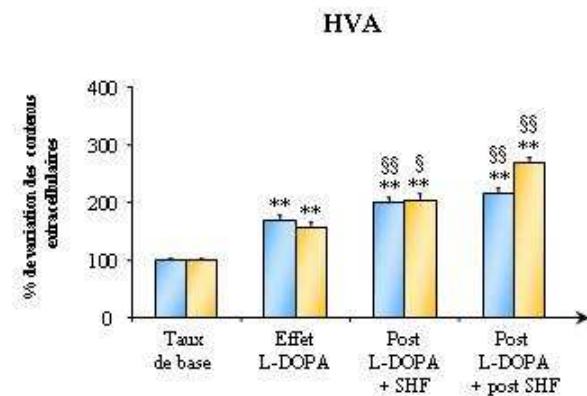
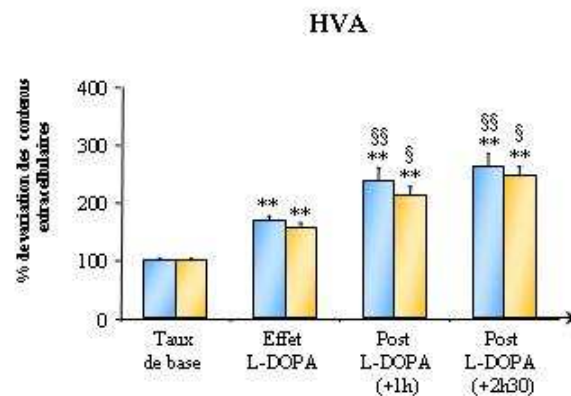
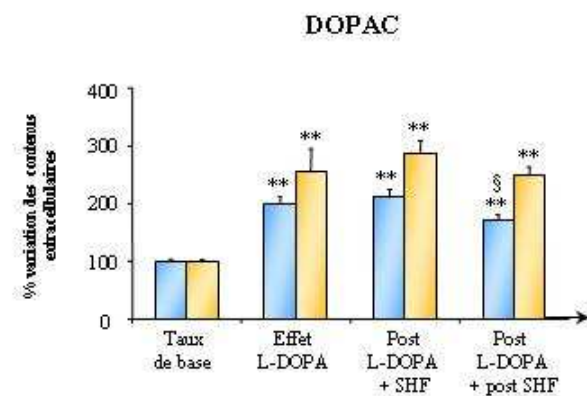
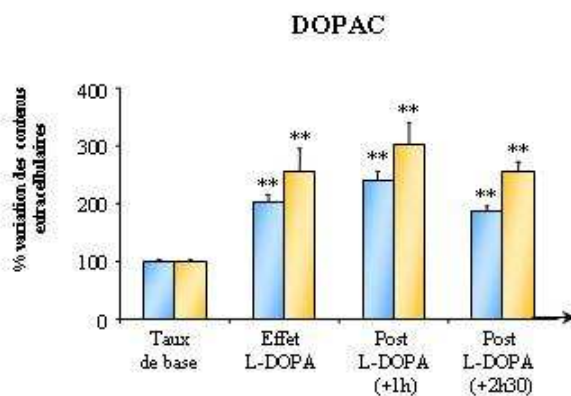
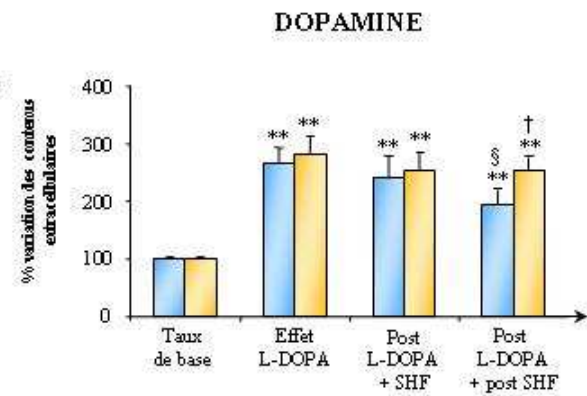
De manière intéressante, on retrouve cet effet significatif du maintien des taux de dopamine sous SHF du côté controlatéral chez les rats 6OHDA-LP stimulés ( $p < 0,05$ ) (Figure 53B page 180). Concernant le DOPAC et l'HVA, de manière générale les taux de ces deux métabolites ne montrent pas de tendance à un retour aux valeurs basales. Pour finir, il est intéressant de noter que, contrairement aux rats sains stimulés et aux rats 6OHDA-LP non stimulés, l'index de turn-over de la dopamine des rats 6OHDA-LP stimulés du côté ipsilatéral ne montre aucune variation significative durant les périodes de stimulation et post-stimulation (Tableau 14 page 172). On retrouve par ailleurs cette absence de variation également du côté controlatéral.

*En résumé, la L-Dopa administrée de manière aiguë augmente de façon transitoire les taux de dopamine, DOPAC et HVA dans le striatum de rats sains et de rats 6OHDA-LP. L'application d'une SHF du NST chez les rats 6OHDA-LP semble stabiliser et maintenir les taux de dopamine au niveau striatal qui avaient été augmentés sous l'effet de la L-Dopa. De même, on observe que cette stabilisation des taux de dopamine s'accompagne d'une augmentation de son métabolisme extracellulaire. La SHF du NST retarde donc le retour au niveau basal des taux de dopamine striataux.*

## A. Sans SHF du NST



## B. Avec SHF du NST



**Figure 53 : Variations des taux extracellulaires striataux de dopamine, DOPAC et HVA du côté controlatéral à la lésion dopaminergique et à la SHF du NST chez des rats sains ou porteurs d'une lésion partielle de la SNc ayant reçu une injection unique de L-Dopa et soumis (B) ou non (A) à une SHF du NST.**

Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation par rapport aux taux de base. Chaque barre représente la moyenne des variations calculée en fonction de l'effectif de chaque groupe (Sains non stimulés : n=12 ; LP non stimulés : n=5 ; sains stimulés : n=13 ; LP stimulés : n=8). \* p<0,05, \*\* p<0,001 : versus taux de base ; § : versus effet L-DOPA ; † : versus rats 6OHDA-LP non stimulés. Les barres d'erreur représentent la SEM.

### 3.5 Discussion

Les mécanismes par lesquels la SHF du NST améliore les symptômes moteurs des patients atteints de la maladie de Parkinson, en particulier ceux souffrant de fluctuations motrices liées à la prise de L-dopa telles que le "wearing-off", restent à élucider. Dans ce contexte, il nous est apparu intéressant de voir si la réponse à la L-Dopa pouvait être modifiée par la SHF du NST, et cela a représenté l'objectif de ce travail expérimental que nous allons discuter ici.

Cette étude nous a permis d'apporter un premier argument en faveur de l'existence d'interactions de nature synergique entre la SHF du NST et les modifications de la transmission dopaminergique striatale induite par la L-Dopa. Chez les rats LP, la SHF du NST stabilise l'augmentation de dopamine striatale générée par une injection systémique de L-Dopa, et ce de manière bilatérale, apportant une preuve supplémentaire des effets croisés de la stimulation cérébrale profonde au niveau striatal. Chez ces animaux, les taux de dopamine restent élevés durant non seulement la période de stimulation, mais également durant toute la période de post-stimulation, soit deux heures trente après l'effet maximal induit par la L-Dopa. Ces données pourraient permettre de mieux appréhender l'effet thérapeutique de la SHF du NST observé chez les patients parkinsoniens stimulés, en particulier les mécanismes impliqués dans la diminution des besoins en L-Dopa et qui pourraient expliquer la disparition des dyskinésies.

#### *Effets d'une injection L-Dopa sur les taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA.*

Nos résultats montrent qu'une injection de L-Dopa augmente significativement les contenus extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA dans le striatum de rats sains et partiellement lésés. Il est intéressant de noter que les taux de base de dopamine chez les rats LP restent similaires à ceux mesurés chez les rats sains alors que les taux de base de DOPAC et HVA sont significativement diminués (tableaux 7 et 8), et ce, des côtés ipsi- et controlatéral à la lésion, suggérant que la destruction partielle de la SNc agirait sur la transmission dopaminergique striatale préférentiellement via une modification du turn-over et/ou de la recapture de la dopamine. Nous montrons également que l'index de turn-over de la dopamine est diminué significativement (-18%,  $p < 0,05$ ) chez les rats LP du côté ipsilatéral à la lésion, et augmenté du côté controlatéral (+16%,  $p < 0,05$ ), ce qui renforce l'hypothèse de modifications post-lésionnelles du métabolisme dopaminergique, et suggère l'existence de phénomènes compensatoires controlatéraux.

Cette observation est en accord avec de précédentes données, obtenues chez des rats lésés de façon similaire, montrant une diminution massive des vésicules dopaminergiques présynaptiques, ainsi qu'une augmentation du turn-over de la dopamine (Hefti et al., 1980 ; Robinson et Wishaw, 1988 ; Zigmond et al., 1984, 1989). De plus, une perte importante de terminaisons dopaminergiques dans la région dorso-latérale du striatum pourrait être responsable d'une réduction importante de la recapture de la dopamine par les terminaisons présynaptiques et/ou d'une augmentation de la capacité des neurones dopaminergiques à libérer de la dopamine en réponse à une stimulation (Chritin et al., 1996 ; Zigmond et al., 1984, 1989 ; Dentresangle et al., 2001). Il est peu probable que les mécanismes impliqués dans cette compensation dopaminergique soient liés à une augmentation tonique de l'activité électrique des neurones dopaminergiques. En effet, une dénervation nigrostriatale de plus de 80% est requise pour modifier l'activité de décharges des neurones dopaminergiques (Hollerman et Grace, 1990), suggérant que les mécanismes de compensation dopaminergique soient corrélés à des modifications de la synthèse de dopamine. Plusieurs auteurs ont attiré l'attention sur le fait que, chez les rats lésés à la 6-OHDA, la libération de dopamine est plus affectée par l'inhibition de la synthèse de celle-ci que chez les animaux contrôles (Heffner et al., 1977 ; Marshall et Teitelbaum, 1973 ; Snyder et al., 1990). Ceci est en accord avec une diminution du stockage des amines dans les terminaisons dopaminergiques et une augmentation de l'activité de la TH (Hefti et al., 1985 ; Stachowiak et al., 1987 ; Snyder et al., 1990).

Les lésions partielles dopaminergiques nigrostriées reproduisent une situation lésionnelle mimant une phase préclinique ou précoce de la maladie de Parkinson (Carman et al., 1991 ; Zigmond et al., 1984, 1990 ; Chritin et al., 1996). L'absence de symptômes moteurs chez les patients jusqu'à ce que la perte en dopamine devienne sévère (> 90%) pourrait être une conséquence d'une compensation passive que nous pouvons observer chez les rats porteurs d'une lésion partielle de la SNc. Il a été observé chez les patients parkinsoniens diagnostiqués une diminution des sites de recapture de la dopamine (Laihinen et al., 1995) et des ARNs messagers codant pour les transporteurs de la dopamine (Uhl et al., 1994). Les conséquences d'une perte simultanée de la libération de dopamine et de la capacité de recapture observées avec ce modèle animal pourraient indiquer comment le tonus dopaminergique serait maintenu chez les sujets en phase préclinique de Parkinson.

Les augmentations des taux de dopamine, de DOPAC et d'HVA liées à l'effet de la L-Dopa sont plus prononcées chez les rats 6OHDA-LP que chez les rats sains. Dans le striatum des rats sains, il est vraisemblable que l'augmentation de dopamine en réponse à l'apport de

L-Dopa exogène soit plus limitée du fait de l'existence d'un système de recapture à haute affinité de la dopamine intact, ce qui limite de manière significative la probabilité de la dopamine de diffuser à distance dans le compartiment extracellulaire (Kuhr et al., 1986 ; Kelly et al., 1987 ; Nicholson et Rice, 1991; Garris et Wightman, 1994). En outre, il est possible que chez les animaux sains les terminaisons dopaminergiques "évacuent" le stock de dopamine formée à partir de la L-Dopa exogène, réduisant ainsi fortement la diffusion de dopamine vers d'autres récepteurs post-synaptiques, voire vers la sonde de microdialyse elle-même. Ceci suggère que, dans des conditions normales, des mécanismes de compensation permettent de gérer très efficacement le stock de dopamine extracellulaire, prévenant ainsi une présence excessive de dopamine même lors d'une exposition à une stimulation pharmacologique comme une injection de L-Dopa. A l'inverse, la diffusion non restreinte de dopamine dans le fluide extracellulaire striatal chez les rats LP permet une activation de récepteurs dopaminergiques éloignés ainsi qu'une meilleure détection de la dopamine extracellulaire aux alentours des sondes de microdialyse (Miller et Abercrombie, 1999). Ceci pourrait expliquer pourquoi la disponibilité de la dopamine augmente fortement suite à une lésion partielle dopaminergique, montrant ainsi l'existence d'une dérégulation du stock de dopamine extrasynaptique.

Ces observations confirment des études antérieures rapportant une certaine sélectivité de l'effet de la L-Dopa sur des régions cérébrales affectées par la dénervation dopaminergique (réponse thérapeutique) plutôt que sur des régions intactes (Abercrombie et al., 1990 ; Maeda et al., 1999 ; Miller et Abercrombie, 1999). Les contenus extracellulaires de DOPAC et HVA montrent une réponse similaire à la L-Dopa plus longue que celle observée pour la dopamine. Cependant, il est possible que lorsque la synthèse de dopamine excède son utilisation, la dopamine peut être immédiatement convertie en DOPAC (Westerink et Van Putten, 1987 ; Butcher et al., 1988 ; Arbuthnott et al., 1990a ; Fairbrother et al., 1990a, 1990b). Dans ce cas, une partie seulement de la L-Dopa administrée serait directement métabolisée, n'induisant ainsi aucun effet sur la transmission dopaminergique.

***Effets d'une SHF du NST sur les augmentations des taux extracellulaires de dopamine, DOPAC et HVA induites par une injection unique de L-Dopa.***

Plusieurs études cliniques ont rapporté que l'efficacité de la stimulation du NST est excellente pour traiter les formes de Parkinson répondant bien à la L-Dopa, c'est-à-dire chez des patients atteints de lésions dopaminergiques sélectives, et modérée chez des patients présentant des symptômes moteurs axiaux associés à des déficits cognitifs, connus pour

répondre moins bien ou pas du tout à la L-Dopa du fait de lésions non dopaminergiques additionnelles (Welter et al., 2002 ; Kleiner-Fisman et al., 2003 ; Pahwa et al., 2005). De plus, il a été montré que la stimulation du NST bilatérale chronique permettait de réduire, voire dans certains cas de stopper, la médication L-Dopa (Moro et al., 1999 ; Fraix et al., 2000 ; Molinuevo et al., 2000 ; Lopiano et al., 2001), permettant ainsi une diminution conséquente des dyskinésies induites par la L-Dopa (Krack et al., 1997, 1999, 2003 ; Bejjani et al., 2000). L'ensemble de ces observations cliniques suggère que les effets bénéfiques de la SHF du NST sur les symptômes parkinsoniens seraient semblables à ceux de la L-Dopa. Toutefois, il reste à déterminer si les mécanismes responsables de l'effet de la SHF et de la L-Dopa sont comparables ou synergiques. Il semble évident que le facteur clé de l'efficacité de ces deux thérapies soit leur interaction étroite avec le système dopaminergique.

Il a été largement observé chez les rongeurs que la SHF du NST agit directement sur les neurones dopaminergiques en augmentant leur taux de décharges (Benazzouz et al., 2000a), l'expression du gène de la TH dans les neurones dopaminergiques restants, ou en générant une augmentation de la libération de dopamine striatale, une activation du métabolisme dopaminergique striatal ainsi que de l'activité TH (Paul et al., 2000 ; Bruet et al., 2001 ; Meissner et al., 2001, 2002, 2003 ; Henning et al., 2007). A l'inverse, des études menées chez l'homme grâce à la technique de tomographie par émission de positons ont montré que la SHF du NST n'induisait pas de libération de dopamine striatale chez les patients parkinsoniens, ce qui ne va pas dans le sens d'une implication de la neurotransmission dopaminergique dans les effets bénéfiques de la SHF (Hilker et al., 2003 ; Abosch et al., 2003 ; Strafella et al., 2003b). Néanmoins, il est intéressant de noter que ces études ont été réalisées chez des patients traités à la L-dopa durant de longues années avant d'être opérés. Les conséquences d'un tel traitement en terme de plasticité au sein du réseau des ganglions de la base, tant au niveau moléculaire que cellulaire, ne sont pas encore connues, et il reste à déterminer si cette plasticité induite par la L-Dopa interfère avec les mécanismes de la SHF, et/ou si elle pourrait être un facteur facilitant pour l'effet thérapeutique de cette stimulation. On ne peut pas totalement exclure que les mécanismes de la SHF du NST soient indépendants du système dopaminergique, mais cette hypothèse est invraisemblable puisque, comme nous venons de le dire, le résultat de la stimulation du NST est fortement corrélé à la forme de maladie de Parkinson répondant positivement à la L-Dopa.

Lors de nos expériences, la SHF du NST a été appliquée dans le contexte d'un système dopaminergique activé par une injection unique de L-Dopa à la fois chez le rat sain et le rat

partiellement lésé. Le fait que la SHF n'exacerbe pas davantage l'augmentation de dopamine extracellulaire induite par la L-Dopa pendant la période de stimulation suggère que la capacité des neurones dopaminergiques sains ou restants à synthétiser et/ou libérer de la dopamine a atteint son maximum, qu'ils soient totalement intacts (rats sains) ou non affectés par le processus dégénératif chez les rats 6OHDA-LP (terminaisons dopaminergiques restantes). Et il faut noter que c'est uniquement chez les rats LP que la SHF du NST stabilise les taux élevés de dopamine induits par l'injection unique de L-Dopa, et augmente les taux de DOPAC et HVA durant les périodes de stimulation et post-stimulation. Ces observations corroborent les résultats d'études de "push-pull" qui ont montré une augmentation des taux de DOPAC pendant la SHF du NST (100 Hz) sans modification des contenus extracellulaires de dopamine (Mintz et al., 1986). L'équilibre existant entre les taux maintenus élevés de dopamine et sa dégradation résulte probablement en une stabilisation (ou normalisation) relative de l'index de turn-over de la dopamine (voir tableau 9).

La stabilisation du turn-over de la dopamine sous stimulation est vraisemblablement liée à la fois à la lésion dopaminergique et à la capacité des neurones dopaminergiques restants, activés par la L-Dopa, à répondre directement et/ou indirectement à la stimulation, puisque cette stabilisation n'est pas observée chez les rats sains stimulés ou lésés non stimulés. Ces données montrent que la SHF du NST interfère avec le turn-over de la dopamine probablement par la modulation de la recapture et de la synthèse chez les rats LP, suggérant l'existence de mécanismes adaptatifs conduisant à la stabilisation des concentrations de dopamine et qui pourraient être impliqués dans le soulagement des fluctuations motrices (Nimura et al., 2005). Ces mécanismes de stabilisation n'en demeurent pas moins à éclaircir, bien qu'il soit tout à fait possible qu'ils soient liés en partie à la restauration de la capacité d'autorégulation de la libération de dopamine striatale. Torstenson et al. (1997) ont démontré que l'effet d'une infusion de L-Dopa sur l'activité dopaminergique présynaptique dans le striatum diffère significativement entre les patients à un stade précoce ou avancé de la maladie de Parkinson. En outre, dans les stades modérés et stables de la maladie de Parkinson, un système de feedback inhibiteur up-régulé au niveau présynaptique permettrait de maintenir une stabilité fonctionnelle dans le système dopaminergique après l'administration de médication antiparkinsonienne (Ekesbo et al., 1999). Le tonus fonctionnel du système dopaminergique nigro-strié semble être régulé par : 1) des autorécepteurs inhibiteurs localisés sur les terminaisons préynaptiques, qui contrôlent la synthèse ou la libération de dopamine ; 2) des autorécepteurs inhibiteurs localisés sur le soma ou les



dendrites de ces mêmes neurones, qui sont impliqués dans la régulation des réponses des neurones dopaminergiques aux stimulations (Bunney et al., 1973 ; Roth, 1979, 1984). La régulation de ce feed-back inhibiteur est réduite avec la progression de la dégénérescence des neurones dopaminergiques nigro-striés. Il semble plausible que la SHF du NST altère de ce fait l'influence du NST sur les autorécepteurs somato-dendritiques dans un cerveau déplété en dopamine, ce qui restaurerait la fonctionnalité des autorécepteurs dans le striatum sous stimulation.

Une autre possibilité que l'on peut envisager est que la diminution de l'hyperactivité des efférences du NST sous l'effet de la SHF activerait les cortex prémoteur et moteur, et que cette activation du cortex stimulerait la libération de dopamine dans le striatum. Récemment, il a été montré qu'une stimulation magnétique transcrânienne répétée du cortex moteur chez l'humain génère une libération focale de dopamine dans le striatum ipsilatéral à la stimulation, confirmant le rôle des afférences cortico-striatales dans la libération de dopamine (Strafella et al., 2003a). En effet, la découverte d'une altération de la liaison des récepteurs dopaminergiques D2 au niveau des aires de projection des régions du cortex, dont l'activité a été désinhibée, indique que la libération de dopamine est dépendante de l'action des neurones cortico-striataux sur les terminaisons dopaminergiques nigro-striatales. En effet, il a notamment été montré que la lésion ou la stimulation du pallidum altérait la liaison aux récepteurs D2 striataux (Nakajima et al., 2003). De même, une étude de notre laboratoire a montré que la SHF du NST induisait une augmentation des contenus striataux en glutamate chez les rats sains et hémiparkinsoniens, ce qui suggère une augmentation de l'activité des afférences glutamatergiques excitatrices du striatum (Briet et al., 2003). En effet, la SHF du NST induirait une inhibition de l'activité des structures de sortie des ganglions de la base (Benazzouz et al., 1995 ; Windels et al., 2000 ; 2003 ; 2005 ; Salin et al., 2002 ; Boulet et al., 2006), qui pourrait désinhiber la voie thalamo-corticale (Anderson et al., 2003), activant alors bilatéralement les projections cortico-striatales par le biais de collatérales d'axones, ainsi que probablement la voie thalamo-striatale. Cet effet désinhibiteur est également conforté par d'autres résultats que nous avons obtenus montrant une augmentation des contenus en GABA dans la SNr lors de la SHF du NST, ce qui suggère fortement l'implication de cette dernière dans les processus d'inhibition des structures de sortie des GB (Windels et al., 2000, 2003, 2005 ; Boulet et al., 2006).

Bien que la sélectivité spatiale de l'effet de la SHF du NST dans notre étude soit très vraisemblablement liée à l'influence cortico-striatale directe sur les terminaisons

dopaminergiques striatales, nous ne pouvons pas exclure l'implication d'autres structures. Les neurones du cortex frontal se projetant sur la substance noire (Naito et Kita, 1994), ils peuvent aussi moduler les décharges des neurones dopaminergiques nigro-striés.

*En résumé, ces données neurochimiques suggèrent que la SHF du NST interfère avec les effets d'une injection de L-Dopa, probablement de manière synergique, en stabilisant les taux augmentés de dopamine dans le striatum. Toutefois, le(s) mécanisme(s) à l'origine de cette stabilisation reste(nt) à déterminer. Nos données montrent que la SHF du NST interfère avec le turn-over de la dopamine, atténuant les variations des taux de dopamine striatale et prolongeant par ce fait son action. Ce phénomène pourrait expliquer la disparition, ou du moins la forte diminution, des fluctuations motrices liées à la L-Dopa, et apporte de nouveaux éléments susceptibles d'aider à mieux comprendre les mécanismes thérapeutiques de la stimulation du NST.*

# **PARTIE EXPERIMENTALE III**

## **EFFET D'UNE INJECTION UNIQUE DE L-DOPA SUR LES CONCENTRATIONS EN GLUTAMATE MESUREES PAR SPECTROMETRIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE DU PROTON AU NIVEAU STRIATAL CHEZ LE RAT HEMIPARKINSONNIEN.**

### **1- Remarques préliminaires**

#### **1.1 Constitution des groupes expérimentaux**

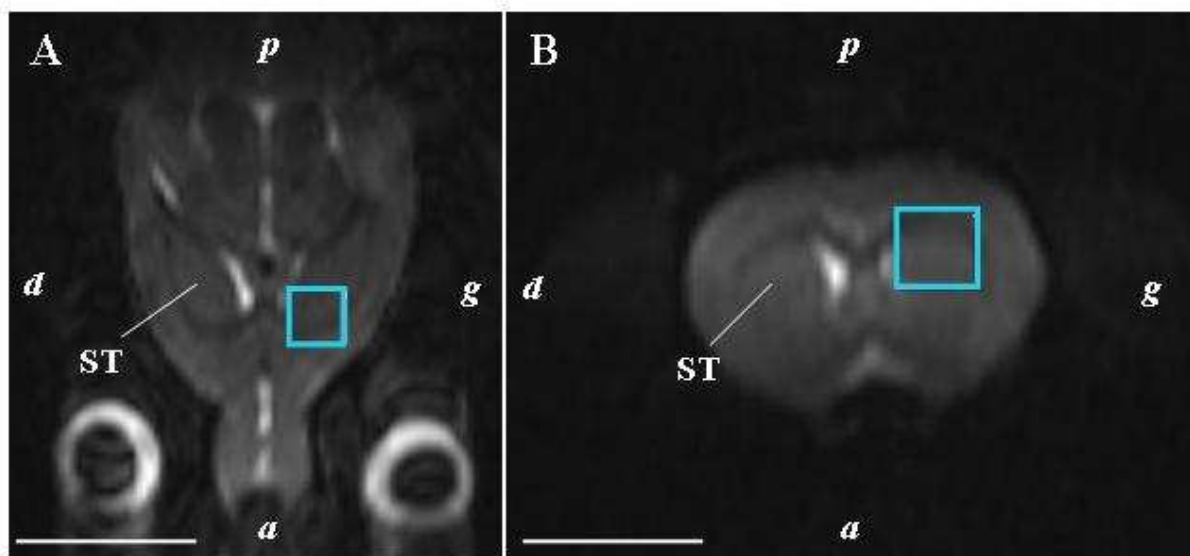
Douze rats ont été utilisés pour cette étude. Neuf de ces douze rats ont été utilisés pour les expériences de SRM *in vivo*. Chez ces animaux, les taux de glutamate au niveau striatal ont été mesurés avant et après lésion dopaminergique (lésion totale de la SNc induite par la 6-OHDA). Comme mentionné dans la partie "Matériel et méthodes", nous avons attendu 3 à 4 semaines après la lésion pour mesurer l'effet de la dénervation dopaminergique sur les taux de glutamate. Les animaux étaient leur propre contrôle, en ce sens que les taux de glutamate post-lésion ont été comparés aux taux mesurés avant lésion, et ce, pour chaque rat. L'effet d'une injection unique de L-Dopa sur les taux de glutamate striatal a été apprécié dans un deuxième temps, une fois effectuées les mesures de l'état basal chez les rats lésés à la 6-OHDA. Pour ce faire, les rats ont reçu une injection intrapéritonéale de benserazide (12,5 mg/kg), un inhibiteur de la dopa-décarboxylase périphérique, suivie 30 minutes après d'une injection de L-Dopa (50 mg/kg). Juste après l'injection de L-Dopa, des spectres ont à nouveau été acquis sur une période de 2h30 à 3h, du côté ipsilatéral à la lésion uniquement. Les mesures de glutamate ont été réalisées du côté ipsilatéral et controlatéral à la lésion, uniquement au niveau du territoire striatal dorso-latéral qui correspond sur le plan anatomique au territoire recevant les projections cortico-striatales glutamatergiques.

Trois animaux sains témoins (non lésés et non traités à la L-Dopa) ont servi de contrôle pour les expériences de SRM haute résolution *in vitro* décrites dans le paragraphe 8.2.2 du "Matériel et méthodes".

#### **1.2 Contrôles histologiques**

##### ***1.2.1 Territoire striatal analysé par SRM***

La région d'intérêt (ou voxel) dans laquelle a été faite l'acquisition des spectres de SRM correspond à un volume de forme cubique de  $3 \text{ mm}^3$ , placé sur le territoire dorso-latéral du striatum. Les dimensions et le placement du voxel ont été déterminés en fonction des contraintes liées à la sensibilité de l'aimant d'une part, et à l'anatomie du cerveau de rat d'autre part. Afin que le voxel ne déborde pas excessivement sur le cortex cérébral et sur les ventricules cérébraux (risque de pollution des spectres lié au signal de l'eau), un compromis de positionnement a été trouvé, comme indiqué sur la figure 54 ci-dessous, nous obligeant à placer le voxel dans la moitié antérieure du striatum.

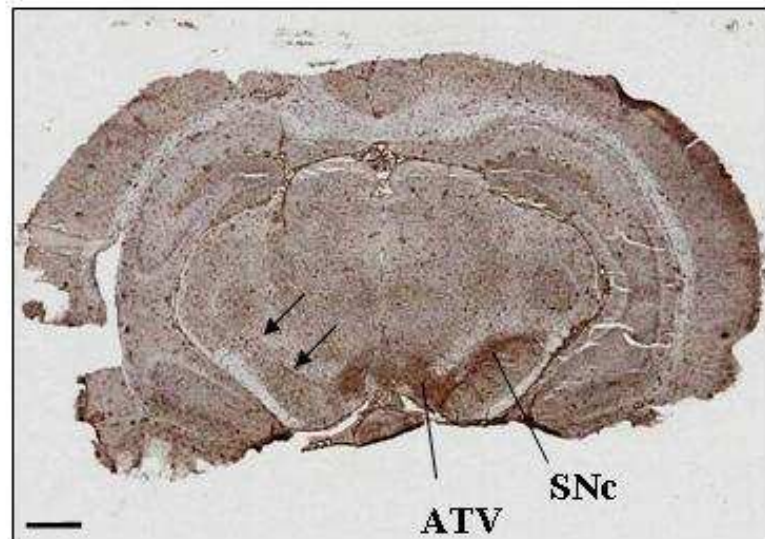


**Figure 54 : Exemple d'images anatomiques d'un cerveau de rat obtenues par spectrométrie par résonance magnétique du proton sur un plan horizontal (A) et coronal (B).**

La région d'intérêt (ou voxel), de  $3 \text{ mm}^3$ , est représentée par le carré bleu situé dans la région dorso-latérale du striatum. a, antérieur ; d, droite ; g, gauche ; p, postérieur ; ST, striatum. La barre d'échelle correspond à 1 cm.

### ***1.2.2 Vérification de l'étendue de la lésion dopaminergique de la SNc***

L'étendue de la lésion dopaminergique a été contrôlée chez les 9 animaux à l'aide d'un marquage immuno-histo-chimique de la TH sur des coupes coronales de cerveau au niveau de la SNc. La figure 55 (page suivante) présente un exemple d'une lésion totale de la SNc : le marquage TH a totalement disparu du côté lésé au niveau de la SNc. L'effet d'une telle dénervation dopaminergique sur l'immunomarquage TH correspond à ce que nous avons décrit précédemment (partie expérimentale 2). Seuls les animaux présentant un tel degré de dénervation dopaminergique ont été pris en compte pour l'étude.



**Figure 55 : Photographie d'une coupe coronale de cerveau de rat réalisée au niveau de la substance noire compacte et montrant un immuno-marquage de la TH.**

Noter la disparition totale du marquage TH au niveau de la substance noire compacte (flèches noires). ATV, aire tegmentale ventrale. SNC, substance noire compacte. La barre d'échelle représente 1 mm.

## 2- Résultats

### 2.1 Précisions préliminaires

Les pics de résonance du N-acétyl-aspartate (NAA), du glutamate total (glx, comprenant le signal du glutamate, celui de la glutamine, celui du GABA et enfin celui du NAA), de la choline totale (tCho, composé de choline + phosphorylcholine + glycérophosphoryl choline), de la créatine totale (tCr, créatine + phosphocréatine) et de la taurine + myo-inositol (tau) sont visibles entre 2 et 3,4 ppm (partie par million) (Figure 56 A et B). Le pic "glx" correspond à un signal global engendré autour de 2,3 ppm par la co-résonance du glutamate, de la glutamine, du GABA et du pic voisin de NAA (à 2 ppm). Afin de démontrer que ce signal à 2,3 ppm peut être considéré comme spécifique du glutamate, des expériences de SRM sur des échantillons de solutions contenant soit du glutamate, soit de la glutamine, soit du NAA ou du GABA (concentrations des solutions décrites dans la partie "Matériel et méthodes", paragraphe 8.2.1), ont été réalisées avec les mêmes paramètres et traitement post-acquisition que les acquisitions in vivo. Les résultats, présentés dans la partie C de la figure 56 page 192, montrent que la somme des signaux à 2,3 ppm est largement dominée par le signal du glutamate, qui représente près de 80 % du signal. Les signaux du GABA et de la glutamine apportent une contribution mineure au signal total Glx. Par conséquent, l'amplitude du signal 2,3 ppm peut être considérée comme directement

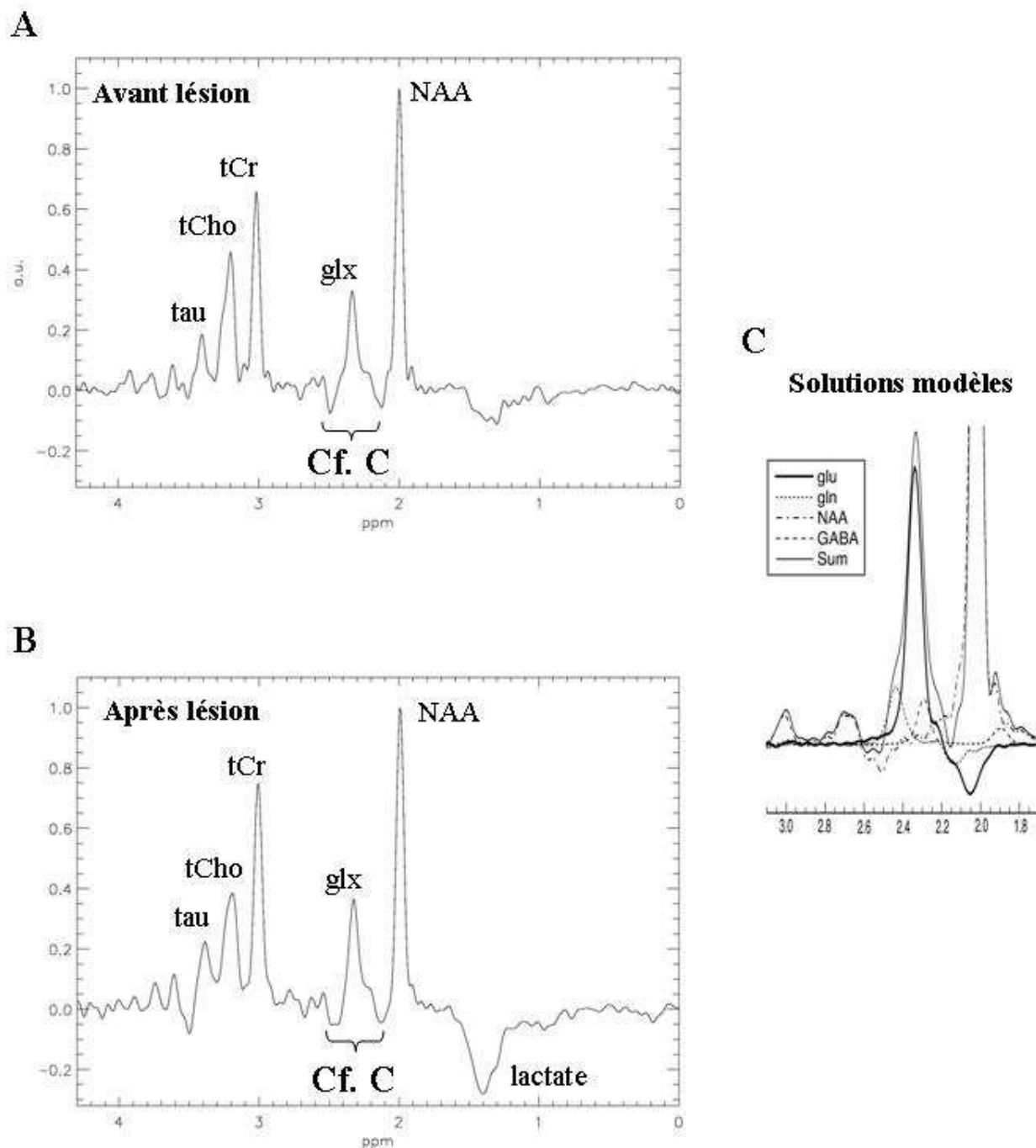
proportionnelle à la quantité de glutamate mesurée. L'amplitude du pic de NAA situé à 2 ppm (Figure 56 page suivante), qui sert de signal de référence, a été ajustée à la valeur 1.

## **2.2 Effet de la déafférentation dopaminergique unilatérale totale du striatum sur les contenus en glutamate**

Aucune modification significative des signaux glx, tCr et tCho n'a pu être observée après lésion (figure 56, A et B page suivante). Une augmentation du signal de lactate (1,3–1,4 ppm), un marqueur d'anoxie, a été observée du côté lésé du striatum pour 6 animaux (Figure 56B). Parmi ces 6 rats, un seul animal présentait déjà avant lésion une augmentation du signal de lactate du côté ipsilatéral à la lésion. Par la suite, du lactate a été retrouvé après lésion chez quatre autres animaux, du côté controlatéral à la lésion.

Les données issues de la quantification des spectres *in vivo* sont présentées dans les figures 57 et 58. Les aires des signaux glx, tCr et tCho ont été normalisées (calcul de ratios) avec l'aire du signal NAA issu du même spectre afin de pouvoir effectuer des comparaisons entre les animaux, en fonction des étapes de traitement (avant/après lésion cf. figure 57 et 58 pages 193 et 194, avant/après L-Dopa cf. figure 58). Un test ANOVA à deux facteurs (comparaison intra-sujet avant/après lésion et côté lésé/côté non lésé) n'a pas permis de mettre en évidence un effet prédominant, ni un effet d'interaction pour les ratios glx/NAA et tCr/NAA. En revanche, pour ce qui est du rapport tCho/NAA, une différence d'effet significative ( $p < 0,05$ ) apparaît après lésion 6-OHDA. En effet, le ratio tCho/NAA connaît une diminution du côté lésé, significative à la fois par rapport au côté opposé et par rapport au même côté avant lésion.

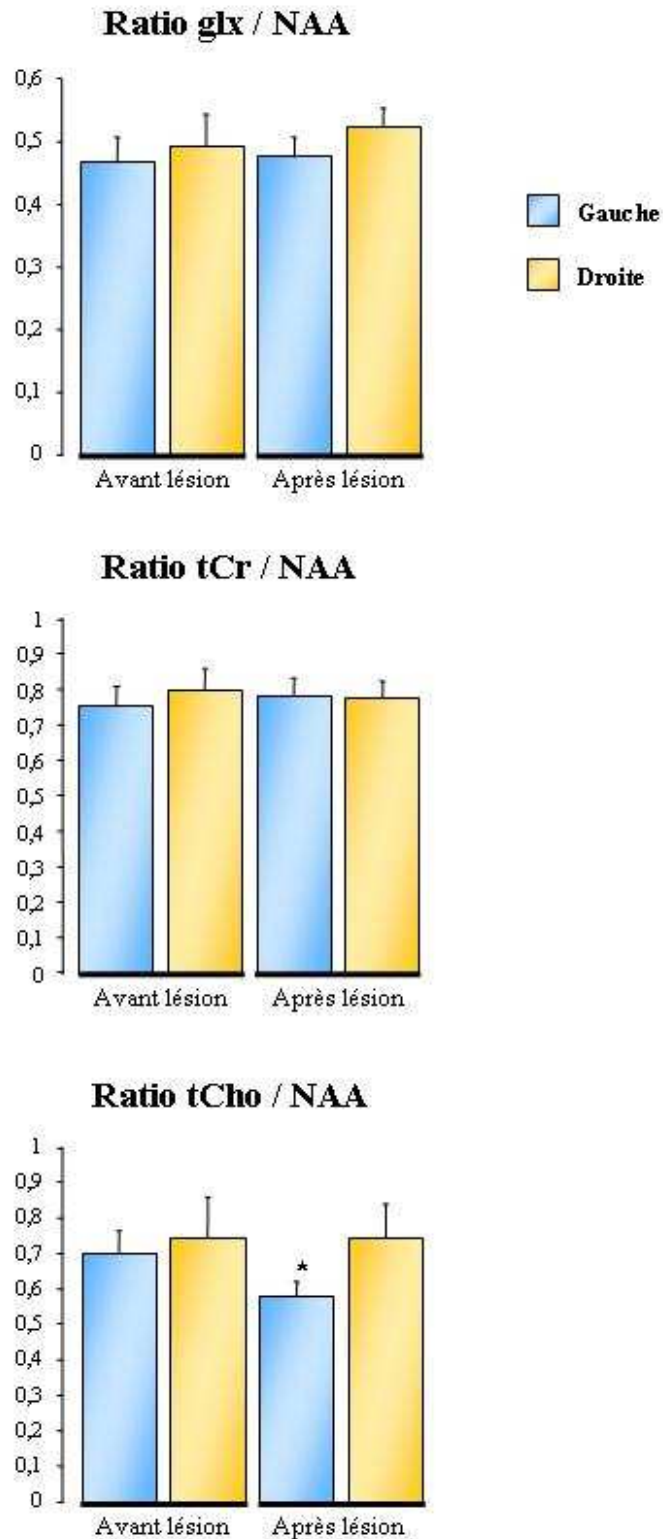
*En résumé, aucune variation significative des contenus en glutamate n'a pu être mise en évidence au niveau striatal après dénervation dopaminergique. Seul le signal de tCho semble être affecté par la lésion 6-OHDA en montrant une diminution significative du côté lésé.*



**Figure 56 : Spectres acquis avant (A) et après (B) lésion 6-OHDA et détail du pic comprenant le glutamate (C).**

En A et B, les pics correspondent à un métabolite particulier, ou bien à un ensemble de métabolites. Glx, pic du glutamate total ; NAA, pic de N-acétyl-aspartate ; tau, pic de la taurine + myoinositol ; tCho, pic de la choline totale (choline + phosphorylcholine + glycérophosphorylcholine) ; tCr, pic de la créatine totale (créatine + phosphocréatine).

En C, tracé de formes lorentziennes qui ont permis de quantifier le pic « glx », qui associe le glutamate (glu), la glutamine (gln), le GABA et le N-acétyl-aspartate (NAA). Au, unité arbitraire ; ppm, partie par million.



**Figure 57 : Valeurs moyennes des ratios glx/NAA, tCr/NAA et tCho/NAA avant et après lésion obtenues à partir des spectres acquis in vivo.**

Suite à la lésion 6-OHDA, le côté gauche du striatum présente un ratio tCho/NAA significativement différent par comparaison avec le côté droit. \* :  $p < 0,05$ , test de Wilcoxon.

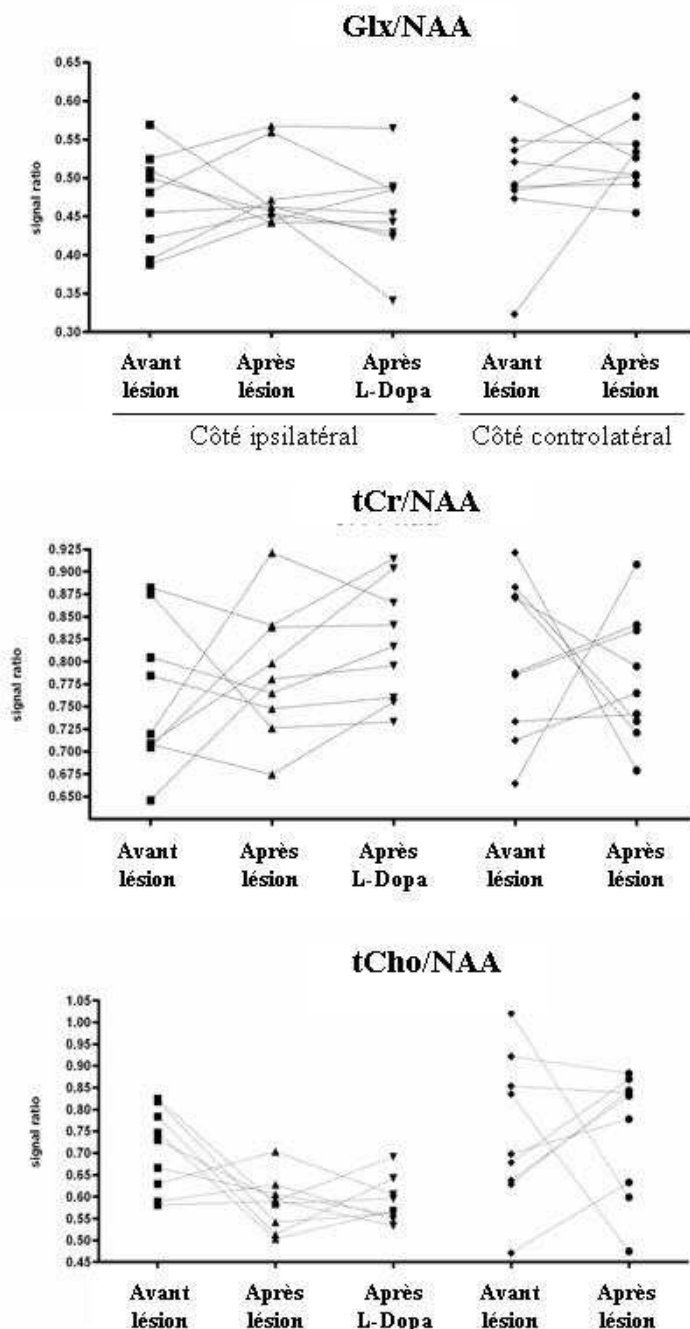


### 2.3 Impact d'une injection de L-Dopa sur les contenus en glutamate du côté lésé chez les rats 6-OHDA (Figure 58)

Les spectres acquis après injection de L-Dopa ont été quantifiés individuellement dans un premier temps. Etant donné qu'aucune variation significative des valeurs des signaux glx, NAA, tCr et tCho n'a été observée au cours de la période d'acquisition (de 2h30 à 3h), tous les spectres post-injection ont été sommés pour chaque animal, et quantifiés. Cependant, même avec ce traitement, aucune différence significative entre les périodes "avant" et "après traitement L-Dopa" n'a pu être mise en évidence pour les ratios glx/NAA, tCr/NAA ou tCho/NAA.

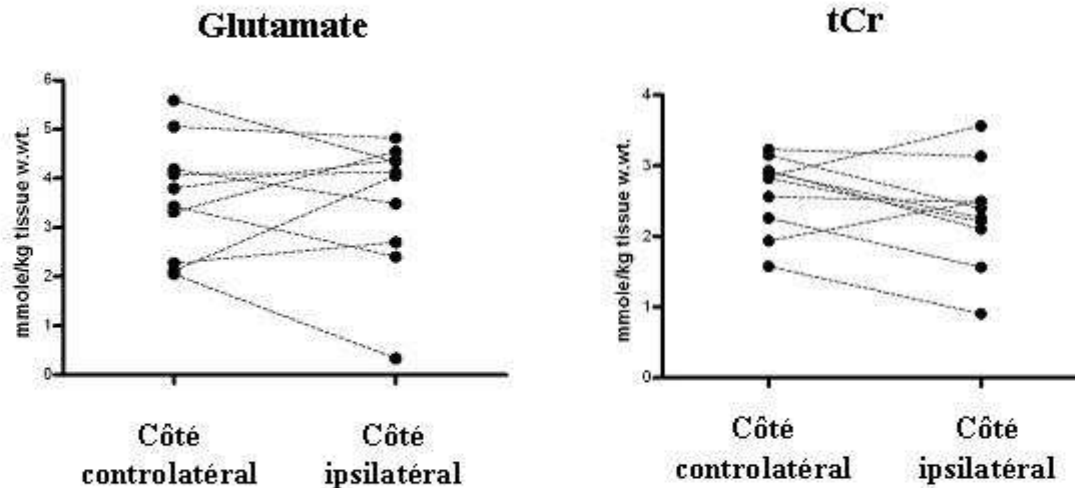
**Figure 58 : Valeurs moyennes des rapports des pics glx/NAA, tCr/NAA et tCho/NAA, obtenues avant lésion, après lésion et après L-Dopa à partir des spectres acquis in vivo.**

Chaque point correspond à un individu donné, et représente la moyenne des valeurs obtenues pour chaque période (avant lésion, après lésion, après L-Dopa). Les lignes permettent de suivre l'évolution d'un métabolite chez un individu à travers les différentes périodes d'acquisition spectrale. Suite à la lésion 6-OHDA, les côtés gauche et droit du striatum présentent des moyennes de ratios tCho/NAA significativement différentes ( $p < 0,05$ , test de Wilcoxon).



## 2.4 SRM haute résolution

Comme indiqué sur la figure 59 ci-dessous, aucune modification significative des contenus en glutamate n'a pu être décelée par SRM haute résolution suite à nos expériences.



**Figure 59 : Concentrations absolues en mmole/kg correspondant aux signaux de glutamate et de tCr obtenus in vitro par SRM haute résolution.**

Ces extraits correspondent aux côtés ipsilatéral et controlatéral à la lésion 6-OHDA de la partie antérieure de l'encéphale contenant le striatum. Chaque point représente la valeur moyenne des concentrations en glutamate et tCr pour chaque animal.

## 3- Discussion

Par comparaison avec la plupart des valeurs de la littérature, les concentrations absolues de métabolites déterminées in vitro pour le côté controlatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA sont faibles. Pour les rats témoins, les valeurs pour le signal de choline totale, de créatine totale, de NAA, de glutamate et de glutamine sont diminuées d'un facteur 3,5 environ par rapport aux données de la littérature. Les valeurs du signal taurine sont cohérentes avec la littérature, tandis que les valeurs pour le GABA sont 5 fois plus faibles. L'ensemble de ces valeurs plus faibles que celles rapportées par d'autres auteurs pourrait s'expliquer par des pertes ou bien une dégradation du tissu cérébral lors du prélèvement et de la préparation des extraits. Néanmoins, le même protocole expérimental ayant été utilisé pour prélever et traiter tous les échantillons de tissu striatal, on peut légitimement supposer que les différences relatives observées entre les deux hémisphères des rats 6-OHDA conservent leur significativité.

Le signal du NAA a été utilisé comme référence pour comparer les signaux des autres métabolites lors des expériences *in vivo*. Nous n'avons pas pu utiliser le signal de l'eau habituellement employé comme référence, car une augmentation de l'intensité du signal a été mesurée après lésion. Ce signal accru de l'eau pourrait être lié à une augmentation post-lésionnelle du volume des ventricules cérébraux, malheureusement la qualité des images ne nous permet pas de confirmer cette hypothèse.

Le NAA étant presque exclusivement localisé dans les neurones (Hakumäki et al., 1997), une diminution de son signal est souvent associée à la mort neuronale (Sager et al., 1999). Dans notre cas, la lésion 6-OHDA, située au niveau des corps cellulaires de la SNc, se répercute au niveau du striatum par une simple perte des terminaisons nerveuses dopaminergiques issues de la SNc. Par conséquent, la perte des neurones dopaminergiques n'entraîne pas de diminution importante du NAA. De fait, aucune altération de la concentration de NAA entre les côtés ipsilatéral et controlatéral à la lésion n'a pu être mise en évidence *in vitro*. Bien que le côté controlatéral à la lésion ne puisse pas être considéré comme un bon contrôle du fait des effets croisés d'une lésion unilatérale du système nigro-strié (Lindfors et Ungerstedt, 1990 ; Roedter et al., 2001 ; Nikolaus et al., 2003), l'absence de variation du NAA entre le côté lésé et non lésé conforte notre décision de prendre ce métabolite comme référence. De plus, les concentrations absolues de NAA mesurées *in vitro* sur les trois animaux sains témoins (voir plus haut paragraphe 1.1) sont similaires aux valeurs obtenues *in vivo* chez les rats 6-OHDA des deux côtés.

L'objectif de cette étude était d'examiner la possibilité de mesurer des variations de la concentration du glutamate striatal après une lésion totale unilatérale de la voie dopaminergique nigro-striée d'une part, et après l'administration aiguë de L-Dopa d'autre part. L'analyse des données acquises *in vivo* ne montre cependant pas de modification du ratio glx/NAA du côté ipsilatéral à la lésion après lésion 6-OHDA. De même, aucun effet significatif de l'injection de L-Dopa après lésion n'a pu être démontré.

Si l'on se rapporte aux expériences *in vitro*, le signal mesuré par SRM est en principe bien représentatif du glutamate. Néanmoins, l'existence d'autres signaux tels que celui de la glutamine ou du GABA, qui recouvrent partiellement le signal du glutamate, peuvent en quelque sorte "polluer", voire masquer, certains changements subtils du signal, en particulier si ces métabolites connaissent une évolution en sens inverse de celle du glutamate.

Les mesures de glutamate réalisées *in vivo* par SRM dans notre étude ne reflètent pas l'augmentation de neurotransmission glutamatergique décrite par d'autres études dans ce type de modèle animal (Meshul et al., 1999 ; Jonkers et al., 2002), ni les modifications engendrées par la L-Dopa sur cette même neurotransmission (Jonkers et al., 2002 ; Robelet et al., 2004). Or d'après nos résultats, il semblerait que ni le glutamate intracellulaire, ni le glutamate extracellulaire ne soit affectés par la lésion dopaminergique ou la L-Dopa. Les augmentations de glutamate liées à la déafférentation nigro-striatale et/ou à l'effet de la L-Dopa décrites par la littérature concernent essentiellement les contenus de glutamate extracellulaire (Meshul et al., 1999 ; Jonkers et al., 2002 ; Bruet et al., 2003) ou lié à l'activité vésiculaire (exocytose) (Meshul et al., 1999). Cependant, des augmentations de glutamate extracellulaire n'ont pas toujours été systématiquement observées (Corsi et al., 2003 ; Galeffi et al., 2003 ; Robelet et al., 2004), ceci pouvant s'expliquer par des différences au niveau des protocoles expérimentaux. En ce qui concerne les études par SRM, une augmentation de l'incorporation de  $^{13}\text{C}$  dans la molécule de glutamate, détectée après lésion dopaminergique par SRM haute résolution et témoin d'une augmentation du taux de synthèse de glutamate, a été rapportée par Chassain et al. (2005). A notre connaissance, une seule étude a fait mention d'une augmentation du signal Glx/Cr dans le striatum de chat 10 jours après une lésion MPTP (Podell et al., 2003), bien que les spectres présentés dans cette étude soient difficiles à interpréter.

A l'instar de nos données, aucune modification post-lésionnelle des taux de glutamate intracellulaires et extracellulaires n'a pu être mise en évidence par des méthodes chromatographiques (Tanaka et al., 1986). La SRM mesure le glutamate cérébral « total » - c'est-à-dire extra- et intracellulaire - qui se situe en valeur autour de 10 mM, bien que le glutamate extracellulaire soit plus faible en concentration, de 2 à 3  $\mu\text{M}$ . Les augmentations de glutamate extracellulaire observées lors de certaines expériences de microdialyse sont de l'ordre de 45 à 116 % (Meshul et al., 1999 ; Jonkers et al., 2002 ; Bruet et al., 2003), ce qui est largement au-dessous de la sensibilité de détection de la SRM *in vivo*. De plus, les modifications du stock extracellulaire de glutamate ne sont pas nécessairement liées à des changements significatifs au niveau du stock total de glutamate. Les mesures de glutamate *in vitro* reflètent les concentrations de ce métabolite après lésion 6-OHDA, injection aiguë de L-Dopa et une durée d'anesthésie d'environ 3 heures, mis à part pour les rats sains témoins des expériences de SRM haute résolution, qui n'ont reçu aucun traitement sauf une anesthésie légère avant sacrifice. L'absence de différence significative entre les côtés lésés et non lésés

pourrait être liée à l'effet du traitement L-Dopa, qui affecte également les deux hémisphères. Néanmoins, on ne peut pas exclure la possibilité que des variations des taux de glutamate total aient bien eu lieu, mais étaient trop faibles pour être détectables, comme dans le cas des expériences *in vivo*.

D'après nos données, le signal total de la choline tCho tendrait à diminuer après lésion, entrant ainsi en contradiction avec d'autres études reportant une augmentation du ratio tCho/NAA ou du signal tCho absolu chez le patient parkinsonien (Holshouser et al., 1995 ; Ellis et al., 1997 ; Clarke et Lowry, 2000), ainsi qu'une augmentation du ratio tCho/tCr chez un modèle de singe MPTP (Brownell et al., 1998). Ce pic tCho observé par SRM est un signal combiné de choline et de composants contenant de la choline, tels que la phosphocholine, la glycérophosphocholine, ainsi que de taurine et de myo-inositol. Suivant les paramètres expérimentaux (force du champ magnétique, temps d'émission et de relaxation), la contribution relative de chacun de ces métabolites au pic tCho observé est modifiée, ce qui expliquerait l'écart existant entre nos résultats et ceux de la littérature. Par ailleurs, les modifications observées pourraient être une conséquence de l'administration de neurotoxine (6-OHDA, MPTP) ou bien de l'évolution de la maladie, sans être directement liées à la déplétion striatale en dopamine elle-même. Les changements observés pourraient alors être très différents entre les modèles animaux et la maladie de Parkinson humaine. La phosphorylcholine et la glycérophosphorylcholine jouant un rôle central dans le métabolisme des phospholipides membranaires, la diminution du signal tCho pourrait être l'indice d'un phénomène de dégradation membranaire accompagnant une mort cellulaire (Hakumäki et al., 1997). Par ailleurs, il semblerait qu'un lien étroit existe entre la diminution de choline et l'apoptose, la première étant à l'origine de la seconde (Yen et al., 1999, 2001).

Une tendance à la diminution a été observée concernant le signal de la taurine du côté ipsilatéral à la lésion. Ceci pourrait contribuer à la tendance à la diminution du signal de choline totale observé *in vivo* (cf. paragraphe précédent). Néanmoins, des comparaisons sont difficiles à établir entre les données *in vivo* et *in vitro*, étant donné que ces dernières ont été acquises post-mortem chez des animaux lésés et traités à la L-Dopa. L'adjonction d'un groupe supplémentaire d'animaux lésés mais non traités à la L-Dopa se révélerait utile pour établir des comparaisons plus pertinentes entre les deux types de données.

Concernant le GABA, une tendance à l'augmentation du signal, d'une amplitude d'environ 170 %, a été détectée du côté ipsilatéral à la lésion uniquement. Ceci concorde avec

des résultats montrant une augmentation comparable des taux de GABA un mois après une lésion 6-OHDA (Tanaka et al., 1986 ; Bruet et al., 2003). Afin d'expliquer ce phénomène, il a été suggéré qu'il se produirait un bourgeonnement des terminaisons GABAergiques striatales consécutif à la lésion (Nitsch et Riesenberg, 1995). Néanmoins, ces données sont en contradiction avec es résultats obtenus par microdialyse intracérébrale et présentés dans la deuxième partie expérimentale de ce manuscrit. Toutefois, cette divergence de résultats peut provenir d'une différence majeure concernant l'origine du GABA mesuré. En effet, et comme nous l'avons déjà rappelé, la technique de SRM permet de mesurer les concentrations totales de GABA, c'est-à-dire aussi bien celles détectées dans le milieu intracellulaire que celles du milieu extracellulaire. La microdialyse intracérébrale ne permet, elle, que la mesure des concentrations extracellulaires de GABA. On peut donc penser que la lésion dopaminergique puisse générer un déséquilibre des contenus de GABA entre ces deux compartiments, et induire des effets opposés sur les contenus intracellulaires et extracellulaires de GABA. Cela dit, ces différences pourraient également être liées à des délais post-lésionnels différents pour chacune des études, comme cela a été discuté précédemment dans la deuxième partie expérimentale. Toutefois, ces explications restent fragiles.

Une élévation post-lésionnelle des taux de lactate striatal *in vivo* a été trouvée du côté ipsilatéral (6 animaux) et controlatéral (4 animaux) à la lésion. Un tel phénomène a déjà été décrit chez les modèles de chat (Podell et al., 2003) et de singe MPTP (Brownell et al., 1998). Le lactate est un marqueur de souffrance anoxique, sa présence indiquant que le cycle normal de la respiration oxydative ne fonctionne plus correctement, et que l'énergie cellulaire est fournie par la glycolyse anaérobie (catabolisme des glucides), comme cela peut être le cas lors d'une interruption de la fourniture du substrat oxygéné (ischémie, anoxie...) ou d'anomalies de la phosphorylation oxydative (affections mitochondriales). Cette souffrance anoxique peut également être l'indice de changements dégénératifs, voire de mort cellulaire. La présence d'acide lactique dans le striatum controlatéral à la lésion indique l'existence de phénomènes bilatéraux consécutifs à une injection unilatérale de neurotoxine 6-OHDA, évoqués par de précédentes études (Roedter et al., 2001).

***En résumé, aucune modification des contenus striataux de glutamate mesurés par SRM n'a pu être mise en évidence après lésion totale de la voie nigro-striée, contrairement à la plupart des études menées dans ce type de modèle. La SRM mesurant le glutamate présent au niveau intracellulaire et extracellulaire, cette technique manque de sensibilité***

*pour détecter de faibles changements concernant par exemple les contenus extracellulaires de glutamate détectés par microdialyse, et par conséquent ne représente pas un très bon outil pour ce type d'étude. Cependant, des changements observés par SRM haute résolution in vitro pour d'autres métabolites, tels que le GABA et la taurine, pourraient s'avérer être intéressants pour compléter les données obtenues par d'autres approches in vivo, sous réserve d'optimiser la méthode de détection pour ces deux métabolites. Afin de pouvoir comparer rigoureusement ces données in vitro à nos résultats in vivo, une réplication des expériences sur un groupe d'animaux lésés mais non traités à la L-Dopa est nécessaire.*

L'objectif de ce travail doctoral était d'apporter de nouveaux éléments susceptibles d'aider à mieux comprendre les mécanismes de la SHF du NST dans le cadre d'un modèle animal de la maladie de Parkinson, le rat 6-OHDA. L'utilisation d'une approche fonctionnelle *in vivo*, la microdialyse intracérébrale, nous a permis de suivre la dynamique des modifications de certains neurotransmetteurs (glutamate, GABA et dopamine) dans plusieurs structures appartenant ou non au réseau des ganglions de la base, et ce, dans le cadre d'un traitement à la L-Dopa et/ou de la SHF du NST.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet de la SHF à distance du NST, en dehors des ganglions de la base. Pour cela, nous avons défini trois cibles à dialyser dans le but de mesurer d'éventuelles variations de glutamate et GABA : 1) le Ctx Fr3, qui se projette sur le NST *via* des axones qui pourraient être activés de manière antidromique par la SHF du NST ; 2) le VM du thalamus, qui reçoit des fibres GABAergiques provenant des structures de sortie des ganglions de la base, la SNr et le GPi/EP ; et 3) le CS, qui est à la fois une cible des projections GABAergiques issues des structures de sortie des ganglions de la base et une afférence au NST, et qui pourrait donc être activé par la SHF du NST de manière à la fois orthodromique et antidromique, tout en intégrant de possibles modifications neurochimiques liées à la SHF provenant du complexe fonctionnel SNr-GPi/EP. Nos résultats, obtenus chez le rat sain anesthésié du côté ipsilatéral à la SHF, ne montrent aucun effet significatif sur le glutamate ou le GABA détectable par nos techniques de microdialyse intracérébrale et d'analyse par CLHP. Plutôt que de conclure à une simple absence d'effet de la SHF du NST, nous évoquerons ici les limites de toute technique d'investigation *in vivo*. En effet, il serait vraisemblable que la SHF engendre réellement des variations neurochimiques au niveau de ces trois structures, mais que ces variations soient trop faibles et trop dispersées pour former un "pool" de neurotransmetteurs détectable et accessible par notre sonde de dialyse. En outre, ces expériences ont été réalisées chez l'animal sain, chez lequel on peut raisonnablement supposer que les systèmes de régulation de la libération et du tonus des neurotransmetteurs étudiés ici sont demeurés intacts, et pourraient donc réguler et normaliser très rapidement les possibles modifications engendrée par la SHF. Enfin, les possibilités d'un effet de la SHF à distance de la sonde pour le Ctx Fr3, et d'interactions de la transmission glutamatergique et GABAergique avec l'anesthésique utilisé ne sont pas à exclure. La rareté des études portant sur les effets de la SHF du NST sur de telles structures témoigne toutefois de l'originalité de cette étude, mais rend également plus délicate l'interprétation de nos résultats, qui n'ont pas été ceux escomptés initialement. L'utilisation d'une autre



méthodologie telle que l'électrophysiologie permettrait très certainement de compléter ces données grâce à une détection plus fine et plus sensible de possibles phénomènes électriques créés par la SHF et dont les effets se propagent certainement à distance. De même, l'utilisation d'un modèle de rat 6-OHDA permettrait de se mettre en situation de déplétion dopaminergique chronique pour replacer les effets de la SHF du NST dans une situation se rapprochant au mieux du contexte lésionnel de la pathologie parkinsonienne.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les interactions pouvant exister entre un traitement L-Dopa et la SHF du NST, afin de voir si ces deux thérapies partagent un ou des mécanismes d'action communs, ou si elles agissent de manière indépendante. Pour réaliser cette étude originale, nous nous sommes placés dans deux types de situations expérimentales : une première situation nous a permis d'étudier l'impact d'un traitement L-Dopa administré de manière chronique chez des rats porteurs d'une lésion du système dopaminergique nigro-strié (lésion totale de la SNc) et stimulés à haute fréquence dans le NST sur les contenus striataux en dopamine et ses métabolites, le DOPAC et l'HVA, en glutamate et en GABA. Dans ce contexte, nous avons observé une augmentation significative des taux de dopamine du côté ipsilatéral à la lésion chez les rats 6-OHDA-LT traités L-Dopa par comparaison avec les rats 6OHDA-LT non traités, sans que les taux de DOPAC et d'HVA soient modifiés. Ce résultat pourrait expliquer en partie pourquoi les effets bénéfiques de la L-Dopa perdurent même plusieurs jours après l'arrêt du traitement. Cependant, dans nos trois groupes expérimentaux (sains, 6OHDA-LT et 6OHDA-LT + L-Dopa), la SHF du NST n'induit aucune modification des contenus striataux de dopamine, DOPAC et HVA. Les taux extracellulaires de glutamate et de GABA, eux, sont affectés par la SHF du NST mais uniquement chez les rats 6OHDA-LT et principalement en période de post-stimulation du côté ipsilatéral. De la même manière, la SHF du NST engendre une augmentation bilatérale significative des taux de glutamate chez les rats 6OHDA-LT + L-Dopa, augmentation qui s'accroît en période de post-stimulation du côté ipsilatéral, sans que l'on retrouve de variations des taux de GABA.

Pour la seconde situation expérimentale, nous avons choisi de tester l'effet d'une injection unique de L-Dopa de telle façon que la SHF du NST soit appliquée au moment où l'effet de cette injection sur la concentration de dopamine est le plus fort. Afin de pouvoir suivre les variations des taux de dopamine, nous avons choisi un modèle de lésion 6-OHDA qui engendre au niveau nigral et striatal une perte dopaminergique modérée mais cependant assez significative pour reproduire un état se rapprochant des lésions pré-cliniques

parkinsoniennes. Ce type de lésion laisse suffisamment de terminaisons dopaminergiques nigro-striées restantes pour que l'effet d'une injection de L-Dopa se répercute de manière visible et reproductible sur les taux de dopamine. Plus concrètement, ces lésions, qualifiées de partielles, représentaient 40 à 60 % de perte des neurones dopaminergiques au niveau nigral. Nos résultats ont montré qu'une injection aiguë de L-Dopa augmentait de manière transitoire les taux de dopamine, DOPAC et HVA dans le striatum de rats sains et de rats 6OHDA-LP. L'application d'une SHF du NST chez les rats 6OHDA-LP semble stabiliser et maintenir les taux de dopamine au niveau striatal qui avaient été augmentés sous l'effet d'une injection unique de L-Dopa. De même, nous avons observé que cette stabilisation des taux de dopamine s'accompagne d'une augmentation de son métabolisme extracellulaire. Il semble donc que la SHF du NST retarde le retour des taux de dopamine striataux à leurs valeurs basales, alors même que l'effet de la L-Dopa se dissipe. Ce phénomène de maintien des taux de dopamine à un niveau avoisinant l'effet maximal de la L-Dopa pourrait expliquer en partie les effets bénéfiques de la SHF du NST, et expliquerait peut-être pourquoi la SHF du NST n'est efficace que chez les patients parkinsoniens qui répondent encore de manière positive à la L-Dopa. Ces données novatrices apportent de nouveaux éléments pertinents pour comprendre les bénéfices cliniques de la stimulation du NST. Cependant, elles ne doivent pas faire oublier que la SHF du NST ne peut en aucun cas remplacer totalement la L-Dopa, comme en témoignent les nombreux cas de dépression et d'apathie post-opératoires certainement liés à la diminution, voire à l'arrêt de la prise de L-Dopa. Au contraire, il semblerait que la continuation d'un traitement L-Dopa, même à faibles doses, après l'opération et la mise en route de la SHF permette de maintenir l'effet thérapeutique de cette stimulation, tout en supprimant les effets secondaires à la prise de L-Dopa (dyskinésies).

Enfin, dans la dernière partie expérimentale de ce manuscrit, que nous avons réalisée dans le cadre d'une collaboration avec les Drs Nils Kickler et Chantal Rémy de l'équipe 5 de l'unité Inserm U836 "Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique" à Grenoble, nous avons essayé de mesurer les concentrations de glutamate "total" par SRM dans le striatum de rats avant et après lésion 6-OHDA sévère, puis lors d'une injection de L-Dopa. Cependant, la technique de SRM ne nous a pas permis de mesurer une quelconque variation au niveau des taux de glutamate après lésion. Cela pourrait être dû au fait que la SRM permet de mesurer majoritairement les contenus de glutamate total (intra- et extracellulaire), sachant que le glutamate est bien plus concentré dans l'espace intracellulaire que dans l'espace extracellulaire. Ainsi, les variations de glutamate, détectables au niveau extracellulaire par la

microdialyse, seraient "noyées" au niveau du signal de SRM du fait de la très forte concentration intracellulaire de glutamate. En conclusion, il semble que la SRM ne représente pas un outil pertinent pour mesurer les variations de glutamate striatal, qu'elles soient basales ou engendrées par un traitement L-Dopa.

Nous espérons que ce travail doctoral a permis d'approfondir la compréhension des mécanismes de la SHF du NST chez le malade parkinsonien. Même si les résultats obtenus dans certaines parties expérimentales n'ont pas été ceux que nous escomptions initialement, les données présentées dans ce manuscrit soulèvent certaines questions qui trouveront certainement leur réponse avec d'autres approches expérimentales.

En premier lieu, les études neurochimiques conduites ici dans le cortex Fr3, le VM et le CS devraient être complétées par des approches électrophysiologiques avec des enregistrements spécifiques des neurones cibles des projections issues des structures de sortie des ganglions de la base. L'absence de modification des contenus extracellulaires ne nous permet pas de confirmer l'absence de modifications de l'activité neuronale des structures étudiées. Une autre manière d'aller analyser ces modifications d'activité serait d'aller regarder les changements dans l'expression des ARNm de la cytochrome oxydase, comme cela a été fait par certains auteurs au niveau du NST lors de l'application de la SHF du NST.

Concernant les traitements à la L-Dopa pratiqués au cours de ce travail, notamment le traitement chronique, on peut toujours remettre en cause les doses administrées, le délai de "wash-out" et la durée de traitement. Cependant, les effets de la SHF du NST ne semblent pas impliquer les variations neurochimiques des neurotransmetteurs étudiés. Néanmoins, même en tenant compte des limites des outils utilisés, cela ne veut pas dire qu'une réactivité des systèmes de neurotransmission via des modifications d'expression de certains récepteurs à la dopamine et aux acides aminés ne serait pas présente. De telles études sont également en cours au laboratoire, en particulier pour les récepteurs dopaminergiques D1, D2 et D3, mais également pour les récepteurs GABAergiques et glutamatergiques. De même, certains marqueurs de la signalisation intracellulaire des récepteurs dopaminergiques (DARPP-32, RGS-9, *Golf*...) sont en cours d'étude au laboratoire, dans l'ensemble des structures des ganglions de la base.

Enfin, pour conclure, ces travaux mettent en exergue que la SHF du NST dans le cadre de la maladie de Parkinson n'agit pas uniquement sur le NST, mais bien à distance de la structure stimulée (striatum). La compréhension des mécanismes de la SHF du NST ne pourra

pas se prémunir d'une analyse exhaustive de ses conséquences au sein des autres structures qui font partie des ganglions de la base, ou qui participent à l'élaboration des programmes moteurs. Cette compréhension doit se faire en tenant compte des adaptations spatio-temporelles de cette stimulation, tant au niveau cellulaire qu'au niveau moléculaire.



**A**

- ABARCA J et BUSTOS G (1999) Differential regulation of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyrate release by N-methyl-D-aspartate receptors in rat striatum after partial and extensive lesions to the nigro-striatal dopamine pathway. *Neurochem. Int.* 35 : 19-33.
- ABELIOVICH A, SCHMITZ Y, FARINAS I, CHOI-LUNDBERG D, HO WH, CASTILLO PE, SHINSKY N, VERDUGO JM, ARMANINI M, RYAN A, HYNES M, PHILLIPS H, SULZER D et ROSENTHAL A (2000) Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron* 25 : 239-52.
- ABERCROMBIE ED et ZIGMOND MJ (1990) In vivo neurochemical analyse of exogenously administered L-DOPA: implications for treatment of Parkinson's disease. In: Bernardi G, Carpenter MB, Di Chiara G, Morelli M, Stanzione (eds) *The basal Ganglia III*, Plenum press, New York, 673-82.
- ABERCROMBIE ED, BONATZ AE et ZIGMOND MJ (1990) Effects of L-DOPA on extracellular dopamine in striatum of normal and 6-hydroxydopamine-treated rats. *Brain Res.* 525 : 36-44.
- ABOSCH A, KAPUR S, LANG AE, HUSSEY D, SIME E, MIYASAKI J, HOULE S et LOZANO AM (2003) Stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease does not produce striatal dopamine release. *Neurosurgery* 53 : 1095-102, discussion 1102-5.
- ACEVES J, FLORAN B, MARTINEZ-FONG D, SIERRA A, HERNANDEZ S et MARISCAL S (1991) L-dopa stimulates the release of [3H]gamma-aminobutyric acid in the basal ganglia of 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Neurosci. Lett.* 121 : 223-6.
- ADACHI YU, WATANABE K, HIGUCHI H, SATOH T et ZSILLA G (2001) Halothane decreases impulse-dependent but not cytoplasmic release of dopamine from rat striatal slices. *Brain Res. Bull.* 56 : 521-4.
- AFSHARPOUR S (1985) Topographical projections of the cerebral cortex to the subthalamic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 236 : 14-28.
- AGID Y (1991) Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 337 : 1321-4.
- AGID Y, RUBERG M, JAVOY-AGID F, HIRSCH E, RAISMAN-VOZARI R, VYAS S et al. (1993) Are dopaminergic neurons selectively vulnerable to Parkinson's disease ? *Adv. Neurol.* 60 : 148-64
- AHLSKOG JE (1996) Treatment of early Parkinson's disease: are complicated strategies justified ? *Mayo. Clin. Proc.* 71 : 659-70.
- AIZMAN O, BRISMAR H, UHLEN P, ZETTERGREN E, LEVEY AI, FORSSBERG H, GREENGARD P et APERIA A (2000) Anatomical and physiological evidence for D1 and D2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. *Nat. Neurosci.* 3 : 226-30.
- ALBANESE A, GRANATA R, GREGORI B, PICCARDI MP, COLOSIMO C et TONALI P (1993) Chronic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine to monkeys: behavioural, morphological and biochemical correlates. *Neuroscience* 55 : 823-32.
- ALBIN RL, YOUNG AB et PENNEY JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12 : 366-75.
- ALEXANDER GE, DELONG MR et STRICK PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* 9 : 357-81.
- ALEXANDER GE et CRUTCHER MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci.* 13 : 266-71.
- ALEXI T, BORLONGAN CV, FAULL RL, WILLIAMS CE, CLARK RG, GLUCKMAN PD et HUGHES PE (2000) Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. *Prog. Neurobiol.* 60 : 409-70.
- ANDEN NE, DAHLSTROM A, FUXE K, LARSSON K, OLSON L et UNGERSTEDT U (1966) Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol. Scand.* 67 : 313-26.
- ANDERSEN SL et GAZZARA RA (1993) The ontogeny of apomorphine-induced alterations of neostriatal dopamine release: effects on spontaneous release. *J. Neurochem.* 61 : 2247-55.
- ANDERSON ME, POSTUPNA N et RUFFO M (2003) Effects of high-frequency stimulation in the internal globus pallidus on the activity of thalamic neurons in the awake monkey. *J. Neurophysiol.* 89 : 1150-60.

- ANDY OJ, JURKO MF et SIAS FR Jr (1963) Subthalamotomy in treatment of parkinsonian tremor. *J. Neurosurg.* 20 : 860-70.
- ANTKOWIAK B et HELFRICH-FORSTER C (1998) Effects of small concentrations of volatile anesthetics on action potential firing of neocortical neurons in vitro. *Anesthesiology* 88 : 1592-605.
- ARBUTHNOTT GW, FAIRBROTHER IS et BUTCHER SP (1990a) Brain microdialysis studies on the control of dopamine release and metabolism in vivo. *J. Neurosci. Methods* 34 : 73-81.
- ARBUTHNOTT GW, MacLEOD NK, MAXWELL DJ et WRIGHT AK (1990b) Distribution and synaptic contacts of the cortical terminals arising from neurons in the rat ventromedial thalamic nucleus. *Neuroscience* 38 : 47-60.
- ARLUISON M, DIETL M et THIBAUT J (1984) Ultrastructural morphology of dopaminergic nerve terminals and synapses in the striatum of the rat using tyrosine hydroxylase immunoreactivity: a topographical study. *Brain Res. Bull.* 13 : 269-85.
- AZIZ TZ, PEGGS D, SAMBROOK MA et 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 : 288-92.

## **B**

---

- BACCI JJ, SALIN P et KERKERIAN-LE GOFF L (2002) Systemic administration of dizocilpine maleate (MK-801) or L-dopa reverses the increases in GAD65 and GAD67 mRNA expression in the globus pallidus in a rat hemiparkinsonian model. *Synapse* 46 : 224-34.
- BAKER H, KOBAYASHI K, OKANO H et SAINO-SAITO S (2003) Cortical and striatal expression of tyrosine hydroxylase mRNA in neonatal and adult mice. *Cell. Mol. Neurobiol.* 23 : 507-8.
- BALCIOGLU A, ZHANG K et TARAZI FI (2003) Dopamine depletion abolishes apomorphine- and amphetamine-induced increases in extracellular serotonin levels in the striatum of conscious rats: a microdialysis study. *Neuroscience* 119 : 1045-53.
- BANKIEWICZ KS, OLDFIELD EH, CHIUEH CC, DOPPMAN JL, JACOBOWITZ DM et KOPIN IJ (1986) Hemiparkinsonism in monkeys after unilateral internal carotid artery infusion of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Life Sci.* 39 : 7-16.
- BARBEITO L, GIRAULT JA, GODEHEU G, PITTALUGA A, GLOWINSKI J et CHERAMY A (1989) Activation of the bilateral corticostriatal glutamatergic projection by infusion of GABA into thalamic motor nuclei in the cat: an in vivo release study. *Neuroscience* 28 : 365-74.
- BARCH DM (2004) Pharmacological manipulation of human working memory. *Psychopharmacology (Berl)*. 174 : 126-35.
- BARON MS, VITEK JL, BAKAY RA, GREEN J, KANEOKE Y, HASHIMOTO T, TURNER RS, WOODARD JL, COLE SA, MCDONALD WM et DELONG MR (1996) Treatment of advanced Parkinson's disease by posterior GPi pallidotomy: 1-year results of a pilot study. *Ann. Neurol.* 40: 355-66.
- BARTUS RT (1978) Short-term memory in the rhesus monkey: effects of dopamine blockade via acute haloperidol administration. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 9 : 353-7.
- BEAL MF (2001) Experimental models of Parkinson's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2 : 325-34.
- BECKSTEAD RM, DOMESICK VB et NAUTA WJ (1979) Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res.* 175 : 191-217.
- BECKSTEAD RM (1983a) A pallidostriatal projection in the cat and monkey. *Brain Res. Bull.* 11 : 629-32.
- BECKSTEAD RM (1983b) A reciprocal axonal connection between the subthalamic nucleus and the neostriatum in the cat. *Brain Res.* 275 : 137-42.
- BECKSTEAD RM (1983c) Long collateral branches of substantia nigra pars reticulata axons to thalamus, superior colliculus and reticular formation in monkey and cat. Multiple retrograde neuronal labeling with fluorescent dyes. *Neuroscience* 10 : 767-79.

- BECKSTEAD RM et KERSEY KS (1985) Immunohistochemical demonstration of differential substance P, met-enkephalin and glutamic acid decarboxylase containing cell body and axon distributions in the corpus striatum of the cat. *J. Comp. Neurol.* 232 : 481-98.
- BECKSTEAD RM et CRUZ CJ (1986) Striatal axons to the globus pallidus, entopeduncular nucleus and substantia nigra come mainly from separate cell population in cat. *Neuroscience* 19 : 147-58.
- BEJJANI B, DAMIER P, ARNULF I, BONNET AM, VIDAILHET M, DORMONT D, PIDOUX B, CORNU P, MARSAULT C et AGID Y (1997) Pallidal stimulation for Parkinson's disease. Two targets ? *Neurology*, 49 : 1564-9.
- BEJJANI BP, GERVAIS D, ARNULF I, PAPADOPOULOS S, DEMERET S, BONNET AM, CORNU P, DAMIER P et AGID Y (2000) Axial parkinsonian symptoms can be improved: the role of levodopa and bilateral subthalamic stimulation. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 68 : 595-600.
- BENABID AL, POLLAK P, LOUVEAU L, HENRY S et DE ROUGEMOND J (1987) Combined (thalamotomy and stimulation) stereotaxic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson's disease. *Appl. Neurophysiol.* 50 : 344-6.
- BENABID AL, POLLAK P, GERVASON C, HOFFMANN D, GAO DM, HOMMEL M, PERRET JE et DE ROUGEMONT J (1991) Long-term suppression of tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate thalamic nucleus. *Lancet*, 337 : 403-6.
- BENABID AL, POLLAK P, GROSS C, HOFFMANN D, BENAZZOUZ A, GAO DM, LAURENT A, GENTIL M et PERRET J (1994) Acute and long-term effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 62 : 76-84.
- BENABID AL, BENAZZOUZ A et POLLAK P (2002) Mechanisms of deep brain stimulation. *Mov. Disord. Suppl.* 3 : 73-4.
- BENAZZOUZ A, GROSS C, DUPONT J et BIOULAC B (1992) MPTP induced hemiparkinsonism in monkeys: behavioral, mechanographic, electromyographic and immunohistochemical studies. *Exp. Brain Res.* 90 : 116-20.
- BENAZZOUZ A, GROSS C, FEGER J, BORAUD T et BIOULAC B (1993) Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. *Eur. J. Neurosci.* 5 : 382-9.
- BENAZZOUZ A, PIALAT B, POLLAK P et BENABID AL (1995) Responses of 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.
- BENAZZOUZ A, GAO DM, NI ZG et BENABID AL (2000a) High frequency stimulation of the STN influences the activity of dopamine neurons in the rat. *Neuroreport*, 11 : 1593-6.
- BENAZZOUZ A, GAO DM, NI ZG, PIALAT B, BOUALI-BENAZZOUZ R et BENABID AL (2000b) Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. *Neuroscience* 99 : 289-95.
- BENTIVOGLIO M, VAN DER KOOY D et KUYPERS HG (1979) The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat. A retrograde fluorescent double labeling study. *Brain Res.* 174 : 1-17.
- BENVENISTE H (1989) Brain microdialysis. *J. Neurochem.* 52 : 1667-79.
- BENVENISTE H et HUTTEMEIER PC (1990) Microdialysis--theory and application. *Prog. Neurobiol.* 35 : 195-215.
- BERGMAN H, WICHMANN T et DELONG MR (1990) Reversal of experimental parkinsonism by lesion of the subthalamic nucleus. *Science* 249 : 1436-8.
- BERGMAN H, WICHMANN T, KARMON B et DELONG MR (1994) The primate subthalamic nucleus II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J. Neurophysiol.* 72 : 507-20.
- BERRETTA S, PARTHASARATHY HB et GRAYBIEL AM (1997) Local release of GABAergic inhibition in the motor cortex induces immediate-early gene expression in indirect pathway neurons of the striatum. *J. Neurosci.* 17 : 4752-63.



- BERTHOLON F (1998) Etude par microdialyse intracérébrale chez le rat des effets de la stimulation électrique du noyau subthalamique. Thèse de doctorat de Neurosciences, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- BERTLER A, FALCK B, OWMAN C et ROSENGREN E (1966) The localization of monoaminergic blood-brain barrier mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 18 : 369-85.
- BETARBET R, TURNER R, CHOCKKAN V, DELONG MR, ALLERS KA, WALTERS J, LEVEY AI et GREENAMYRE JT (1997) Dopaminergic neurons intrinsic to the primate striatum. *J. Neurosci.* 17 : 6761-8.
- BETARBET R et GREENAMYRE JT (1999) Differential expression of glutamate receptors by the dopaminergic neurons of the primate striatum. *Exp. Neurol.* 159 : 401-8.
- BETARBET R, SHERER TB, MACKENZIE G, GARCIA-OSUNA M, PANOV AV et GREENAMYRE JT (2000) Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of parkinson's disease. *Nat. Neurosci.* 3 : 1301-6.
- BETARBET R, SHERER TB et GREENAMYRE JT (2002) Animal models of Parkinson's disease. *Bioessays* 24 : 308-18.
- BEURRIER C, BIOULAC B, AUDIN J et HAMMOND C (2001) High-frequency stimulation produces a transient blockade of voltage-gated currents in subthalamic neurons. *J. Neurophysiol.* 85 : 1351-6.
- BEVAN MD, BOLAM JP et CROSSMAN AR (1994) Convergent synaptic input from the neostriatum and the subthalamus onto identified nigrothalamic neurons in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 6: 320-34.
- BEVAN MD et BOLAM JP (1995) Cholinergic, GABAergic, and glutamate-enriched inputs from the mesopontine tegmentum to the subthalamic nucleus in the rat. *J. Neurosci.* 15 : 7105-20.
- BEVAN MD, FRANCIS CM et 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 et WILSON CJ (1999) Mechanisms underlying spontaneous oscillation and rhythmic firing in rat subthalamic neurons. *J. Neurosci.* 19 : 7617-28.
- BILLARD W, RUPERTO V, CROSBY G, IORIO LC et BARNETT A (1984) Characterization of the binding of 3H-SCH 23390, a selective D-1 receptor antagonist ligand, in rat striatum. *Life Sci.* 35 : 1885-93.
- BIRKMAYER W, RIEDERER P, YODIM MB et LINAUER W (1975) The potentiation of the anti akinetik effect after L-dopa treatment by an inhibitor of MAO-B, Deprenil. *J. Neural. Transm.* 36 : 303-26.
- BISHOP GA, CHANG HT et KITAI ST (1982) Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: an intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 7 : 179-91.
- BJÖRKLUND A et LINDVALL O (1984) Dopamine-containing systems in the CNS. *Handbook of Chemical Neuroanatomy. Vol 2: classical transmitters in the CNS.* Part 1. 55-122. Elsevier, Amsterdam
- BLANCHET PJ, KONTSIOTIS S et CHASE TN (1998) Amantadine reduces levodopa-induced dyskinesias in parkinsonian monkeys. *Mov. Disord.* 13 : 798-802.
- BLANDINI F et GREENAMYRE JT (1995) Effects of subthalamic nucleus lesion on mitochondrial enzyme activity in rat basal ganglia. *Brain Res.* 669 : 59-66.
- BLANDINI F, GARCIA-OSUNA M et 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 : 1407-14.
- BLANDINI F, NAPPI G, TASSORELLI C et MARTIGNONI E (2000) Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol.* 62 : 63-88.
- BLOND S et SIEGFRIED J (1991) Thalamic stimulation for the treatment of tremor and other movement disorders. *Acta Neurochir.* 52 : 109-11.
- BLOND S, CAPARROS-LEFEBVRE D, PARKER F, ASSAKER R, et al. (1992) Control of tremor and involuntary movement disorders by chronic stereotactic stimulation of the ventral intermediate nucleus. *J. Neurosurg.* 77 : 62-8.

- BLUM D, TORCH S, LAMBENG N, NISSOUD MF, BENABID AL, SADOUL R et VERNA JM (2001) Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP : contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol.* 65 : 135-72.
- BOLAM JP, CLARKE DJ, SMITH AD et SOMOGYI P (1983) A type of aspiny neuron in the rat neostriatum accumulates 3H gamma aminobutyric acid: combination of Golgi-staining autoradiography and electron microscopy. *J. Comp. Neurol.* 213 : 121-34.
- BOLAM JP, WAINER BH et SMITH AD (1984) Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neuroscience* 12 : 711-8.
- BOLAM JP et SMITH Y (1990) The GABA and substance P input to dopaminergic neurons in the substantia nigra of the rat. *Brain res.* 529 : 57-78.
- BOLAM JP et 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 : 456-76.
- BONUCCELLI U, COLZI A, DEL DOTTO P (2002) Pergolide in the treatment of patients with early and advanced Parkinson's disease. *Clin. Neuropharmacol.* 25 : 1-10.
- BOOTH PAC, BOLAM JP, IGE AO, DISNEY GH, MARSHALL FH, J.H. W et EMSON PC (2000) GABA<sub>B</sub> receptors in the brain: cellular and subcellular distribution in the basal ganglia. *Eur. J. Neurosci.* 12 : 133.
- BORMANN J (2000) The 'ABC' of GABA receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 21 : 16-9.
- BOULET S (2006) Modifications neurochimiques au sein des ganglions de la base et comportements moteurs associés lors d'une stimulation électrique du noyau subthalamique chez le rat hemiparkinsonien ou de la mise en place de la dénervation dopaminergique chez le singe. Thèse de doctorat de Neurosciences soutenue le 23 octobre 2006, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- BOULET S, LACOMBE E, CARCENAC C, FEUERSTEIN C, SGAMBATO-FAURE V, POUPARD A et 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 : 10768-76.
- BOUYER JJ, PARK DH, JOH TH et PICKEL VM (1984) Chemical and structural analysis of the relation between cortical inputs and tyrosine hydroxylase-containing terminals in rat neostriatum. *Brain Res.* 302 : 267-75.
- BOVE J, PROU D, PERIER C et PRZEDBORSKI S (2005) Toxin-induced models of Parkinson's disease. *NeuroRx* 2 : 484-94.
- BOWERY N (1989) GABA<sub>B</sub> receptors and their significance in mammalian pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* 10 : 401-7.
- BOYCE S, KELLY E, REAVILL C, JENNER P et MARSDEN CD (1984) Repeated administration of N-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydro-pyridine to rats is not toxic to striatal dopamine neurones. *Biochem. Pharmacol.* 33 : 1747-52.
- BRESSAND K, DEMATTEIS M, GAO DM, VERCUEIL L, BENABID AL et BENAZZOUZ A (2002) Superior colliculus firing changes after lesion or electrical stimulation of the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res.* 943 : 93-100.
- BROUSSOLLE E et THOBOIS S (2002) Genetic and environmental factors of Parkinson's disease. *Rev. Neurol. (Paris)* 158 : HS, 7S11-7S23.
- BROWN LL, MARKMAN MH, WOLFSON LI, DVORKIN B, WARNER C et KATZMAN R (1979) A direct role of dopamine in the rat subthalamic nucleus and an adjacent intrapeduncular area. *Science* 206 : 1416-8.
- BROWNELL AL, JENKINS BG, ELMALEH DR, DEACON TW, SPEALMAN RD et ISACSON O (1998) Combined PET/MRS brain studies show dynamic and long-term physiological changes in a primate model of Parkinson disease. *Nat. Med.* 4 : 1308-12.
- BRUET N, WINDELS F, BERTRAND A, FEUERSTEIN C, POUPARD A et 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 (2003) Mécanismes neurochimiques induits par la stimulation électrique du noyau subthalamique. Thèse de doctorat de Neurosciences soutenue le 3 juillet 2003, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- BRUET N, WINDELS F, CARCENAC C, FEUERSTEIN C, BERTRAND A, POUPARD A et 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 : 1228-40.
- BUNNEY BS, AGHAJANIAN GK et ROTH RH (1973) Comparison of effects of L-dopa, amphetamine and apomorphine on firing rate of rat dopaminergic neurones. *Nat. New Biol.* 245 : 123-5.
- BUONAMICI M, MAJ R, PAGANI F, ROSSI AC et KHAZAN N (1986) Tremor at rest episodes in unilaterally 6-OHDA-induced substantia nigra lesioned rats: EEG-EMG and behavior. *Neuropharmacology* 25 : 323-5.
- BURBAUD P, GROSS C, BENAZZOUZ A, COUSSEMACQ M et 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.
- BURNS RS, CHIUH CC, MARKEY SP, EBERT MH, JACOBOWITZ DM et 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. USA* 80 : 4546-50.
- BURUMA O et LAKKE (1986) Balism. In: *Handbook of clinical neurology* (Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL, eds), pp 369-80, Amsterdam, Elsevier.
- BUTCHER SP, FAIRBROTHER IS, KELLY JS et ARBUTHNOTT GW (1988) Amphetamine-induced dopamine release in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *J. Neurochem.* 50 : 346-55.

## C

---

- CALABRESI P, MERCURI NB, SANCESARIO G et BERNARDI G (1993) Electrophysiology of dopamine-denervated striatal neurons. Implications for Parkinson's disease. *Brain* 116 : 433-52.
- CAMPBELL GA, ECKARDT MJ et WEIGHT FF (1985) Dopaminergic mechanisms in subthalamic nucleus of rat: analysis using horseradish peroxidase and microiontophoresis. *Brain Res.* 333 : 261-70.
- CANTERAS NS, SHAMMAH-LAGNADO SJ, SILVA BA et 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 et PETIT H (1993) Chronic thalamic stimulation improves tremor and levodopa induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 56 : 268-73.
- CARLSSON A (1959) The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol. Rev.* 11 : 490-3.
- CARLSSON M et CARLSSON A (1990) Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia. Implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 13 : 272-6.
- CARMAN LS, GAGE FH et SHULTS CW (1991) Partial lesion of the substantia nigra: relation between extent of lesion and rotational behavior. *Brain Res.* 553 : 275-83.
- CARPENTER MB (1982) Interconnections and interactions between corpus striatum, the subthalamic nucleus and the substantia nigra. *Rinsho Shinkeigaku* 22 : 10758.
- CARTER DA et 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 : 113-23.

- CELESIA GG et WANAMAKER WM (1976) L-dopa-carbidopa: combined therapy for the treatment of parkinson's disease. *Dis. Nerv. Syst.* 37 : 123-5.
- CHANG HH et MICHAELIS EK (1981) L-glutamate stimulation of Na<sup>+</sup> efflux from brain synaptic membrane vesicles. *J. Biol. Chem.* 256 : 10084-7.
- CHANG HT et KITAI ST (1982) Large neostriatal neurons in the rat: an electron microscopic study of gold-toned Golgi-stained cells. *Brain Res Bull.* 8 : 631-43.
- CHANG WY et WEBSTER RA (1997) Effect of L-dopa alone and with benserazide on the spontaneous activity of striatal neurones in normal and 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Br. J. Pharmacol.* 121 : 331-7.
- CHASSAIN C, BIELICKI G, DONNAT JP, RENOUE JP, ESCHALIER A et DURIF F (2005) Cerebral glutamate metabolism in Parkinson's disease: an in vivo dynamic (13)C NMS study in the rat. *Exp. Neurol.* 191 : 276-84.
- CHAUDHRY FA, REIMER RJ, BELLOCCHIO EE, DANBOLT NC, OSEN KK, EDWARDS RH et STORM-MATHISEN J (1998) The vesicular GABA transporter, VGAT, localizes to synaptic vesicles in sets of glycinergic as well as GABAergic neurons. *J. Neurosci.* 18 : 9733-50.
- CHEATWOOD JL, REEP RL ET CORWIN JV (2003) The associative striatum: cortical and thalamic projections to the dorsocentral striatum in rats. *Brain Res.* 968 : 1-14.
- CHEBIB M et JOHNSTON GA (1999) The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 26 : 937-40.
- CHEN HT et KANDASAMY SB (1996) Effect of chloral hydrate on in vivo KCl-induced striatal dopamine release in the rat. *Neurochem. Res.* 21 : 695-700.
- CHERGUI K, AKAOKA H, CHARLETY PJ, SAUNIER CF, BUDA M et CHOUVET G (1994) Subthalamic nucleus modulates burst firing of nigral dopamine neurones via NMDA receptors. *Neuroreport* 5 : 1185-8.
- CHESSELET MF, WEISS L, WUENSCHHELL C, TOBIN AJ et AFFOLTER HU (1987) Comparative distribution of mRNAs for glutamic acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase and tachykinins in the basal ganglia: an in situ hybridization study in the rodent brain. *J. Comp. Neurol.* 262 : 125-40.
- CHESSELET MF et DELFS JM (1996) Basal ganglia and movement disorders: an update [see comments]. *Trends Neurosci.* 19 : 417-22.
- CHEVALIER G, DENIAU JM, THIERRY AM et FEGER J (1981) The nigro-tectal pathway. An electrophysiological reinvestigation in the rat. *Brain Res.* 213 : 253-63.
- CHEVALIER G et DENIAU JM (1990) Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. *Trends Neurosci.* 13 : 277-80.
- CHIUEH CC, MARKEY SP, BURNS RS, JOHANNESSEN JN, PERT A et KOPIN IJ (1984) Neurochemical and behavioral effects of systemic and intranigral administration of n-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 100 : 189-94.
- CHRISTOPH GH, LEONZIO RJ et WILCOX KS (1986) Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *J. Neurosci.* 6 : 613-9.
- CHRITIN M, FEUERSTEIN C et SAVASTA M (1993) Time-course of changes in striatal levels of DA uptake sites, DA D2 receptor and preproenkephalin mRNAs after nigrostriatal dopaminergic denervation in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 19 : 318-22.
- CHRITIN M, BLANCHARD V, RAISMAN-VOZARI R, FEUERSTEIN C, AGID Y, JAVOY-AGID F et SAVASTA M (1996) DA uptake sites, D1 and D2 receptors, D2 and preproenkephalin mRNAs and Fos immunoreactivity in rat striatal subregions after partial dopaminergic degeneration. *Eur. J. Neurosci.* 8 : 2511-20.
- CLARK D et WHITE FJ (1987) D1 dopamine receptor--the search for a function: a critical evaluation of the D1/D2 dopamine receptor classification and its functional implications. *Synapse* 1 : 347-88.
- CLARKE CE, LOWRY M et HORSMAN A (1997) Unchanged basal ganglia N-acetylaspartate and glutamate in idiopathic Parkinson's disease measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Mov. Disord.* 12 : 297-301.

- CLARKE CE et LOWRY M (2000) Basal ganglia metabolite concentrations in idiopathic Parkinson's disease and multiple system atrophy measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Eur. J. Neurol.* 7 : 661-5.
- CLAVERIA LE, TEYCHENNE PF, CALNE DB, PETRIE A et BASSENDINE MF (1975) Dopaminergic agonists in Parkinsonism. *Adv. Neurol.* 9 : 383-92.
- COMOLI E, COIZET V, BOYES J, BOLAM JP, CANTERAS NS, QUIRK RH, OVERTON PG et REDGRAVE P (2003) A direct projection from superior colliculus to substantia nigra for detecting salient visual events. *Nat. Neurosci.* 6 : 974-80.
- COOPER IS et POLOUKHINE N (1956) The globus pallidus as a surgical target. *J. Am. Geriatr. Soc.* 4 : 1182-207.
- COOPER JR, BLOOM FE et ROTH RH (1996) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology (7th ed.)* pp 293-351. Oxford University Press.
- CORRODI H, FUXE K et HOKFELT T (1967) The effect of neuroleptics on the activity of central catecholamine neurones. *Life Sci.* 6 : 767-74.
- CORSI C, PINNA A, GIANFRIDDO M, MELANI A, MORELLI M et PEDATA F (2003) Adenosine A2A receptor antagonism increases striatal glutamate outflow in dopamine-denervated rats. *Eur. J. Pharmacol.* 464 : 33-8.
- CORVAJA N, DOUCET G et BOLAM JP (1993) Ultrastructure and synaptic targets of the raphe-nigral projection in the rat. *Neuroscience* 55 : 417-27.
- COSSETTE M, LEVESQUE M et PARENT A (1999) Extrastriatal dopaminergic innervation of human basal ganglia. *Neurosci. Res.* 34 : 51-4.
- COSSETTE M, BÉDARD A et PARENT A (2003) Dopaminergic neurons in human striatum and neurogenesis in adult monkey striatum. *Ann. NY Acad. Sci.* 991 : 346-9.
- COSSETTE M, PARENT A et LEVESQUE D (2004) Tyrosine hydroxylase-positive neurons intrinsic to the human striatum express the transcription factor Nurr1. *Eur. J. Neurosci.* 20 : 2089-95.
- COSSETTE M, LECOMTE F et PARENT A (2005a) Morphology and distribution of dopaminergic neurons intrinsic to the human striatum. *J. Chem. Neuroanat.* 29 : 1-11.
- COSSETTE M, LEVESQUE D et PARENT A (2005b) Neurochemical characterization of dopaminergic neurons in human striatum. *Parkinsonism Relat. Disord.* 11 : 277-86.
- COSTENTIN J (1991) [Brain dopamine receptors. Interactions between D1 and D2 receptors, and dopamine mediated behaviour] *Thérapie* 46 : 269-82.
- COTZIAS GC, PAPAVALIOU PS et GELLENE R (1968) Experimental treatment of parkinsonism with L-Dopa. *Neurology* 18 : 276-7.
- COWAN RH et WILSON CJ (1994) Spontaneous firing patterns and axonal projections of single corticostriatal neurons in the rat medial agranular cortex. *J. Neurophysiol.* 71 : 17-32.
- COYLE JT et PERT CB (1976) Ontogenetic development of [3H]naloxone binding in the rat brain. *Neuropharmacology* 15 : 555-60.
- CROSSMAN AR, SAMBROOK MA et JACKSON A (1984) Experimental hemichorea/hemiballismus in the monkey. Studies on the intracerebral site of action in a drug-induced dyskinesia. *Brain* 107 : 579-96.
- CUELLO AC et PAXINOS G (1978) Evidence for a long Leu-enkephalin striopallidal pathway in rat brain. *Nature* 271 : 178-80.

## **D**

---

- DAMIER P (1998) [*Etiopathogénie de la maladie de Parkinson*] Rascol A. Ed., Paris, Acanthe Masson Smith Kline Beecham. 1-246.
- DAMIER P (2000) [What strategies are recommended for early stage disease? Other treatments] *Rev. Neurol.* (Paris) 156 Suppl 2, Pt 2 : 105-8.
- DAMLAMA M et TEPPER JM (1992) Subthalamic and pediculopontine inputs to the substantia nigra in the rat: a double label EM study. *Soc. Neurosci. Abstr.* 18 : 309
- DANBOLT NC (2001) Glutamate uptake. *Prog. Neurobiol.* 65 : 1-105.

- DA PRADA M, BORGULYA J, NAPOLITANO A et ZÜRCHER G (1994) Improved therapy of Parkinson's disease with tolcapone, a central and peripheral COMT inhibitor with an S-adenosyl-L-methionine-sparing effect. *Clin. Neuropharmacol.* 17 (Suppl 3): S26-7.
- DAUER W, KHOLODILOV N, VILA M, TRILLAT AC, GOODCHILD R, LARSEN KE, et al. (2002) Resistance of alpha-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 14524-9.
- DAVIS GC, WILLIAMS AC, MARKEY SP, EBERT MH, CAINE ED, REICHERT CM et KOPIN IJ (1979) Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res.* 1 : 249-54.
- DAVIS TL, ROZNOSKI M et BURNS RS (1995) Effects of tolcapone in Parkinson's patients taking L-dihydroxyphenylalanine/carbidopa and selegiline. *Mov. Disord.* 10 : 349-51.
- DEANE KH, SPIEKER S et CLARKE CE (2004) Catechol-O-methyltransferase inhibitors for levodopa-induced complications in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 4 : CD004554.
- DE BIE RM, SCHUURMAN PR, ESSELINK RA, BOSCH DA et SPEELMAN JD (2002) Bilateral pallidotomy in Parkinson's disease: a retrospective study. *Mov. Disord.* 17 : 533-8.
- DE LANGE EC, DE BOER AG et BREIMER DD (2000) Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 45 : 125-48.
- DEL FIACCO M, PAXINOS G et CUELLO AC (1982) Neostriatal enkephalin-immunoreactive neurones project to the globus pallidus. *Brain Res.* 231 : 1-17.
- DELFS JM, CIARAMITARO VM, PARRY TJ et CHESSELET MF (1995) Subthalamic nucleus lesions: widespread effects on changes in gene expression induced by nigrostriatal dopamine depletion in rats. *J. Neurosci.* 15 : 6562-75.
- DELFS JM, CIARAMITARO VM, SOGHOMONIAN JJ et CHESSELET MF (1996) Unilateral nigrostriatal lesions induce a bilateral increase in glutamate decarboxylase messenger RNA in the reticular thalamic nucleus. *Neuroscience* 71 : 383-95.
- DELONG MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 13 : 281-5.
- DENIAU JM, LACKNER D et FEGER J (1978) Effects of substantia nigra stimulation on identified neurons in the VL-VA thalamic complex: comparison between intact and chronically decorticated cats. *Brain Res.* 145 : 27-35.
- DENIAU JM, KITAI ST, DONOGHUE JP et 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 : 105-13.
- DENIAU JM et CHEVALIER G (1985) Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus. *Brain Res.* 334 : 227-33.
- DENIAU JM, MENETREY A et 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. *Neuroscience* 61 : 533-45.
- DENIAU JM, MENETREY A et 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. *Neuroscience* 73 : 761-81.
- DENTRESANGLE C, LE CAVORSIN M, SAVASTA M et 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 : 178-85.
- DESCHENES M, BOURASSA J, DOAN VD et PARENT A (1996) A single-cell study of the axonal projections arising from the posterior intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 8 : 329-43.
- DEUMENS R, BLOKLAND A et PRICKAERTS J (2002) Modeling Parkinson's disease in rats : an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp. Neurol.* 175 : 303-17.
- DEVOS D, LABYT E, DERAMBURE P, BOURRIEZ JL, CASSIM F, REYNS N, BLOND S, GUIEU JD, DESTEE A et DEFEBVRE L (2004) Subthalamic nucleus stimulation modulates motor cortex oscillatory activity in Parkinson's disease. *Brain* 127 : 408-19.

- DIFIGLIA M, PASIK P et PASIK T (1976) A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114 : 245-56.
- DIFIGLIA M, PASIK P et PASIK T (1982) A Golgi and ultrastructural study of the monkey globus pallidus. *J. Comp. Neurol.* 212 : 53-75.
- DIFIGLIA M et RAFOLS JA (1988) Synaptic organization of the globus pallidus. *J. Electron. Microsc. Tech.* 10 : 247-63.
- DIVAC I (1983) Two levels of functional heterogeneity of the neostriatum. *Neuroscience* 10 : 1151-5.
- DIVAC I, FONNUM F et STORM-MATHISEN J (1977) High-affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons. *Nature* 266 : 377-8.
- DOMESICK VB (1981) The anatomical basis for feedback and feedforward in striatonigral system. Dans : Apomorphine and other dopaminomimetics. *Basic Pharmacology*, Gesser GL et Corsini V, Eds Raven Press, New York, 2 : 27-39.
- DOSTROVSKY JO et LOZANO AM (2002) Mechanisms of deep brain stimulation. *Mov. Disord. Suppl.* 3 : S63-8.
- DUBE L, SMITH AD et 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 : 455-71.
- DUMOULIN A, ROSTAING P, BEDET C, LEVI S, ISAMBERT MF, HENRY JP, TRILLER A et GASNIER B (1999) Presence of the vesicular inhibitory amino acid transporter in GABAergic and glycinergic synaptic terminal boutons. *J. Cell. Sci.* 112 : 811-23.

## E

---

- EHRINGER H et 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 : 1236-9.
- EKESBO A, RYDIN E, TORSTENSON R, SYDOW O, LAENGSTROM B et TEDROFF J (1999) Dopamine autoreceptor function is lost in advanced Parkinson's disease. *Neurology* 52 : 120-5.
- ELLIS CM, LEMMENS G, WILLIAMS SC, SIMMONS A, DAWSON J, LEIGH PN et CHAUDHURI KR (1997) Changes in putamen N-acetylaspartate and choline ratios in untreated and levodopa-treated Parkinson's disease: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Neurology* 49 : 438-44.
- ENGBER TM, SUSEL Z, KUO S, GERFEN CR et 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 : 113-8.

## F

---

- FABBRINI G, MOURADIAN MM, JUNCOS JL, SCHLEGEL J, MOHR E et CHASE TN (1988) Motor fluctuations in Parkinson's disease: central pathophysiological mechanisms, Part I. *Ann. Neurol.* 24 : 366-71.
- FAHN S (1998) Medical treatment of Parkinson's disease. *J. Neurol. Suppl.* 3 : 15-24.
- FAIRBROTHER IS, ARBUTHNOTT GW, KELLY JS et BUTCHER SP (1990a) In vivo mechanisms underlying dopamine release from rat nigrostriatal terminals: I. Studies using veratrine and ouabain. *J. Neurochem.* 54 : 1834-43.
- FAIRBROTHER IS, ARBUTHNOTT GW, KELLY JS et BUTCHER SP (1990b) In vivo mechanisms underlying dopamine release from rat nigrostriatal terminals: II. Studies using potassium and tyramine. *J. Neurochem.* 54 : 1844-51.
- FARBER SA, BOGDANOV M, MARSHALL DL et TEHOVNIK EJ (1997) Excitability of neural elements within the rat corpus striatum. *J. Neurosci. Methods.* 76 : 93-104.
- FARRER MJ (2006) Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects. *Nat. Rev. Genet.* 7 : 306-18.

- FAULL RL et CARMAN JB (1968) Ascending projections of the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 132 : 73-92.
- FAULL RL, HOKFELT T, JOHANSSON O, JONSSON G, LIDBRINK P et LJUNGDAHL A (1974) The origin of the dopamine nerve terminals in limbic and frontal cortex. Evidence for mesocortico dopamine neurons. *Brain Res.* 82 : 349-55.
- FAULL RL et MEHLER WR (1978) The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience* 3 : 989-1002.
- FEANY MB et BENDER WW (2000) A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature* 404: 394-8.
- FEARNLEY JM et LEES AJ (1991) Ageing and Parkinson's disease : substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114 : 2283-301.
- FÉGER J et ROBLEDO P (1991) The effects of activation or inhibition of the subthalamic nucleus on the metabolic and electrophysiological activities within the pallidal complex and substantia nigra in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 3 : 947-52.
- FEGER J, BEVAN M et 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. *Neuroscience* 60 : 125-32.
- FÉGER J (1997) Updating the functional model of the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 20 : 152-3.
- FEHLING C (1966) Treatment of Parkinson's syndrome with L-dopa. A double blind study. *Acta Neurol. Scand.* 42 : 367-72.
- FERRAGUTI F et SHIGEMOTO R (2006) Metabotropic glutamate receptors. *Cell Tissue Res.* 326 : 483-504.
- FERRANTE RJ, SCHULZ JB, KOWALL NW et 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 : 157-62.
- FIBIGER HC (1982) The organization and some projections of cholinergic neurons of mammalian forebrain. *Brain Res. Rev.* 4 : 327-38.
- FIGUEIRAS-MENDEZ R, MARIN-ZARZA F, ANTONIO MOLINA J, JIMENEZ-JIMENEZ FJ et al. (1999) Subthalamic nucleus stimulation improves directly levodopa induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 66 : 549-50.
- FOFFANI G, ARDOLINO G, EGIDI M, CAPUTO E, BOSSI B et 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 : 123-30.
- FORNO LS, LANGSTON JW, DELANNEY LE, IRWIN I et RICAURTE GA (1986) Locus ceruleus lesions and eosinophilic inclusions in MPTP-treated monkeys. *Ann. Neurol.* 20 : 449-55.
- FORNO LS, LANGSTON JW, DELANNEY LE et IRWIN I (1988) An electron microscopic study of MPTP-induced inclusion bodies in an old monkey. *Brain Res.* 448 : 150-7.
- FRAIX V, POLLAK P, VAN BLERCOM N, XIE J, KRACK P, KOUDSIE A et BENABID AL (2000) Effect of subthalamic nucleus stimulation on levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease. *Neurology* 55 : 1921-3.
- FRANÇOIS C, YELNIK J et 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 : 473-93.
- FRANÇOIS C, TANDE D, YELNIK J et HIRSCH EC (2002) Distribution and morphology of nigral axons projecting to the thalamus in primates. *J. Comp. Neurol.* 447 : 249-60.
- FREUND TF, POWELL JF et SMITH AD (1984) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive buttons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience* 13 : 1184-1215.
- FUJIMOTO K et KITA H (1993) Response characteristics of subthalamic neurons to the stimulation of the sensorimotor cortex in the rat. *Brain Res.* 609 : 185-92.
- FUXE K et AGNATI LF (1985) Receptor-receptor interactions in the central nervous system. A new integrative mechanism in synapses. *Med. Res. Rev.* 5 : 441-82.



**G**

- GADEA A et LOPEZ-COLOME AM (2001a) Glial transporters for glutamate, glycine and GABA. I. Glutamate transporters. *J. Neurosci. Res.* 63 : 453-60.
- GADEA A et LOPEZ-COLOME AM (2001b) Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA. II. GABA transporters. *J. Neurosci. Res.* 63 : 461-8.
- GALARRAGA E et BARGAS J (1995) Firing patterns in substantia nigra compacta identified neurons in vitro. *Arch. Med. Res.* 26 : 191-9.
- GALEFFI F, BIANCHI L, BOLAM JP et DELLA CORTE L (2003) The effect of 6-hydroxydopamine lesions on the release of amino acids in the direct and indirect pathways of the basal ganglia: a dual microdialysis probe analysis. *Eur. J. Neurosci.* 18 : 856-68.
- GAO D, BENAZZOUZ A, BRESSAND K, PIALLAT B et BENABID AL (1997) Roles of GABA, glutamate, acetylcholine and STN stimulation on thalamic VM in rats. *Neuroreport* 8 : 2601-5.
- GARCIA L, AUDIN J, D'ALESSANDRO G, BIOULAC B, HAMMOND C (2003) dual effect of high-frequency stimulation on subthalamic neuron activity. *J Neurosci.* 23 : 8743-51.
- GARCIA L, D'ALESSANDRO G, FERNAGUT PO, BIOULAC B et HAMMOND C (2005) Impact of high-frequency stimulation parameters on the pattern of discharge of subthalamic neurons. *J Neurophysiol.* 94 : 3662-9.
- GARRIS PA et 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.
- GAUTHIER J, PARENT M, LEVESQUE M et PARENT A (1999) The axonal arborization of single nigrostriatal neurons in rats. *Brain Res.* 834 : 228-32.
- GERFEN CR, STAINES WA, ARBUTHNOTT GW et FIBIGER HC (1982) Crossed connections of the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 207 : 283-303.
- GERFEN CR (1984) The neostriatum mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striato-nigral output systems. *Nature* 311 : 461-4.
- GERFEN CR (1985) The neostriatal mosaic. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J. Comp. Neurol.* 236 : 454-76.
- GERFEN CR, BAIMBRIDGE KG et 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 : 8780-4.
- GERFEN CR, HERKENHAM M et THIBAUT J (1987) The neostriatal mosaic : II. Patch and matrix directed mesostriatal dopaminergic and non dopaminergic systems. *J. Neurosci.* 7 : 3915-34.
- GERFEN CR et YOUNG WS (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 : 161-7.
- GERFEN CR (1989) The neostriatal mosaic: striatal patch-matrix organization is related to cortical lamination. *Science* 246 : 385-8.
- GERFEN CR, ENGBER TM, MAHAN LC, SUSEL Z, CHASE TN, MONSMA FJ Jr et SIBLEY DR (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250 : 1429-32.
- GERFEN CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci.* 15 : 133-9.
- GERFEN CR, KEEFE KA et GAUDA EB (1995) D1 and D2 dopamine receptor function in the striatum: coactivation of D1- and D2-dopamine receptors on separate populations of neurons results in potentiated immediate early gene response in D1-containing neurons. *J. Neurosci.* 15 : 8167-76.
- GERFEN CR et WILSON CJ (1996) The basal ganglia. In: *Handbook of chemical neuroanatomy* (Swanson LW).
- GERMAN DC, MANAYE KF, WHITE CL 3<sup>rd</sup>, WOODWARD DJ, MCINTIRE DD, SMITH WK, KALARIA RN et MANN DM. (1992) Disease-specific patterns of locus coeruleus cell loss. *Ann. Neurol.* 32 : 667-76.

- GIASSON BI, DUDA JE, QUINN SM, ZHANG B, TROJANOWSKI JQ et LEE VM (2002) Neuronal alpha-synucleinopathy with severe movement disorder in mice expressing A53T human alpha-synuclein. *Neuron* 34 : 521-33.
- GIBB WR et LEES AJ (1989) The significance of the Lewy body in the diagnosis of idiopathic Parkinson's disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 15 : 27-44.
- GILL SS et HEYWOOD P (1997) Bilateral dorsolateral subthalamotomy for advanced Parkinson's disease. *Lancet* 350 : 1224.
- GLOVER V, SANDLER M, OWEN F et RILEY GJ (1977) Dopamine is a monoamine oxidase B substrate in man. *Nature* 265 : 80-1.
- GOLDBERG MS, FLEMING SM, PALACINO JJ, CEPEDA C et al. (2003) Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *J. Biol. Chem.* 278 : 43628-35.
- GOLDBERG MS, PISANI A, HABURCAK M, VORTHERMS TA et al. (2005) Nigrostriatal dopaminergic deficits and hypokinesia caused by inactivation of the familial Parkinsonism-linked gene DJ-1. *Neuron* 45 : 489-96.
- GONON F ET BUDA MJ (1985) Regulation of dopamine release by impulse flow and by autoreceptors as studied by in vivo voltammetry in rat striatum *Neuroscience* 14 : 765-74.
- GRAYBIEL AM et RAGSDALE J (1978) Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkey and cat demonstrated by acetylcholinesterase staining. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 75 : 5723-6.
- GRAYBIEL AM et RAGSDALE CW (1983) Biochemical anatomy of the striatum. Dans : *Chemical neuroanatomy*, Emson PC (Ed), Raven Press, New York, 427-504.
- GRAYBIEL AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 13 : 244-54.
- GRAYBIEL AM, MORATALLA R, QUINN B, DELANNEY LE, IRWIN I et LANGSTON JW (1993) Early-stage loss of dopamine uptake-site binding in MPTP-treated monkeys. *Adv. Neurol.* 60 : 34-9.
- GREENAMYRE JT, ELLER RV, ZHANG Z, OVADIA A, KURLAN R et GASH DM (1994) Antiparkinsonian effects of remacemide hydrochloride, a glutamate antagonist, in rodent and primate models of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 35 : 655-61.
- GRILL WM et McINTYRE CC (2001) Extracellular excitation of central neurons: implications for the mechanisms of deep brain stimulation. *Thalamus Rel. Syst.* 1 : 269-77.
- GROENEWEGEN HJ et BERENDSE HW (1990) Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *J Comp. Neurol.* 294 : 607-22.
- GROENEWEGEN HJ, BERENDSE HW, WOLTERS JG et LOHMAN AH (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog. Brain. Res.* 85 : 95-116 ; discussion 116-8.
- GROENEWEGEN HJ et BERENDSE HW (1994) The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *TINS* 17 : 52-7.
- GROFOVA I, DENIAU JM et KITAI ST (1982) Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labelled with HRP. *J. Comp. Neurol.* 208 : 352-68.
- GROSS C, ROUGIER A, GUEHL D, BORAUD T, JULIEN J et BIOULAC B (1997) High-frequency stimulation of the globus pallidus internalis in Parkinson's disease: a study of seven cases. *J. Neurosurg.* 87 : 491-8.
- GROVE EA, DOMESICK VB et NAUTA WJH (1986) Light microscopic evidence of striatal input to intrapallidal neurons of cholinergic cell group Ch4 in the rat: a study employing the anterograde tracer Phosolus vulgaris leucagglutinin (PHA-L). *Brain Res.* 367 : 379-84.
- GUERRA MJ, LISTE I et LABANDEIRA-GARCIA JL (1997) Effects of lesions of the nigrostriatal pathway and of nigral grafts on striatal serotonergic innervation in adult rats. *Neuroreport* 8 : 3485-8.
- GUIGONI C, DOVERO S, AUBERT I, LI Q, BIOULAC BH, BLOCH B, GUREVICH EV, GROSS CE et BEZARD E (2005) Levodopa-induced dyskinesia in mptp-treated macaques is not dependent on the extent and pattern of nigrostriatal lesioning. *Eur. J. Neurosci.* 22 : 283-7.

- GUIOT G (1958) [treatment of parkinsonian syndromes by destruction of internal pallidum.] *Neurochirurgia (Stuttg)*. 1 : 94-8.
- GUPTA M, FELTEN DL et GASH DM (1984) MPTP alters central catecholamine neurons in addition to the nigrostriatal system. *Brain Res. Bull.* 13 : 737-42.
- GURIDI J, LUQUIN MR, HERRERRO MD et OBESO JA (1993) The subthalamic nucleus: a possible target for stereotaxic surgery in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 8 : 421-9.

## H

---

- HABER SN et WATSON SJ (1983) The comparison between enkephalin-like and dynorphin-like immunoreactivity in both monkey and human globus pallidus and substantia nigra. *Life Sci.* 1 : 33-6.
- HABER SN, GROENWEGEN HJ, GROVE EA et NAUTA WJH (1985) Efferent connections of the ventral pallidum: evidence of a dual strio pallidofugal pathway. *J. Comp. Neurol.* 235 : 322-35.
- HAJOS M et GREENFIELD SA (1994) Synaptic connections between pars compacta and pars reticulata neurones: electrophysiological evidence for functional modules within the substantia nigra. *Brain Res.* 660 : 216-24.
- HAKUMÄKI JM, ALA-KORPELA M et KAUPPINEN RA (1997) 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy: from basic research to clinical settings. *Curr. Top. Neurochem.* 1 : 59-85.
- HALLIDAY GM, LI YW, BLUMBERGS PC, JOH TH, COTTON RG, HOWE PR, BLESSING WW et GEFFEN LB (1990) Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 27 : 373-85.
- HAMADA I et DELONG MR (1992) Excitotoxic acid lesions of the primate subthalamic nucleus result in reduced pallidal neuronal activity during active holding. *J. Neurophysiol.* 68 : 1859-66.
- HAMMOND C, DENIAU JM, RIZK A et FEGER J (1978) Electrophysiological demonstration of an excitatory subthalamonigral pathway in the rat. *Brain Res.* 151 : 235-44.
- HAMMOND C FEGER J, BIOULAC B et SOUTEYRAND JP (1979) Experimental hemiballism in the monkey produced by unilateral kainic acid lesion in corpus Luysii. *Brain Res.* 171 : 577-80.
- HAMMOND C, SHIBAZAKI T et ROUZAIRE-DUBOIS B (1983a) Branched output neurons of the rat subthalamic nucleus: electrophysiological study of the synaptic effects on identified cells in the two main target nuclei, the entopeduncular nucleus and the substantia nigra. *Neuroscience* 9 : 511-20.
- HAMMOND C, ROUZAIRE-DUBOIS B, FEGER J, JACKSON A et CROSSMAN AR (1983b) Anatomical and electrophysiological studies on the reciprocal projections between the subthalamic nucleus and nucleus tegmenti pedunculopontinus in the rat. *Neuroscience.* 9 : 41-52.
- HAMMOND C et YELNIK J (1983) Intracellular labelling of rat subthalamic neurones with horseradish peroxidase: computer analysis of dendrites and characterization of axon arborization. *Neuroscience* 8 : 781-90.
- HANTRAYE P, RICHE D, MAZIERE M et ISACSON O (1990) A primate model of Huntington's disease: behavioral and anatomical studies of unilateral excitotoxic lesions of the caudate-putamen in the baboon. *Exp. Neurol.* 108 : 91-104.
- HARIZ MI et BERGENHEIM AT (2001) A 10-year follow-up review of patients who underwent Leksell's posteroventral pallidotomy for Parkinson disease. *J. Neurosurg.* 94 : 552-8.
- HARSING LG Jr et ZIGMOND MJ (1997) Influence of dopamine on GABA release in striatum: evidence for D1-D2 interactions and non-synaptic influences. *Neuroscience* 77 : 419-29.
- HASHIMOTO T, ELDER CM, OKUN MS, PATRICK SK et VITEK JL (2003) Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *J. Neurosci.* 23 : 1916-23.
- HASSANI OK, MOUROUX M et FEGER J (1996) Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neuroscience* 72 : 105-15.

- HASSANI OK, FRANCOIS C, YELNIK J et FEGER J (1997) Evidence for a dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res.* 749 : 88-94.
- HASSLER R et RIECHERT T (1954) [Indications and localization of stereotactic brain operations.] *Nervenarzt.* 25 : 441-7.
- HASSLER R, USUNOFF KG, ROMANSKY KV et CHRIST JF (1982) Electron microscopy of the subthalamic nucleus in the baboon. I. Synaptic organization of the subthalamic nucleus in the baboon. *J. Hirnforsch.* 23 : 597-611.
- HAZRATI LN, PARENT A, MITCHELL S et HABER SN (1990) Evidence for interconnections between the two segments of the globus pallidus in primates: a PHA-L anterograde tracing study. *Brain Res.* 533 : 171-5.
- HAZRATI LN et PARENT A (1993) Striatal and subthalamic afferents to the primate pallidum: interactions between two opposite chemospecific neuronal systems. *Prog. Brain Res.* 99: 89-104.
- HEDREEN JC et DELONG MR (1991) Organization of striatopallidal, striatonigral and nigrostriatal projections in the macaque. *J. Comp. Neurol.* 304 : 569-95.
- HEDREEN JC (1999) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive elements in the human globus pallidus and subthalamic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 409 : 400-10.
- HEFFNER TG, ZIGMOND MJ et STRICKER EM (1977) Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 201 : 386-99.
- HEFTI F, MELAMED E et WURTMAN RJ (1980) Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: biochemical characterization. *Brain Res.* 195 : 123-37.
- HEFTI F, MELAMED E et WURTMAN RJ (1981) The site of dopamine formation in rat striatum after L-Dopa administration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 217 : 189-97.
- HEFTI F, ENZ A et MELAMED E (1985) Partial lesions of the nigrostriatal pathway in the rat. Acceleration of transmitter synthesis and release of surviving dopaminergic neurones by drugs. *Neuropharmacology* 24 : 19-23.
- HENNING J, KOCZAN D, GLASS Ä, KAROPKA T, PAHNKE J, ROLFS A, BENECKE R et GIMSA U (2007) Deep brain stimulation in a rat model modulates TH, CaMKII $\alpha$  and Homer1 gene expression. *Eur. J. Neurosci.* 25 : 239-50.
- HENTSCHKE H, SCHWARZ C et ANTKOWIAK B (2005) Neocortex is the major target of sedative concentrations of volatile anaesthetics: strong depression of firing rates and increase of GABAA receptor-mediated inhibition. *Eur. J. Neurosci.* 21 : 93-102.
- HERKENHAM M (1979) The afferent and efferent connections of the ventromedial thalamic nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 183 : 487-517.
- HERKENHAM M et NAUTA WJH (1979) Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 187 : 19-48.
- HERKENHAM M et PERT CB (1981) Mosaic distribution of opiate receptors, parafascicular projections and acetylcholinesterase in the rat. *Nature* 291 : 415-8.
- HERRERA-MARSCHITZ M, YOU ZB, GOINY M, MEANA JJ, SILVEIRA R, GODUKHIN OV, et al. (1996) On the origin of extracellular glutamate levels monitored in the basal ganglia of the rat by in vivo microdialysis. *J. Neurochem.* 66 : 1726-35.
- HESS EJ, ALBERS LJ, LE H, CREESE I (1986) Effects of chronic SCH23390 treatment on the biochemical and behavioral properties of D1 and D2 dopamine receptors: potentiated behavioral responses to a D2 dopamine agonist after selective D1 dopamine receptor upregulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 238 : 846-54.
- HILKER R, VOGES J, GHAEMI M, LEHRKE R, RUDOLF J, KOULOUSAKIS A, HERHOLZ K, WIENHARD K, STURM V et HEISS WD (2003) Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus does not increase the striatal dopamine concentration in parkinsonian humans. *Mov. Disord.* 18 : 41-8.
- HÖKFELT T, FUXE K et GOLDSTEIN M (1973) Immunohistochemical localization of aromatic L-amino acid decarboxylase (dopa decarboxylase) in central dopamine and 5-hydroxytryptamine nerve cell bodies in the rat brain. *Brain. Res.* 53 : 175-80.

- HOLLERMAN JR et GRACE AA (1990) The effects of dopamine-depleting brain lesions on the electrophysiological activity of rat substantia nigra dopamine neurons. *Brain Res.* 533 : 203-12.
- HOLLERMAN JR et GRACE AA (1992) Subthalamic nucleus cell firing in the 6-OHDA-treated rat: basal activity and response to haloperidol. *Brain Res.* 590 : 291-9.
- HOLMER HK, KEYGHOBADI M, MOORE C et MESHUL CK (2005) L-dopa-induced reversal in striatal glutamate following partial depletion of nigrostriatal dopamine with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neuroscience* 136 : 333-41.
- HOLSHOUSER BA, KOMU M, MOLLER HE, ZIJLMANS J, KOLEM H, HINSHAW DB JR et al. (1995) Localized proton NMR spectroscopy in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: a multicenter pilot study. *Magn. Reson. Med.* 33 : 589-94.
- HORNYKIEWICZ O (1966) Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol. Rev.* 18 : 925-64.
- HOSOBUCHI Y, ADAMS JE, RUTKIN B (1973) Chronic thalamic stimulation for the control of facial anesthesia dolorosa. *Arch. Neurol.* 29 : 158-61.
- HUTCHISON WD, DOSTROVSKY JO, WALTERS JR, COURTEMANCHE R, BORAUD T, GOLDBERG J et BROWN P (2004) Neuronal oscillations in the basal ganglia and movement disorders: evidence from whole animal and human recordings. *J. Neurosci.* 24 : 9240-3.
- HWANG DY, ARDAYFIO P, KANG UJ, SEMINA EV et KIM KS (2003) Selective loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra of Pitx3-deficient aphakia mice. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 114 : 123-31.
- HWANG DY, FLEMING SM, ARDAYFIO P, MORAN-GATES T et al. (2005) 3,4-Dihydroxyphenylalanine reverses the motor deficits in Pitx3-deficient aphakia mice: behavioral characterization of a novel genetic model of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* 25 : 2132-7.

## I

---

- IKEMOTO K, SATOH K, KITAHAMA K et MAEDA T (1996) Demonstration of a new dopamine-containing cell group in the primate rostral telencephalon. *Neurosci. Lett.* 220 : 69-71.
- IKEMOTO K, KITAHAMA K, JOUVET A, ARAI R et al. (1997) Demonstration of l-dopa decarboxylating neurons specific to human striatum. *Neurosci. Lett.* 232 : 111-4.
- ITIER JM, IBANEZ P, MENA MA, ABBAS N et al. (2003) Parkin gene inactivation alters behaviour and dopamine neurotransmission in the mouse. *Hum. Mol. Genet.* 12 : 2277-91.

## J

---

- JABAUDON D, SHIMAMOTO K, YASUDA-KAMATANI Y, SCANZIANI M, GAHWILER BH et GERBER U (1999) Inhibition of uptake unmasks rapid extracellular turnover of glutamate of nonvesicular origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 96 : 8733-8.
- JACOBS BL et AZMITIA EC (1992) Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol. Rev.* 72 : 165-229.
- JAN C, FRANCOIS C, TANDE D, YELNIK J, TREMBLAY L, AGID Y et HIRSCH E (2000) Dopaminergic innervation of the pallidum in the normal state, in MPTP-treated monkeys and in parkinsonian patients. *Eur. J. Neurosci.* 12 : 4525-35.
- JELLINGER KA (1991) Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Mol. Chem. Neuropathol.* 14 : 153-97.
- JENNER P (2004) Avoidance of dyskinesia : preclinical evidence for continuous dopaminergic stimulation. *Neurology* 62 (Suppl1) : S47-55.
- JEON BS, JACKSON-LEWIS V et BURKE RE (1995) 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration* 4 : 131-7.

- JESSELL TM, EMSON PC, PAXINOS G et CUELLO AC (1978) Topographic projections of substance P and GABA pathways in the striato- and pallidonigral system: a biochemical and immunohistochemical study. *Brain Res.* 152 : 487-98.
- JIANG C, WAN X, HE Y, PAN T, JANKOVIC J et LE W (2005) Age-dependent dopaminergic dysfunction in Nurr1 knockout mice. *Exp. Neurol.* 191 : 154-62.
- JIMENEZ-CASTELLANOS CJ et GRAYBIEL AM (1987) Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix. *Neuroscience* 23 : 223-42.
- JOHNSON RE, SCHALLERT T, BECKER JB (1999) Akinesia and postural abnormality after unilateral dopamine depletion. *Behav. Brain Res.* 104 : 189-96.
- JONKERS N, SARRE S, EBINGER G et MICHOTTE Y (2000) MK801 influences L-DOPA-induced dopamine release in intact and hemi-parkinson rats. *Eur. J. Pharmacol.* 407 : 281-91.
- JONKERS N, SARRE S, EBINGER G et MICHOTTE Y (2002) MK801 suppresses the L-DOPA-induced increase of glutamate in striatum of hemi-Parkinson rats. *Brain Res.* 926 : 149-55.
- JORGA KM, SEDEK G, FOTTELER B, ZÜRCHER G, NIELSEN T et AITKEN JW (1997) Optimizing levodopa pharmacokinetics with multiple tolcapone doses in the elderly. *Clin. Pharmacol. Ther.* 62 : 300-10.
- JUNCOS JL, ENGBER TM, RAISMAN R, SUSEL Z, THIBAUT F, PLOSKA A, AGID Y et CHASE TN (1989) Continuous and intermittent levodopa differentially affect basal ganglia function. *Ann. Neurol.* 25 : 473-8.
- JURASKA JM, WILSON CJ et GROVES PM (1977) The substantia nigra of the rat: a Golgi study. *J. Comp. Neurol.* 172 : 585-600.

## **K**

---

- KAAKKOLA S, GORDIN A et MÄNNISTÖ PT (1994a) General properties and clinical possibilities of new selective inhibitors of catechol O-methyltransferase (COMT). *Gen. Pharmacol.* 25 : 813-24.
- KAAKKOLA S, TERÄVÄINEN H, AHTILA S, RITA H et GORDIN A (1994b) Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on clinical disability and levodopa metabolism in parkinsonian patients. *Neurology* 44 : 77-80.
- KAAKKOLA S, TERÄVÄINEN H, AHTILA S, KARLSSON M, NAUKKARINEN T, RITA H et GORDIN A (1995) Entacapone in combination with standard or controlled-release levodopa/carbidopa: A clinical and pharmacokinetic study in patients with Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol.* 2 : 341-7.
- KALARIA RN, MITCHELL MJ et HARIK SI (1987) Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *PNAS* 84 : 3521-5.
- KANAZAWA I, EMSON PC et EMSON AC (1977) Evidence for the existence of substance P-containing fibers in the striato-nigral and pallido-nigral pathways in the rat. *Brain Res.* 119 : 447-53.
- KANNARI K, TANAKA H, MAEDA T, TOMIYAMA M, SUDA T et MATSUNAGA M (2000) Reserpine pretreatment prevents increases in extracellular striatal dopamine following L-DOPA administration in rats with nigrostriatal denervation. *J. Neurochem.* 74 : 263-9.
- KANNARI K, MAEDA T, TANAKA H, ARAI A, SHEN H et MATSUNAGA M (2003) L-DOPA-derived extracellular dopamine in the striatum with dopaminergic denervation: role of serotonergic neurons in L-DOPA metabolism. *International Congress Series* 1251 : 181-9.
- KANG Y et KITAI ST (1990) Electrophysiological properties of pedunculopontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra pars reticulata. *Brain Res.* 535 : 79-95.
- KATZ J, NIELSEN KM et 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<sub>A</sub> receptors subunits in the substantia nigra, pars reticulata. *Neuroscience* 132 : 833-42.

- KAUFMAN DL, HOUSER CR et TOBIN AJ (1991) Two forms of the gamma-aminobutyric acid synthetic enzyme glutamate decarboxylase have distinct intraneuronal distributions and cofactor interactions. *J. Neurochem.* 56 : 720-3.
- KAWAGUCHI Y, WILSON CJ et EMSON PC (1990) Projection subtypes of rat neostriatal matrix cells revealed by intracellular injection of biocytin. *J. Neurosci.* 10 : 3421-38.
- KAWAGUCHI Y et KUBOTA Y (1993) Correlation of physiological subgroupings of nonpyramidal cells with parvalbumin and calbindin D23k immunoreactive neurons in layer V of rat frontal cortex. *J. Neurophysiol.* 70 : 387-96.
- KAWAGUCHI Y (1997) Neostriatal cell subtypes and their functional roles. *Neurosci. Res.* 27 : 1-8.
- KEBABIAN JW et CALNE DB (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277 : 93-6.
- KELLEY AE et 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. *Neuroscience* 7 : 2321-35.
- KELLY RS et WIGHTMAN RM (1987) Detection of dopamine overflow and diffusion with voltammetry in slices of rat brain. *Brain Res.* 423 : 79-87.
- KEMP JM et POWELL TP (1971) The structure of the caudate nucleus in the rat: Light and electron microscopic study. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)* 262 : 383-401.
- KEW JN et KEMP JA (2005) Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology (Berl.)* 179 : 4-29.
- KHA HT, FINKELSTEIN DI, TOMAS D, DRAGO J, POW DV et HORNE MK (2001) Projections from the substantia nigra pars reticulata to the motor thalamus of the rat: single axon reconstructions and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 440 : 20-30.
- KHAN SH, SHUAIB A (2001) The technique of intracerebral microdialysis. *Methods.* 23 : 3-9.
- KILPATRICK IC, STARR MS, FLETCHER A, JAMES TA et MACLEOD NK (1980) Evidence for a GABAergic nigrothalamic pathway in the rat. I. Behavioural and biochemical studies. *Exp. Brain Res.* 40 : 45-54.
- KIM RH, SMITH PD, ALEYASIN H, HAYLEY S et al. (2005) Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) and oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 102 : 5215-20.
- KIRIK N, ROSENBLAD C et BJORKLUND A (1998) Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat. *Exp. Neurol.* 152 : 259-77.
- KITA H, CHANG HT et KITAI ST (1983a) Pallidal inputs to subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res.* 264 : 255-65.
- KITA H, CHANG HT et KITAI ST (1983b) The morphology of intracellularly labeled rat subthalamic neurons: a light microscopic analysis. *J Comp Neurol.* 215 : 245-57.
- KITA H et 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 : 435-52.
- KITA H et KITAI ST (1991) Intracellular study of rat globus pallidus neurons: membrane properties and responses to neostriatal, subthalamic and nigral stimulation. *Brain Res.* 564 : 296-305.
- KITA H (1993) GABAergic circuits of the striatum. *Progr. Brain Res.* 99 : 51-72.
- KITA H (1994) Parvalbumin-immunopositive neurons in rat globus pallidus: a light and electron microscopic study. *Brain Res.* 657 : 31-41.
- KITA H et KITAI ST (1994) The morphology of globus pallidus projection neurons in the rat: an intracellular staining study. *Brain Res.* 636 : 308-19.
- KITA H et KITA T (2001) Number, origins, and chemical types of rat pallidostriatal projection neurons. *J. Comp. Neurol.* 437 : 438-48.
- KITA H, TACHIBANA Y, NAMBU A et 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 : 8611-9.
- KITADA T, ASAKAWA S, HATTORI N, MATSUMINE H, YAMAMURA Y et al. (1998) Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 392 : 605-8.
- KITAI ST et DENIAU JM (1981) Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res.* 214 : 411-5.

- KLEINER-FISMAN G, FISMAN DN, SIME E, SAINT-CYR JA, LOZANO AM et LANG AE (2003) Long-term follow up of bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in patients with advanced Parkinson disease. *J. Neurosurg.* 99 : 489-95.
- KLOCKGETHER T, TURSKI L, HONORE T, ZHANG ZM, GASH DM, KURLAN R et GREENAMYRE JT (1991) The AMPA receptor antagonist NBQX has antiparkinsonian effects in monoamine-depleted rats and MPTP-treated monkeys. *Ann. Neurol.* 30 : 717-23.
- KOLLER WC (1986) Pharmacologic treatment of parkinsonian tremor. *Arch. Neurol.* 43 : 126-7.
- KOPIN IJ et MARKEY SP (1988) MPTP toxicity: implications for research in parkinson's disease. *Annu. Rev. Neurosci.* 11 : 81-96.
- KOTTER R (1994) Postsynaptic integration of glutamatergic and dopaminergic signals in the striatum. *Prog. Neurobiol.* 44 : 163-96.
- KRACK P, POLLAK P, LIMOUSIN P, BENAZZOUZ A et BENABID AL (1997) Stimulation of the subthalamic nucleus alleviates tremor in Parkinson's disease. *Lancet*, 350 : 1675.
- KRACK P, POLLAK P, LIMOUSIN P, HOFFMANN D, BENAZZOUZ A et BENABID AL (1998a) Inhibition of levodopa effects by internal pallidal stimulation. *Mov. Disord.* 13 : 648-52.
- KRACK P, POLLAK P, LIMOUSIN P, HOFFMANN D, BENAZZOUZ A, LE BAS JF, KOUDSIE A et BENABID AL (1998b) Opposite motor effects of pallidal stimulation in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 43 : 180-92.
- KRACK P, HAMEL W, MEHDORN HM et DEUSCHL G (1999) Surgical treatment of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol.* 12 : 417-25.
- KRACK P, BATIR A, VAN BLERCOM N, CHABARDES S, FRAIX V, ARDOUIN C, KOUDSIE A, LIMOUSIN PD, BENAZZOUZ A, LEBAS JF, BENABID AL et POLLAK P (2003) Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 349 : 1925-34.
- KRAYNIAK PF, MEIBACH RC et SIEGEL A (1981) A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Brain Res.* 209 : 427-31.
- KREBS HA (1935) Metabolism of amino-acids: The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia, and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal tissues. *Biochem. J.* 29 : 1951-69.
- KREBS HA, EGGLESTON LV et HEMS R (1948) Synthesis of glutamic acid in animal tissues. *Biochem. J.* 43 : 406-14.
- KREISS DS, MASTROPIETRO CW, RAWJI SS et WALTERS JR (1997) The response of subthalamic nucleus neurons to dopamine receptor stimulation in a rodent model of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* 17 : 6807-19.
- KUBOTA Y, INAGAKI S et KITO S (1986a) Innervation of substance P neurons by catecholaminergic terminals in the neostriatum. *Brain Res.* 375 : 163-7.
- KUBOTA Y, INAGAKI S, KITO S, TAKAGI H et SMITH AD (1986b) Ultrastructural evidence of dopaminergic input to enkephalinergic neurons in rat neostriatum. *Brain Res.* 367 : 374-8.
- KUBOTA Y, INAGAKI S, KITO S et WU JY (1987a) Dopaminergic axons directly make synapses with GABAergic neurons in the rat neostriatum. *Brain Res.* 406 : 147-56.
- KUBOTA Y, INAGAKI S, SHIMADA S, KITO S, ECKENSTEIN F et TOHYAMA M (1987b) Neostriatal cholinergic neurons receive direct synaptic inputs from dopaminergic axons. *Brain Res.* 413 : 179-84.
- KUBOTA Y et KAWAGUCHI Y (1993) Spatial distributions of chemically identified intrinsic neurons in relation to patch and matrix compartments of rat neostriatum. *J. Comp. Neurol.* 332 : 499-513.
- KUBOTA Y, MIKAWA S et KAWAGUCHI Y (1993) Neostriatal GABAergic interneurons contain NOS, calretinin or parvalbumin. *Neuroreport* 5 : 205-8.
- KUHR WG, BIGELOW JC et WIGHTMAN RM (1986) In vivo comparison of the regulation of releasable dopamine in the caudate nucleus and the nucleus accumbens of the rat brain. *J. Neurosci.* 6 : 974-82.
- KUMAR R, LOZANO AM, MONTGOMERY E et LANG AE (1998) Pallidotomy and deep brain stimulation of the pallidum and subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 13, Suppl. 1 : 73-82.



KURUMA I, BARTHOLINI G, TISSOT R et PLETSCHER A (1971) The metabolism of L-3-O-methyl-dopa, a precursor of dopa in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 12 : 678-82.

## L

---

LAIHINEN AO, RINNE JO, NAGREN KA, LEHIKONEN PK, OIKONEN VJ, RUOTSALAINEN UH, RUOTTINEN HM et RINNE UK (1995) PET studies on brain monoamine transporters with carbon-11-beta-CIT in Parkinson's disease. *J. Nucl. Med.* 36 : 1263-7.

LAITINEN LV, BERGENHEIM AT et HARIZ MI (1992) Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neurosurg.* 76 : 53-61.

LAMBENG N, HOUREZ R, TORCH S, VERNA JM et BLUM D (2002) La mort neuronale dans les modèles expérimentaux de la maladie de Parkinson. *Med. Sciences* 18 : 457-66.

LANCIEGO JL, GONZALO N, CASTLE M, SANCHEZ-ESCOBAR C, AYMERICH MS et OBESO JA (2004) Thalamic innervation of striatal and subthalamic neurons projecting to the rat entopeduncular nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 19 : 1267-77.

LANDRY P, WILSON CJ et KITAI ST (1984) Morphological and electrophysiological characteristics of pyramidal tract neurons in the rat. *Exp. Brain Res.* 57 : 177-90.

LANG AE, LOZANO AM, MONTGOMERY E, DUFF J, TASKER R et HUTCHINSON W (1997) Posteroventral medial pallidotomy in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 337 : 1036-42.

LANG AE et LOZANO AM (1998a) Parkinson's disease. 1st of 2 parts. *N. Engl. J. Med.* 339 : 1044-53.

LANG AE et LOZANO AM (1998b) Parkinson's disease. 2d of 2 parts. *N. Engl. J. Med.* 339 : 1130-43.

LE W, CONNEELY OM, HE Y, JANKOVIC J et APPEL SH (1999) Reduced Nurr1 expression increases the vulnerability of mesencephalic dopamine neurons to MPTP-induced injury. *J. Neurochem.* 73 : 2218-21.

LECHARNY JB, SALORD F, HENZEL D, DESMONTS JM et MANTZ J (1995) Effects of thiopental, halothane and isoflurane on the calcium-dependent and -independent release of GABA from striatal synaptosomes in the rat. *Brain Res.* 670 : 308-12.

LEE KH, ROBERTS DW et KIM U (2003) Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on subthalamic neurons: an intracellular study. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 80 : 32-6.

LEE MK, STIRLING W, XU Y, XU X, QUI D, MANDIR AS et al. (2002) Human alpha-synuclein-harboring familial Parkinson's disease-linked Ala53->Thr mutation causes neurodegenerative disease with alpha-synuclein aggregation in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 8968-73.

LEES AJ, SHAW KM, KOHOUT LJ, STERN GM, ELSWORTH JD, SANDLER M et YODIM MB (1977) Deprenyl in Parkinson's disease. *Lancet* 2 : 791-5.

LEHMANN J et LANGER SZ (1983) The striatal cholinergic interneuron: synaptic target of dopaminergic terminals? *Neuroscience* 10 : 1105-20.

LEI W, JIAO Y, DEL MAR N et REINER A (2004) Evidence for differential cortical input to direct pathway versus indirect pathway striatal projection neurons in rats. *J. Neurosci.* 24 : 8289-99.

LEVESQUE M, CHARARA A, GAGNON S, PARENT A et DESCENES M (1996a) Corticostriatal projections from layer V cells in rat are collaterals of long-range corticofugal axons. *Brain Res.* 709 : 311-5.

LEVESQUE M, GAGNON S, PARENT A et DESCENES M (1996b) Axonal arborizations of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from the second somatosensory area in the rat. *Cereb. Cortex* 6 : 759-70.

LEVESQUE M et PARENT A (1998) Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prelimbic cortex in the rat. *Cereb. Cortex* 8 : 602-13.

LEVESQUE JC et PARENT A (2005) GABAergic interneurons in human subthalamic nucleus. *Mov. Disord.* 20 : 574-84.

- LEVY R, HERRERO MT, RUBERG M, VILLARES J, FAUCHEUX B, GURIDI J et al. (1995) Effects of nigrostriatal denervation and L-dopa therapy on the GABAergic neurons in the striatum in MPTP-treated monkeys and Parkinson's disease: an in situ hybridization study of GAD67 mRNA. *Eur. J. Neurosci.* 7 : 1199-209.
- LEVY R, HAZRATI LN, HERRERO MT, VILA M, HASSANI OK et al. (1997) Re-evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and Parkinsonian states. *Neuroscience* 76 : 335-43.
- LIEVENS JC, SALIN P, NIEOULLON A et KERKERIAN-LE GOFF L (2001) Nigrostriatal denervation does not affect glutamate transporter mRNA expression but subsequent levodopa treatment selectively increases GLT1 mRNA and protein expression in the rat striatum. *J. Neurochem.* 79 : 893-902.
- LI S, ARBUTHNOTT GW, JUTRAS MJ, GOLDBERG JA et JAEGER D (2006) Resonant antidromic cortical circuit activation during subthalamic deep-brain stimulation. Abstract 676.3. 36<sup>th</sup> annual Meeting of the Society for Neuroscience, 14-18 Octobre 2006, Atlanta, Georgie, USA
- LIMOUSIN P, POLLAK P, BENAZZOUZ A, HOFFMANN D, LE BAS JF, BROUSSOLLE E, PERRET JE et BENABID AL (1995) Effect on parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet* 345 : 91-5.
- LIMOUSIN P, POLLAK P, HOFFMANN D, BENAZZOUZ A, PERRET JE et BENABID AL (1996) Abnormal involuntary movements induced by subthalamic nucleus stimulation in parkinsonian patients. *Mov. Disord.* 11 : 231-5.
- LIMOUSIN P, KRACK P, POLLAK P, BENAZZOUZ A, ARDOUIN C, HOFFMANN D et BENABID AL (1998) Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 339 : 1105-11.
- LINDEFORS N, AMBERG G et UNGERSTEDT U (1989) Intracerebral microdialysis I. Experimental studies of diffusion kinetics. *J. Pharmacol. Methods* 22 : 141-56.
- LINDEFORS N et UNGERSTEDT U (1990) Bilateral regulation of glutamate tissue and extracellular levels in caudate-putamen by midbrain dopamine neurons. *Neurosci. Lett.* 115 : 248-52.
- LINDEFORS 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.
- LINDNER MD, CAIN CK, PLONE MA, FRYDEL BR, BLANEY TJ et al. (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.
- LIU Y, ISHIDA Y, SHINODA K, FURUKAWA S et NAKAMURA S (2004) Opposite morphological responses of partially denervated cortical serotonergic and noradrenergic axons to repeated stress in adult rats. *Brain Res. Bull.* 64 : 67-74.
- LOOPUIJT LD et VAN DER KOOIJ D (1985) Organization of the striatum : collateralization of its efferent axons. *Brain Res.* 348 : 86-99.
- LOPEZ A, MUÑOZ A, GUERRA MJ et LABANDEIRA-GARCIA JL (2001) Mechanisms of the effects of exogenous levodopa on the dopamine-denervated striatum. *Neuroscience* 103 : 639-51.
- LOPIANO L, RIZZONE, M., BERGAMASCO, B., TAVELLA, A., TORRE, E., PEROZZO, P., VALENTINI, M.C. & LANOTTE, M. (2001) Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus: clinical effectiveness and safety. *Neurology*, 56, 552-4.
- LOSCHMANN PA, LANGE KW, KUNOW M, RETTIG KJ, JAHNIG P et al. (1991) Synergism of the AMPA-antagonist NBQX and the NMDA-antagonist CPP with L-dopa in models of Parkinson's disease. *J. Neural. Transm. Park. Dis. Dement. Sect. 3* : 203-13.
- LOZANO AM, DOSTROVSKY J, CHEN R et ASHBY P (2002) Deep brain stimulation for parkinson's disease: disrupting the disruption. *Lancet Neurol.* 1 : 225-31.
- LUSKIN MB et PRICE JL (1983) The topographic organization of associational fibers of the olfactory system in the rat, including centrifugal fibers to the olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.* 216 : 264-91.

- LUTHMAN J, BOLIOLI B, TSUTSUMI T, VERHOFSTAD A et JONSSON G (1987) Sprouting of striatal serotonin nerve terminals following selective lesions of nigro-striatal dopamine neurons in neonatal rat. *Brain Res. Bull.* 19 : 269-74.
- LYYTINEN J, KAAKKOLA S, AHTILA S, TUOMAINEN P et TERAVAINEN H (1997) Simultaneous MAO-B and COMT inhibition in L-Dopa-treated patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 12 : 497-505.

## M

- MACIVER MB, MIKULEC AA, AMAGASU SM et MONROE FA (1996) Volatile anesthetics depress glutamate transmission via presynaptic actions. *Anesthesiology* 85 : 823-34.
- MACKINNON CD, WEBB RM, SILBERSTEIN P, TISCH S, ASSELMAN P, LIMOUSIN P et ROTHWELL JC (2005) Stimulation through electrodes implanted near the subthalamic nucleus activates projections to motor areas of cerebral cortex in patients with parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci.* 21 : 1394-402.
- MACLEOD NK, JAMES TA, KILPATRICK IC et STARR MS (1980) Evidence for a GABAergic nigrothalamic pathway in the rat. II. Electrophysiological studies. *Exp. Brain Res.* 40 : 55-61.
- MACLEOD NK et JAMES TA (1984) Regulation of cerebello-cortical transmission in the rat ventromedial thalamic nucleus. *Exp. Brain Res.* 55 : 535-52.
- MAEDA T, KANNARI K, SUDA T et MATSUNAGA M (1999) Loss of regulation by presynaptic dopamine D2 receptors of exogenous L-DOPA-derived dopamine release in the dopaminergic denervated striatum. *Brain Res.* 817 : 185-91.
- MAEDA T, KANNARI K, SHEN H, ARAI A, TOMIYAMA M, MATSUNAGA M et SUDA T (2003) Rapid induction of serotonergic hyperinnervation in the adult rat striatum with extensive dopaminergic denervation. *Neurosci Lett.* 343 : 17-20.
- MAEDA T, NAGATA K, YOSHIDA Y et KANNARI K (2005) Serotonergic hyperinnervation into the dopaminergic denervated striatum compensates for dopamine conversion from exogenously administered L-DOPA. *Brain Res.* 1046 : 230-3.
- MAGARIÑOS-ASCONE C, PAZO JH, MACADAR O et BUÑO W (2002) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus silences subthalamic neurons: a possible cellular mechanism in Parkinson's disease. *Neuroscience* 115 : 1109-17.
- MAGILL PJ, BOLAM JP et BEVAN MD (2000) Relationship of activity in the subthalamic nucleus-globus pallidus network to cortical electroencephalogram. *J. Neurosci.* 20 : 820-33.
- MAGILL PJ, BOLAM JP et BEVAN MD (2001) Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *Neuroscience* 106 : 313-30.
- MÄNNISTÖ PT, ULMANEN I, LUNDSTRÖM K, TASKINEN J, TENHUNEN J, TILGMANN C et KAAKKOLA S (1992) Characteristics of catechol O-methyltransferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. *Prog. Drug Res.* 39 : 291-350.
- MANTZ J, LECHARNY JB, LAUDENBACH V, HENZEL D, PEYTAVIN G et DESMONTS JM (1995) Anesthetics affect the uptake but not the depolarization-evoked release of GABA in rat striatal synaptosomes. *Anesthesiology* 82 : 502-11.
- MARSDEN CD et OBESO JA (1994) The functions of the basal ganglia and the paradox of stereotaxic surgery in Parkinson's disease. *Brain* 117 : 877-97.
- MARSHALL JF et TEITELBAUM PA (1973) Comparison of the eating in response to hypothermic and glucoprivic challenges after nigral 6-hydroxydopamine and lateral hypothalamic electrolytic lesions in rats. *Brain Res.* 55 : 229-33.
- MARTIN DL et RIMVALL K (1993) Regulation of gamma-aminobutyric acid synthesis in the brain. *J. Neurochem.* 60 : 395-407.
- MARTIN JP (1927) Hemichorea resulting from a local lesion in the brain. *Brain* 50 : 637-51.
- MASLIAH E, ROCKENSTEIN E, VEINBERGS I, MALLORY M, HASHIMOTO M, TAKEDA A, SAGARA Y, SISK A et MUCKE L (2000) Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science* 287 : 1265-9.
- MASON GF, MARTIN DL, MARTIN SB, MANOR D, SIBSON NR, PATEL A, ROTHMAN DL et BEHAR KL (2001) Decrease in GABA synthesis rate in rat cortex following GABA-

- transaminase inhibition correlates with the decrease in GAD(67) protein. *Brain Res.* 914 : 81-91.
- MATA IF, LOCKHART PJ, FARRER MJ (2004) Parkin genetics: one model for Parkinson's disease. *Hum. Mol. Genet.* 13 Spec No 1 : R127-33.
- MATSUMOTO K, SHICHIJO F et FUKAMI T (1984) Long-term follow-up review of cases of Parkinson's disease after unilateral or bilateral thalamotomy. *J. Neurosurg.* 60 : 1033-44.
- MATSUOKA Y, VILA M, LINCOLN S, McCORMACK A, PICCIANO M et al (2001) lack of nigral pathology in transgenic mice expressing human alpha-synuclein driven by the tyrosine hydroxylase promoter. *Neurobiol. Dis.* 8 : 535-9.
- MAURICE N, DENIAU JM, GLOWINSKI J et THIERRY AM (1999) Relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat: physiology of the cortico-nigral circuits. *J. Neurosci.* 19 : 4674-81.
- MAURICE N, THIERRY AM, GLOWINSKI J et DENIAU JM (2003) Spontaneous and evoked activity of substantia nigra pars reticulata neurons during high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J. Neurosci.* 23 : 9929-36.
- McDOWELL FH et SWEET R (1975) Actions of dopaminergic agonists in parkinsonism. *Adv. Neurol.* 9 : 367-71.
- McGEORGE AJ et FAULL RLM (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29 : 503-37.
- McHAFFIE JG, JIANG H, MAY PJ, COIZET V, OVERTON PG, STEIN BE et REDGRAVE P (2006) A direct projection from superior colliculus to substantia nigra pars compacta in the cat. *Neuroscience* 138 : 221-34.
- McINTIRE SL, REIMER RJ, SCHUSKE K, EDWARDS RH et JORGENSEN EM. (1997) Identification and characterization of the vesicular GABA transporter. *Nature* 389 : 870-6.
- McINTYRE CC, SAVASTA M, KERKERIAN-LE GOFF L et VITEK JL (2004a) Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition, or both. *Clin. Neurophysiol.* 115 : 1239-48.
- McINTYRE CC, SAVASTA M, WALTER BL et VITEK JL (2004b) How does deep brain stimulation work? Present understanding and future questions. *J. Clin. Neurophysiol.* 21 : 40-50.
- McINTYRE CC, GRILL WM, SHERMAN DL et THAKOR NV (2004c) Cellular effects of deep brain stimulation: model-based analysis of activation and inhibition. *J. Neurophysiol.* 91 : 1457-69.
- McINTYRE CC, MORI S, SHERMAN DL, THAKOR NV et VITEK JL (2004d) Electric field and stimulating influence generated by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus. *Clin. Neurophysiol.* 115 : 589-95.
- MEISSNER W, REUM T, PAUL G, HARNACK D, SOHR R, MORGENSTERN R et KUPSCH A (2001) Striatal dopaminergic metabolism is increased by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Neurosci Lett.* 303 : 165-8.
- MEISSNER W, HARNACK D, PAUL G, REUM T, SOHR R, MORGENSTERN R et 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 : 105-8.
- MEISSNER W, HARNACK D, REESE R, PAUL G, REUM T, ANSORGE M, KUSSEROW H, WINTER C, MORGENSTERN R et KUPSCH A (2003) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus enhances striatal dopamine release and metabolism in rats. *J. Neurochem.* 85 : 601-9.
- MEISSNER W, LEBLOIS A, HANSEL D, BIOULAC B, GROSS CE, BENAZZOUZ A et BORAUD T (2005) Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain* 128 : 2372-82.
- MELAMED E, GLOBUS M, UZZAN A et ROSENTHAL J (1985) Is dopamine formed from exogenous L-dopa stored within vesicles in striatal dopaminergic nerve terminals: implications for L-dopa mechanism of action in Parkinson's disease. *Neurology* 35 : 118.

- MELTZER HY, CHAI BL, THOMPSON PA et YAMAMOTO BK (1994) Effect of scopolamine on the efflux of dopamine and its metabolites after clozapine, haloperidol or thioridazine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268 : 1452-61.
- MEREDITH GE, FARRELL T, KELLAGHAN P, TAN Y, ZAHM DS et TOTTERDELL S (1999) Immunocytochemical characterization of catecholaminergic neurons in the rat striatum following dopamine-depleting lesions. *Eur. J. Neurosci.* 11 : 3585-96.
- MESHUL CK, BUCKMAN JF, ALLEN C, RIGGAN JP et FELLER DJ (1996) Activation of corticostriatal pathway leads to similar morphological changes observed following haloperidol treatment. *Synapse* 22 : 350-61.
- MESHUL CK, EMRE N, NAKAMURA CM, ALLEN C, DONOHUE MK et BUCKMAN JF (1999) Time-dependent changes in striatal glutamate synapses following a 6-hydroxydopamine lesion. *Neuroscience* 88 : 1-16.
- MILLER DW et ABERCROMBIE ED (1999) Role of high-affinity dopamine uptake and impulse activity in the appearance of extracellular dopamine in striatum after administration of exogenous L-DOPA : studies in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *J. Neurochem.* 72 : 1516-22.
- MINK JW (1996) The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog. Neurobiol.* 50 : 381-425.
- MINTZ I, HAMMOND C, GUIBERT B et LEVIEL V (1986) Stimulation of the subthalamic nucleus enhances the release of dopamine in the rat substantia nigra. *Brain Res.* 376 : 406-8.
- MIYANO K, TANIFUJI Y et EGER EI 2<sup>ND</sup> (1993) The effect of halothane dose on striatal dopamine: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* 605 : 342-4.
- MIZOGUCHI K, YOKOO H, YOSHIDA M, TANAKA T et TANAKA M (1993) Dopamine formation from L-dopa administered exogenously is independent of dopaminergic neuronal activity: studies with in vivo microdialysis. *Brain Res.* 611 : 152-4.
- MOGENSEN GJ, CIRIELLO J, GARLAND J et WU M (1987) Ventral pallidum projections to mediodorsal nucleus of the thalamus: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *Brain Res.* 404 : 221-30.
- MOLINUEVO JL, VALLDEORIOLA F, TOLOSA E, RUMIA J VALLS-SOLE J, ROLDAN H et FERRER E (2000) Levodopa withdrawal after bilateral subthalamic nucleus stimulation in advanced Parkinson disease. *Arch. Neurol.* 57 : 983-8.
- MONTAGU KA (1957) Catechol compounds in rat tissues and in brains of different animals. *Nature* 180 : 244-5.
- MORI S, UEDA S, YAMAHA H, TAKINO T et SANO Y (1985) Immunohistochemical demonstration of serotonin nerve fibers in the corpus striatum of the rat, cat and monkey. *Anat. Embryol. (Berl.)* 173 : 1-5.
- MORO E, SCERRATI M, ROMITO LM, ROSELLI R, TONALI P et ALBANESE A (1999) Chronic subthalamic nucleus stimulation reduces medication requirements in Parkinson's disease. *Neurology* 53 : 85-90.
- MORO E, ESSELINK RJA, BENABID AL et POLLAK P (2002) Response to levodopa in parkinsonian patients with bilateral STN stimulation. *Brain* 125 : 2408-17.
- MOUKHLES H, BOSLER O, BOLAM JP, VALLEE A, UMBRIACO D, GEFFARD M et DOUCET G (1997) Quantitative and morphometric data indicate precise cellular interactions between serotonin terminals and postsynaptic targets in rat substantia nigra. *Neuroscience* 76 : 1159-71.
- MOUROUX M, HASSANI OK et FEGER J (1995) Electrophysiological study of the excitatory parafascicular projection to the subthalamic nucleus and evidence for ipsi- and contralateral controls. *Neuroscience* 67 : 399-407.
- MOUROUX M, HASSANI OK et FEGER J (1997) Electrophysiological and Fos immunohistochemical evidence for the excitatory nature of the parafascicular projection to the globus pallidus. *Neuroscience* 81 : 387-97.
- MUENTER MD et TYCE GM (1971) L-dopa therapy of Parkinson's disease: plasma L-dopa concentration, therapeutic response, and side effects. *Mayo Clin. Proc.* 46 : 231-9.

- MURA A, JACKSON D, MANLEY MS, YOUNG SJ et GROVES PM (1995) Aromatic L-amino acid decarboxylase immunoreactive cells in the rat striatum : a possible site for the conversion of exogenous l-dopa to dopamine. *Brain Res.* 704 : 51–60.
- MURA A, LINDER JC, YOUNG SJ et GROVES PM (2000) Striatal cells containing aromatic l-amino acid decarboxylase: an immunohistochemical comparison with other classes of striatal neurons. *Neuroscience* 98 : 501–11.
- MURER MG, RIQUELME LA, TSENG KY et PAZO JH (1997) Substantia nigra pars reticulata single unit activity in normal and 6OHDA-lesioned rats: effects of intrastriatal apomorphine and subthalamic lesions. *Synapse* 27 : 278-93.

## N

---

- NAITO A et KITA H (1994) The cortico-nigral projection in the rat: an anterograde tracing study with biotinylated dextran amine. *Brain Res.* 637 : 317-22.
- NAKAJIMA T, NIMURA T, YAMAGUCHI K, ANDO T, ITOH M, YOSHIMOTO T et SHIRANE R (2003) The impact of stereotactic pallidal surgery on the dopamine D2 receptor in Parkinson disease: a positron emission tomography study. *J. Neurosurg.* 98 : 57-63.
- NAKAMURA K, AHMED M, BARR E, LEIDEN JM et KANG UJ (2000) The localization and functional contribution of striatal aromatic L-amino acid decarboxylase to L-3,4-dihydroxyphenylalanine decarboxylation in rodent parkinsonian models. *Cell Transplant.* 9 : 567-76.
- NAKANISHI H, KITA H et KITAI ST (1987) Electrical membrane properties of rat subthalamic neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res.* 437 : 35-44.
- NAKANISHI H, KITA H et KITAI ST (1991) Intracellular study of rat entopeduncular nucleus neurons in an in vitro slice preparation: response to subthalamic stimulation. *Brain Res.* 549 : 285-91.
- NAUTA HJ et COLE M (1978) Efferent projections of the subthalamic nucleus: an autoradiographic study in monkey and cat. *J. Comp. Neurol.* 180 : 1-16.
- NG LK, CHASE TN, COLBURN RW et KOPIN IJ (1972) L-DOPA in parkinsonism: A possible mechanism of action. *Neurology* 22 : 688-96.
- NGUYEN JP et DEGOS JD (1993) Thalamic stimulation and proximal tremor. A specific target in the nucleus ventrointermedius thalami. *Arch. Neurol.* 50 : 498-500.
- NI Z, BOUALI-BENAZZOUC R, GAO D, BENABID AL et BENAZZOUC A (2000) Changes in the firing pattern of globus pallidus neurons after the degeneration of nigrostriatal pathway are mediated by the subthalamic nucleus in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 12 : 4338-44.
- NICHOLLS D et ATTWELL D (1990) The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol. Sci.* 11 : 462-8.
- NICHOLSON C et RICE ME (1991) Diffusion of ions and transmitters in the brain cell microenvironment. In K. Fuxe and L. F. Agnati (eds.), Volume Transmission in the Brain. Raven Press, New York, pp. 279-294.
- NIELSEN KM et 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 : 246-60.
- NIELSEN KM et SOGHOMONIAN JJ (2004) 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. *Neuroscience* 123 : 31-42.
- NIEOULLON A, SCARFONE E, KERKERIAN L, ERRAMI M et DUSTICIER N (1985) Changes in choline acetyltransferase, glutamic acid decarboxylase, high-affinity glutamate uptake and dopaminergic activity induced by kainic acid lesion of the thalamostriatal neurons. *Neurosci Lett.* 58 : 299-304.
- NIEOULLON A et KERKERIAN-LE GOFF L (1992) Cellular interactions in the striatum involving neuronal systems using "classical" neurotransmitters: possible functional implications. *Mov. Disord.* 7 : 311-25.

- NIKOLAUS S, LARISCH R, BEU M, FORUTAN F, VOSBERG H et MULLER-GARTNER HW (2003) Bilateral increase in striatal dopamine D2 receptor density in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat: a serial in vivo investigation with small animal PET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 30 : 390-5.
- NIMURA T, YAMAGUCHI K, ANDO T, SHIBUYA S, OIKAWA T, NAKAGAWA A, SHIRANE R, ITOH M et TOMINAGA T (2005) Attenuation of fluctuating striatal synaptic dopamine levels in patients with Parkinson disease in response to subthalamic nucleus stimulation: a positron emission tomography study. *J. Neurosurg.* 103 : 968-73.
- NITSCH C et RIESENBERG R (1995) Synaptic reorganisation in the rat striatum after dopaminergic deafferentation: an ultrastructural study using glutamate decarboxylase immunocytochemistry. *Synapse* 19 : 247-63.
- NUTT JG, WOODWARD WR, CARTER JH et GANCHER ST (1992) Effect of long-term therapy on the pharmacodynamics of levodopa. Relation to on-off phenomenon. *Arch. Neurol.* 49 : 1123-30.
- NUTT JG, CARTER JH et WOODWARD WR (1995) Long-duration response to levodopa. *Neurology* 45 : 1613-6.
- NUTT JG, CARTER JH, VAN HOUTEN L et WOODWARD WR (1997) Short- and long-duration responses to levodopa during the first year of levodopa therapy. *Ann. Neurol.* 42 : 349-55.

## O

- OADES RD et HALLIDAY GM (1987) Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res.* 434 : 117-65.
- OBESO JA, RODRIGUEZ MC et DELONG MR (1997) Basal ganglia pathophysiology. A critical review. *Adv. Neurol.* 74 : 3-18.
- OBESO JA, RODRIGUEZ-OROZ MC, RODRIGUEZ M, MACIAS R, ALVAREZ L, GURIDI J, VITEK J et DELONG MR (2000a) Pathophysiological basis of surgery for Parkinson's disease. *Neurology* 55, 12 Suppl 6 : S7-12.
- OBESO JA, RODRIGUEZ-OROZ MC, RODRIGUEZ M, ARBIZU J et GIMENEZ-AMAYA JM (2002) The basal ganglia and disorders of movement: pathophysiological mechanisms. *News Physiol. Sci.* 17 : 51-5.
- OBESO JA, RODRIGUEZ-OROZ MC, LANCIEGO JL et RODRIGUEZ DIAZ M (2004) How does Parkinson's disease begin? The role of compensatory mechanisms. *Trends Neurosci.* 27 : 125-7;
- OCHI M, SHIOZAKI S et KASE H (2004) L-DOPA-induced modulation of GABA and glutamate release in substantia nigra pars reticulata in a rodent model of Parkinson's disease. *Synapse* 52 : 163-5.
- OERTEL WH et MUGNAINI E (1984) Immunocytochemical studies of GABAergic neurons in rat basal ganglia and their relations to other neuronal systems. *Neurosci. Lett.* 47 : 233-8.
- OLANOW CW, HAUSER RA, GAUGER L, MALAPIRA T, KOLLER W, HUBBLE J, BUSHENBARK K, LILIENFELD D et ESTERLITZ J (1995) The effect of deprenyl and levodopa on the progression of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 38 : 771-7.
- OROSZ D et BENNETT JP (1992) Simultaneous microdialysis in striatum and substantia nigra suggests that the nigra is a major site of action of L-dihydroxyphenylalanine in the "hemiparkinsonian" rat. *Exp. Neurol.* 115 : 388-93.
- OSSOWSKA K, WARDAS J, SMIALOWSKA M, KUTER K et al. (2005) A slowly developing dysfunction of dopaminergic nigrostriatal neurons induced by long-term paraquat administration in rats: an animal model of preclinical stages of Parkinson's disease? *Eur. J. Neurosci.* 22 : 1294-304.
- OVTCHAROFF W (1992) Gamma-aminobutyric acid, glutamic acid decarboxylase and tyrosine hydroxylase in rat striatum demonstrated by single and dual immunocytochemistry. *J. Hirnforsch* 33 : 311-19.

**P**

- PAHWA R, WILKINSON SB, OVERMAN J et LYONS KE (2005) Preoperative clinical predictors of response to bilateral subthalamic stimulation in patients with Parkinson's disease. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 83 : 80-3.
- PALOMBO E, PORRINO LJ, BANKIEWICZ KS, CRANE AM, SOKOLOFF L et KOPIN IJ (1990) Local cerebral glucose utilization in monkeys with hemiparkinsonism induced by intracarotid infusion of the neurotoxin MPTP. *J. Neurosci.* 10 : 860-9.
- PARENT A (1990) Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 13 : 254-8.
- PARENT A et HAZRATI LN (1995a) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20 : 91-127.
- PARENT A et HAZRATI LN (1995b) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20 : 128-54.
- PARENT A et CICHETTI F (1998) The current model of basal ganglia organization under scrutiny. *Mov. Disord.* 13 : 199-202.
- PARK MR, FALLS WM et KITAI ST (1982) An intracellular HRP study of the rat globus pallidus. I. Responses and light microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 211 : 284-94.
- PARKES JD, BAXTER RC, MARSDEN CD et REES JE (1974) Comparative trial of benzhexol, amantadine, and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 37 : 422-6.
- PARKINSON STUDY GROUP (1996a) Effect of deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 321 : 1364-71.
- PARKINSON STUDY GROUP (1996b) Impact of deprenyl and tocopherol treatment in Parkinson's disease in DATATOP subjects requiring levodopa. *Ann. Neurol.* 39 : 37-45.
- PARTHASARATHY HB et GRAYBIEL AM (1997) Cortically driven immediate-early gene expression reflects modular influence on sensorimotor cortex on identified striatal neurons in the squirrel monkey. *J. Neurosci.* 17 : 2477-91.
- PASIK P, PASIK T, HOLSTEIN GR et HAMORI J (1988) GABAergic elements in the neuronal circuits of the monkey neostriatum: a light and electron microscopic immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 270 : 157-70.
- PATEL NK, HEYWOOD P, O'SULLIVAN K, MCCARTER R, LOVE S et GILL SS (2003) Unilateral subthalamotomy in the treatment of Parkinson's disease. *Brain* 126 : 1136-45.
- PAUL G, REUM T, MEISSNER W, MARBURGER A, SOHR R, MORGENSTERN R et KUPSCH A (2000) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus influences striatal dopaminergic metabolism in the naive rat. *Neuroreport* 11 : 441-4.
- PAXINOS G et WATSON C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. *Academic Press*, London.
- PAXINOS G (2004) The rat nervous system. 3<sup>rd</sup> Edition. *Elsevier Academic press*, London, San Diego.
- PEARSON JC, NORRIS JR et PHELPS CH (1985) Subclassification of neurons in the subthalamic nucleus of the lesser bushbaby (*Galago senegalensis*): a quantitative Golgi study using principal components analysis. *J. Comp. Neurol.* 238 : 323-39.
- PEREZ FA et PALMITER RD (2005) Parkin-deficient mice are not a robust model of parkinsonism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102 : 2174-9.
- PERKINS MN et STONE TW (1980) Subthalamic projections to the globus pallidus: an electrophysiological study in the rat. *Exp. Neurol.* 68 : 500-11.
- PHILLIPSON OT (1979) The cytoarchitecture of the interfascicular nucleus and ventral tegmental area of Tsai in the rat. *J. Comp. Neurol.* 187 : 85-98.
- PICCONI B, PISANI A, CENTONZE D, BATTAGLIA G, STORTO M, NICOLETTI F, BERNARDI G et CALABRESI P (2002) Striatal metabotropic glutamate receptor function following experimental parkinsonism and chronic levodopa treatment. *Brain* 125 : 2635-45.
- PICCONI B, CENTONZE D, ROSSI S, BERNARDI G et CALABRESI P (2004) Therapeutic doses of L-dopa reverse hypersensitivity of corticostriatal D2-dopamine receptors and glutamatergic overactivity in experimental parkinsonism. *Brain* 127 : 1661-9.



- PIN JP et ACHER F (2002) The metabotropic glutamate receptors: structure, activation mechanism and pharmacology. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 1 : 297-317.
- PINDER RM, BROGDEN RN, SAWYER PR, SPEIGHT TM et AVERY GS (1976) Levodopa and decarboxylase inhibitors: a review of their clinical pharmacology and use in the treatment of parkinsonism. *Drugs* 11 : 329-77.
- PLAYFORD ED et BROOKS DJ (1992) In vivo and in vitro studies of the dopaminergic system in movement disorders. *Cerebrovasc. Brain metab. Rev.* 4 : 144-71.
- PLENZ D et KITAI ST (1999) A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature* 400 : 677-82.
- PODELL M, HADJICONSTANTINOUM M, SMITH MA et NEFF NH (2003) Proton magnetic resonance imaging and spectroscopy identify metabolic changes in the striatum in the MPTP feline model of parkinsonism. *Exp. Neurol.* 179 : 159-66.
- POLLAK P, BENABID AL, GROSS C, GAO DM, LAURENT A, BENAZZOUZ A, HOFFMANN D, GENTIL M et PERRET J (1993) Effects of the stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Rev. Neurol. (Paris)* 149 : 175-6.
- POLLAK P, BENABID AL, LIMOUSIN P, BENAZZOUZ A, HOFFMANN D, LE BAS JF et PERRET J (1996) Subthalamic nucleus stimulation alleviates akinesia and rigidity in parkinsonian patients. *Adv. Neurol.* 69 : 591-4.
- POLLAK P, BENABID AL, LIMOUSIN P et BENAZZOUZ A (1997) Chronic intracerebral stimulation in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 74 : 213-20.
- PRENSA L, COSSETTE M et PARENT A (2000) Dopaminergic innervation of human basal ganglia. *J. Chem. Neuroanat.* 20 : 207-13.
- PYCOCK C, DAWBARN D et O'SHAUGHNESSY C (1982) Behavioural and biochemical changes following chronic administration of L-dopa to rats. *Eur. J. Pharmacol.* 79 : 201-15.

## **R**

---

- RAFOLS JA et FOX CA (1976) The neurons in the primate subthalamic nucleus: a Golgi and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 168 : 75-111.
- RAY CD et BURTON CV (1980) Deep brain stimulation for severe, chronic pain. *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)* 30 : 289-93.
- REDGRAVE P, COIZET V, McHAFFIE JG et OVERTON PG (2005) The superior colliculus is a major source of subcortical input to the subthalamic nucleus in the rat. Abstract 301.2. 35<sup>th</sup> annual Meeting of the Society for Neuroscience, 12-16 Novembre 2005, Washington DC, USA
- REID MS, HERRERA-MARSCHITZ M, KEHR J et UNGERSTEDT U (1990a) Striatal dopamine and glutamate release: effects of intranigral injections of substance P. *Acta Physiol. Scand.* 140 : 527-37.
- REID MS, O'CONNOR WT, HERRERA-MARSCHITZ M et UNGERSTEDT U (1990b) The effects of intranigral GABA and dynorphin A injections on striatal dopamine and GABA release: evidence that dopamine provides inhibitory regulation of striatal GABA neurons via D2 receptors. *Brain Res.* 519 : 255-60.
- REINER A et ANDERSON KD (1990) The patterns of neurotransmitter and neuropeptide co-occurrence among striatal projection neurons: conclusions based on recent findings. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 15 : 251-65.
- REINER A, MEDINA L et HABER SN (1999) The distribution of dynorphinergic terminals in striatal target regions in comparison to the distribution of substance P-containing and enkephalinergic terminals in monkeys and humans. *Neuroscience* 88 : 775-93.
- REINER A, JIAO Y, DEL MAR N, LAVERGHETTA AV et LEI WL (2003) Differential morphology of pyramidal-tract type and intratelencephalically-projecting type corticostriatal neurons and their intrastriatal terminals in rats. *J. Comp. Neurol.* 457: 420-40.
- RIACHI NJ, HARIK SI, KALARIA RN et SAYRE LM (1988) On the mechanisms underlying 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity. II. Susceptibility among mammalian species correlates with the toxin's metabolic patterns in brain microvessels and liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244 : 443-8.

- RICARDO JA (1980) Efferent connections of the subthalamic region in the rat. I. The subthalamic nucleus of Luys. *Brain Res.* 202 : 257-71.
- RICAURTE GA, IRWIN I, FORNO LS, DELANNEY LE, LANGSTON E et LANGSTON JW (1987) Aging and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra. *Brain Res.* 403 : 43-51.
- RIEDERER P, LANGE KW, KORNHUBER J et JELLINGER K (1991) Glutamate receptor antagonism: neurotoxicity, anti-akinetic effects, and psychosis. *J. Neural Transm. Suppl.* 34 : 203-10.
- RINVIK E et OTTERSEN OP (1993) Terminals of subthalamonigral fibres are enriched with glutamate-like immunoreactivity: an electron microscopic, immunogold analysis in the cat. *J. Chem. Neuroanat.* 6 : 19-30.
- RIZZONE M, LANOTTE M, BERGAMASCO B, TAVELLA A, TORRE E, FACCANI G, MELCARNE A et LOPIANO L (2001) Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: effects of variation in stimulation parameters. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 71 : 215-9.
- ROBELET S, MELON C, GUILLET B, SALIN P et 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 : 1255-66.
- ROBINSON TE et WHISHAW IQ (1988) Normalization of extracellular dopamine in striatum following recovery from a partial unilateral 6-OHDA dopamine lesion of the substantia nigra: a microdialysis study in freely moving rats. *Brain Res.* 450 : 209-24.
- ROBLEDO P et FEGER J (1990) Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidal complex: electrophysiological data. *Brain Res.* 518 : 47-54.
- RODRIGUEZ M et GONZALEZ-HERNANDEZ T (1999) Electrophysiological and morphological evidence for a GABAergic nigrostriatal pathway. *J. Neurosci.* 19 : 4682-94.
- RODRIGUEZ MC, GURIDI OJ, ALVAREZ L, MEWES K, MACIAS R, VITEK J, DELONG MR et OBESO JA (1998) The subthalamic nucleus and tremor in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 13 Suppl 3 : 111-8.
- ROEDTER A, WINKLER C, SAMII M, WALTER GF, BRANDIS A et NIKKHAH G (2001) Comparison of unilateral and bilateral intrastriatal 6-hydroxydopamine-induced axon terminal lesions: evidence for interhemispheric functional coupling of the two nigrostriatal pathways. *J. Comp. Neurol.* 432 : 217-29.
- ROGAWSKI MA (1993) Therapeutic potential of excitatory amino acid antagonists: channel blockers and 2,3-benzodiazepines. *Trends Pharmacol. Sci.* 14 : 325-31.
- ROSALES MG, MARTINEZ-FONG D, MORALES R, NUNEZ A, FLORES G, GONGORA-ALFARO JL, FLORAN B et ACEVES J (1997) Reciprocal interaction between glutamate and dopamine in the pars reticulata of the rat substantia nigra: a microdialysis study. *Neuroscience* 80 : 803-10.
- ROTH RH (1979) Dopamine autoreceptors: pharmacology, function and comparison with post-synaptic dopamine receptors. *Commun Psychopharmacol.* 3 : 429-45.
- ROTH RH (1984) CNS dopamine autoreceptors: distribution, pharmacology, and function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 430 : 27-53.
- ROUZAIRE-DUBOIS B et SCARNATI E (1985) Bilateral corticosubthalamic nucleus projections: an electrophysiological study in rats with chronic cerebral lesions. *Neuroscience* 15 : 69-79.
- RUSSMANN H, GHIKA J, COMBREMONT P, VILLEMURE JG, BOGOUSSLAVSKY J, BURKHARD PR et VINGERHOETS FJ (2004) L-dopa-induced dyskinesia improvement after STN-DBS depends upon medication reduction. *Neurology* 63 : 153-5.
- RYAN LJ, SANDERS DJ et CLARK KB (1992) Auto- and cross-relation analysis of subthalamic nucleus neuronal activity in neostriatal- and globus pallidal-lesioned rats. *Brain Res.* 583 : 253-61.

---

**S**

- SABETI J, GERHARDT GA et ZAHNISER NR (2003) Chloral hydrate and ethanol, but not urethane, alter the clearance of exogenous dopamine recorded by chronoamperometry in striatum of

- unrestrained rats. *Neurosci. Lett.* 343 : 9-12.
- SADIKOT AF, PARENT A, SMITH Y et 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 : 228-42.
- SAGER TN, LAURSEN H, FINK-JENSEN A, TOPP S, STENSGAARD A, HEDEHUS M et al. (1999) N-Acetylaspartate distribution in rat brain striatum during acute brain ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 19 : 164-72.
- SAGNE C, EL MESTIKAWY S, ISAMBERT MF, HAMON M, HENRY JP, GIROS B et GASNIER B (1997) Cloning of a functional vesicular GABA and glycine transporter by screening of genome databases. *FEBS Lett.* 417 : 177-83.
- SALIN P, MANRIQUE C, FORNI C et 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 : 5137-48.
- SANCHEZ-PRIETO J, SIHRA TS et NICHOLLS DG (1987) Characterization of the exocytotic release of glutamate from guinea-pig cerebral cortical synaptosomes. *J. Neurochem.* 49 : 58-64.
- SARRE S, VANDENEDE D, EBINGER G ET MICHOTTE Y (1998) Biotransformation of L-Dopa to dopamine in the substantia nigra of freely moving rats: effects of dopamine receptors agonists and antagonists. *J. Neurochem.* 70 : 1730-9.
- SARRE S, YUAN H, JONKERS N, VAN HEMELRIJCK A, EBINGER G et MICHOTTE Y (2004) In vivo characterization of somatodendritic dopamine release in the substantia nigra of 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *J. Neurochem.* 90 : 29-39.
- SATO F, PARENT M, LEVESQUE M et PARENT A (2000) Axonal branching pattern of neurons of the subthalamic nucleus in primates. *J. Comp. Neurol.* 424 : 142-52.
- SAVASTA M, DUBOIS A, BENAVIDES J et SCATTON B (1988) Different plasticity changes in D1 and D2 receptors in rat striatal subregions following impairment of dopaminergic transmission. *Neurosci. Lett.* 85 : 119-24.
- SAVASTA M, WINDELS F, BRUET N, BERTRAND A et 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. Pp 581-90.
- SCATTON B et LEHMANN J (1982) N-methyl-C-aspartate-type receptors mediate striatal 3H-acetylcholine release evoked by excitatory amino acids. *Nature* 297 : 422-4.
- SCHACHTER M, MARSDEN CD, PARKES JD, JENNER P et TESTA B (1980) Deprenyl in the management of response fluctuations in patients with Parkinson's disease on levodopa. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 43 : 1016-21.
- SCHAPIRA AH (2006) Etiology of Parkinson's disease. *Neurology* 66 (10 Suppl 4) : S10-23.
- SCHMUED L, PHERMSANGNGAM P, LEE H, THIO S, CHEN E et al. (1989) Collateralization and GAD immunoreactivity of descending pallidal efferents. *Brain Res.* 487 : 131-42.
- SCHULTZ W et UNGERSTEDT U (1978) Short-term increase and long-term reversion of striatal cell activity after degeneration of the nigrostriatal dopamine system. *Exp. Brain Res.* 33 : 159-71.
- SCHUURMAN PR, BOSCH DA, BOSSUYT PM, BONSEL GJ, VAN SOMEREN EJ, DE BIE RM, MERKUS MP et SPEELMAN JD (2000) A comparison of continuous thalamic stimulation and thalamotomy for suppression of severe tremor. *N. Engl. J. Med.* 342 : 461-8.
- SCHWARTING RK et HUSTON JP (1996a) The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog. Neurobiol.* 50 : 275-331.
- SCHWARTING RK et HUSTON JP (1996b) Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog. Neurobiol.* 49 : 215-66.
- SCHWARZ J (2003) Rationale for dopamine agonist use as monotherapy in Parkinson's disease. *Curr. Opin. Neurol.* 16, Suppl 1 : S27-33.

- SCIGLIANO G, MUSICCO M, SOLIVERI P, PICCOLO I, GIROTTI F, GIOVANNINI P et CARACENI T (1990) Mortality associated with early and late levodopa therapy initiation in Parkinson's disease. *Neurology* 40 : 265-9.
- SEGOVIA J, TILLAKARATNE NJK, WHELAN K, TOBIN AJ et GALE K (1990) Parallel increases in striatal glutamic acid decarboxylase activity and mRNA levels in rats with lesions of nigrostriatal pathway. *Brain Res.* 529 : 345-8.
- SEMBA J, KITO S et TORU M (1995) Characterisation of extracellular amino acids in striatum of freely moving rats by in vivo microdialysis. *J. Neural. Transm. Gen. Sect.* 100 : 39-52.
- SHIGERI Y, SEAL RP et SHIMAMOTO K (2004) Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs. *Brain Res Brain Res Rev.* 45 : 250-65.
- SHINK E, BEVAN MD, BOLAM JP et 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. *Neuroscience* 73 : 335-7.
- SIDIBE M et SMITH Y (1996) Differential synaptic innervation of striatofugal neurones projecting to the internal or external segments of the globus pallidus by thalamic afferents in the squirrel monkey. *J. Comp. Neurol.* 365 : 445-65.
- SIDIBE M, PARE JF et SMITH Y (2002) Nigral and pallidal inputs to functionally segregated thalamostriatal neurons in the centromedian/parafascicular intralaminar nuclear complex in monkey. *J. Comp. Neurol.* 447 : 286-99.
- SIEGFRIED J et LIPPITZ B (1994) Bilateral chronic electrostimulation of ventroposterolateral pallidum: a new therapeutic approach for alleviating all parkinsonian symptoms. *Neurosurgery* 35 : 1126-9 ; discussion 1129-30.
- SILVA I, CORTES H, ESCARTIN E, RANGEL C, FLORAN L, ERLIJ D, ACEVES J et FLORAN B (2006) L-DOPA inhibits depolarization-induced [(3)H]GABA release in the dopamine-denervated globus pallidus of the rat: the effect is dopamine independent and mediated by D2-like receptors. *J. Neural. Transm.* 13 : 1847-53.
- SIRINATHSINGHI DJ, WHITTINGTON PE et AUDSLEY AR (1986) Neurochemical changes in the substantiae nigrae and caudate nuclei following acute unilateral intranigral infusions of N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Brain Res.* 399 : 339-45.
- SMITH ID et GRACE AA (1992) Role of the subthalamic nucleus in the regulation of nigral dopamine neuron activity. *Synapse* 12 : 287-303.
- SMITH Y, PARENT A, SEGUELA P et DESCARRIES L (1987) Distribution of GABA-immunoreactive neurons in the basal ganglia of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *J. Comp. Neurol.* 259 : 50-64.
- SMITH Y et BOLAM JP (1989) Neurons of the substantia nigra reticulata receive a dense GABA-containing input from the globus pallidus in the rat. *Brain Res.* 493 : 160-7.
- SMITH Y et BOLAM JP (1990a) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *Trends Neurosci.* 13 : 256-69.
- SMITH Y et BOLAM JP (1990b) The output neurones and the dopaminergic neurones of the substantia nigra receive a GABA-containing input from the globus pallidus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 296 : 47-64.
- SMITH Y, BOLAM JP, VON KROSIGK M (1990) Topographical and synaptic organization of the GABA-containing pallidosubthalamic projection in the rat. *Eur J Neurosci.* 2 : 500-11.
- SMITH Y et 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. *Neuroscience* 44 : 45-73.
- SMITH Y, BENNETT BD, BOLAM JP, PARENT A et SADIKOT AF (1994a) Synaptic relationships 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, WICHMANN T et DELONG MR (1994b) Synaptic innervation of neurones in the internal pallidal segment by the subthalamic nucleus and the external pallidum in monkeys. *J. Comp. Neurol.* 343 : 297-318.
- SMITH Y, SHINK E et SIDIBE M (1998) Neuronal circuitry and synaptic connectivity of the basal ganglia. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 9 : 203-22.

- SMITH Y et KIEVAL JZ (2000) Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 23 : S28-33.
- SMITH Y, RAJU DV, PARE JF et SIDIBE M (2004) The thalamostriatal system: a highly specific network of the basal ganglia circuitry. *TINS* 27 : 520-7.
- SNYDER AM, ZIGMOND MJ et LUND RD (1986) Sprouting of serotonergic afferents into striatum after dopamine-depleting lesions in infant rats: a retrograde transport and immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 245 : 274-81.
- SNYDER GL, KELLER RW Jr et ZIGMOND MJ (1990) Dopamine efflux from striatal slices after intracerebral 6- hydroxydopamine: evidence for compensatory hyperactivity of residual terminals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 253 : 867-76.
- SOGHOMONIAN JJ, PEDNEAULT S, BLANCHET PJ, GOULET M, DI PAOLO T et BEDARD PJ (1996) L-DOPA regulates glutamate decarboxylases mRNA levels in MPTP-treated monkeys. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 39 : 237-40.
- SOGHOMONIAN JJ et MARTIN DL (1998) Two isoforms of glutamate decarboxylase: why? *Trends Pharmacol. Sci.* 19 : 500-5.
- SOLTIS RP, ANDERSON LA, WALTERS JR et KELLAND MD (1994) A role for non-NMDA excitatory amino acid receptors in regulating the basal activity of rat globus pallidus neurons and their activation by the subthalamic nucleus. *Brain Res.* 666 : 21-30.
- SOMOYI P, BOLAM JP et SMITH AD (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-peroxydase transport degeneration procedure. *J. Comp. Neurol.* 195 : 567-84.
- SORENSEN KE et WITTER MP (1983) Entorhinal efferents reach the caudate-putamen. *Neurosci. Lett.* 35 : 259-64.
- SPANN BM et GROFOVA I (1992) Cholinergic and non-cholinergic neurons in the rat pedunculopontine tegmental nucleus. *Anat Embryol (Berl).* 186 : 215-27.
- STACHOWIAK MK, KELLER RW Jr, STRICKER EM et ZIGMOND MJ (1987) Increased dopamine efflux from striatal slices during development and after nigrostriatal bundle damage. *J. Neurosci.* 7 : 1648-54.
- STAHLE L, COLLIN AK et UNGERSTEDT U (1990) Effects of halothane anaesthesia on extracellular levels of dopamine, dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid and 5-hydroxyindolacetic acid in rat striatum: a microdialysis study. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 342 : 136-40.
- STAINES WA , ATMADJA S et FIBIGER HC (1981) Demonstration of a pallidostriatal pathway by retrograde transport of HRP-labelled lectin. *Brain Res.* 206 : 446-50.
- STAINES WA et FIBIGER HC (1984) Collateral projections of neurons of the rat globus pallidus to the striatum and substantia nigra. *Exp. Brain Res.* 56 : 217-20.
- STALEY KJ, SOLDI BL et PROCTOR WR (1995) Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABAA receptors. *Science* 269: 977-81.
- STARR MS (1995) Glutamate/dopamine D1/D2 balance in the basal ganglia and its relevance to Parkinson's disease. *Synapse* 19 : 264-93.
- STEECE-COLLIER K, MARIES E et KORDOWER JH (2002) Etiology of Parkinson's disease: genetics and environment revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 13972-4.
- STEPHENSON DT, LI Q, SIMMONS C, CONNELL MA, MEGLASSON MD, MERCHANT K et EMBORG ME (2005) Expression of GAD65 and GAD67 immunoreactivity in MPTP-treated monkeys with or without L-DOPA administration. *Neurobiol. Dis.* 20 : 347-59.
- STOOF JC et KEBABIAN JW (1984) Two dopamine receptors : biochemistry, physiology and pharmacology. *Life Sci.* 35 : 2281-96.
- STRAFELLA AP, PAUS T, FRARACCIO M et DAGHER A (2003a) Striatal dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation of the human cortex. *Brain* 126 : 2609-15.
- STRAFELLA AP, SADIKOT AF et DAGHER A (2003b) Subthalamic deep brain stimulation does not induce striatal dopamine release in Parkinson's disease. *Neuroreport* 14 : 1287-9.
- SUGIMOTO T et HATTORI T (1983) Confirmation of thalamosubthalamic projections by electron microscopic autoradiography. *Brain Res.* 267 : 335-9.

**T**

- TAI CH, BORAUD T, BEZARD E, BIOULAC B, GROSS C et 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 : 1820-30.
- TAKADA M, LI ZK et HATTORI T (1987) Long descending direct projection from the basal ganglia to the spinal cord: a revival of the extrapyramidal concept. *Brain Res.* 436 : 129-35.
- TAKADA M, NISHIHAMA MS, NISHIHAMA CC et HATTORI T (1988) Two separate neuronal populations of the rat subthalamic nucleus project to the basal ganglia and pedunculo-pontine tegmental region. *Brain Res.* 442 : 72-80.
- TANAKA H, KANNARI K, MAEDA T, TOMIYAMA M SUDA T et MATSUNAGA M (1999) Role of serotonergic neurons in L-DOPA-derived extracellular dopamine in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. *Neuroreport* 10 : 631-4.
- TANAKA Y, NIJIMA K, MIZUNO Y et YOSHIDA M (1986) Changes in gamma-aminobutyrate, glutamate, aspartate, glycine and taurine contents in the striatum after unilateral nigrostriatal lesions in rat. *Exp. Neurol.* 91 : 259-68.
- TASHIRO Y, SUGIMOTO T, HATTORI T, UEMURA Y et al. (1989a) Tyrosine hydroxylase-like immunoreactive neurons in the striatum of the rat. *Neurosci. Lett.* 97 : 6-10.
- TASHIRO Y, KANEKO T, SUGIMOTO T, NAGATSU I et al. (1989b) Striatal neurons with aromatic L-amino acid decarboxylase-like immunoreactivity in the rat. *Neurosci. Lett.* 100 : 29-34.
- TEPPER JM, SAWYER SF, GROVES PM (1987) Electrophysiologically identified nigral dopaminergic neurons intracellularly labeled with HRP: light-microscopic analysis. *J. Neurosci.* 7 : 2794-806.
- TEPPER JM, MARTIN LP et ANDERSON DR (1995) GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition of rat substantia nigra dopaminergic neurons by pars reticulata projection neurons. *J. Neurosci.* 15 : 3092-103.
- THIERRY AM, BLANC G, SOBEL A, STINUS L et GLOWINSKI J (1973) Dopaminergic terminals in the rat cortex. *Science* 182 : 499-501.
- THOBOIS S, MERTENS P, GUENOT M, HERMIER M, MOLLION H, BOUVARD M, CHAZOT G, BROUSSOLLE E et SINDOU M (2002) Subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: clinical evaluation of 18 patients. *J. Neurol.* 249 : 529-34.
- THOBOIS S, FRAIX V, SAVASTA M, COSTES N, POLLAK P, MERTENS P, KOUDSIE A, LE BARS D, BENABID AL et BROUSSOLLE E (2003) Chronic subthalamic nucleus stimulation and striatal D2 dopamine receptors in Parkinson's disease. A [(11)C]-raclopride PET study. *J. Neurol.* 250 : 1219-23.
- THOBOIS S, DELAMARRE-DAMIER F et DERKINDEREN P (2005) Treatment of motor dysfunction in Parkinson's disease: an overview. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 107 : 269-81.
- TIMMERMAN W et WESTERINK BH (1997) Electrical stimulation of the substantia nigra reticulata: detection of neuronal extracellular GABA in the ventromedial thalamus and its regulatory mechanism using microdialysis in awake rats. *Synapse* 26 : 62-71.
- TISON F, MONS N, GEFFARD M et HENRY P (1991) The metabolism of exogenous L-dopa in the brain: an immunohistochemical study of its conversion to dopamine in non-catecholaminergic cells of the rat brain. *J. Neural Transm. Park. Dis. Dement. Sect.* 3 : 27-39.
- TOKUNO H, TAKADA M, IKAI Y et MIZUNO N (1994) Direct projections from the deep layers of the superior colliculus to the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res.* 639 : 156-60.
- TORSTENSON R, HARTVIG P, LANGSTROM B, WESTERBERG G et TEDROFF J (1997) Differential effects of levodopa on dopaminergic function in early and advanced Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 41 : 334-40.
- TOUCHON JC, MOORE C, FREDERICKSON J et MESHUL CK (2004) Lesion of subthalamic or motor thalamic nucleus in 6-hydroxydopamine-treated rats: effects on striatal glutamate and apomorphine-induced contralateral rotations. *Synapse* 51 : 287-98.

TSUMORI T, YOKOTA S, LAI H et YASUI Y (2000) Monosynaptic and disynaptic projections from the substantia nigra pars reticulata to the parafascicular thalamic nucleus in the rat. *Brain Res.* 858 : 429-35.

## U

---

UHL GR et JOHNSON PS (1994) Neurotransmitter transporters: three important gene families for neuronal function. *J. Exp. Biol.* 196 : 229-36.

UITTI RJ (1998) Medical treatment of essential tremor and Parkinson's disease. *Geriatrics* 53 : 46-8, 53-7.

UNGERSTEDT U (1968) 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 5 : 107-10.

UNGERSTEDT U (1971a) Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367 : 69-93.

UNGERSTEDT U (1971b) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367 : 1-48.

## V

---

VAN DER KOOY D (1979) The organization of the thalamic, nigral and raphe cells projecting to the medial vs lateral caudate-putamen in rat. A fluorescent retrograde double labeling study. *Brain Res.* 169 : 381-7.

VAN DER KOOY D et HATTORI T (1980a) Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra: a fluorescent retrograde double labeling study in the rat. *Brain Res.* 186:1-7.

VAN DER KOOY D et HATTORI T (1980b) Single subthalamic nucleus neurons project to both the globus pallidus and substantia nigra in rat. *J Comp Neurol.* 192 : 751-68.

VAN DER PUTTEN H, WIEDERHOLD KH, PROBST A, BARBIERI S et al. (2000) Neuropathology in mice expressing human alpha-synuclein. *J. Neurosci.* 20 : 6021-9.

VAN DER WERF YD, WITTER MP et GROENEWEGEN HJ (2002) The intralaminar and midline nuclei of the thalamus. Anatomical and functional evidence for participation in processes of arousal and awareness. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 39 : 107-40.

VEENING JG, CORNELISSEN FM et LIEVEN PA (1980) The topical organization of the afferents to the caudatoputamen of the rat. A horseradish peroxidase study. *Neuroscience* 5 : 1253-68.

VERNIER P, JULIEN JF, RATABOUL P, FOURRIER O, FEUERSTEIN C et MALLET J (1988) Similar time course changes in striatal levels of glutamic acid decarboxylase and proenkephalin mRNA following dopaminergic deafferentation in the rat. *J. Neurochem.* 51 : 1375-80.

VILA M, LEVY R, HERRERO MT, RUBERG M, FAUCHEUX B, OBESO JA, AGID Y et 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 : 765-73.

VILA M, PERIER C, FEGER J, YELNIK J, FAUCHEUX B, RUBERG M, RAISMAN-VOZARI R, AGID Y et 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 : 337-44.

VINGERHOETS FJ, VILLEMURE JG, TEMPERLI P, POLLO C, PRALONG E et GHIKA J (2002) Subthalamic DBS replaces levodopa in Parkinson's disease: two-year follow-up. *Neurology* 58 : 396-401.

VITEK JL (2002b) Mechanisms of deep brain stimulation: excitation or inhibition. *Mov. Disord.* 17, suppl 3 : 69-72.

VON COELLN R, THOMAS B, SAVITT JM, LIM KL et al. (2004) Loss of locus coeruleus neurons and reduced startle in parkin null mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101 : 10744-9.

- VOORN P, JORRITSMA-BYHAM B, VAN DIJK C et BUIJS RM (1986) The dopaminergic innervation of the ventral striatum in the rat: a light- and electron-microscopical study with antibodies against dopamine. *J. Comp. Neurol.* 251 : 84-99.
- VUILLET J, KERKERIAN L, KACHIDIAN P, BOSLER O et NIEOULLON A (1989) Ultrastructural correlates of functional relationships between nigral dopaminergic or cortical afferent fibers and neuropeptide Y-containing neurons in the rat striatum. *Neurosci. Lett.* 100: 99-104.

## W

- WALTERS AS, KATCHEN M, FLEISHMAN J, CHOKROVERTY S et DUVOISIN R (1987) Role of the basal ganglia and cerebral cortex in tardive dyskinesia: evidence from cerebrovascular accident. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 50 : 367-8.
- WELTER ML, HOUETO JL, TEZENAS DU MONTCEL S, MESNAGE V, BONNET AM, PILLON B, ARNULF I, PIDOUX B, DORMONT D, CORNU P et AGID Y (2002) Clinical predictive factors of subthalamic stimulation in Parkinson's disease. *Brain* 125 : 575-83.
- WESTBY GW, COLLINSON C, REDGRAVE P et DEAN P (1994) Opposing excitatory and inhibitory influences from the cerebellum and basal ganglia converge on the superior colliculus: an electrophysiological investigation in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 6 : 1335-42.
- WESTPHALEN RI et HEMMINGS HC Jr (2006) Volatile anesthetic effects on glutamate versus GABA release from isolated rat cortical nerve terminals: basal release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 316 : 208-15.
- WESTERINK BH et KORF J (1976) Comparison of effects of drugs on dopamine metabolism in the substantia nigra and the corpus striatum of rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 40 : 131-6.
- WESTERINK BH et SPAAN SJ (1982) Estimation of the turnover of 3-methoxytyramine in the rat striatum by HPLC with electrochemical detection: implications for the sequence in the cerebral metabolism of dopamine. *J. Neurochem.* 38 : 342-7.
- WESTERINK BH (1985) Sequence and significance of dopamine metabolism in the rat brain. *Neurochem. Int.* 2 : 221-7
- WESTERINK BH et VAN PUTTEN FM (1987) Simultaneous determination of the rates of synthesis and metabolism of dopamine in various areas of the rat brain: application to the effects of (+)-amphetamine. *Eur. J. Pharmacol.* 133 : 103-10.
- WESTERINK BH, DAMSMA G et DE VRIES JB (1989) Effect of ouabain applied by intrastriatal microdialysis on the in vivo release of dopamine, acetylcholine, and amino acids in the brain of conscious rats. *J. Neurochem.* 52 : 705-12.
- WHITTIER JR (1947) Ballism and the subthalamic nucleus. *Arch. Neurol. Psychiatr.* 58 : 672-92.
- WHITTIER JR et METTLER FA (1949) Studies of the subthalamic nucleus of the rhesus monkey. II. Hyperkinesia and other physiologic effects of the subthalamic lesions, with special reference to the subthalamic nucleus of Luys. *J. Comp. Neurol.* 90 : 319-72.
- WILSON CJ et GROVES PM (1980) Fine structure and synaptic connections of the common spiny neuron of the rat striatum: a study employing intracellular inject of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 194 : 599-615.
- WILSON CJ et PHELAN KD (1982) Dual topographic representation of neostriatum in the globus pallidus of rats. *Brain Res.* 243 : 354-9.
- WILSON CJ (1987) Morphology and synaptic connections of crossed corticostriatal neurons in the rat. *J Comp Neurol* 263 : 567-80.
- WINDELS F, BRUET N, POUPARD A, URBAIN N, CHOUVET G, FEUERSTEIN C et 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 : 4141-6.
- WINDELS F (2001) Etude par microdiayse des variations de glutamate et de GABA dans la substance noire et le globus pallidus induites par la stimulation électrique du noyau subthalamique chez le rat. Thèse de doctorat de Neurosciences soutenue le 12 juillet 2001, Université Joseph Fourier, Grenoble.



- WINDELS F, BRUET N, POUPARD A, FEUERSTEIN C, BERTRAND A et 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 : 259-67.
- WINDELS F, CARCENAC C, POUPARD A et 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 : 5079-86.
- WONG PT, TEO WL et LEE T (1993) A microdialysis study on striatal dopamine, 5-HT and metabolites in conscious rats after various treatments: evidence for extravesicular release of dopamine. *Neuroreport* 5 : 53-6.
- WRIGHT AK, NORRIE L, INGHAM CA, HUTTON AM et ARBUTHNOTT GW (1999) Double anterograde tracing of the outputs from adjacent "barrel columns" of rat somatosensory cortex neostriatal projection patterns and terminal ultrastructure. *Neuroscience* 88 : 119-33.
- WRIGHT AK, RAMANTHAN S et ARBUTHNOTT GW (2001) Identification of the source of the bilateral projection system from cortex to somatosensory neostriatum and an exploration of its physiological actions. *Neuroscience* 103 : 87-96.
- WU Y, RICHARD S et PARENT A (2000) The organization of the striatal output system: a single-cell juxtacellular labeling study in the rat. *Neurosci. Res.* 38 : 49-62.

## Y

---

- YASOSHIMA Y, KAI N, YOSHIDA S, SHIOSAKA S, KOYAMA Y, KAYAMA Y et KOBAYASHI K (2005) Subthalamic neurons coordinate basal ganglia function through differential neural pathways. *J. Neurosci.* 25 : 7743-53.
- YASUKAWA T, KITA T, XUE Y et KITA H (2004) Rat intralaminar thalamic nuclei projections to the globus pallidus: a biotinylated dextran amine anterograde tracing study. *J. Comp. Neurol.* 471 : 153-67.
- YELNIK J et PERCHERON G (1979) Subthalamic neurons in primates: a quantitative and comparative analysis. *Neuroscience* 4 : 1717-43.
- YELNIK J, FRANCOIS C, PERCHERON G et TANDE D (1991) Morphological taxonomy of the neurons of the primate striatum. *J. Comp. Neurol.* 313 : 273-94.
- YEN CL, MAR MH et ZEISEL SH (1999) Choline deficiency-induced apoptosis in PC12 cells is associated with diminished membrane phosphatidylcholine and sphingomyelin, accumulation of ceramide and diacylglycerol, and activation of a caspase. *FASEB J.* 13 : 135-42.
- YEN CL, MAR MH, MEEKER RB, FERNANDES A et ZEISEL SH (2001) Choline deficiency induces apoptosis in primary cultures of fetal neurons. *FASEB J.* 15 : 1704-10.
- YUNG KK, SMITH AD, LEVEY AI et 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 : 861-9.

## Z

---

- ZAPPIA M, OLIVERI RL, MONTESANTI R, RIZZO M, BOSCO D, PLASTINO M et al. (1999) Loss of long-duration response to levodopa over time in PD: implications for wearing-off. *Neurology* 52 : 763-7.
- ZENG BY, JOLKKONEN J, JENNER P et 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. *Neuroscience* 66 : 19-28.
- ZETTERSTROM T, SHARP T, COLLIN AK et UNGERSTEDT U (1988) In vivo measurement of extracellular dopamine and DOPAC in rat striatum after various dopamine-releasing drugs; implications for the origin of extracellular DOPAC. *Eur. J. Pharmacol.* 148 : 327-34.

- ZETTERSTROM RH, SOLOMIN L, JANSSON L, HOFFER BJ et al. (1997) Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 276 : 248–50.
- ZHOU FC, BLEDSOE S et MURPHY J (1991) Serotonergic sprouting is induced by dopamine-lesion in substantia nigra of adult rat brain. *Brain Res.* 556 : 108-16.
- ZIGMOND MJ, ACHESON AL, STACHOWIAK MK et STRICKER EM (1984) Neurochemical compensation after nigrostriatal bundle injury in an animal model of preclinical parkinsonism. *Arch. Neurol.* 41 : 856–61.
- ZIGMOND MJ, BERGER TW, GRACE AA et STRICKER EM (1989) Compensatory responses to nigrostriatal bundle injury. Studies with 6-hydroxydopamine in an animal model of parkinsonism. *Mol. Chem. Neuropathol.* 10 : 185-200.
- ZIGMOND MJ, ABERCROMBIE ED, GRACE AA et STRICKER EM (1990) Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications. *Trends Neurosci.* 13 : 290–5.
- ZUCH CL, NORDSTROEM VK, BRIEDRICK LA, HOERNIG GR, GRANHOLM AC et BICKFORD PC (2000) Time course of degenerative alterations in nigral dopaminergic neurons following a 6-hydroxydopamine lesion. *J. Comp. Neurol.* 427 : 440-54.

## Résumé

La stimulation à haute fréquence (SHF) du noyau sous-thalamique (NST) permet de traiter l'ensemble des symptômes moteurs de la maladie de Parkinson (MP), mais aussi d'atténuer l'apparition des dyskinésies L-Dopa induites, grâce notamment à une réduction massive, voire complète, des prises de L-Dopa chez les patients stimulés. Toutefois, les mécanismes in fine qui sous-tendent l'efficacité thérapeutique de la SHF du NST chez l'homme ne sont pas encore élucidés, tout comme les possibles interactions pouvant exister entre les effets induits par la SHF du NST et ceux (synergiques ou non) d'un traitement à la L-DOPA.

Notre travail a porté principalement sur l'animal anesthésié, sain ou hémiparkinsonien, traité de manière chronique ou aiguë à la L-Dopa, et soumis ou non à la SHF du NST. Dans une première partie expérimentale, nous avons analysé chez le rat sain les modifications neurochimiques (variations des contenus en glutamate et en GABA mesurées par microdialyse intracérébrale) induites par la SHF du NST sur des structures situées à distance du NST mais impliquées directement ou indirectement dans les circuits moteurs, comme la région Fr3 du cortex moteur, le colliculus supérieur et le noyau ventro-médian du thalamus. Dans une deuxième partie, nous avons essayé de déterminer si la SHF du NST pouvait modifier la réponse à la L-Dopa (suite à un traitement chronique ou aigu) sur les contenus en dopamine (et ses métabolites DOPAC et HVA), en glutamate et en GABA. Les principaux résultats obtenus mettent en exergue une interaction synergique entre les effets d'une injection unique de L-Dopa et ceux induits par la SHF du NST. En effet, il apparaît que cette stimulation stabilise les taux élevés de dopamine suite au traitement L-Dopa, retardant ainsi son métabolisme. Ces résultats pourraient donc apporter de arguments intéressants concernant les effets bénéfiques de la SHF du NST observés chez les malades parkinsoniens, notamment dans la stabilisation des fluctuations motrices.

Les données obtenues au cours de ce travail doctoral apportent de nouveaux arguments pour la compréhension des mécanismes de la SHF du NST, et amènent de nouvelles perspectives justifiant l'intérêt thérapeutique de la SHF dans la maladie de Parkinson.

Mots-clé : Maladie de Parkinson, stimulation haute fréquence du noyau sous-thalamique, microdialyse intracérébrale, traitement L-Dopa, striatum, cortex Fr3, noyau ventromédian du thalamus, colliculus supérieur, rat 6-OHDA, dopamine, glutamate et GABA.

## Abstract

High frequency stimulation (HFS) of the subthalamic nucleus (STN) counteracts the motor symptoms of Parkinson's disease (PD), but also diminishes dramatically the L-Dopa-induced dyskinesia (LID) following an important, or even total reduction of L-Dopa doses in stimulated patients. However, the precise mechanisms underlying the therapeutic effectiveness of deep brain stimulation are not elucidated yet. In particular, the possible interactions existing between the effects of both STN HFS and L-Dopa remain to be elucidated.

Our work was carried out in the anesthetized animal, intact or hemiparkinsonian, acutely or chronically treated with L-Dopa, and submitted or not to HFS depending on the experiments. In a first set of experiments, we analyzed in intact rats STN HFS-induced neurochemical modifications (variations of glutamate and GABA contents measured by brain microdialysis) occurring in structures away from STN but implicated in motor networks, such as Fr3 cortex, thalamic ventromedial nucleus and superior colliculus. In a second set of experiments, we tried to determine if STN HFS could modulate the response to a chronic or an acute L-Dopa treatment on the contents of dopamine or its metabolites (DOPAC and HVA), glutamate and GABA. The main results highlight a synergistic interaction between the effects of acute L-Dopa and those driven by HFS. Indeed, it appears that HFS stimulation stabilizes dopamine contents increased by acute L-Dopa, delaying its metabolism. These results could then bring interesting arguments concerning the beneficial effects of STN HFS observed in PD patients, in particular regarding the stabilization of motor fluctuations.

Altogether, these data give new arguments for a better understanding of STN HFS mechanisms, and bring new prospects justifying the importance of STN HFS as a powerful treatment of PD.

Keywords : Parkinson's disease, subthalamic nucleus high frequency stimulation, brain microdialysis, L-Dopa treatment, striatum, Fr3 cortex, thalamic ventromedial nucleus, superior colliculus, 6-OHDA rat, dopamine, glutamate, GABA.