



HAL
open science

Transmission et plasticité activité-dépendante au niveau des synapses cortico-striatales

Elodie Fino

► **To cite this version:**

Elodie Fino. Transmission et plasticité activité-dépendante au niveau des synapses cortico-striatales. Neurosciences. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2007. Français. NNT : 2007PA066202 . tel-00811483

HAL Id: tel-00811483

<https://theses.hal.science/tel-00811483>

Submitted on 10 Apr 2013

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

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

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS VI

Spécialité *Neurosciences*

Présentée par **Elodie FINO**

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Paris VI

**Transmission et
plasticité activité-dépendante
au niveau des synapses cortico-striatales**

Soutenance le 27 Septembre 2007 devant un jury composé de :

Dr Dominique DEBANNE	Rapporteur
Dr Lydia KERKERIAN-LE GOFF	Rapporteur
Pr Jean-Michel DENIAU	Examineur
Dr Jean-Antoine GIRAULT	Examineur
Pr Jacques GLOWINSKI	Examineur
Dr Christophe MULLE	Examineur
Dr Laurent VENANCE	Directeur de thèse

A mes parents

Ce travail de thèse a été initié dans le laboratoire de Neuropharmacologie du Pr. Jacques Glowinski (U114) et s'est poursuivi dans le laboratoire du Pr. Jean-Michel Deniau (U667), au Collège de France.

Je tiens à remercier le Pr. Jacques Glowinski de m'avoir accueillie chaleureusement au sein de son laboratoire. Malgré un emploi du temps extrêmement chargé, il a toujours pris le temps de discuter avec moi de mes travaux et me prodiguer nombre de conseils et d'encouragements. Je garde un très bon souvenir des séances de relecture de mon article.

Je suis très reconnaissante au Pr. Jean-Michel Deniau de m'avoir permis de continuer ce travail dans d'excellentes conditions. Je tiens surtout à le remercier et lui témoigner ma reconnaissance pour sa disponibilité, ses conseils et sa relecture attentive de mon travail. Je veux également le remercier de m'avoir fait bénéficier de sa grande culture scientifique.

Laurent Venance a dirigé l'ensemble de mon travail de thèse. Ce fut un véritable plaisir de travailler à ses côtés. Il a su me communiquer sa passion pour la recherche, sa rigueur scientifique et son ouverture d'esprit, le tout dans une ambiance de travail vraiment très agréable. Je tiens à le remercier mille fois pour sa patience, sa disponibilité sans faille et, surtout, pour la confiance qu'il m'a témoignée. J'ai beaucoup appris avec lui, autant sur le plan scientifique que lors de nos nombreuses conversations à refaire le monde... Enfin, merci de m'avoir fait découvrir Jim Harrison, James Crumley, Tonino Benacquista, Michael Connelly et bien d'autres, qui m'ont accompagnée pendant ces 4 années !

Je veux remercier les membres du jury de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger mon travail de thèse. Je remercie le Dr. Lydia Kerkérian-LeGoff et le Dr. Dominique Debanne d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse et le Dr. Christophe Mulle et le Dr. Jean-Antoine Girault d'avoir accepté de faire partie du jury en tant qu'examineurs.

Je tiens à remercier l'ensemble de l'U114 et l'U667 pour leur aide et la bonne ambiance qui règne toujours dans le laboratoire. Un grand merci à Nicolas Maurice pour les injections *in vivo* du cortex somato-sensoriel qui furent la base de mon travail et à Anne-Marie Godeheu pour les révélations des neurones et son sourire quotidien. Merci à l'équipe de Jean-Pol Tassin, et notamment Gérard Godeheu et Gérard Blanc, pour leur aide très généreuse dans les expériences de dosage de dopamine par HPLC. Merci à Marie-Lou Kemel pour ses réponses patientes à mes mille questions sur les ganglions de la base et à Yves Gioanni pour sa disponibilité et sa bonne humeur constante. Merci également à Sylvie Perez pour sa grande gentillesse et pour le soutien qu'elle m'a apporté. Je remercie également Marie-Hélène Levi, Gordana Joaquim et Françoise Artaud pour leur aide précieuse dans les tracas quotidiens.

Merci à l'ensemble des étudiants pour la bonne humeur ambiante et les pots détente du vendredi soir. Dans cette catégorie apprentis chercheurs, je tiens particulièrement à remercier bien sûr Marie pour nos nombreuses séances de défoulement ou de détente nécessaires à notre équilibre mental et pour son aide, à PO pour nos séances de fofocação et son franc-parler, à Luciana pour m'avoir fait voyager vers l'hémisphère sud, à Patrick pour m'avoir fait découvrir le café vietnamien, à Cécile pour son rire communicatif, à Bertrand pour son humour inimitable, à Verena pour ses cours d'anglais, et à Valérie et Christelle pour leur gentillesse et leur soutien.

Je tiens à remercier Sandrine Mouret de m'avoir aidée dans mes démarches bibliographiques ô combien laborieuses et le personnel de l'animalerie pour leur efficacité.

Je veux remercier aussi tous ceux qui, de près ou de loin, ont été là pour me soutenir, me changer les idées et me supporter pendant ces 4 ans. Max évidemment pour son soutien de tous les instants et sa patience que je pense avoir pas mal attaquée ces derniers mois.... Merci à Aurélie qui, même du bout du monde, est toujours là pour moi, à l'équipe Montpelliéraine et notamment Véro pour nos longues conversations fortement bénéfiques, à Benve d'être toujours là pour m'écouter. Merci aux parisiens (ou pire aux banlieusards !), Yann, Matthieu, Max, Laetitia, Mélou, Steuf, Romain, etc d'avoir supporté nos longs discours sur les thèses mais surtout pour les formidables et indispensables moments de détente.

Enfin, un immense merci à mes parents qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici car ils m'ont toujours fait confiance et soutenue dans mes choix.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
<hr/>	
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	3
<hr/>	
1. Les ganglions de la base	3
1.1 Position fonctionnelle des ganglions de la base	3
1.2 L'axe cortico-ganglions de la base	5
1.2.1 Transmission par des circuits convergents	
1.2.2 Transmission par des circuits parallèles	
1.3 Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base	6
1.3.1 Les noyaux composant les ganglions de la base	
1.3.2 Les ganglions de la base et le contrôle du mouvement	
1.4 Physio-pathologie des ganglions de la base : exemple de la maladie de Parkinson	10
2. Le striatum	12
2.1 Les afférences striatales	12
2.1.1 Les entrées excitatrices	12
<i>Les entrées corticales</i>	
<i>Les entrées thalamiques</i>	
2.1.2 L'innervation dopaminergique : un puissant neuromodulateur	16
2.1.3 Autres afférences	17
2.2 Les sorties striatales : voies directe et indirecte	17
2.2.1 Les efférences vers la SNr et l'EP: la voie directe	
2.2.2 Les efférences vers le GP : première étape de la voie indirecte	
2.3 Hétérogénéité du striatum: striosomes vs. matrice	19
2.4 Les populations neuronales du striatum	21
2.4.1 Les neurones de sortie	21
2.4.2 Les interneurons striataux	23
<i>Les interneurons GABAergiques</i>	
<i>Les interneurons cholinergiques</i>	
<i>Les interneurons à NO-synthase</i>	
3. Rôle des ganglions de la base dans l'apprentissage et la mémoire	29
3.1 Mise en évidence du rôle des ganglions de la base dans la formation d'habitudes ou mémoire « implicite »	29
<i>Mise en évidence par des expériences de lésions</i>	
<i>Données électrophysiologiques couplées au comportement</i>	
3.2 Hétérogénéité fonctionnelle du striatum et apprentissage	31

3.3 Modulation de l'apprentissage dans les ganglions de la base.....	32
4. La plasticité synaptique.....	35
4.1 Petite histoire de la plasticité synaptique.....	35
4.2 Généralités sur la plasticité synaptique.....	36
4.3 La plasticité synaptique : substrat cellulaire de la mémoire ?	38
4.3.1 Détectabilité : l'apprentissage est-il corrélé à une LTP ?	
4.3.2 Altération antérograde : le blocage ou l'augmentation des mécanismes responsables de la LTP ont-ils un effet sur l'apprentissage et la mémoire ?	
4.3.3 Altération rétrograde : le blocage de la LTP entraîne-t-il l'oubli ?	
4.3.4 Mimétisme : est-il possible de créer une mémoire « artificielle » ?	
5. Spike-timing dependent plasticity.....	44
5.1 Historique et présentation de la spike-timing dependent plasticity.....	44
5.2 Principe de la spike-timing dependent plasticity: la rétro-propagation du potentiel d'action.....	45
5.3 Orientation des plasticités synaptiques à long-terme.....	47
5.4 Mécanismes d'induction.....	48
5.5 Extension à d'autres formes de protocoles.....	50
5.6 Limites de la spike-timing dependent plasticity.....	51
5.6.1 Plasticité dépendante de la localisation dendritique	
5.6.2 Où le PA rétro-propageant n'est pas une fatalité...	
5.7 Spike-timing dependent plasticity <i>in vivo</i>	53
6. Plasticité à long-terme des synapses cortico-striatales.....	55
6.1 Les études <i>in vitro</i> : le règne de la LTD.....	55
6.2 Les études <i>in vivo</i> : LTP ou LTD.....	57
6.3 Question soulevée par la prépondérance d'une forme de plasticité sur l'autre.....	57
6.4 Effets de la régulation dopaminergique sur la plasticité cortico-striatale.....	58
 MATERIEL ET METHODES	 61
 1. Modèle expérimental : les tranches de cerveau de rat.....	 61
2. Identification morphologique des neurones du striatum par vidéo-microscopie à infra-rouge.....	62
3. Enregistrement électrophysiologique par la technique de patch-clamp.....	63

4. Protocoles de conditionnements cellulaires.....	64
4.1 Stimulations en double-chocs	
4.2 Stimulations à haute et à basse fréquences	
4.3 Spike-timing dependent plasticity (STDP)	
4.4 Subthreshold-depolarization dependent plasticity (SDDP)	
5. Mesures et analyses de données.....	67
5.1. Propriétés passives et actives des neurones du striatum	
5.2. Mesures des changements d'efficacité synaptique	
6. Dosage de dopamine.....	68
7. Histologie.....	69
Marquage des neurones à la biocytine	

RESULTATS

Introduction générale	70
1. Effets d'une déplétion aiguë de dopamine sur les propriétés électrophysiologiques des neurones du striatum.....	73
2. Plasticité bidirectionnelle et activité-dépendante au niveau des synapses cortico-striatales.....	89
3. Spécificité cellulaire de la STDP au niveau des interneurones GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase.....	106
4. Des signaux sous-liminaires induisent de la plasticité à long-terme au niveau des synapses cortico-striatales	151
DISCUSSION GENERALE	185

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	195
------------------------------------	------------

ABBREVIATIONS

α MPT	α -methyl-para-tyrosine
ACh	acétylcholine
AHP	"after-hyperpolarization"
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalone propionate
AP5	D-2-amino-5-phosphonopvalérate
CNQX	6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
EP	noyau entopédonculaire
EPSC	courant post-synaptique excitateur
EPSP	potentiel post-synaptique excitateur
f-AHP	"fast afterhyperpolarization"
FS	"fast-spiking"
GABA	acide γ -aminobutyrique
GB	ganglions de la base
GP	globus pallidus
HFS	stimulation à haute fréquence
IPSP	potentiel post-synaptique inhibiteur
LFS	stimulation à basse fréquence
LTD	dépression à long-terme
LTP	potentialisation à long-terme
mGluR	récepteurs métabotropiques au glutamate
MPTP	1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
NETM	neurones épineux de taille moyenne
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NO	oxyde nitrique
NST	noyau sous-thalamique
6-OHDA	6-hydroxy-dopamine
PA	potentiel d'action
PLTS	"persistent and low-threshold spike"
Ri	résistance d'entrée
RMP	"resting membrane potential"
s-AHP	"slow afterhyperpolarization"
SDDP	"subthreshold-depolarization dependent plasticity"
SFA	"spike frequency adaptation"
SNc	substance noire <i>pars compacta</i>
SNr	substance noire <i>pars reticulata</i>
STDP	"spike-timing dependent plasticity"
TANs	"tonically active neurons"
TTX	tétródotoxine

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le travail présenté dans cette thèse concerne les propriétés de transmission et de plasticité synaptique à long-terme au niveau des synapses cortico-striatales.

Les ganglions de la base (GB), un ensemble de structures sous-corticales interconnectées entre elles, sont impliqués dans les processus de planification et d'apprentissage cognitivo-moteurs en réponse à des stimuli environnementaux. La principale structure d'entrée des GB est le striatum, dont le rôle est de sélectionner et d'intégrer les informations provenant de l'ensemble du cortex cérébral. Il va ensuite transmettre ces informations aux structures de sortie des GB, ce qui permettra le contrôle du mouvement. Malgré son rôle déterminant dans les processus d'apprentissage sensori-moteur, la nature des plasticités synaptiques au niveau de la voie cortico-striatale n'était pas clairement définie. En effet, la dépression à long-terme (LTD) était considérée comme étant la forme physiologique, et la potentialisation à long-terme (LTP) comme pathologique; situation incompatible avec la physiologie synaptique du système nerveux central. Nous avons donc entrepris l'étude des propriétés de transmission et de plasticité de la voie cortico-striatale, au niveau du principal type neuronal, c'est-à-dire les neurones de sortie du striatum, mais également au niveau des trois types d'interneurones striataux : les interneurones GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase.

Une première partie présente les Rappels Bibliographiques concernant l'organisation anatomo-fonctionnelle des GB, les phénomènes de plasticité synaptique en général, et plus particulièrement la « spike-timing dependent plasticity » et enfin l'état des lieux des connaissances sur la plasticité cortico-striatale.

La partie Matériel et Méthodes détaille le modèle expérimental et les techniques utilisées pour réaliser ce travail.

Dans la partie Résultats, est tout d'abord présentée l'étude des propriétés électrophysiologiques des différents neurones du striatum dans des conditions contrôles et lors d'une déplétion de dopamine striatale. La deuxième étude concerne la mise en évidence de l'existence d'une plasticité bidirectionnelle activité-

dépendante et d'une « spike-timing dependent plasticity » (STDP) inverse aux synapses cortico-striatales au niveau des neurones de sortie. La troisième partie concerne la spécificité cellulaire de la STDP au niveau des différents interneurons du striatum (GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase). Enfin, la dernière partie décrit une nouvelle forme de plasticité synaptique à long-terme sous-tendue par des signaux sous-liminaire au niveau des neurones de sortie du striatum.

La Discussion générale a pour but de résumer les principaux résultats et à en dégager les perspectives qu'ils ouvrent quant à la continuité de ce travail.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Les ganglions de la base

Les ganglions de la base (GB) sont un ensemble de structures sous-corticales impliquées dans l'élaboration et l'exécution de processus moteurs (Graybiel, 1995). Initialement cantonné à un rôle purement moteur du contrôle du mouvement, il est maintenant clairement établi que les GB jouent également un rôle déterminant dans de nombreuses fonctions cognitives et mnésiques (Graybiel, 1994; Packard et Knowlton, 2002). Bien que les fonctions des ganglions de la base soient encore discutées, il est admis qu'ils sont impliqués dans l'apprentissage et la mémorisation de séquences cognitivo-motrices en réponse à des stimuli environnementaux, jouant ainsi un rôle essentiel dans l'adaptation comportementale.

Les GB, chez le rongeur, sont composés de six noyaux sous-corticaux interconnectés : le striatum, le noyau subthalamique (NST), la substance noire *pars reticulata* (SNr), le noyau entopédonculaire (EP, homologue au segment interne du globus pallidus des primates), le globus pallidus (GP, homologue du segment externe du globus pallidus des primates) et les groupes de neurones dopaminergiques distribués au sein de la substance noire *pars compacta* (SNc), de l'aire tegmentale ventrale et de l'aire rétro-rubrale qui assurent une fonction neuromodulatrice de cet ensemble fonctionnel.

1.1 Position fonctionnelle des ganglions de la base

Les GB occupent une position centrale au sein du cerveau. Recevant des afférences de nombreuses structures cérébrales, les GB sont en charge de l'intégration d'informations de natures différentes (motrices, sensorielles et limbiques) et influencent en retour divers noyaux thalamiques ainsi que certains noyaux pré-moteurs du tronc cérébral (Figure 1).

L'une des principales sources d'afférences des GB est issue du cortex cérébral via ses neurones de projections glutamatergiques. Les informations

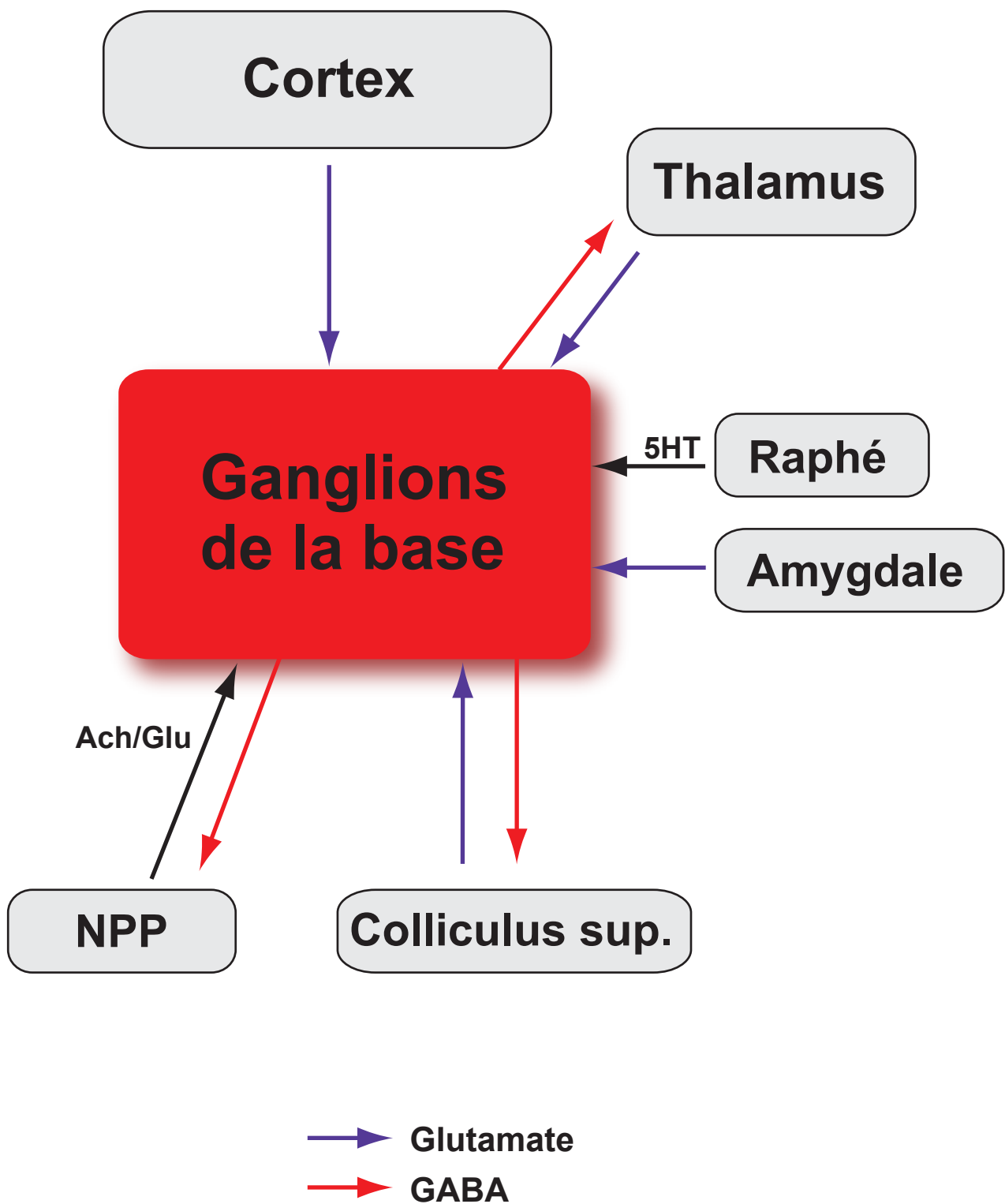


Figure 1. Principales afférences et efférences des ganglions de la base.

NPP: noyau pédonculo-pontin; Colliculus sup.: colliculus supérieur; 5HT: sérotonine; Ach: acétylcholine; Glu: glutamate.

corticales accèdent aux GB par le striatum qui est la principale structure d'entrée (Goldman et Nauta, 1977 ; McGeorge et Faull, 1989), et dans une moindre mesure par le NST, la seconde structure d'entrée (Afsharpour, 1985 ; Canteras et al., 1990). Alors que le striatum est innervé par quasiment l'ensemble des aires corticales, les NST reçoit une innervation issue spécifiquement des aires corticales frontales et pré-frontales. Le thalamus envoie également des projections glutamatergiques aux GB, majoritairement au striatum (Berendse et Groenewegen, 1990) mais également au NST (Sugimoto et Hattori, 1983). Les GB reçoivent également des afférences glutamatergiques de l'amygdale (Kelley et al., 1982), sérotoninergiques du raphé (Lavoie et Parent, 1990) et glutamatergiques et cholinergiques du noyau pedonculopontin (Lavoie et Parent, 1994) (Figure1)

Les informations détectées puis traitées par les GB sont ensuite relayées à l'extérieur des GB vers le thalamus et le tronc cérébral par leurs structures de sortie, la SNr et l'EP, via une transmission GABAergique. Au niveau du thalamus, les GB projettent principalement aux noyaux ventro-médian, ventro-antérieur, ventro-latéral, dorsal médian et les intra-laminaires du thalamus (Di Chiara et al., 1979; Anderson et Yoshida, 1980 ; Deniau et Chevalier, 1992). En retour, le thalamus projette non seulement aux structures d'entrée des GB mais également au cortex cérébral, ce qui constitue la boucle cortico-GB-thalamo-corticale (Parent et Hazrati, 1995). Il faut préciser que la notion de boucle est ici considérée à l'échelle des structures, les voies de retour thalamo-corticales n'étant pas nécessairement ciblées sur les neurones corticaux d'origine. Via ces projections ascendantes, les GB influencent l'ensemble des aires corticales frontales et pré-frontales qui jouent un rôle déterminant dans l'organisation du comportement et l'exécution motrice. Les structures de sortie des GB projettent également au tronc cérébral, centre moteur d'importance, pour permettre l'élaboration d'un mouvement. En effet, elles projettent au colliculus supérieur (Graybiel, 1978; Anderson et Yoshida, 1980) et au noyau pedonculopontin (Lavoie et Parent, 1994 ; Parent et Hazrati, 1995).

Les GB reçoivent donc une innervation glutamatergique excitatrice massive, et, en retour, agissent sur leurs structures cibles par une transmission GABAergique inhibitrice. Cette inversion du signe des effets synaptiques des voies d'entrée et de sortie est à la base du mode de fonctionnement des GB.

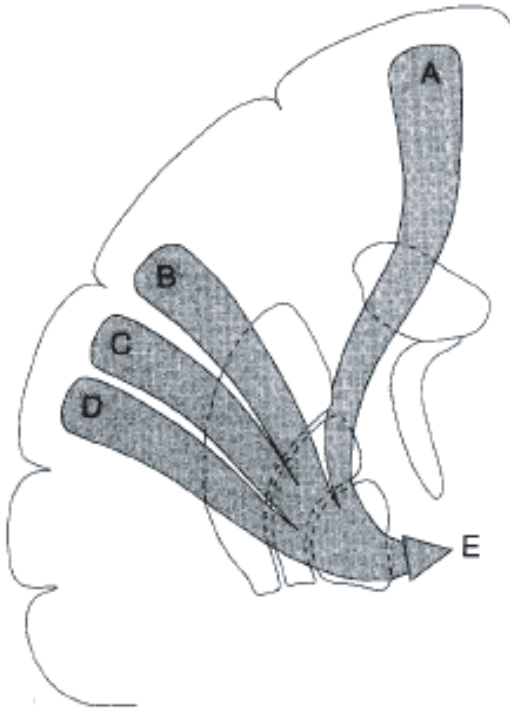
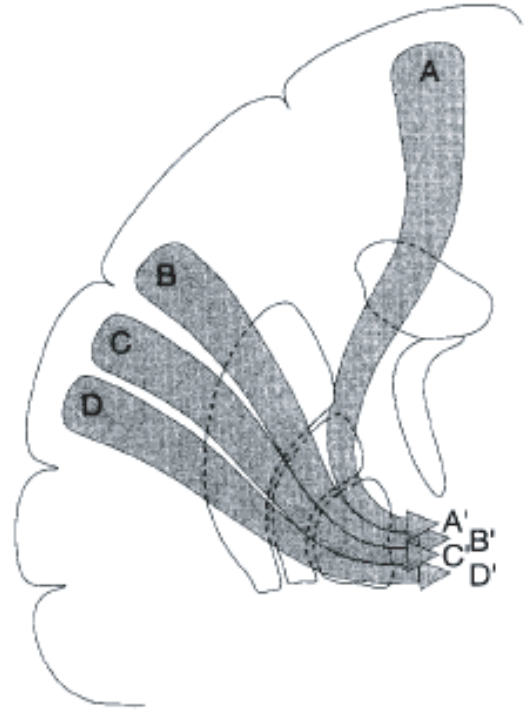
A**B**

Figure 2. Schémas d'organisation de l'axe cortico-ganglions de la base: canaux convergents ou parallèles?

A: Illustration de l'hypothèse de la focalisation des informations corticales. Ces informations convergeraient au niveau des GB et seraient rassemblées et traitées en un canal unique **B:** Illustration de l'hypothèse d'organisation en canaux parallèles. Les informations des différentes aires corticales resteraient ségréguées dans des canaux parallèles tout du long des GB, jusqu'au niveau de leurs cibles. D'après Parent et Hazrati, 1995.

1.2 L'axe cortico-ganglions de la base

La principale afférence des GB est le cortex cérébral. Les modalités de transmission des informations corticales à travers les GB ont fait l'objet de nombreux débats et plusieurs schémas d'organisation ont été avancés (Parent et Hazrati, 1995) (Figure 2). Nous nous sommes particulièrement intéressés à l'axe cortico-GB qui sera l'objet principal des rappels bibliographiques.

1.2.1 Transmission par des circuits convergents

Un premier schéma d'organisation repose sur l'existence de circuits convergents, c'est-à-dire que les informations provenant de différentes aires corticales convergeraient au niveau du striatum (Figure 2A). Cette transmission convergente, à la manière d'un entonnoir où les informations des différentes aires corticales se mélangeraient, serait ensuite conservée tout au long du réseau des GB (Percheron et al., 1984 ; Percheron et Filion, 1991). Ce schéma d'organisation repose principalement sur des observations anatomiques. En effet, le nombre de neurones corticaux est largement supérieur à celui du striatum. Ce premier goulet d'étranglement serait renforcé ensuite par la diminution du nombre de neurones dans les différents noyaux des GB, entre le striatum et les structures de sortie. Cette vision du transfert des informations cortico-GB via des circuits convergents repose donc sur des observations indéniables de diminutions successives du nombre de neurones des différents noyaux des GB par lesquels transite l'information corticale.

1.2.2 Transmission par des circuits parallèles

Le second schéma d'organisation propose que les entrées corticales sont traitées en parallèle au sein des GB, dans des canaux relativement indépendants définis par leurs régions corticales d'origine (Figure 2B) (Alexander et Crutcher, 1990). Cette organisation repose sur l'existence avérée d'une topographie des projections cortico-striato-nigrales et cortico-striato-pallidales de telle sorte que les aires fonctionnellement distinctes du cortex projettent sur des territoires différents du striatum. Cette ségrégation est maintenue jusqu'aux structures de sortie et même

jusqu'au niveau de leurs cibles. Ce traitement parallèle des informations s'effectue par trois principaux circuits parallèles et fonctionnellement distincts : les circuits sensori-moteur, associatif et limbique. Chaque circuit convoie des informations d'aires corticales différentes, et chemine via des territoires spécifiques à travers les différentes structures des GB (Alexander et Crutcher, 1990).

Des études plus récentes ont montré que l'organisation anatomo-fonctionnelle des GB, et donc les modalités de transfert des informations cortico-GB, est plus complexe qu'une organisation soit en circuits convergents, soit en circuits parallèles. En effet, l'organisation en canaux parallèles fonctionnellement distincts a été mise en évidence tout au long de l'axe cortico-GB et jusque dans les structures cibles des GB. Néanmoins, cette organisation n'est pas si basique. En effet, il a été montré chez le singe que des représentations corticales somato-sensorielles et motrices d'une même partie du corps convergent au sein du striatum (Yeterian et Van Hoesen, 1978 ; Flaherty et Graybiel, 1993 ; 1994). D'autre part, l'existence de deux types de projections cortico-striatales focales et diffuses montre également un niveau de complexité supérieur de leur organisation, les projections diffuses offrant un support de convergence (Haber et al., 2006). Par ailleurs, au niveau de striatum, la communication entre les neurones de sortie et les interneurons pourrait faire le lien entre des territoires striataux fonctionnellement distincts. Ceci indique donc qu'il existe différents niveaux d'organisation anatomo-fonctionnelle de l'axe cortico-GB et que les deux formes d'organisation, convergente et parallèle, co-existent pour permettre le transfert des informations corticales au sein des GB.

1.3 Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base

1.3.1 Les différents noyaux composant les ganglions de la base

L'organisation anatomo-fonctionnelle des GB a fait l'objet de nombreuses études et leur connectivité est maintenant relativement bien connue (Alexander et Crutcher, 1990 ; Graybiel, 1990; Gerfen, 1992). Ils sont composés d'un ensemble de

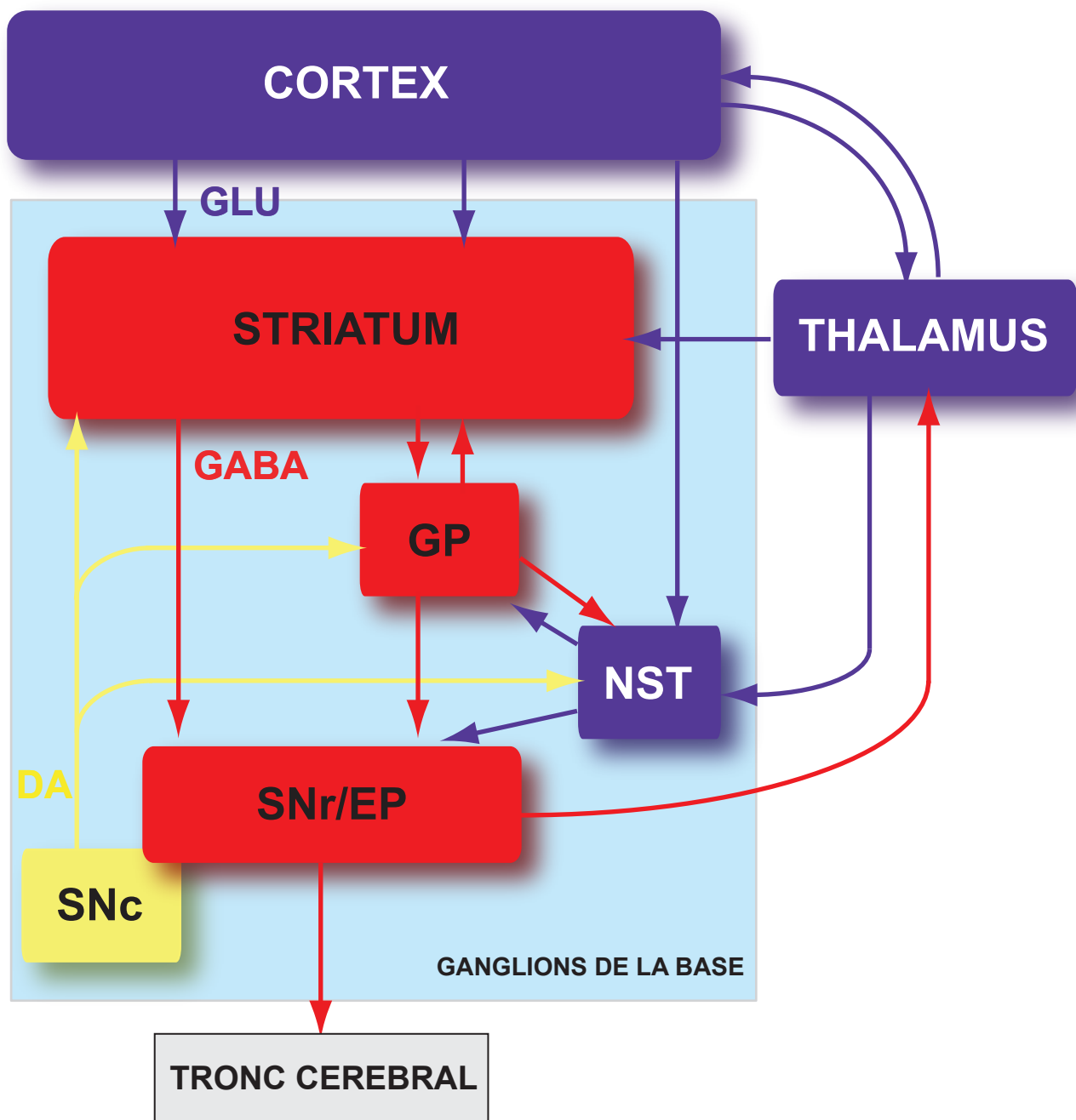


Figure 3. Organisation du réseau des ganglions de la base.

Le code couleur des neurotransmetteurs est le suivant: glutamate en bleu, GABA en rouge et dopamine en jaune.

GP: globus pallidus; NST: noyau sub-thalamique; EP: noyau entopédonculaire; SNc: substance noire *pars compacta*; SNr: substance noire *pars reticulata*.

six noyaux sous-corticaux interconnectés entre eux (Figure 3). Les deux structures d'entrée sont le striatum et le NST, les deux structures de sortie SNr et l'EP. Le GP est un noyau relais et la SNc est le noyau neuromodulateur intra-GB. Les GB ont la particularité d'être composés d'une majorité de noyaux GABAergiques puisque les neurones de projections du striatum, de la SNr, de l'EP et du GP sont des neurones GABAergiques. D'autre part, ils comportent également un noyau glutamatergique (le NST) et un noyau dopaminergique (la SNc). Après cette brève présentation des différents éléments composant les GB, nous allons détailler la spécificité de chaque noyau au sein de GB.

Le striatum

Le striatum est le principal noyau d'entrée des GB et est composé d'une partie dorsale, appelée le striatum dorsal, et une partie ventrale, appelée noyau accumbens. Nous nous intéresserons ici au striatum dorsal, principal objet de notre étude. Le striatum dorsal reçoit principalement des afférences excitatrices corticales (McGeorge et Faull, 1989) et thalamiques (Berendse et Groenewegen, 1990), mais est également innervé par des afférences dopaminergiques provenant de la SNc (Bentivoglio et al., 1979) (les afférences et efférences du striatum seront détaillées dans le chapitre 2). Les neurones de projection du striatum sont des neurones GABAergiques. Les informations convoyées par les neurones de projection sortent du striatum en empruntant deux voies, la voie dite « directe » et la voie dite « indirecte », pour rejoindre les structures de sortie des GB. La voie directe désigne la voie striato-nigrale, à savoir la projection directe du striatum aux structures de sortie des GB (la SNr et le EP). La voie indirecte, quant à elle, désigne la voie striato-pallido-subthalamo-nigrale. En effet, les informations issues du striatum passent par deux relais intermédiaires, le GP et le NST, avant de parvenir aux structures de sortie. La mise en jeu combinée de ces deux voies, directe et indirecte, suite à une activation corticale, par exemple, est à la base du modèle du contrôle du mouvement (voir le principe de désinhibition détaillé dans le chapitre 1.3.2). Il est admis que certains neurones striataux sont engagés dans la voie directe et d'autres dans la voie indirecte. Néanmoins, la ségrégation des neurones de projection du striatum ne semble pas être aussi totale puisqu'il a été montré qu'environ 70% des neurones striato-nigraux envoient également des collatérales dans le GP (Kawaguchi et al.,

1990 ; Wu et al., 2000). Cette question de la ségrégation totale ou partielle entre les deux voies de sortie du striatum est encore actuellement débattue.

Le noyau sous-thalamique (NST)

Le NST a plusieurs spécificités car, d'une part, il est le seul noyau glutamatergique des GB et, d'autre part, il possède un double rôle de noyau d'entrée et de noyau relais dans les GB. Il constitue une des structures d'entrée des GB car il reçoit des informations corticales par une voie appelée « hyper-directe » (Nambu et al., 2002). Le NST reçoit également des afférences GABAergiques du GP, participant ainsi, en tant que noyau relais, à la voie indirecte de la transmission des informations striatales aux structures de sortie des GB, la SNr et l'EP (Van der Kooy et Hattori, 1980). Le NST reçoit également directement des informations du thalamus, de la SNc et du raphé ; il projette au striatum, au GP et à la SNc en plus des structures de sortie (Smith et al., 1990 ; Parent et Hazrati, 1995).

Le globus pallidus (GP)

Le GP est une structure relais des GB, impliqué dans la voie indirecte. Il est constitué de neurones GABAergiques. Il reçoit des afférences glutamatergiques du NST et GABAergiques du striatum. Il projette au NST, mais aussi vers les structures de sortie (SNr et EP), participant ainsi à la voie indirecte de transfert des informations striatales vers la SNr et l'EP.

La substance noire pars compacta (SNc)

La SNc est le principal noyau neuromodulateur des GB et est composée de neurones dopaminergiques. La SNc innerve le GP et le NST (Lindvall et Björklund, 1979; Hassani et al., 1997) mais sa principale cible est le striatum. La dopamine exerce un puissant contrôle non seulement de l'activité des neurones striataux mais aussi de leurs afférences et efférences (Nicola et al., 2000 ; Bamford et al., 2004a, 2004b) (ce point sera détaillé dans le chapitre 2.2.3). En retour, la SNc reçoit des entrées inhibitrices du striatum (Gerfen, 1985).

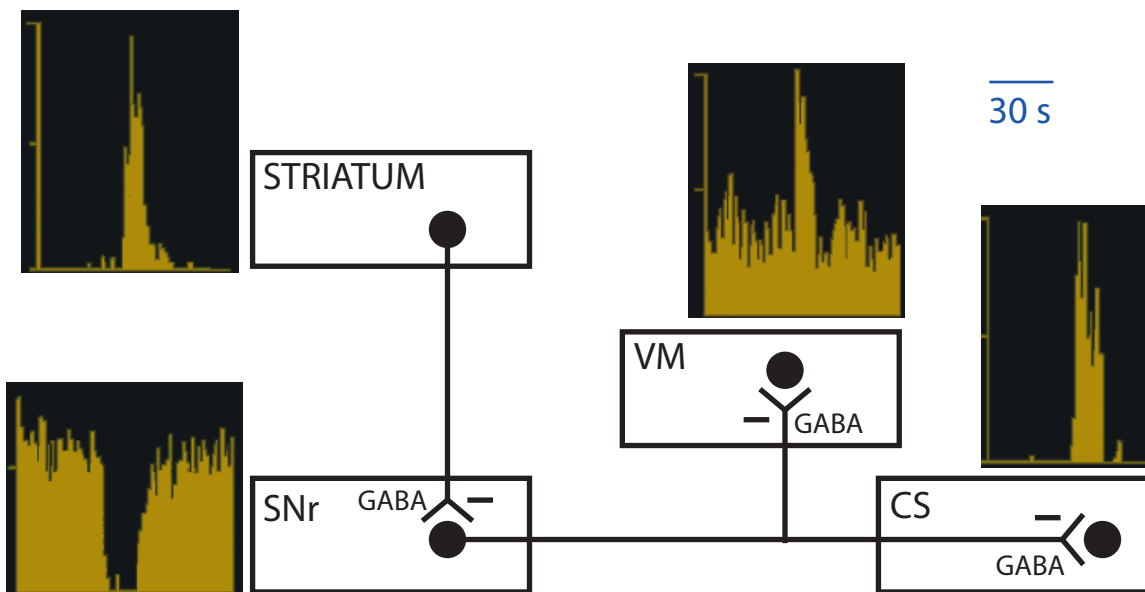


Figure 4. Principe de déshinhibition dans le réseau des ganglions de la base.

Le striatum est silencieux au repos. La SNr, structure de sortie des GB, est active spontanément, et inhibe les cibles des ganglions de la base (VM: noyau ventromédian du thalamus, CS: colliculus supérieur). L'activation du striatum par application locale de glutamate arrête la décharge de la SNr, levant ainsi l'inhibition que la SNr exerce sur le CS et le VM (la voie directe est représentée ici). D'après Chevalier et Deniau, 1990.

La substance noire pars reticulata (SNr) et le noyau entopédonculaire (EP)

La SNr et l'EP sont les deux structures de sortie des GB. Elles sont composées de neurones GABAergiques qui sont caractérisés par une activité de décharge spontanée importante et exercent donc un effet inhibiteur tonique sur les structures cibles des GB. Ils reçoivent des afférences excitatrices du NST (Smith et al., 1990) et inhibitrices du GP et du striatum (Smith et Bolam, 1991). Les deux structures de sortie vont relayer les informations qui ont été sélectionnées et traitées par les GB vers le tronc cérébral et le thalamus (Parent et Hazrati, 1995).

1.3.2 Les ganglions de la base et le contrôle du mouvement

Le striatum a pour rôle de détecter et d'intégrer les signaux corticaux (ce point sera détaillé dans le chapitre 2). Une fois cette information détectée, le striatum la relaie vers les structures de sortie des GB pour permettre l'initiation puis le contrôle d'un mouvement. La mise en jeu combinée des voies directe et indirecte permet un contrôle précis du mouvement. Ainsi, l'activation de la voie directe permet l'initiation (ou l'accélération) d'un mouvement. La mise en jeu de la voie indirecte, à l'inverse, constitue le frein du mouvement. De part la nature principalement GABAergique des neurones des GB, le modèle de leur fonctionnement est basé sur un principe de désinhibition (Figure 4) (Chevalier et Deniau, 1990). En effet, lorsque l'animal est au repos, les neurones GABAergiques de la SNr et de l'EP exercent une inhibition tonique sur les noyaux du thalamus et du tronc cérébral. Ceci a pour effet de maintenir les centres moteurs dans un état « bloqué » empêchant l'initiation d'un mouvement. L'activation des neurones de sortie GABAergiques du striatum par des entrées excitatrices entraîne tout d'abord, via la voie directe, une inhibition des neurones GABAergiques toniquement actifs des structures de sortie ; ceci a pour effet de lever l'inhibition préalablement exercée sur leurs cibles et permet l'initiation d'un mouvement. L'activation du striatum met en jeu aussi la voie indirecte : les neurones de sortie du striatum inhibent alors les neurones GABAergiques du GP, levant ainsi l'inhibition tonique du NST. Ce dernier, via ses projections glutamatergiques, va alors activer les structures de sortie des GB et permettre la remise en route de l'inhibition qu'elles exercent sur les structures cibles, permettant ainsi l'arrêt, ou tout du moins un frein, du mouvement. Grâce à ce mode de

fonctionnement particulier, basé sur un principe de désinhibition, les GB peuvent donc efficacement contrôler la mise en place et l'arrêt des mouvements.

1.4 Physio-pathologie des ganglions de la base : exemple de la maladie de Parkinson

L'importance du rôle des GB dans le système nerveux central est mise en évidence par les graves conséquences cognitivo-motrices provoquées par les pathologies qui les affectent. Parmi ces différentes pathologies, on peut citer : la maladie de Parkinson, la chorée de Huntington, les dystonies, l'hémiballisme, les troubles obsessionnels compulsifs ou l'addiction aux drogues. Les origines de ces maladies sont diverses mais souvent liées à des dysfonctionnements de la transmission dopaminergique dans les GB (excepté la chorée de Huntington qui est une maladie génétique provoquée par une dégénérescence des neurones de projection striataux (Borrel-Pagès et al., 2006)). Nous nous focaliserons particulièrement sur la maladie de Parkinson pour laquelle le modèle d'organisation fonctionnelle des GB a permis de progresser dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques.

La maladie de Parkinson est une maladie neuro-dégénérative, progressive dans laquelle la capacité d'exécuter des mouvements volontaires est perdue graduellement (Obeso et al., 2000). Les symptômes cliniques se traduisent par des troubles sévères dans l'initiation et l'exécution des mouvements (akinésie, bradykinésie), des réflexes posturaux anormaux, une rigidité musculaire, ainsi que des tremblements à basse fréquence des membres au repos. La maladie de Parkinson est causée par la dégénérescence progressive des neurones dopaminergiques de la SNc. Malgré les progrès techniques et le grand nombre d'études effectuées sur cette maladie depuis sa découverte, l'origine de la dégénérescence des neurones de la SNc reste encore inconnue. Il pourrait y avoir des causes génétiques ou environnementales. Il existe différents mécanismes identifiés comme pouvant être à l'origine de la dégénérescence comme par exemple le stress oxydatif, une toxicité glutamatergique ou une fonction mitochondriale

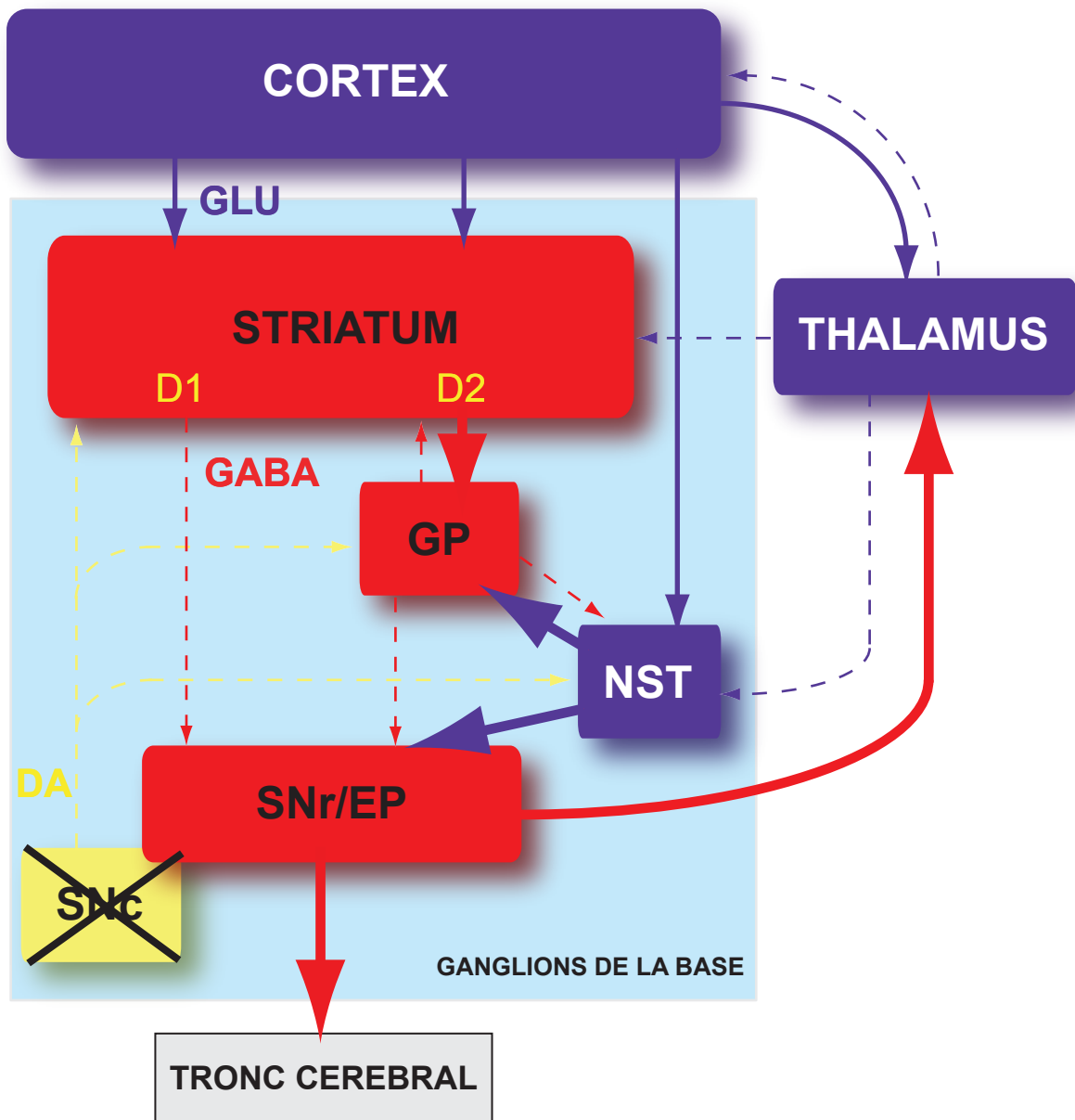


Figure 5. Altération du fonctionnement des ganglions de la base lors de la maladie de Parkinson.

Lors de la maladie de Parkinson, les neurones dopaminergiques de la SNc dégénèrent entraînant une chute chronique des taux de dopamine striatale. Ceci entraîne un déséquilibre de la mise en jeu des deux voies de sortie du striatum, les neurones de la voie directe exprimant les récepteurs D1 (excitateurs) et les neurones de la voie indirecte les récepteurs D2 (inhibiteurs). La disparition de l'innervation dopaminergique va donc inhiber la voie directe et activer la voie indirecte. Ceci a pour effet de lever l'inhibition des structures des sorties et la SNr et l'EP inhibent donc davantage les structures cibles des GB, inhibant ainsi la mise en place d'un mouvement.

défectueuse (Blandini et al., 2000). Néanmoins, il semble plutôt que l'origine de la maladie soit multifactorielle.

La perte progressive des neurones dopaminergiques entraîne un arrêt de l'innervation dopaminergique du striatum et donc une chute des taux de dopamine striatale. Selon le modèle classique, cela entraînerait un déséquilibre dans l'activité des voies directe et indirecte, qui serait dû à la ségrégation des récepteurs dopaminergiques de type D1 et D2 dans les deux voies de sortie du striatum (Figure 5). Les neurones striataux de la voie directe, exprimant les récepteurs D1 (considérés comme activateurs), seraient inhibés par l'arrêt de la stimulation des récepteurs D1, tandis que ceux de la voie indirecte auraient une activité nettement augmentée par la levée de la stimulation des récepteurs D2 (considérés comme inhibiteurs). Ainsi, la voie directe serait inhibée et lèverait le frein striatal GABAergique sur la SNr et l'EP tandis que la voie indirecte, devenue hyperactive, renforcerait, via le NST, l'activité des structures de sortie des GB. Selon ce modèle, la SNr et l'EP inhiberaient fortement les structures prémotrices du thalamus et le tronc cérébral, entraînant ainsi les syndromes parkinsoniens (Obeso et al., 2000). Ce modèle est néanmoins remis en question dans la mesure où il n'a pas été mis en évidence une hypoactivité des structures cibles. En effet, s'il a bien été confirmé expérimentalement que l'interruption de la transmission dopaminergique provoque un déséquilibre dans les voies trans-striatales et trans-subthalamiques (Degos et al., 2005), ce déséquilibre ne s'exprimerait pas par un changement de fréquence de décharge des structures de sortie mais par une altération dans les motifs de décharge et une hypersynchronisation responsables d'activités parasites et d'une altération des mécanismes de sélection des programmes moteurs.

La maladie de Parkinson illustre clairement les conséquences d'une hypo-dopaminergie chronique sur la physiologie des GB. Ceci montre bien le rôle décisif de la régulation dopaminergique dans l'élaboration de programmes moteurs et l'exécution des mouvements.

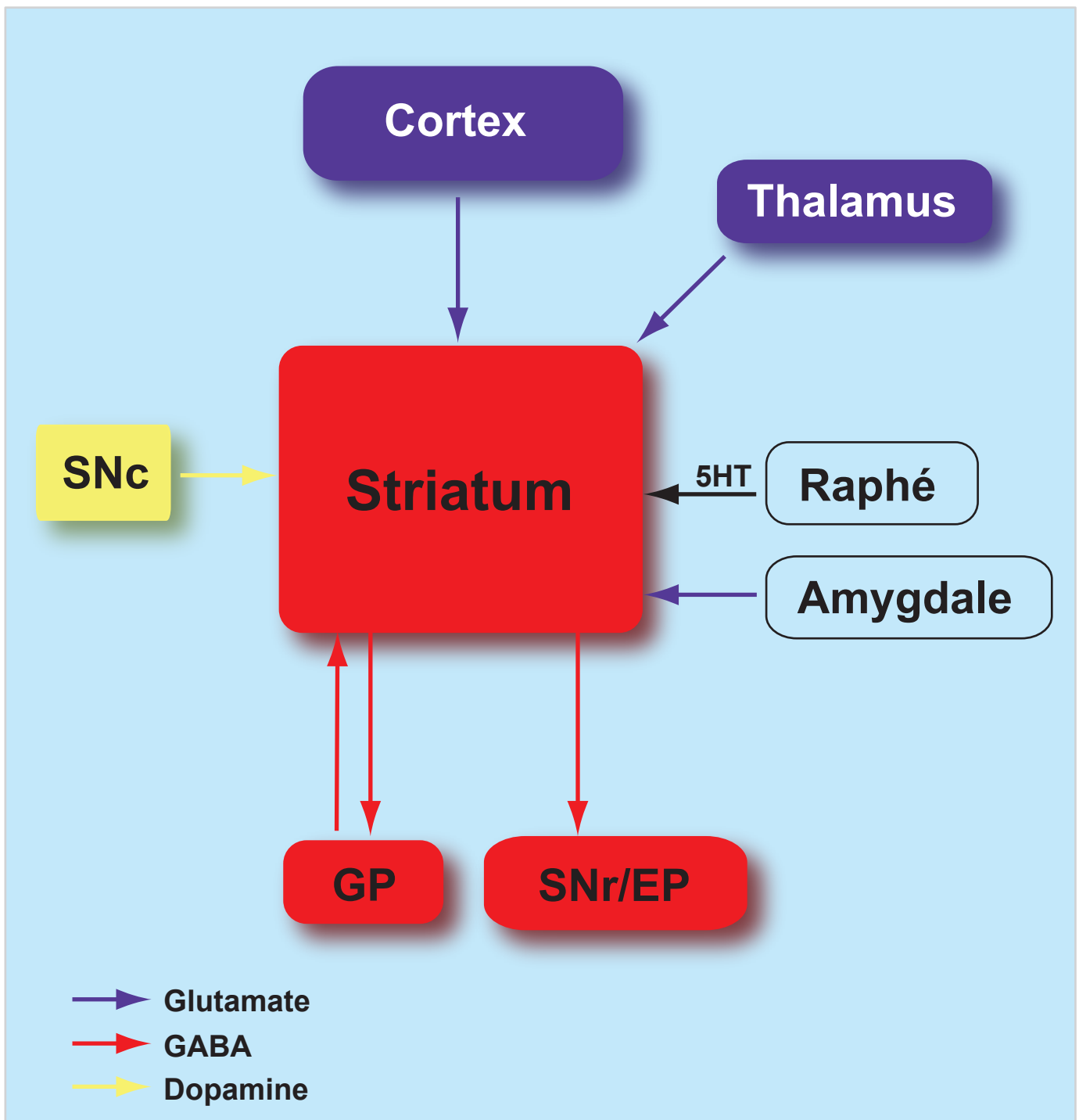


Figure 6. Connectivité du striatum: afférence et efférences.

Les principales afférences extra-GB du striatum sont les afférences glutamatergiques excitatrices corticales et thalamiques. D'autres afférences en provenance du raphé et de l'amygdale contactent le striatum. Au sein des GB, il reçoit également des afférences dopaminergiques de la SNc, qui module son activité, et des afférences du GP. En retour, le striatum projette vers les deux structures de sortie des GB, la SNr et l'EP directement ou indirectement via le GP (et le NST).

5HT: sérotonine.

2. Le striatum

Le striatum est composé de deux principales catégories de neurones : les neurones de sortie (NETM), qui projettent aux structures de sortie des GB, et les interneurones. Les neurones de sortie constituent la grande majorité de la population neuronale striatale. Ils composent entre 70 et 95 % de la population neuronale striatale, selon que l'on considère, respectivement, les primates (Graveland et al., 1985) ou les rongeurs (Rymar et al., 2004). La proportion d'interneurones croît donc avec l'évolution. Le rôle des neurones de sortie est de détecter et relayer les informations corticales pertinentes vers les structures de sortie des GB. Les interneurones striataux, quant à eux, sont de natures multiples et ont été classés en 3 catégories : les interneurones GABAergiques, les interneurones cholinergiques et les interneurones à NO(nitric oxide)-synthase (Kawaguchi, 1993). Les interneurones jouent un rôle capital dans la régulation du transfert des informations cortico-striatales et striato-nigrales.

Nous verrons dans un premier temps l'organisation des afférences extra-striatales des différents types neuronaux et celles des voies de sortie du striatum et, dans un second temps, les caractéristiques et les fonctions des différents types neuronaux striataux.

2.1 Les afférences striatales

Le striatum reçoit une innervation massive du cortex cérébral qui représente la principale source d'afférences striatales. Il est également innervé par certains noyaux du thalamus et par les neurones dopaminergiques de la SNc. Le striatum reçoit d'autres innervations du raphé dorsal, l'amygdale, le GP et le NST (Figure 6).

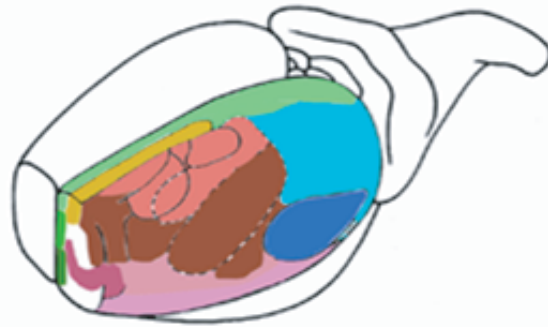
2.1.1 Les entrées excitatrices

Les entrées corticales

Etant donné leur prédominance, l'organisation des projections cortico-striatales a été très étudiée et l'on sait que le striatum reçoit des entrées glutamatergiques excitatrices de l'ensemble du cortex cérébral (Goldman et Nauta,

A

Cortex

**B**

A = 10,70



A = 8,70



A = 7,20



A = 5,86



Striatum

Figure 7. La compartimentalisation fonctionnelle corticale est conservée au niveau striatal.

A: Représentation schématique des aires corticales auditive (bleu foncé), visuelle (bleu clair), orbitaire médial/ventral et prélimbique ventral (vert foncé), prélimbique dorsale (vert), cingulaire (vert clair), oculomotrice (jaune), sensorimotrice médiane (membres et tronc) (rose saumon), sensorimotrice faciale (marron), orbitaire antérieure (mauve), et périrhinale (rose foncé) chez le rat. **B:** L'étude anatomo-fonctionnelle des projections cortico-striatales issues des différentes régions corticales indique que leur ségrégation est conservée au niveau striatal et dessine une mosaïque de territoires fonctionnels striataux (schémas de coupes coronales, de la plus rostrale en haut à la plus caudale en bas).

1977 ; McGeorge et Faull, 1989 ; Groenewegen et Berendse, 1994). Les projections cortico-striatales sont organisées de manière anatomo-fonctionnelle, c'est-à-dire que les afférences provenant de cortex différents vont projeter sur des territoires striataux distincts (Alexander et al., 1986 ; McGeorge et Faull, 1989) (Figure 7). Ainsi, par exemple, chez le rat, la région du cortex moteur rostral correspondant à la représentation de la tête, innerve un territoire ventro-latéral du striatum tandis que la région du cortex sensorimoteur caudal correspondant aux aires de représentation des membres, innerve un territoire dorsolatéral du striatum (McGeorge et Faull, 1989). Néanmoins, cette ségrégation anatomique ne semble pas être aussi absolue. En effet, des études anatomiques ont montré que des aires corticales distinctes peuvent aussi converger vers un même territoire striatal (Yeterian et Van Hoesen, 1978 ; Ramanathan et al., 2002). La logique à laquelle répond l'organisation des convergences et ségrégations reste à déterminer. En plus de sa subdivision en territoires fonctionnels définis par la topographie des projections cortico-striatales, les études neurochimiques ont mis en évidence une compartimentation sous forme d'îlots définissant une subdivision en striosomes et matrice (leur organisation et leur rôle seront détaillés dans le chapitre 2.4). Bien que striosomes et matrice soient distribués à travers l'ensemble du striatum, les proportions relatives diffèrent en fonction des territoires fonctionnels striataux. Ainsi, la proportion du tissu striosomal, qui est très faible dans le territoire sensorimoteur, s'accroît considérablement dans les territoires innervés par le cortex cingulaire antérieur (Donoghue et Herkenham, 1986 ; Ragsdale et Graybiel, 1990). En plus de la division striosomes/matrice, le striatum comporte, dans la matrice, des modules de traitement de l'information nommés matrisomes composés de NETM et d'interneurones. Ainsi, il a été montré que des entrées provenant d'aires corticales représentant les fonctions somato-sensorielles ou motrices d'une même partie du corps convergent au niveau du striatum au niveau d'un même matrisome (Flaherty et Graybiel, 1991 ; 1993).

Les neurones cortico-striataux sont principalement localisés dans la partie profonde de la couche III et la partie superficielle de la couche V du cortex (Cowan et Wilson, 1994). Ils se différencient par leur arborisation axonale puisque certains envoient des projections diffuses alors que d'autres sont plus focales et innervent des parties restreintes du striatum (Cowan et Wilson, 1994 ; Kincaid et al., 1998). Néanmoins, quel que soit l'étendue des projections cortico-striatales, le nombre de boutons synaptiques d'un axone cortico-striatal faisant contact avec un NETM est

relativement faible (1 à 4 boutons) (Wilson, 1995 ; Kincaid et al., 1998). D'autre part, l'étude en microscopie électronique des synapses cortico-striatales révèle que ces arrivées corticales se font sur la tête des épines dendritiques des NETM (Somogyi et al., 1981 ; Smith et Bolam, 1990). Fonctionnellement, les afférences corticales sont de type glutamatergiques et excitatrices puisqu'une stimulation corticale induit une dépolarisation des NETM.

Au-delà des NETM, les interneurons striataux sont contactés par les cellules pyramidales corticales. En effet, les interneurons GABAergiques reçoivent des projections cortico-striatales (Lapper et al., 1992 ; Bennett et Bolam, 1994). Cette innervation corticale est particulièrement massive, supérieure à celle que reçoivent les NETM (Ramanathan et al., 2002). D'autre part, il a été montré par microscopie électronique qu'un neurone cortical peut contacter à la fois un interneurone GABAergique et un NETM (Ramanathan et al., 2002). La connexion corticale au niveau des interneurons GABAergiques a été observée fonctionnellement par des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* de potentiels post-synaptiques excitateurs évoqués dans les interneurons GABAergiques suite à des stimulations corticales (Mallet et al., 2005). Les interneurons cholinergiques reçoivent également des afférences corticales (Lapper et Bolam, 1992 ; Reynolds et Wickens, 2004) mais elles apparaissent nettement moins importantes que celles des autres neurones striataux (Thomas et al., 2000). Ces observations anatomiques pourraient laisser penser que les interneurons cholinergiques sont peu sensibles aux entrées corticales, et bien qu'une transmission corticale ait été observée au niveau des interneurons cholinergiques *in vivo*, son efficacité est effectivement moindre que celle au niveau des NETM (Wilson et al., 1990 ; Reynolds et Wickens, 2004). Concernant les interneurons à NO-synthase, leur connectivité est encore mal connue mais une étude anatomique a montré l'existence d'afférences corticales (Vuillet et al., 1989).

Le cortex cérébral convoie donc des informations à l'ensemble des populations neuronales du striatum mais il semble qu'il y aurait une spécificité de l'innervation cortico-striatale suivant le type neuronal et probablement suivant la région corticale d'origine et la région striatale correspondante.

Les entrées thalamiques

La majorité des afférences thalamo-striatales sont issues des noyaux intra-laminaires et de la ligne médiane du thalamus (Beastead, 1984 ; Sadikot et al., 1992). Dans une moindre mesure, le noyau dorsal médian ou certains noyaux du thalamus ventral projettent également au striatum (Berendse et Groenewegen, 1990). Comme les projections cortico-striatales, les afférences thalamiques envoient des projections organisées de façon topographique par rapport aux territoires thalamiques dont elles sont issues. Par exemple, les noyaux de la ligne médiane, en relation avec le système limbique, projettent préférentiellement au striatum ventral (noyau accumbens) tandis que la partie latérale du noyau parafasciculaire (un des noyaux intra-laminaires), qui reçoit des informations principalement motrices, innerve la partie latérale du striatum dorsal. Les projections thalamo-striatales s'organisent donc, tout comme les projections cortico-striatales, en territoires fonctionnels distincts au niveau du striatum (Berendse et Groenewegen, 1990 ; Gimenez-Amaya et al., 2000).

Les afférences thalamiques issues de noyaux intra-laminaires, contrairement aux afférences corticales, forment des synapses sur les troncs dendritiques des NETM et peu sur les épines (Dubé et al., 1988). D'autre part, bien que des études en microscopie électronique indiquaient que les afférences corticales et thalamiques contactaient des NETM différents (Dubé et al., 1988), des données fonctionnelles obtenues en électrophysiologie ont montré qu'il pouvait exister une convergence sur certains NETM d'afférences corticales et thalamiques (Wilson, 1983). Une étude récente montre également une convergence des deux types d'afférences sur un même territoire car elle montre que le striatum dorso-central reçoit des afférences à la fois corticales et thalamiques (Cheatwood et al., 2005).

Les interneurones striataux sont également contactés par les fibres thalamiques. Ainsi, la majorité des entrées glutamatergiques au niveau des interneurones cholinergiques proviennent du noyau parafasciculaire du thalamus et connectent l'ensemble du neurone : le corps cellulaire et les dendrites proximaux et distaux (Lapper et Bolam, 1992). Les interneurones GABAergiques, quant à eux, reçoivent des afférences thalamiques provenant du noyau parafasciculaire (Sidibe et Smith, 1999). Les contacts se font essentiellement au niveau des dendrites et moins fréquemment au niveau du corps cellulaire.

Tout comme pour les afférences corticales, l'intégration des informations thalamiques se fera donc, non seulement au niveau des NETM, mais également au niveau des micro-circuits striataux constitués par les interneurons.

2.1.2 L'innervation dopaminergique : un puissant neuromodulateur

Le striatum reçoit une innervation dopaminergique conséquente provenant de la SNc. Les neurones dorsaux de la SNc projettent préférentiellement sur la matrice et les neurones ventraux sur les striosomes. Dans une moindre mesure, il existe d'autres sources de dopamine qui projettent au striatum : l'aire rétro-rubrale et l'aire tegmentale ventrale qui innervent spécifiquement la matrice (Bentivoglio et al., 1979 ; Hanley et Bolam, 1997).

Des études de microscopie électronique ont montré que les afférences dopaminergiques contactent préférentiellement le cou des épines dendritiques des NETM (Freund et al., 1984). Elles se trouvent donc en aval des synapses excitatrices corticales qui se font sur la tête des épines. De par ce positionnement « stratégique », les terminaisons dopaminergiques vont pouvoir agir efficacement sur les entrées corticales au niveau des NETM.

La dopamine influence l'excitabilité des NETM via son action sur les récepteurs dopaminergiques. Ces récepteurs sont classés en deux familles : D1-like (composée des récepteurs D1 et D5) et D2-like (composée des récepteurs D2, D3 et D4). Les récepteurs D1 et D2 ont été classés, respectivement, comme étant excitateurs et inhibiteurs selon leur couplage positif et négatif à l'adénylate cyclase (Kebabian et Calne, 1979). Il est classiquement admis que les NETM expriment globalement soit les récepteurs D1, soit les récepteurs D2. Chose remarquable, les neurones de la voie directe expriment les récepteurs D1 et ceux de la voie indirecte les récepteurs D2 (Gerfen, 1992). Les afférences dopaminergiques devraient donc exercer un effet excitateur sur les NETM de la voie directe et un effet inhibiteur sur les NETM de la voie indirecte. Cette dichotomie des effets de la dopamine serait donc due à une ségrégation de l'expression des récepteurs D1 et D2 au niveau des voies directe et indirecte comme cela est aujourd'hui classiquement admis. Néanmoins, les choses pourraient être moins caricaturales et un peu plus complexes puisque la ségrégation totale des récepteurs D1 et D2 sur les neurones striataux est encore aujourd'hui un sujet de débat. En effet, si les études anatomiques (par

hybridation *in situ*) suggèrent que les deux types de récepteurs sont bien ségrégués dans deux populations neuronales (Gerfen, 1992), les études fonctionnelles mettent en évidence une co-localisation des récepteurs D1 et D2 sur les NETM et un double effet excitateur et inhibiteur de la dopamine sur un même NETM passant par les deux types de récepteurs (Akaike et al., 1987 ; Surmeier et al., 1992 ; 1993).

Par conséquent, les effets de la dopamine sur l'excitabilité et l'activité des NETM ne semblent pas aussi simples que ceux précédemment décrits mais apparaissent contradictoires et sources de débats. Les études réalisées aussi bien *in vivo* que *in vitro* montrent que l'activation des récepteurs D1 et D2 peuvent induire à la fois des effets inhibiteurs et excitateurs au niveau des NETM (Nicola et al., 2000).

L'activité des interneurons striataux est également régulée par les afférences dopaminergiques. Ainsi, il a été montré que de l'application de dopamine dépolarise les interneurons GABAergiques via une activation des récepteurs D1 et diminuent leurs entrées inhibitrices (probablement issues d'autres interneurons GABAergiques) via l'activation de récepteurs D2 pré-synaptiques (Bracci et al., 2002). L'activité des interneurons cholinergiques, quant à elle, est fortement régulée par la dopamine. Ainsi, l'activation des récepteurs D1 induit une dépolarisation des interneurons (Aosaki et al., 1998). A l'inverse, la stimulation des récepteurs D2, exprimés majoritairement par les interneurons cholinergiques, induit un ralentissement de la décharge tonique des interneurons cholinergiques (Maurice et al., 2004) et une diminution de leurs entrées synaptiques (Pisani et al., 2000). Ainsi, la dopamine entraîne une pause dans la décharge tonique des interneurons cholinergiques ; la balance dopamine/acétylcholine joue donc un rôle important dans la physiologie striatale, en particulier dans le codage d'informations liées à la récompense (Cragg, 2006). Enfin, peu d'études ont été consacrées aux interneurons à NO-synthase mais il a été montré que la dopamine stimule la libération de NO dans le striatum grâce à une activation des récepteurs D1 (Sammur et al., 2006).

2.1.3 Autres afférences

Le striatum reçoit également des afférences intra-GB provenant du GP (Staines et al., 1981 ; Rajakumar et al., 1994) et du NST (Smith et al., 1990) et des afférences extra-GB : sérotoninergiques provenant du raphé dorsal et médian

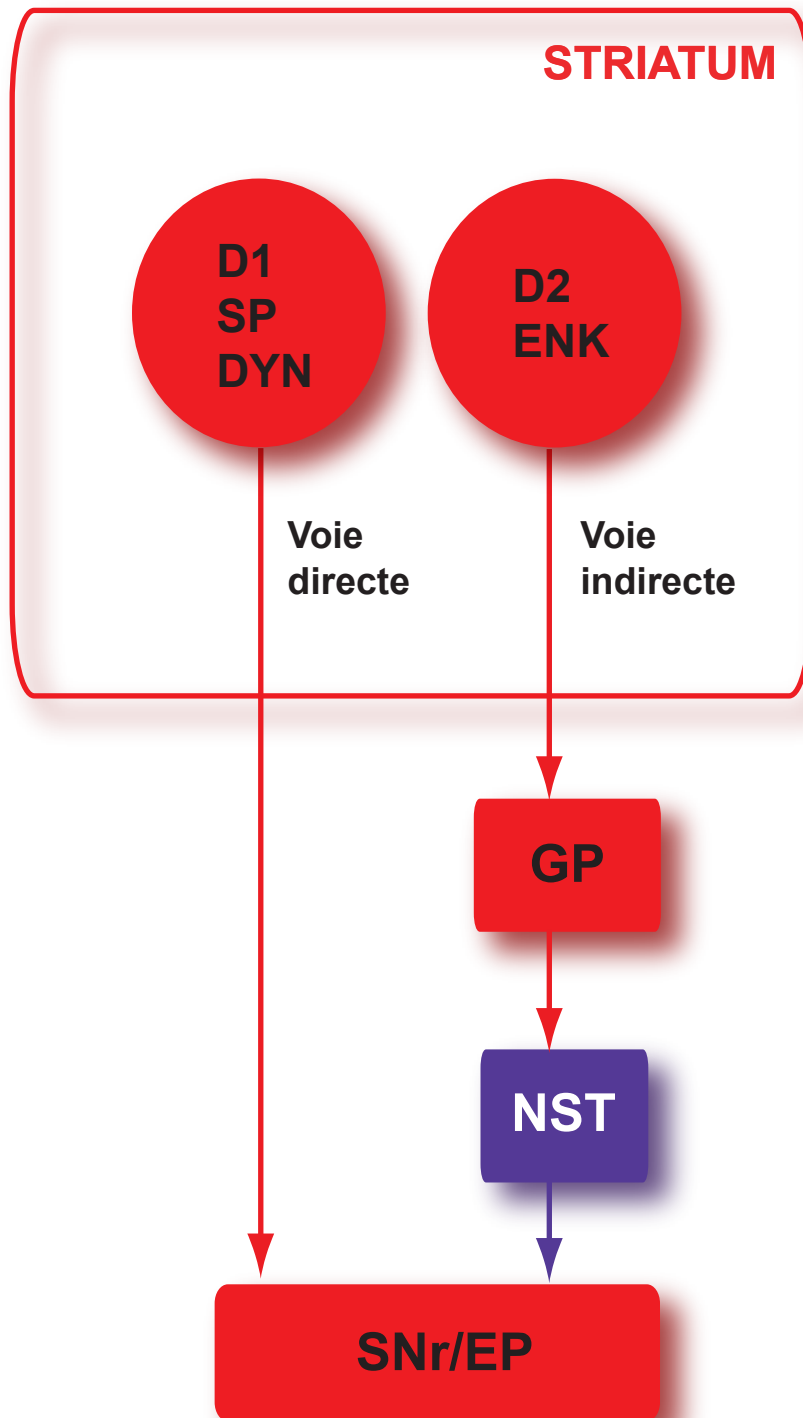


Figure 8. Efférences du striatum: voies directe et indirecte.

Des marqueurs cellulaires permettent de différencier les NETM de la voie directe et ceux de la voie indirecte. Les NETM de la voie directe expriment les récepteurs dopaminergiques D1, la substance P (SP) et la dynorphine (DYN) et les NETM de la voie indirecte expriment les récepteurs dopaminergiques D2 et l'enképhaline (ENK).

(Arluison et Delamanche, 1980 ; Lavoie et Parent, 1990) et glutamatergiques provenant de l'amygdale (Kelley et al., 1982).

2.2 Les sorties striatales : voies directe et indirecte

Les voies efférentes du striatum correspondent en fait à ses projections vers les structures de sortie des GB (SNr et EP). Ces projections constituent soit la voie directe, c'est-à-dire une connexion monosynaptique entre le striatum et la SNr et l'EP soit la voie indirecte, qui transite par le GP et le NST avant d'atteindre les structures de sortie (Figure 8).

Il existe également des projections striatales vers la SNc (Gerfen, 1985) ; ces projections proviennent des NETM appartenant aux striosomes (voir chapitre 2.3).

2.2.1 Les efférences striatales vers la SNr et l'EP : la voie directe

La projection du striatum sur les structures de sortie des GB correspond à la voie directe de sortie du striatum. L'expression préférentielle ou exclusive de certains marqueurs cellulaires permet d'identifier les NETM appartenant aux voies directes et indirectes. Ainsi, ce sont majoritairement les NETM exprimant la substance P, la dynorphine et les récepteurs D1 qui projettent directement aux structures de sortie des GB (Figure 8) (Alexander et Crutcher, 1990 ; Gerfen, 1992).

Les projections striatales sont organisées topographiquement de telle sorte que la compartimentation anatomo-fonctionnelle du striatum est conservée jusqu'à la SNr (Deniau et al., 1996). Les différents territoires striataux sont organisés au niveau de la SNr sous forme de lames semi-circulaires, disposées à la manière de pelures d'oignons. Ainsi, par exemple, les efférences sensori-motrices striatales forment un ensemble de projections localisé dans la partie dorso-latérale de la SNr ; les territoires limbiques se distribuent dorsalement et médialement par rapport à ce territoire sensori-moteur (Deniau et al., 1996).

Les neurones efférents de la SNr et de l'EP sont GABAergiques et caractérisés par une activité spontanée importante. Ainsi, comme nous l'avons exposé plus haut, en inhibant l'activité de ces neurones, la décharge des NETM de la

voie directe va donc lever l'inhibition tonique que la SNr et l'EP exercent sur les structures cibles du tronc cérébral et du thalamus (Chevalier et Deniau, 1990).

Il existe une organisation anatomo-fonctionnelle qui est conservée non seulement tout au long de l'axe cortico-GB mais également au-delà, jusqu'au niveau des structures cibles des GB. Ainsi, par exemple, la région sensori-motrice orofaciale de la SNr se projette principalement sur la partie postérieure du noyau ventro-médian du thalamus et la partie antéro-latérale du colliculus supérieur (Deniau et Thierry, 1997).

2.2.2 Les afférences striatales vers le GP : première étape de la voie indirecte

La voie striato-pallidale correspond à la première étape de la voie indirecte de sortie du striatum. Tout comme pour les NETM engagés dans la voie directe, il existe des marqueurs cellulaires relativement spécifiques permettant d'identifier les NETM appartenant à la voie indirecte. En effet, les NETM de la voie indirecte expriment les enképhalines et les récepteurs D2 (Figure 8) (Alexander et Crutcher, 1990 ; Gerfen, 1992).

Les projections du GP sur le NST constituent la seconde étape de la voie indirecte. Les neurones GABAergiques du GP sont toniquement actifs et maintiennent donc un tonus inhibiteur sur le NST (qui envoie des afférences glutamatergiques vers la SNr et l'EP). L'activation des neurones GABAergiques du striatum permet donc de lever l'inhibition tonique du GP sur le NST. Le NST, via ses afférences glutamatergiques, entraîne alors la décharge des neurones des structures de sortie (Maurice et al., 1998). Ainsi, l'activité inhibitrice des structures de sortie sur leurs cibles sera renforcée, exerçant ainsi un frein sur le mouvement.

2.3 Hétérogénéité du striatum: striosomes vs. matrice

L'hétérogénéité striatale a été initialement mise en évidence par une différence d'expression de l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine, l'acétylcholine estérase. Si la plus grande partie du striatum est riche en cette enzyme, de petites

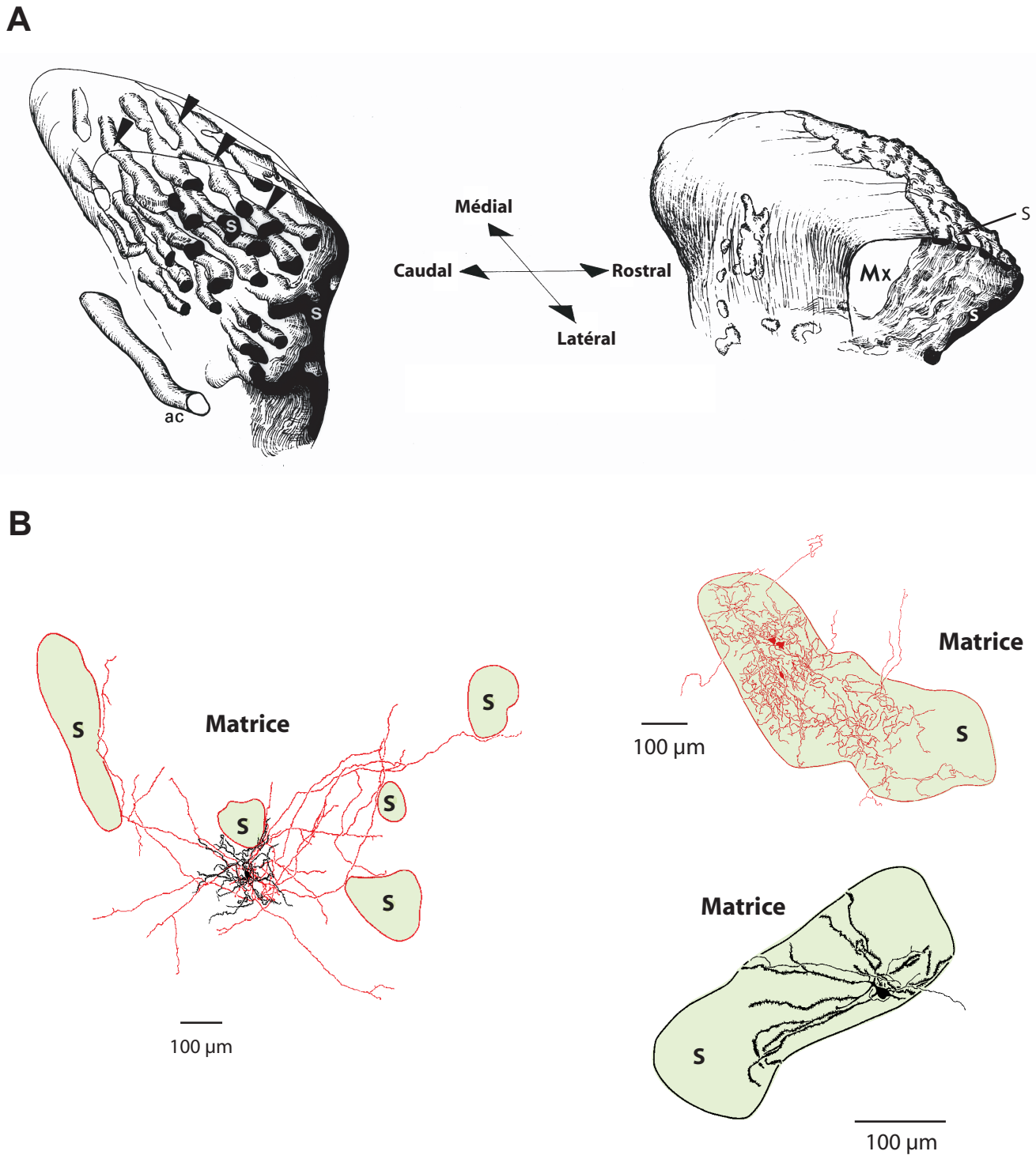


Figure 9. Territoires striosomal et matriciel du striatum.

A : Organisation tridimensionnelle des compartiments striosomal et matriciel, reconstruite à partir de coupes sagittales. Gauche : reconstruction de la partie médiane du striatum (latéralité 1,80 à 3,50). Droite : reconstruction de la partie latérale du striatum (latéralité 3,80 à 4,80). S : striosomes; Mx : matrice; ac : commissure antérieure. Les striosomes, visualisés grâce à un marquage des récepteurs opioïdes de type mu par la naloxone, sont enrichis dans la partie médiane et antérieure du striatum. **B** : Exemples de neurones efférents du striatum de la matrice (à gauche) et des striosomes (à droite). Les arborisations dendritiques (en noir) et axonales (en rouge) respectent les frontières des striosomes (S, colorés en vert) et de la matrice (en blanc). A droite, les trois départs d'axones qui sortent du compartiment striosomal sont ceux qui projettent en dehors du striatum (ils ne présentent pas de terminaisons dans le striatum). D'après Desban et al., 1993 (A) et Kawaguchi et al., 1989 (B).

zones en sont dépourvues. Celles-ci ont été appelées les striosomes et le reste du striatum, riche en acétylcholine estérase, a été appelé la matrice (Graybiel et Ragsdale, 1978). Depuis, la découverte d'autres marqueurs spécifiques, tels que les récepteurs opioïdes de type mu, qui sont spécifiquement exprimés dans les striosomes, a permis d'établir avec précision une cartographie de ces compartiments (Desban et al., 1993). Les striosomes représentent 15% du volume du striatum et forment un réseau de canaux interconnectés principalement localisés dans les parties antérieures et médianes du striatum (Figure 9A). L'hétérogénéité striatale n'est pas seulement anatomique ou biochimique, mais également fonctionnelle puisque les deux compartiments ne sont pas répartis de manière uniforme au sein des territoires fonctionnels striataux. En effet, le compartiment matriciel (qui représente 85% du striatum) est enrichi dans le territoire innervé par les cortex moteurs et sensoriels tandis que le compartiment striosomal est enrichi dans les territoires innervés par des cortex limbiques et préfrontal (Donoghue et Herkenham, 1986 ; Ragsdale et Graybiel, 1990). En retour, les neurones de la matrice constituent la source principale des projections striatales vers le GP et la SNr (Gimenez-Amaya et Graybiel, 1990) et les NETM striosomaux projettent principalement à la SNc et sur le territoire limbique de l'EP (Gerfen, 1985).

La ségrégation des deux territoires est accentuée par le fait que les arborisations dendritiques des NETM de chaque territoire se cantonnent exclusivement dans celui-ci (Kawaguchi et al., 1989), excluant ainsi une communication directe entre les NETM des deux différents compartiments (Figure 9B). Un lien semble néanmoins être assuré entre les deux compartiments via les interneurones striataux. En effet, les arborisations dendritiques et axonales des interneurones GABAergiques et des interneurones cholinergiques s'étendent indifféremment dans les striosomes et la matrice (Kubota et Kawaguchi, 1993). Les interneurones striataux permettraient donc de relier ces deux compartiments anatomo-fonctionnels du striatum.

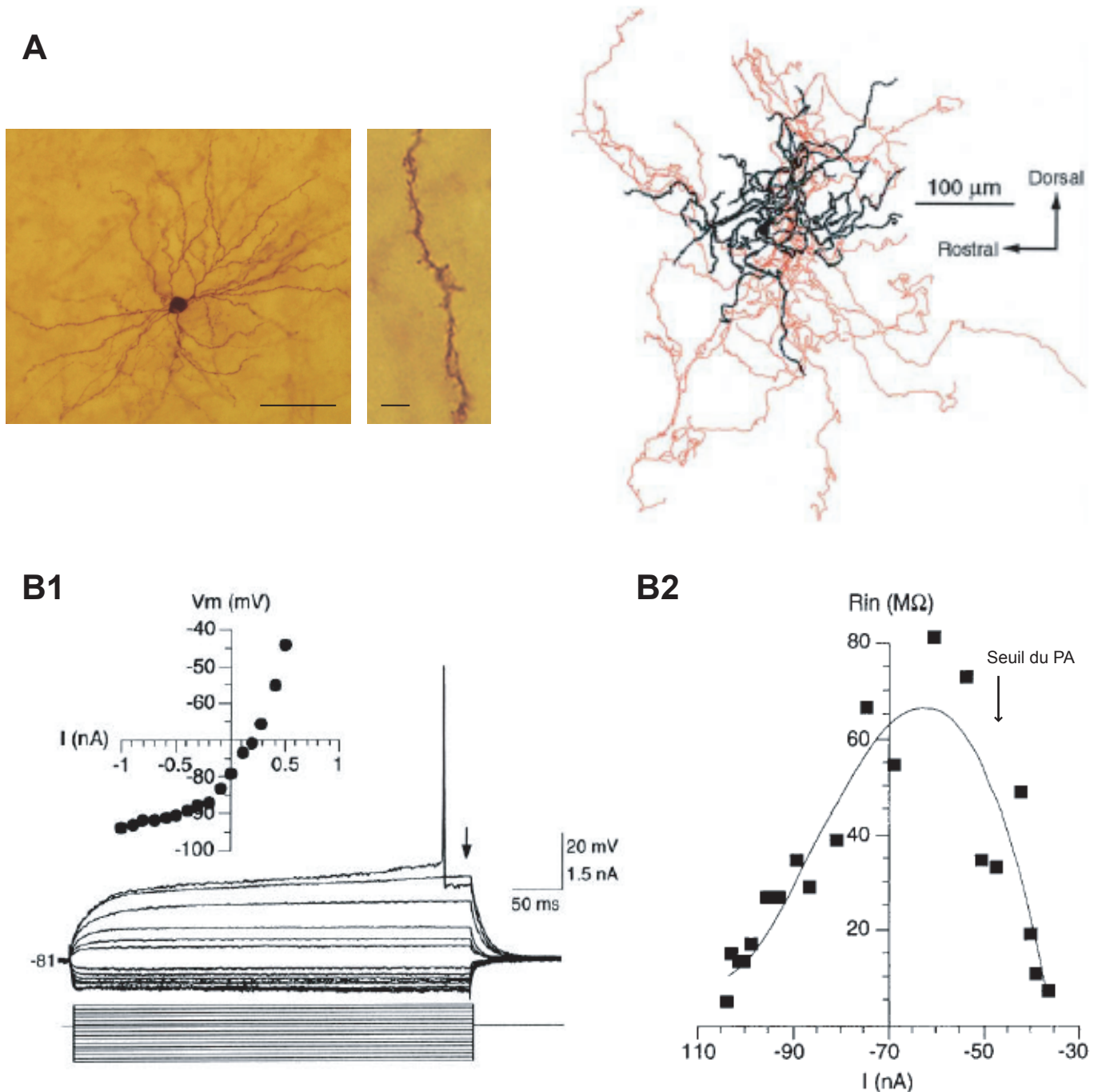


Figure 10. Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des neurones de sortie du striatum (NETM).

A: Morphologie d'un NETM: à gauche un NETM injecté à la biocytine. Les épines sont bien visibles sur le panneau de droite (échelles: 100 μm et 5 μm). A droite une reconstruction de l'arbre dendritique (en noir) et l'arborisation axonale (en rouge) d'un NETM. **B:** Caractéristiques électrophysiologiques des NETM. **B1:** Changements de potentiel membranaire en réponse à l'injection de courants hyperpolarisants (0.1-1.0 nA) et dépolarisants (0.1-0.6 nA). En haut est représentée la relation courant/voltage obtenue à partir des réponses représentées en dessous. Une des caractéristiques des NETM est une courbe I/V rectifiante. **B2:** Evolution de la résistance d'entrée (R_{in}) en fonction du potentiel de membrane. Adapté de Fino et al., 2005 et Tepper et al., 2004 (A) et Nisenbaum et al., 1995 (B).

2.4 Les populations neuronales du striatum

2.4.1 Les neurones de sortie

Les neurones de sortie constituent la population majoritaire des neurones du striatum. Ils sont caractérisés par un corps cellulaire de forme arrondie d'environ 12 μm de diamètre d'où partent 4-5 dendrites primaires qui, après ramification, vont se couvrir d'épines dendritiques (Wilson et Groves, 1980). Ces caractéristiques morphologiques ont donné leur nom aux neurones de sortie du striatum : les neurones épineux de taille moyenne. L'arbre dendritique des NETM s'étend sur une surface d'environ 300 μm (Figure 10).

L'axone des NETM est émis à partir du corps cellulaire et, outre sa projection vers les structures de sortie des GB, il peut former des collatérales récurrentes (Preston, 1980 ; Wilson et Groves, 1980 ; Somogyi et al., 1981). Ces collatérales permettent aux NETM de communiquer entre eux via des synapses chimiques unidirectionnelles ou électriques bidirectionnelles (Czubayko et Plenz, 2002 ; Plenz, 2003 ; Venance et al., 2004) et de participer ainsi aux circuits d'interactions locales dans le striatum (Park et al., 1980). Il est d'ailleurs à noter que ces deux types de transmission sont mutuellement exclusifs, c'est-à-dire que deux NETM couplés chimiquement ne le sont pas électriquement et vice-versa (Venance et al., 2004).

Le GABA est le principal neurotransmetteur des NETM (Ribak et al., 1979 ; Oertel et Mugnaini, 1984). Néanmoins, ils expriment également des peptides neuroactifs, de type opioïdes (les enképhalines et la dynorphine) ou tachykininergique (substance P), qui sont co-libérés avec le GABA. Ces peptides sont exprimés différenciellement dans les NETM en fonction de leur appartenance à la voie directe ou indirecte. Les neurones de la voie directe expriment la dynorphine et la substance P tandis que ceux de la voie indirecte expriment les enképhalines (Figure 8) (Izzo et al., 1987 ; Graybiel, 1990 ; Kawaguchi et al., 1990 ; Gerfen, 1992).

Les NETM reçoivent des afférences intrastriatales provenant des différents interneurones : GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase (Figure 11). Les effets des différents interneurones du striatum sur l'activité des NETM seront détaillés dans les chapitres qui leur sont consacrés.

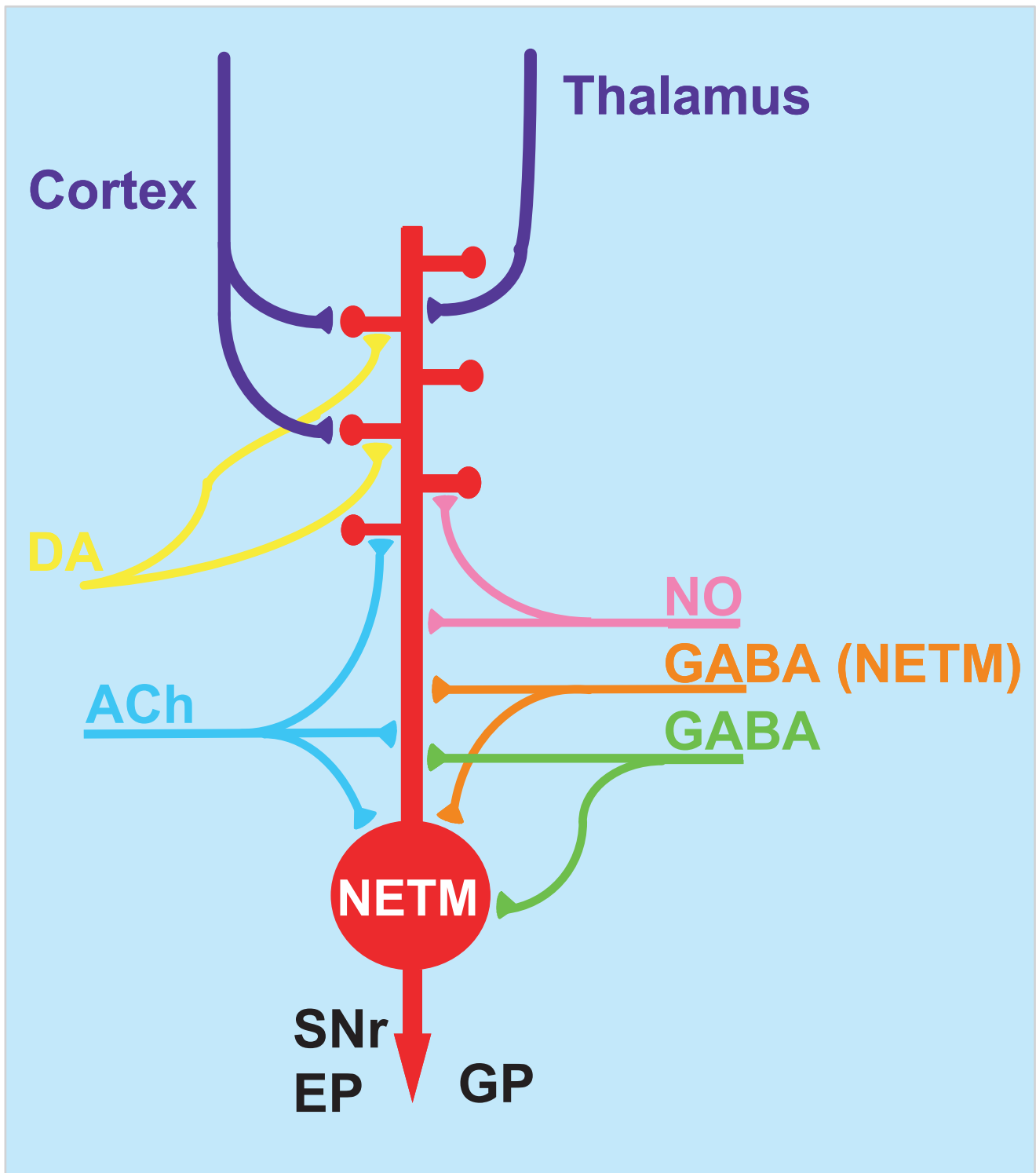


Figure 11. Les différentes afférences d'un NETM et leur localisation sur le soma et l'arbre dendritique.

Schéma du corps cellulaire et de l'arbre dendritique d'un NETM indiquant la localisation de ses afférences. Les afférences intra-striatales provenant des interneurons GABAergiques (GABA), des interneurons cholinergiques (ACh), des interneurons à NO-synthase (NO) et des collatérales récurrentes d'autres NETM (GABA (NETM)) se font principalement sur la partie proximale des dendrites et sur le corps cellulaire. Les contacts des afférences thalamiques se font sur les troncs dendritiques et les afférences corticales se font sur la tête des épines. Les afférences dopaminergiques (DA) contactent le cou des épines dendritiques. Adapté de Smith et Bolam, 1990 et Parent et Hazrati, 1995.

Electrophysiologiquement, les NETM sont caractérisés par un potentiel de repos très hyperpolarisé (< -75 mV) et une résistance d'entrée relativement faible (15-30 M Ω), une relation courant/voltage rectifiante et une décharge régulière (Kita et al., 1984 ; Kawaguchi, 1989) (Figure 10). Ils possèdent des canaux potassiques qui influencent leurs propriétés d'intégration en fonction de leur potentiel de membrane (Kawaguchi et al., 1989 ; Nisenbaum et al., 1994 ; Nisenbaum et Wilson, 1995). Les NETM possèdent des canaux potassiques de la rectification entrante (K_{ir}) qui maintiennent le potentiel de membrane du neurone dans un état très hyperpolarisé et contribue à la faible résistance d'entrée du neurone quand il se trouve à son potentiel de repos. Cet état hyperpolarisé, associé à une conductance membranaire élevée, constitue donc un frein à la sommation d'entrées excitatrices et donc à l'émission d'un potentiel d'action (PA). Pour des potentiels plus dépolarisés, K_{ir} s'inactive et la résistance d'entrée augmente, rendant ainsi plus réactif le neurone à des entrées synaptiques. Un autre courant potassique, dit à inactivation lente (K_{AS}), intervient dans le contrôle de la décharge des NETM. Ce courant, qui s'active vers des potentiels proches du seuil de décharge, est à l'origine d'une lente rampe de dépolarisation et va donc retarder le déclenchement du PA (Kawaguchi, 1989 ; Nisenbaum et Wilson, 1995) (Figure 10).

Les propriétés électriques membranaires des NETM produisent un court-circuit inhibiteur très important qui limite la sommation et la propagation des entrées synaptiques. L'ensemble de ces conductances potassiques entraîne une hypo-excitabilité des NETM. Ces propriétés membranaires sont déterminantes dans le rôle du striatum dans la détection et l'intégration de l'activité corticale et thalamique. Les NETM, majoritairement silencieux, doivent recevoir des entrées excitatrices de fortes amplitudes et fortement corrélées dans le temps pour décharger et donc relayer l'information corticale aux structures de sorties des GB (Wilson, 1995) (Figure 12). Les NETM agissent donc comme des détecteurs de coïncidence et confèrent au striatum les propriétés d'un filtre passe-haut. Leur mode de fonctionnement permet d'extraire les informations corticales pertinentes du bruit de fond et mettre en place, via les structures de sortie, un comportement adapté aux stimuli environnementaux détectés.

Bien que silencieux, les NETM ne restent pas figés à un potentiel de repos fixe. En effet, l'existence de fluctuations spontanées du potentiel de membrane des NETM a été observée *in vivo* chez le rat anesthésié par des enregistrements extra-

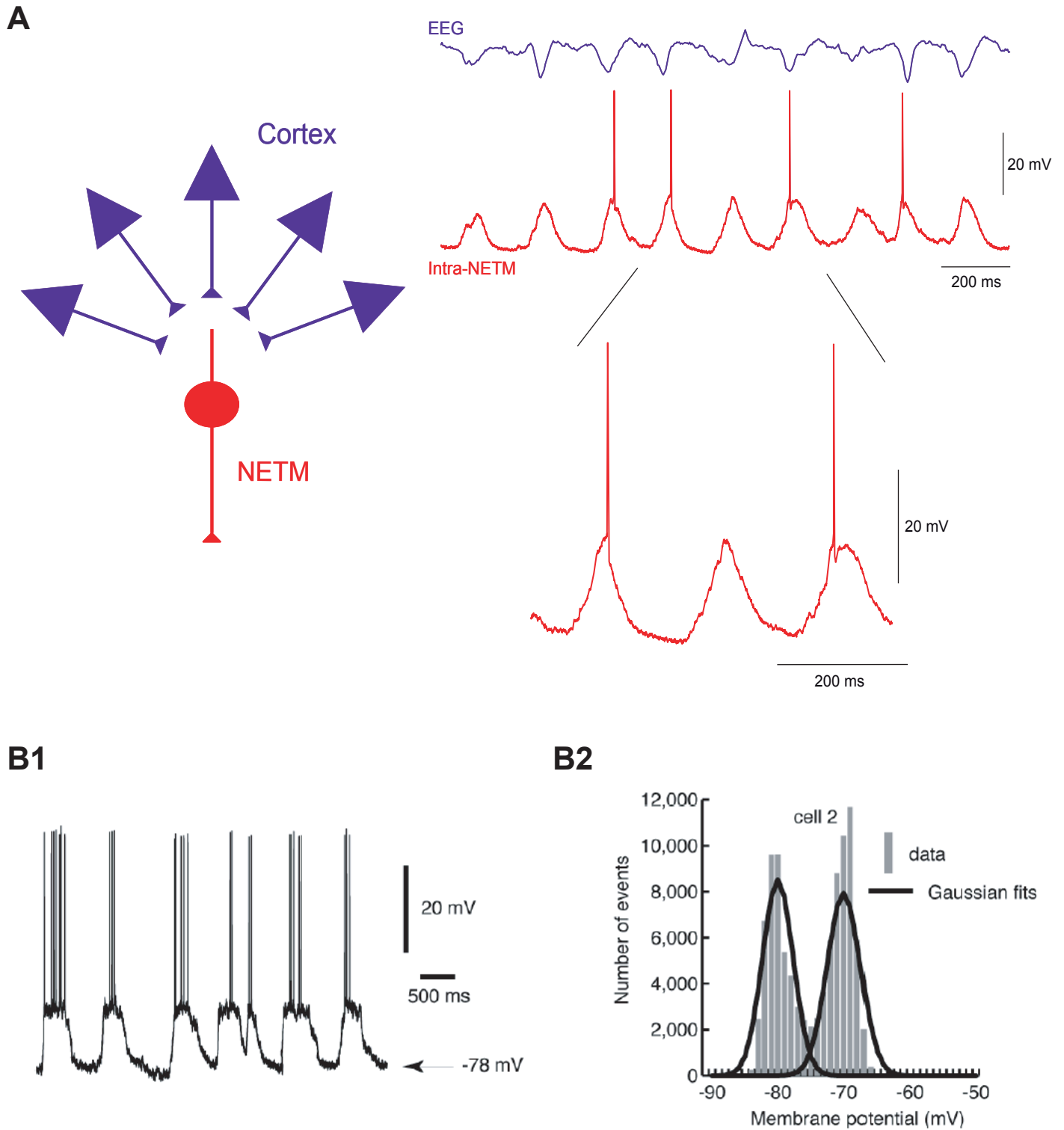


Figure 12. Mode de fonctionnement des neurones de sortie du striatum.

A: Sommations de l'activité corticale. Des activités corticales faiblement synchronisées et d'amplitude moyenne entraînent des sommations d'EPSPs dans les NETM qui restent sous-liminaire. Si un grand nombre de neurones corticaux s'activent en même temps et suffisamment fortement, les sommations permettent d'atteindre le seuil de décharge des NETM et un potentiel d'action est émis. **B:** Fluctuations spontanées du potentiel de membrane d'un NETM chez le rat anesthésié à l'uréthane. **B1:** Enregistrement intracellulaire de l'activité spontanée d'un NETM. On peut observer les phases de dépolarisation (up states) et les phases d'hyperpolarisation (down states). **B2:** Histogramme montrant la distribution bi-modale des valeurs du potentiel membranaire. Adapté de Mahon et al., 2001 (A) et de Stern et al., 1998 (B).

cellulaires (Wilson et Groves, 1981). Ces fluctuations ont ensuite été décrites comme reflétant des transitions entre deux niveaux de polarisation de la membrane, un état hyperpolarisé (« down » state) qui correspond au potentiel de repos des neurones et un état plus dépolarisé (« up » state) (Wilson et Kawaguchi, 1996 ; Stern et al., 1998) (Figure 12). L'alternance entre ces deux états membranaires se fait de façon rythmique à une fréquence d'environ 1 Hz. Les enregistrements simultanés *in vivo* de l'électroencéphalogramme cortical et l'activité des NETM ont permis de mettre en parallèle des activités synchrones corticales avec l'activité en états « up and down » des NETM. Il a donc été proposé que l'activité synchrone des neurones cortico-striataux génère les oscillations du potentiel de membrane des NETM et leur imprime son rythme. Il est communément admis que les activités en états « up » et « down » sont le mode de fonctionnement « normal » des NETM (Wilson, 1993). Néanmoins, ce type d'activité a été enregistré majoritairement chez des animaux anesthésiés et le type d'anesthésiques utilisés semble influencer grandement les oscillations rythmiques membranaires des NETM (Mahon et al., 2001). L'enregistrement de l'activité spontanée des NETM chez le rat vigile en contention a permis de mettre en évidence que les états « up » et « down » dépendaient des états de vigilance du rat. En effet, ils sont retrouvés dans les phases de sommeil lent mais sont quasiment absents (sous forme rythmique en tout cas) dans les états d'éveil (Mahon et al., 2006).

2.4.2 Les interneurones striataux

Les interneurones GABAergiques

Les interneurones GABAergiques représentent 1-2% de la population neuronale du striatum. Ils sont caractérisés par un corps cellulaire rond d'environ 16 μm de diamètre. Leur arbre dendritique est très ramifié, dépourvu d'épines et occupe un diamètre d'environ 500 μm (Figure 13A). Leur axone est court et forme une très riche arborisation favorisant les contacts locaux (Kawaguchi, 1995). De plus, les arborisations dendritiques et axonales des interneurones GABAergiques s'étendent indifféremment dans les territoires matriciel et striosomal (Kubota et Kawaguchi, 1993), permettant ainsi de faire un lien entre ces deux compartiments anatomo-fonctionnels.

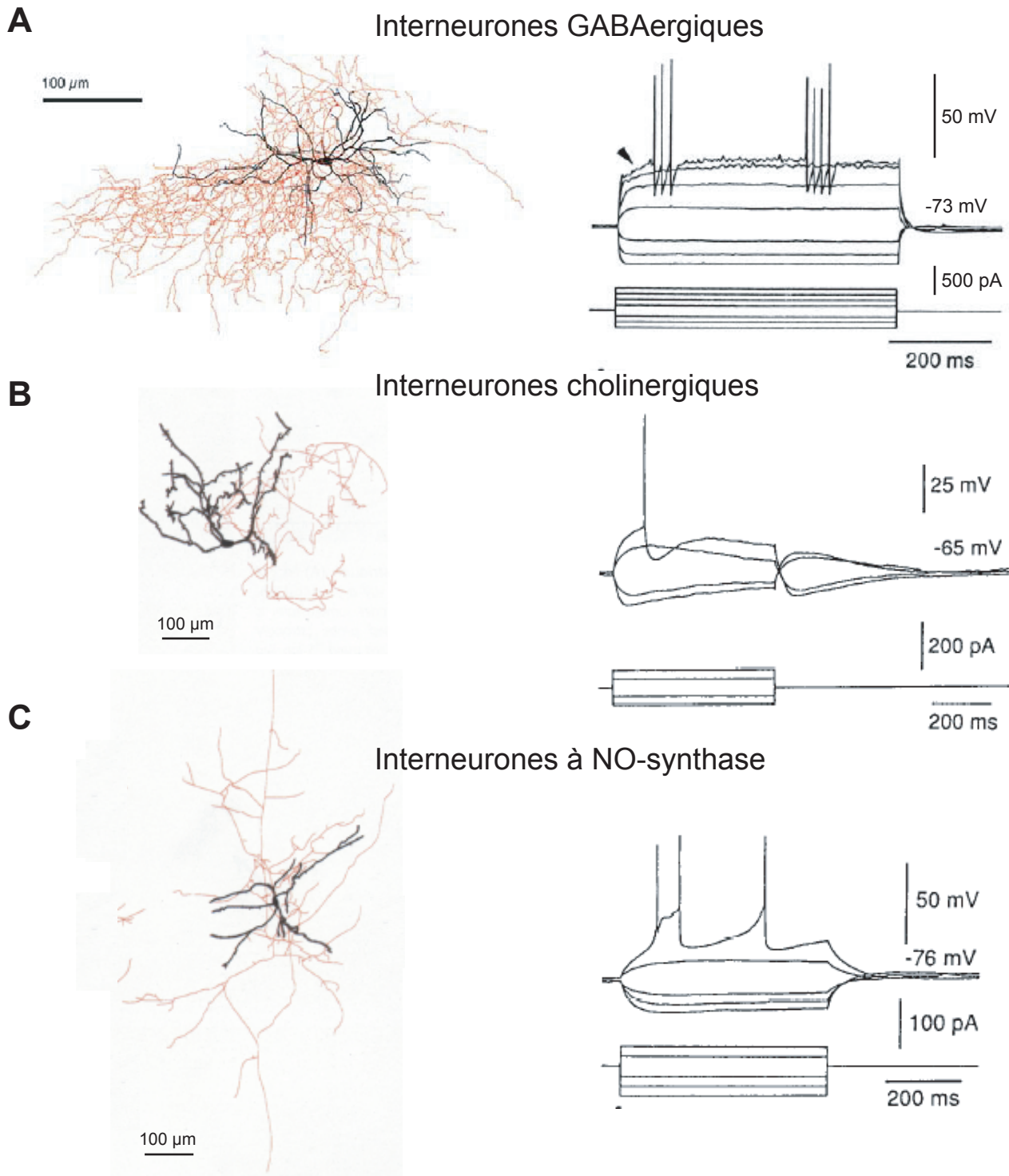


Figure 13. Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques des interneurones striataux.

A: Reconstruction de l'arbre dendritique (en noir) et l'arborisation axonale (en rouge) d'un interneurone GABAergique. Les interneurones GABAergiques sont caractérisés par une faible durée de leurs potentiels d'action et par une fréquence de décharge élevée. **B:** Morphologie d'un interneurone cholinergique. Profil électrophysiologique d'un interneurone cholinergique, caractérisé par une longue phase de post-hyperpolarisation et par une fréquence de décharge faible. **C:** Morphologie d'un interneurone à NO-synthase. Les interneurones à NO-synthase sont caractérisés par une décharge en doublets des premiers potentiels d'action émis ainsi qu'un plateau calcique persistant. Les illustrations morphologiques sont tirées deTepper et Bolam, 2004 (A) et Kawaguchi, 1995 (B et C) et les illustrations électrophysiologiques de Kawaguchi et al., 1993.

In vitro, les interneurons GABAergiques ont un potentiel de repos hyperpolarisé et sont silencieux. Ils sont caractérisés par une durée du PA très courte (environ 1 ms), une phase de post-hyperpolarisation de grande amplitude et de courte durée et une fréquence de décharge élevée en réponse à une injection de courant dépolarisant (Figure 13A) (Kawaguchi, 1993 ; 1995). Cette dernière caractéristique est à l'origine de leur appellation électrophysiologique de neurones « fast-spiking » (FS). Il existe peu de données concernant les interneurons GABAergiques *in vivo* mais une étude récente a permis de confirmer ces propriétés passives et actives (Mallet et al., 2005).

Les interneurons GABAergiques ont pour cible principale les NETM ; ils les contactent préférentiellement au niveau du soma (Kita et al., 1990 ; Bennett et Bolam, 1994). Les interneurons GABAergiques exercent une inhibition très importante sur les NETM (Figure 14). En effet, il a été montré qu'un PA émis par un interneurone GABAergique induit un potentiel post-synaptique inhibiteur (IPSP) dans un NETM, IPSP capable de retarder ou même d'empêcher la décharge du NETM (Koos et Tepper, 1999). Cette inhibition des NETM par les interneurons GABAergiques est plus puissante que celle des collatérales récurrentes des NETM (Koos et al., 2004) ; ces deux inhibitions sont médiées par le récepteur ionotropique GABA_A (Koos et al., 2004 ; Venance et al., 2004). D'autre part, le GABA peut agir sur des récepteurs GABA_B situés sur les terminaisons corticales. En effet, il a été montré qu'un agoniste des récepteurs métabotropiques GABA_B diminue l'amplitude d'un EPSP évoqué dans un NETM par une stimulation des entrées corticales dans le corps calleux (Nisenbaum et al., 1992). Les interneurons GABAergiques ont donc un rôle important dans le contrôle de la décharge des NETM en modulant à la fois leur excitabilité et leur intégration des entrées excitatrices. Ils influencent donc la sortie du striatum et les informations qui seront relayées vers les structures de sortie des GB. De plus, le poids inhibiteur très important des interneurons GABAergiques sur les NETM a amené l'hypothèse qu'ils seraient impliqués dans la focalisation des informations cortico-striatales. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les interneurons GABAergiques sont contactés directement par des afférences corticales. Etant donné l'organisation fonctionnelle des projections cortico-striatales, les interneurons GABAergiques sont activés en même temps qu'une population de NETM répondant à la même information corticale. Les interneurons GABAergiques pourraient donc, en recevant cette information, inhiber les NETM autour qui reçoivent

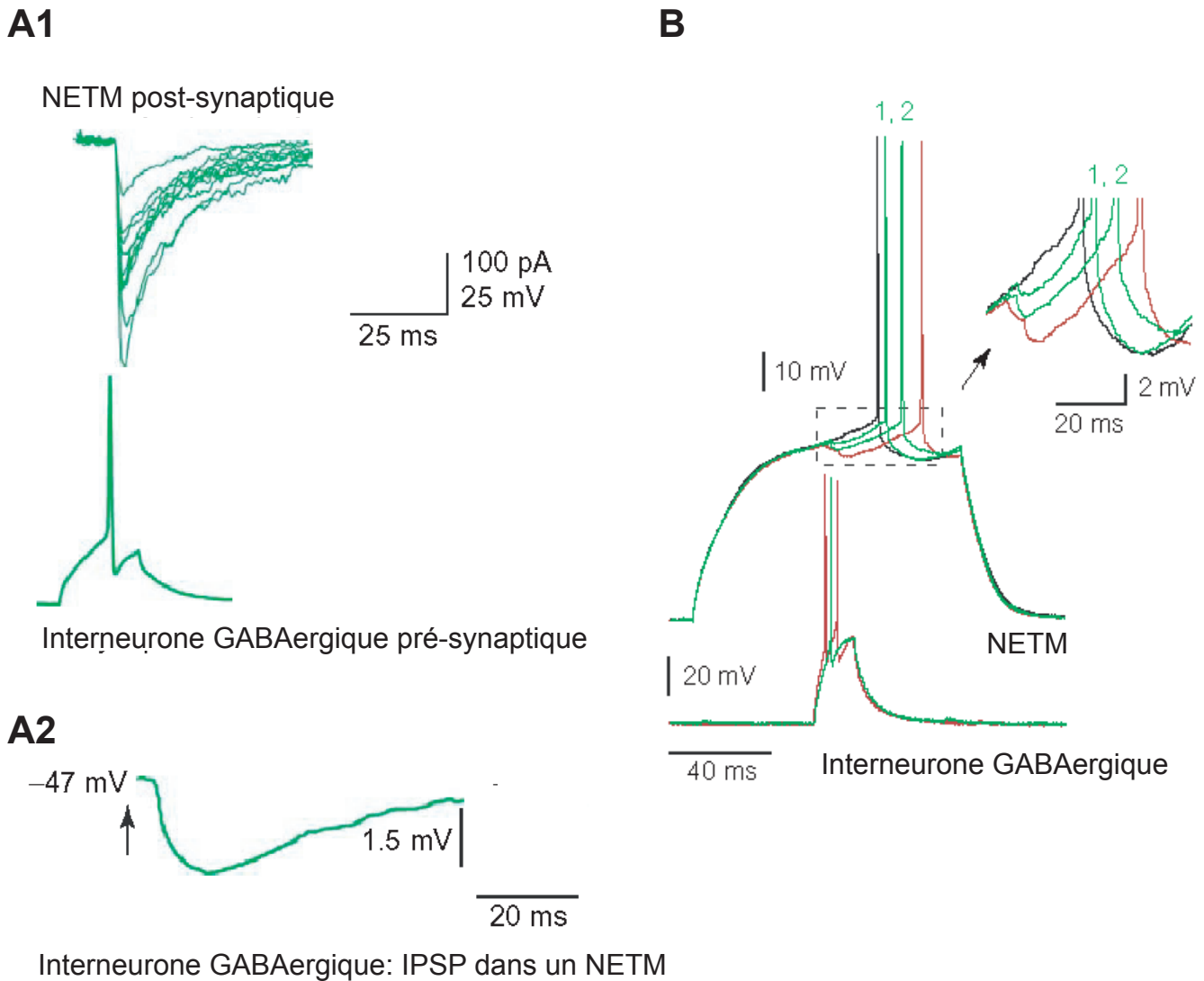


Figure 14. Rôle des interneurones GABAergiques.

A1: Un potentiel d'action émis par un interneurone GABAergique évoque des IPSCs dans un NETM. **A2:** Exemple d'un IPSP évoqué dans un NETM par la décharge d'un interneurone GABAergique. **B:** Modulation du déclenchement d'un potentiel d'action d'un NETM par un interneurone GABAergique. L'émission d'un potentiel d'action dans un NETM (en noir) est retardé par un IPSP évoqué par un seul potentiel d'action (en vert) ou un doublet de potentiels d'action (en rouge) déclenchés au niveau d'un interneurone GABAergique. Il est à noter que le retard de déclenchement du potentiel d'action dans le NETM est variable et le doublet est plus efficace qu'un potentiel d'action seul. D'après Tepper et al., 2004.

une entrée faible du cortex et ainsi focaliser l'information corticale. De cette façon, la mise en place de canaux fonctionnels parallèles au sein du striatum va être renforcée ainsi que leur rôle dans la focalisation des informations corticales de différentes natures.

Les interneurons GABAergiques reçoivent des afférences des interneurons cholinergiques. L'acétylcholine a un double effet sur les interneurons GABAergiques : excitateur, elle les dépolarise en agissant sur des récepteurs nicotiques situés sur le soma ; et inhibiteur, elle diminue la libération de GABA via des récepteurs muscariniques situés sur les terminaisons axonales contactant les NETM (Koos et Tepper, 2002). Le réseau local GABAergique au sein du striatum est donc modulé par un autre réseau local, celui des interneurons cholinergiques.

Les interneurons cholinergiques

Les interneurons cholinergiques représentent environ 2% des neurones du striatum. Ils sont également appelés les neurones « géants » du striatum car leur corps cellulaire est particulièrement grand (environ 50 μm). Ils émettent 3 à 6 dendrites, non épineux et peu ramifiés, qui forment un arbre dendritique qui peut aller jusqu'à 1 mm de diamètre (Figure 13B). L'axone est particulièrement long et ramifié (Kawaguchi, 1995). Les interneurons cholinergiques, bien que préférentiellement localisés dans la matrice, peuvent avoir des dendrites qui s'étendent jusque dans les striosomes (Kubota et Kawaguchi, 1993) et pourraient donc jouer un rôle dans le dialogue entre les deux compartiments anatomo-fonctionnels du striatum.

Au-delà de leurs caractéristiques morphologiques, les neurones « géants » du striatum ont été caractérisés comme interneurons cholinergiques sur la base de leur immunoréactivité à la choline acetyltransférase (Bolam et al., 1984).

Les interneurons cholinergiques sont toniquement actifs *in vivo*, ce qui leur a valu le nom de « TANs » (ou « tonically active neurons ») (Wilson et al., 1990 ; Aosaki et al., 1995). Leur activité caractéristique, qualifiée de tonique, présente une fréquence de décharge relativement faible, de 1 à 5 Hz. *In vitro*, les interneurons cholinergiques sont caractérisés par un potentiel de repos dépolarisé (environ -60 mV), proche du seuil de déclenchement d'un PA et une résistance d'entrée élevée. Une caractéristique des interneurons cholinergiques est la présence d'un sag à l'injection d'un courant hyperpolarisant (Figure 13B). Ce sag est sous-tendu par le courant dépolarisant activé par une hyperpolarisation (courant I_h). D'autre part, la

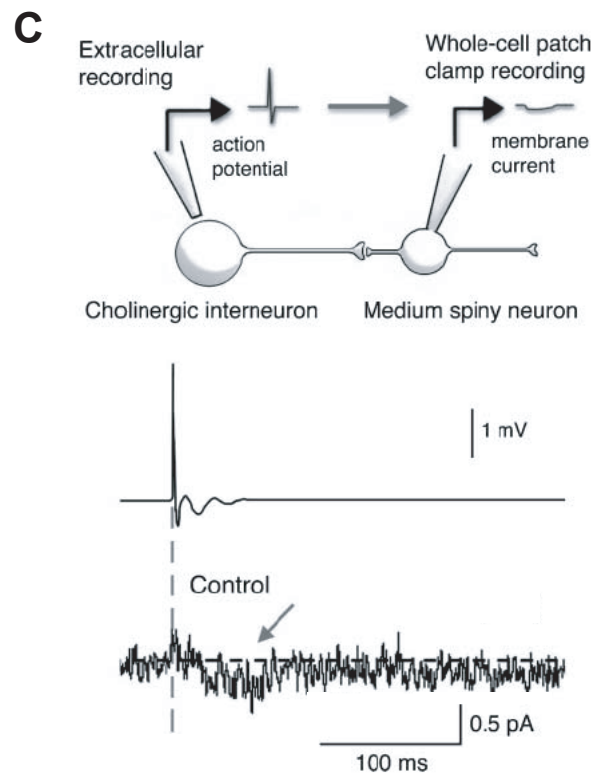
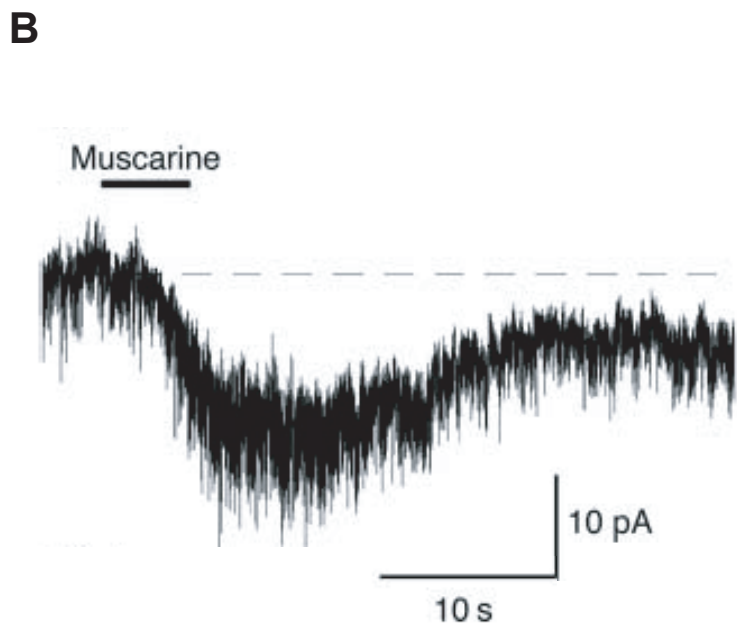
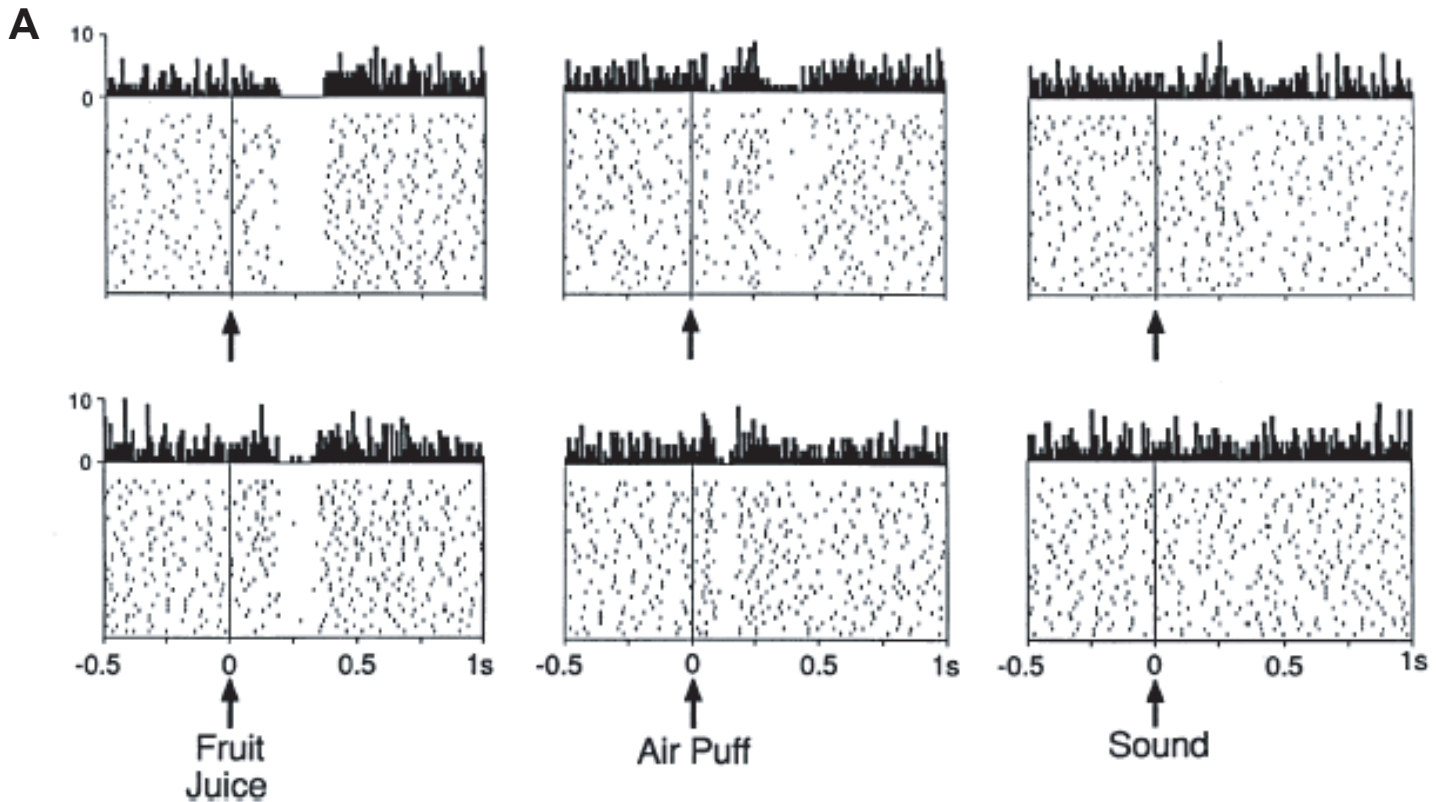


Figure 15. Rôle des interneurones cholinergiques.

A: Exemples de réponses de deux interneurones cholinergiques à des stimuli appétitifs ou aversifs. Un stimulus appétitif (jus de fruit) ou un stimulus aversif (puff d'air) induisent des réponses avec un délai et un patron de décharge différents dans les deux neurones. Il est important de noter également qu'aucun des deux neurones ne répond à un stimulus neutre (un son). **B:** Enregistrement en voltage imposé d'un NETM: l'application de muscarine induit un EPSC dépendant de l'activation des récepteurs M1. **C:** L'émission d'un potentiel d'action dans un interneurone cholinergique peut induire un EPSC dépendant des récepteurs M1 dans un NETM. Il faut tout de même noter que ces EPSCs ont été observés dans seulement 10% des paires de cellules enregistrées. Tiré de Ravel et al., 1999 (A) et Lin et al., 2004 (B et C).

durée des potentiels d'action émis est importante (environ 5 ms) et la longue phase de post-hyperpolarization explique leur faible fréquence de décharge (Kawaguchi, 1993).

Les interneurones cholinergiques, via leur neurotransmetteur l'acétylcholine, agissent principalement sur des récepteurs muscariniques qui sont exprimés sur les afférences corticales et sur les NETM (Malenka et Kocsis, 1988 ; Hersch et al., 1994). Ces récepteurs sont classés en deux familles : les récepteurs excitateurs (M1, M3, M5), couplés positivement à la PLC et les récepteurs inhibiteurs (M2, M4), couplés négativement à l'adénylate cyclase (Yan et Surmeier, 1996 ; Acquas et Di Chiara, 2002).

Les interneurones cholinergiques jouent un rôle majeur dans le transfert des informations liées aux phénomènes de récompense. En effet, lors de la présentation d'un stimulus conditionnel associé à une récompense, les TANS codent pour cette récompense par un arrêt transitoire de leur décharge tonique (Aosaki, 1994 ; Graybiel, 1994) (Figure 15A). Il a été montré d'autre part que cette réponse des TANS n'est pas seulement induite dans le cadre d'un apprentissage mais aussi dès la présentation d'une récompense pour la première fois (Apicella et al., 1997). L'arrêt transitoire des interneurones cholinergiques est d'ailleurs plus marqué si la récompense est présentée de manière aléatoire plutôt que dans une tâche apprise au préalable. Les interneurones cholinergiques codent donc la prédiction temporelle (Apicella et al., 1997). De plus, les interneurones cholinergiques ne codent pas seulement pour les stimuli appétitifs mais également pour ceux qui sont aversifs. Le codage des deux types de stimuli se traduit par une réponse électrophysiologique différente des TANS (Ravel et al., 1999) (Figure 15A). Ceci indique que les interneurones cholinergiques ne codent pas seulement pour des récompenses mais codent plus largement la signification motivationnelle d'un stimulus donné. En conclusion, les interneurones cholinergiques jouent un rôle dans le transfert d'informations liées à des événements extérieurs, appétitifs ou aversifs, et code pour leur prédictibilité temporelle (Apicella, 2002). Ils apportent donc une dimension motivationnelle au réseau striatal en modulant l'excitabilité des NETM et la transmission cortico-striatale au niveau de ces neurones.

La cible principale des interneurones cholinergiques est les NETM. Ils modulent leur activité via les différents types de récepteurs muscariniques à l'acétylcholine (Acquas et Di Chiara, 2002). Les NETM expriment différents

récepteurs muscariniques en fonction de leur appartenance à la voie directe ou la voie indirecte : les récepteurs M1 (excitateurs) sont exprimés par tous les NETM alors que les récepteurs M4 (inhibiteurs) sont exprimés par ceux de la voie directe. Ainsi, il est attendu que les interneurones exercent des effets différentiels, activateurs ou inhibiteurs, sur les NETM suivant qu'ils appartiennent respectivement, à la voie directe ou indirecte (Acquas et Di Chiara, 2002). Néanmoins, les récepteurs M1 semblent avoir un poids plus important car l'application de muscarine sur les NETM entraîne un EPSC qui est dépendant de l'activation des récepteurs M1 (Lin et al., 2004) (Figure 15B et C).

Les interneurones cholinergiques modulent également les afférences corticales arrivant sur les NETM via les récepteurs muscariniques (probablement M4) et entraînent une inhibition des entrées corticales (Pakhotin et Bracci, 2007).

Les interneurones cholinergiques ont donc un rôle stratégique au sein du striatum puisqu'ils relaient des informations extra-striatales telles que celles liées à la récompense et régulent également les interactions intra-striatales.

Les interneurones à NO-synthase

Les interneurones à NO-synthase représentent environ 1% de la population neuronale du striatum. Ils possèdent un corps cellulaire d'environ 15 µm de diamètre et de forme allongée. Ils possèdent 3 ou 4 dendrites relativement longs, non épineux et beaucoup moins ramifiés que ceux des autres interneurones. L'axone est court et forme l'arborisation la moins dense des neurones striataux (Kawaguchi, 1993) (Figure 13C). Ces interneurones expriment, en plus de la NO-synthase, la somatostatine, la NADPH-diaphorase et le neuropeptide Y (Vincent et al., 1983 ; Smith et Parent, 1986). Il a été montré une co-localisation du neuropeptide Y et de l'enzyme de synthèse du GABA (Vuillet et al., 1990), indiquant qu'ils pourraient synthétiser aussi du GABA et être classés comme interneurones GABAergiques (Kubota et Kawaguchi, 1995, abstract SfN).

Ces interneurones sont aisément identifiables électrophysiologiquement puisqu'ils émettent des PA en doublet au début du train évoqué par une injection de courant dépolarisant. A l'arrêt de la stimulation, persiste un plateau de potentiel dépendant du calcium sur lequel un ou plusieurs PA sont émis (Kawaguchi, 1993 ; 1995). Ils ont donc été appelés cellules PLTS pour « persistent and low-threshold

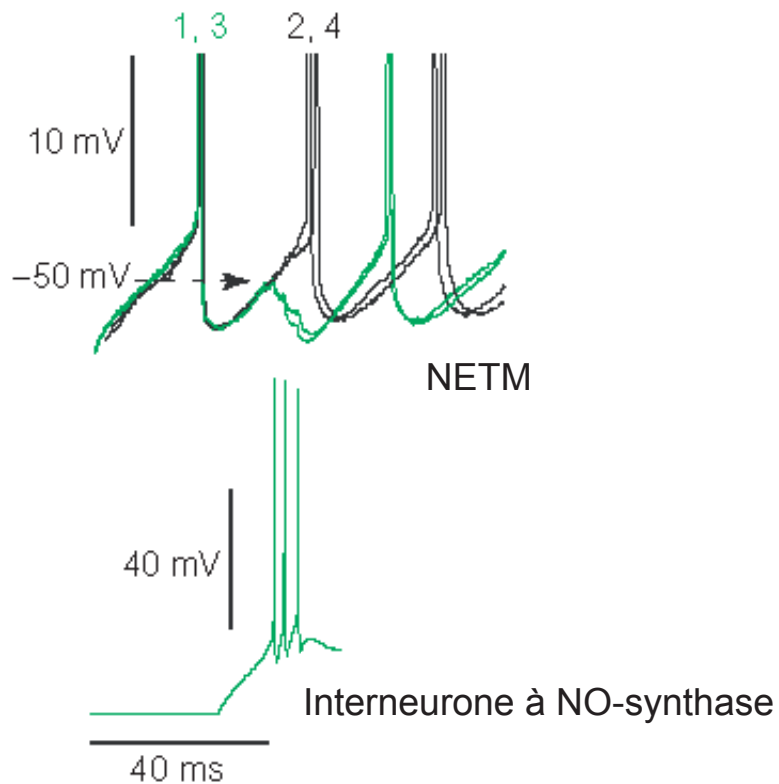


Figure 16. Rôle des interneurones à NO-synthase.

Modulation du déclenchement d'un potentiel d'action d'un NETM par un interneurone à NO-synthase. L'émission d'un triplet de potentiels d'action par l'interneurone à NO-synthase (en bas) entraîne une inhibition du NETM qui retarde le déclenchement de son potentiel d'action (en haut). D'après Tepper et al., 2004.

spike ». Leur potentiel de repos est relativement hyperpolarisé et leur résistance d'entrée est très importante (Figure 13C).

Les terminaisons des interneurones à NO-synthase contactent principalement les NETM (Kubota et Kawaguchi, 2000). Il a également été démontré que l'aire des contacts synaptiques de ces interneurones avec leurs cibles est plus petite que celle formée par les interneurones GABAergiques (Kubota et Kawaguchi, 2000). Néanmoins, de par l'agencement anatomique de leurs synapses sur le cou des épines dendritiques des NETM, ils auraient sans doute un pouvoir suffisant pour inhiber la transmission de potentiels excitateurs de l'épine vers les dendrites, via le GABA. En effet, il a été montré qu'un PA évoqué dans ces neurones était capable de produire un courant post-synaptique inhibiteur dans un NETM, pouvant retarder le déclenchement d'un PA (Tepper et Bolam, 2004) (Figure 16). D'autre part, les interneurones à NO-synthase influencent l'activité des NETM via la libération de NO (West et Grace, 2004). Ainsi, il a été montré que le NO peut entraîner la synchronisation de décharge de groupes précis de NETM couplés par des synapses électriques (O'Donnell et Grace, 1997) et qu'il peut moduler la transmission cortico-striatale (Centonze et al., 2003). Néanmoins il faut noter qu'il existe très peu d'études sur les interneurones à NO-synthase et que leur rôle au sein du striatum est encore mal connu.

Le striatum est donc composé de différentes populations neuronales qui ont chacune un rôle important dans la physiologie striatale. Les NETM sont la population majoritaire qui détecte et intègre les informations corticales et les relaie vers les structures de sortie des GB. Les interneurones striataux, bien que minoritaires en nombre, sont engagés dans des rôles fondamentaux : les interneurones GABAergiques participeraient à la canalisation des informations corticales au sein du striatum, les interneurones cholinergiques permettent de donner une dimension motivationnelle au réseau striatal et les interneurones à NO-synthase, bien que moins connus, semble moduler efficacement l'activité des NETM.

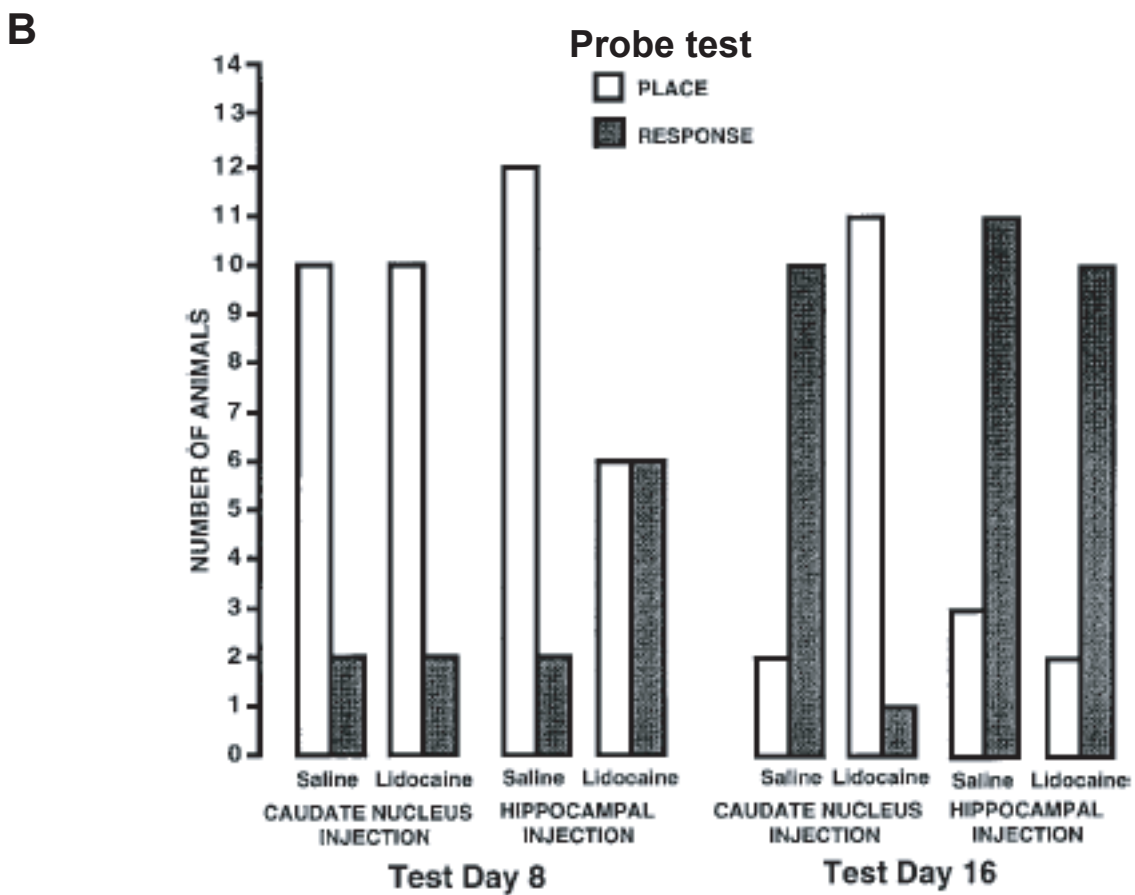
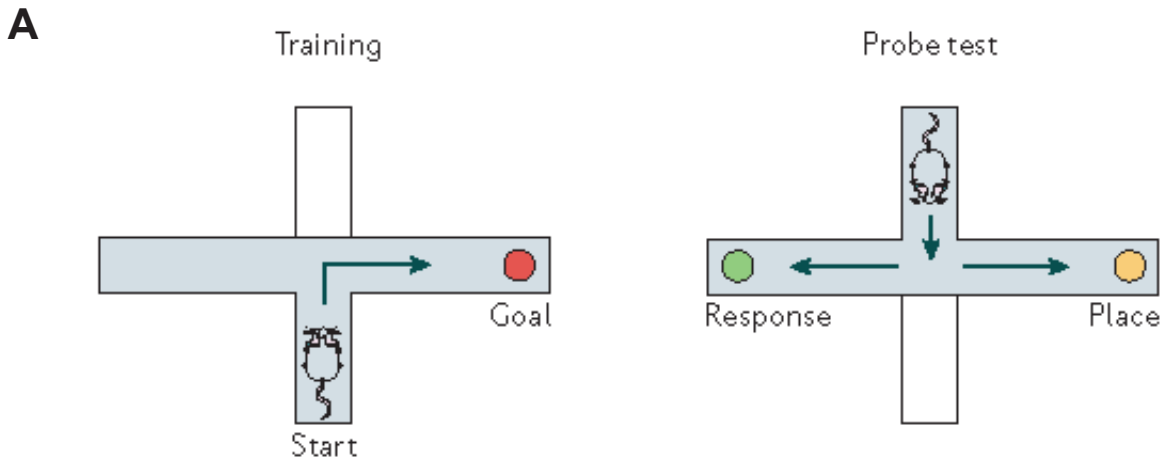


Figure 17. Mise en évidence du striatum dans la mémoire implicite par des expériences de lésions.

A: Dispositif du test de place ou de réponse dans un labyrinthe. **B:** Nombre de rats choisissant la stratégie de place ou de réponse après une entraînement modéré (8 jours) ou un entraînement intensif (16 jours). Après un entraînement modéré, la majorité des animaux choisissent une stratégie de place mais après une entraînement intensif, ils suivent une stratégie de réponse. La lésion du striatum empêche la mise en place de cette stratégie de réponse et, à l'inverse, la lésion de l'hippocampe empêche la mise en place de la stratégie de place. D'après Yin et Knowlton, 2006 (A) et Packard et McGaugh, 1996 (B).

3. Rôle des ganglions de la base dans l'apprentissage et la mémoire

Si le rôle des GB dans les processus moteurs (Graybiel, 1994) a été mis en évidence dès le début de l'étude des GB, de nombreuses études ont montré plus tard qu'ils étaient également impliqués dans des processus cognitifs (Graybiel, 1995b ; 2005). Nous allons ici nous focaliser sur les expériences qui ont conduit à attribuer aux GB, et plus particulièrement au striatum, un rôle dans l'apprentissage de séquences cognitivo-motrices et leur mémorisation.

3.1 Mise en évidence du rôle des GB dans la formation d'habitudes ou mémoire « implicite »

Mise en évidence par des expériences de lésions

Les premières mises en évidence du rôle des GB dans les phénomènes d'apprentissage ont été réalisées grâce à l'observation des conséquences comportementales de lésions du striatum (Oberg et Divac, 1979 ; Chozick, 1983). Il avait été ainsi observé une altération profonde des capacités des animaux à effectuer une tâche comportementale impliquant un apprentissage. Prenons l'exemple d'un apprentissage dans lequel un rat est entraîné à récupérer de la nourriture dans un bras d'un labyrinthe en croix entouré de repères environnementaux (Figure 17A). Après l'entraînement, le test consiste à inverser le bras de départ par lequel le rat commence son trajet alors que la nourriture reste dans le même bras du labyrinthe (à droite sur le schéma de la Figure 17A). Si le rat choisit de tourner dans le même sens que pendant l'apprentissage (repérage égocentrique), il suit une stratégie dite de réponse, et cela signifie que l'apprentissage est irréversible ; dans le cas contraire, il choisit une stratégie dite de place (repérage allocentrique), qui montre que l'animal est capable de tenir compte des repères spatiaux présents autour de lui afin de s'orienter et de prendre une direction opposée à celle qu'il avait apprise pour aller chercher la nourriture. Après un entraînement modéré, la majorité des rats optent pour une stratégie de place tandis qu'après un entraînement intensif ils suivent une stratégie de réponse. Si l'on

lèse le striatum, les rats développent uniquement une stratégie de place, même après un entraînement intensif. A l'inverse, la lésion de l'hippocampe a l'effet opposé et les animaux suivent une stratégie de réponse (Figure 17B) (Packard et McGaugh, 1996). Ces résultats montrent qu'un apprentissage répété entraîne un changement du comportement : d'une action guidé par un but précis, l'animal s'oriente vers une habitude. Cela montre que le striatum est impliqué dans la mise en place d'habitudes, mémoire dite implicite ou procédurale, tandis que l'hippocampe a un rôle dans une autre forme de mémoire, dite explicite ou épisodique. Des résultats similaires ont confirmé l'implication des GB dans la mise en place d'habitudes et ont été obtenus avec le même type de tests comportementaux mais des injections neurotoxiques dans le striatum et l'hippocampe (Packard et McGaugh, 1992 ; McDonald et White, 1993 ; McDonald et White, 1994 ; Packard et Knowlton, 2002) ou des injections de tetrodotoxine qui bloque temporairement l'activité neuronale (Lorenzi et al., 1995).

Des lésions du striatum dorsal faites par infusion de NMDA ont également montré les conséquences d'une altération striatale sévère sur les comportements de type stimulus-réponse chez le rat (Yin et al., 2004). En effet, des rats contrôles entraînés à appuyer sur un levier pour obtenir une récompense (du sucrose) continuent à appuyer sur le levier même si cela n'entraîne plus d'obtention de la récompense. Les rats ayant un striatum lésé, à l'inverse, arrêtent d'appuyer sur le levier lors de la suppression de la récompense. Ceci montre bien que le striatum dorsal est nécessaire à la mise en place d'habitudes. En cas d'atteinte striatale, le rat n'étant plus engagé dans une habitude, il arrête d'appuyer sur le levier lorsqu'il ne reçoit plus la récompense escomptée (Yin et al., 2004a).

Les expériences de lésions striatales ont donc permis de mettre en évidence le rôle du striatum dans les processus d'apprentissage et la mise en place d'habitudes.

Données électrophysiologiques couplées à un comportement

Suite aux expériences de lésions, grâce au développement de techniques d'enregistrement simultané par des multi-électrodes d'un grand nombre de neurones chez le rat vigile effectuant une tâche comportementale, il a été possible de corréler l'activité striatale et des apprentissages procéduraux. Ces études permettent de corréler l'activité neuronale du striatum avec la mise en place d'habitudes et

apportent ainsi une évidence au niveau cellulaire de l'implication des GB dans l'apprentissage procédural. En effet, il a été observé que, lors d'un tel apprentissage, une réorganisation des patrons d'activité neuronale du striatum sensori-moteur se met en place et se maintient pendant plusieurs semaines suivant la phase d'apprentissage (Jog et al., 1999). De plus, la variabilité de l'activité des neurones du striatum sensori-moteur qui existe dans les premières phases de l'apprentissage diminue fortement si la tâche est répétée. L'activité neuronale devient alors stéréotypée lors de l'exécution de la tâche (Barnes et al., 2005). D'autre part, l'activité d'un groupe de neurones striataux correspondant au mouvement de tête a été enregistrée chez des rats entraînés à effectuer des mouvements verticaux de la tête pour obtenir de l'eau. Pendant la phase d'apprentissage, la quasi totalité des neurones sont actifs ; mais lorsque le mouvement de tête devient une habitude, on observe alors qu'environ 90% de ces cellules ne sont plus actives et les 10% restants deviennent par contre encore plus actives (Tang et al., 2007). Ceci montre que, lors de la mise en place d'habitudes, le striatum recrute d'abord une large population neuronale afin probablement de faciliter l'acquisition du mouvement et le mouvement devenu habituel serait maintenu par l'activation plus forte d'une population neuronale plus restreinte.

Les enregistrements électrophysiologiques chez le rat vigile ont donc permis de corrélérer l'activation de populations neuronales striatales et la mise en place d'habitudes.

3.2 Hétérogénéité fonctionnelle du striatum et apprentissage

Le striatum étant une structure hétérogène, l'hypothèse d'une spécialisation fonctionnelle de certaines régions striatales dans les phénomènes d'apprentissage a été naturellement posée. La spécialisation fonctionnelle pourrait être sous-tendue par différentes organisations topographiques des projections cortico-striatales. En effet, des lésions faites soit dans le cortex préfrontal, soit dans sa région striatale de projection (la région médiane du striatum) entraînaient les mêmes altérations des performances des animaux dans des tâches comportementales (Rosvold, 1968 ; 1972 ; Divac, 1972 ; Kolb, 1977). D'autre part, des lésions faites dans les régions

striatales recevant des afférences corticales visuelles ou auditives altèrent des réponses comportementales induites par des stimulations visuelles ou auditives, respectivement (Viaud et White, 1989 ; Pisa et Cyr, 1990).

Il a récemment été montré une différence fonctionnelle entre deux régions striatales dans les phénomènes d'apprentissage. Ainsi, le striatum dorso-latéral est impliqué dans la formation d'habitudes, tandis que le striatum dorso-médian est impliqué dans une forme de mémoire explicite, se rapprochant de celle sous-tendue par l'hippocampe. Lors d'un test du labyrinthe tel que celui décrit au début de ce chapitre, le rôle de différentes régions du striatum a été testé. Des lésions au NMDA ont été faites soit dans le striatum dorso-latéral, soit dans la partie antérieure ou postérieure du striatum dorso-médian. Après un entraînement de 7 jours, les rats avec des lésions dans le striatum dorso-latéral ou la partie antérieure du striatum dorso-médian choisissent une stratégie de place, tandis que les rats avec des lésions au niveau de la partie postérieure du striatum choisissent la stratégie de réponse (Yin et Knowlton, 2004b). Ceci indique que les différentes régions du striatum ne sont pas impliquées dans les mêmes formes d'apprentissage ; le striatum dorso-latéral et la partie antérieure du striatum dorso-médian seraient impliqués dans la mise en place d'habitudes alors que la partie postérieure du striatum dorso-médian sous-tendrait des formes d'apprentissage impliquant un choix et non pas seulement un comportement automatique (Yin et Knowlton, 2004b ; Yin et al., 2005 ; Yin et Knowlton, 2006). Ces résultats montrent que la dichotomie entre le striatum, impliqué dans la mémoire implicite, et l'hippocampe, impliqué dans la mémoire explicite, est un peu simpliste. Il faudra donc prendre en compte l'hétérogénéité anatomo-fonctionnelle des différents noyaux des GB pour mieux caractériser les différentes formes de mémoire sous-tendues par les GB.

3.3 Modulation de l'apprentissage dans les ganglions de la base

Etant donné leur rôle dans la modulation de l'activité striatale, différents neuromédiateurs pourraient avoir une influence sur les fonctions mnésiques des GB. Le candidat le plus évident est la dopamine qui joue un rôle important dans la

régulation du transfert des informations cortico-GB. Le rôle des neurones dopaminergiques dans le codage de la récompense est maintenant bien établi. Leur activité code à la fois la prédiction et les erreurs de prédiction de la récompense (Schultz et al., 1997). L'implication de la dopamine dans la consolidation de la mémoire pendant ou juste après une phase d'apprentissage a été mise en évidence grâce à des infusions d'amphétamine (Car et White, 1984 ; Viaud et White, 1989 ; Packard et Teather, 1998) ou d'agonistes D1 ou D2 (Packard et White, 1991) dans le striatum. Ces drogues, qui stimulent le système dopaminergique, ont toutes pour effet d'augmenter les processus de mémorisation dans le cadre de différents tests comportementaux. D'autre part, il a été montré, chez le rat vigile lors de l'apprentissage d'une tâche, que la stimulation de la SNc permet de potentialiser la transmission cortico-striatale (Reynolds et al., 2001). Inversement, des singes dont les SNc sont lésées au 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), donc dans une situation d'hypo-dopaminergie, montrent des déficits évidents d'apprentissage (Aosaki et al., 1994b). Chez des rats hypo-dopaminergiques lésés à la 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA), l'automatisation d'une tâche apprise ne se fait plus, révélant ainsi l'implication de la dopamine dans la formation d'habitudes (Faure et al., 2005). Ces expériences semblent donc indiquer que la dopamine joue un rôle prépondérant dans la mémoire implicite et favorise la mise en place des habitudes.

Outre la dopamine, l'acétylcholine semble également jouer un rôle important dans la mémoire implicite, sous-tendue par le striatum. En effet, des applications dans le striatum dorsal d'agonistes ou d'antagonistes muscariniques augmentent ou diminuent, respectivement, la mémoire implicite (Prado-Alcala et al., 1981 ; Packard et al., 1996b). De plus, une élimination sélective des interneurons cholinergiques du striatum entraîne une altération de performance des rats dans des apprentissages procéduraux (Kitabatake et al., 2003).

Enfin, le glutamate, via les récepteurs NMDA ou métabotropiques (Packard et Teather, 1997 ; 1999 ; Packard et al., 2001) permet de renforcer les processus de mémorisation alors que le GABA, à l'inverse, altère la formation et la consolidation de la mémoire (Salado-Castillo, 1996).

La modulation de l'activité striatale par différents neuromédiateurs joue donc un rôle important dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation sous-tendus par le striatum. Certains vont promouvoir la mise en place d'habitudes alors que d'autres vont, au contraire, les défavoriser. Il est donc primordial de prendre en

compte les différents systèmes modulateurs qui régulent l'activité striatale pour mieux comprendre le rôle du striatum dans la mémoire implicite.

4. La plasticité synaptique

Le système nerveux central possède une capacité remarquable d'adaptation aux modifications de son environnement. Cette caractéristique implique des phénomènes de remodelage appelés plasticité.

Nous pouvons ainsi donner deux exemples dans lesquels la plasticité s'illustre particulièrement, l'un physiologique et l'autre pathologique. Durant le développement, elle permet de mettre en place l'ensemble des connexions neuronales, et, en cas de lésions cérébrales, elle contribue aux importants remaniements auxquels le cerveau est confronté dans cette situation. Mais au-delà de ces deux cas, de nombreuses fonctions cérébrales résultent de la capacité du cerveau à se restructurer en permanence, la principale étant celle de la mémoire qui implique le stockage et ensuite le rappel d'expériences passées.

4.1 Petite histoire de la plasticité synaptique

L'observation que le nombre de neurones du cerveau n'augmente pas dans un cerveau adulte fût faite dès la fin du 19^{ème} siècle. Ceci impliquait que la mémoire ne pouvait pas être expliquée par la production de nouveaux neurones qui apparaîtraient au fur et à mesure des besoins de stockage des informations. Comment donc pouvait-on réussir à mémoriser des choses sans l'aide de nouveaux neurones ? Un premier élément de réponse fût apporté par le neuroanatomiste Santiago Ramón y Cajal qui proposa que les souvenirs étaient stockés dans les connexions entre les neurones et qu'ils étaient codés grâce au renforcement des connexions nerveuses. Cajal proposa que ce renforcement permettrait aux neurones d'augmenter leur efficacité de communication et de pouvoir ainsi mémoriser des informations. Cette théorie, espagnole, fut ensuite précisée par un postulat, écossais. En effet, en 1949, Donald Hebb proposa que les neurones devaient augmenter la force de leurs connexions pour améliorer leur capacité à communiquer. Le postulat de Hebb est que si un neurone A (pré-synaptique) participe de façon répétée et persistante à l'excitation d'un neurone B (post-synaptique), alors la transmission synaptique de A vers B est facilitée.

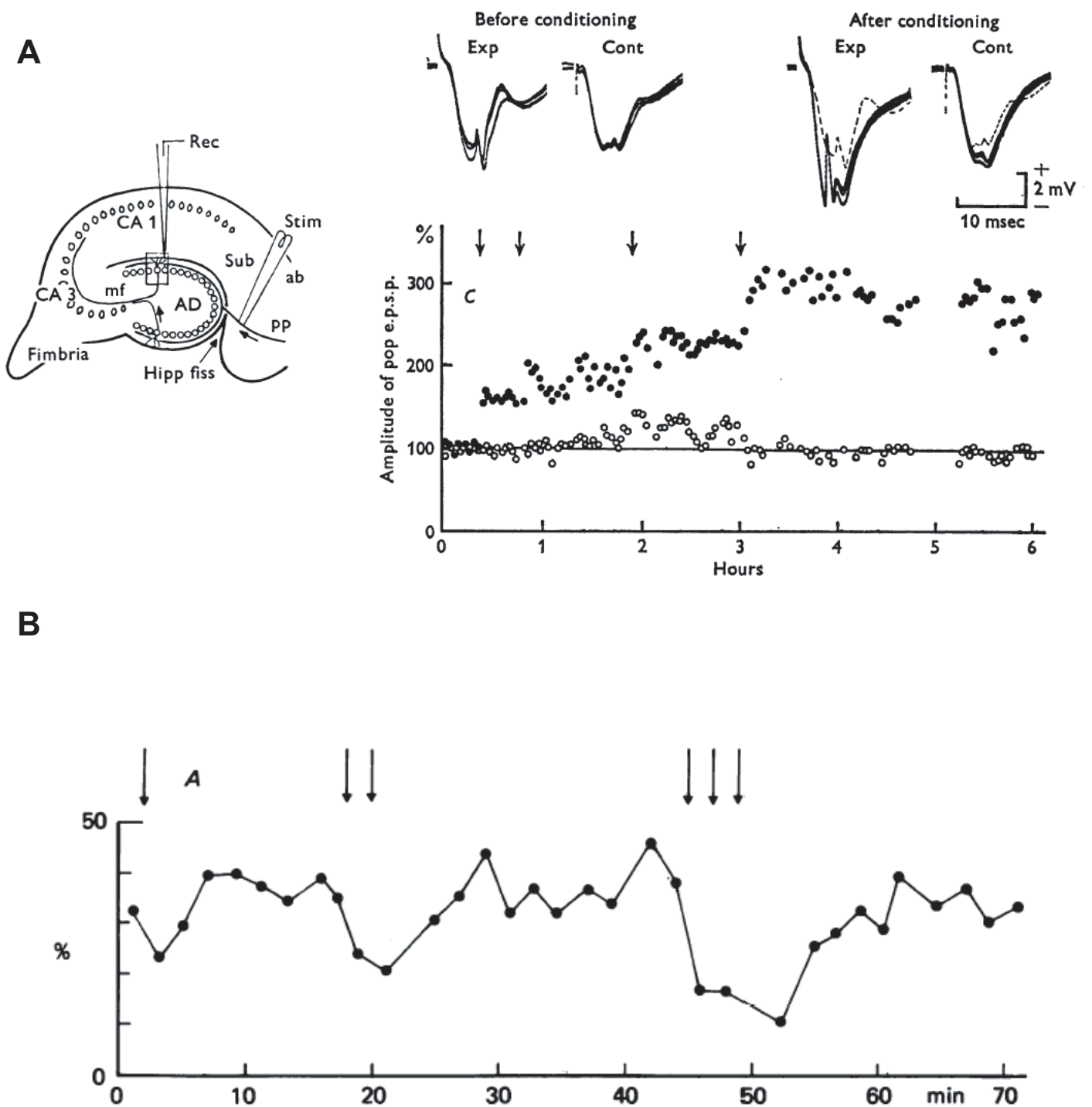


Figure 18. Mise en évidence de la potentialisation et de la dépression à long-terme.

A: La LTP fut mise en évidence dans l'hippocampe en observant que des trains de stimulation à haute fréquence (20 Hz pendant 15 s ou 100 Hz pendant 4 s, indiqués par des flèches) de la voie perforante induisent une augmentation durable de l'amplitudes des EPSCs dans le gyrus denté. **B:** La LTD fut mise en évidence dans le cervelet. Suite à des stimulations à 4 Hz des afférences olivaires des cellules de Purkinje (indiquées par des flèches), une dépression persistante de la réponse fut observée. D'après Bliss et Lomo, 1973 (A), Ito et al., 1982 (B).

Le postulat de Hebb reçut une validation expérimentale grâce à la mise en évidence de la potentialisation à long-terme (LTP). Terje Lømo, à Øslø, étudiait chez le lapin le rôle de l'hippocampe dans la mémoire à court-terme. Pour cela, son modèle expérimental consistait à stimuler la voie perforante qui induisait un potentiel post-synaptique excitateur (PPSE) dans le gyrus denté. La surprise fut d'observer ensuite que l'amplitude des PPSE pouvait être augmentée pendant une longue période suite à l'application d'un train de stimulation à haute fréquence à cette synapse (Figure 18). En effet, les stimulations simples appliquées ultérieurement évoquaient des PPSE plus grands. Ce phénomène fut appelé « long-lasting potentiation » et sa première caractérisation, dans l'hippocampe de lapin, fut publiée en 1973 (Bliss et Lømo, 1973). Une dizaine d'années passa avant que ne fut mise en évidence dans le cervelet une forme de plasticité opposée à la LTP : une diminution persistante de l'efficacité de la transmission synaptique appelée la dépression à long-terme (LTD) (Ito et al., 1982) (Figure 18).

4.2 Généralités sur la plasticité synaptique

Il existe plusieurs formes de plasticité synaptique qui se distinguent par leur effet, leur durée d'expression et par leurs mécanismes d'induction et de maintien. Une potentialisation ou une dépression de l'efficacité synaptique peuvent se produire pendant des temps courts de l'ordre de quelques millisecondes à quelques minutes, on parlera alors de plasticité à court-terme, ou sur des temps beaucoup plus longs, allant de quelques dizaines de minutes à plusieurs jours, voire des mois, on parle alors de plasticité à long-terme.

La plasticité à court-terme s'exprime par un accroissement (facilitation) ou une diminution (dépression) transitoire de l'amplitude de la réponse post-synaptique. Un des moyens d'estimer la plasticité à court-terme est l'utilisation de stimulations répétées du neurone pré-synaptique, souvent deux stimuli espacés d'un intervalle de temps variable. Les caractéristiques de la deuxième réponse sont comparées avec celles de la première réponse (le contrôle) ; on peut ainsi déterminer si la deuxième réponse a été facilitée, déprimée ou n'a pas été affectée par rapport à la première. La plupart des études ont montré que la plasticité à court-terme est due à des

modifications au niveau pré-synaptique et dépend généralement des niveaux de calcium dans la terminaison pré-synaptique (Zucker et Regehr, 2002).

La plasticité à long-terme, quant à elle, correspond à un renforcement ou une diminution durable de la force synaptique. Selon le postulat initial de Hebb, la mise en place de changements d'efficacité synaptique à long-terme nécessite la co-activation des éléments pré- et post-synaptiques. La LTP est classiquement induite par des stimulations à haute fréquence (stimulations téaniques à 100 Hz, HFS). Dans la majorité des cas, un accroissement important et transitoire de la concentration de calcium dans le neurone post-synaptique est à la base de la LTP. Cette entrée de calcium se fait principalement via les récepteurs NMDA qui sont activés par une dépolarisation et perméables aux ions calcium. L'augmentation de la concentration de calcium active des protéines kinases, telle que la CaMKII (protéine kinase de type II dépendante du calcium) par exemple, qui modulent l'expression et l'activité de protéines nécessaires pour la transmission, comme les récepteurs AMPA (Bliss et Collingridge, 1993 ; Malenka et Nicoll, 1999 ; Lynch, 2004). Néanmoins, il faut préciser que, au-delà des récepteurs NMDA, la LTP peut également résulter d'une augmentation de la libération de glutamate et donc être sous-tendue par des mécanismes pré-synaptiques (Lynch, 2004). La LTD est classiquement induite par des stimulations à basse fréquence (le plus souvent à 1 Hz, LFS). Elle dépend également de la concentration de calcium post-synaptique mais se développe si l'augmentation de calcium est faible et lente (Linden et Connor, 1995).

La majorité des synapses du système nerveux central sont capables de développer à la fois de la LTP et de la LTD et leur occurrence dépend des protocoles de conditionnement cellulaire utilisés. La potentialité pour une synapse de développer à la fois de la LTP et de la LTD permet l'existence d'une homéostasie de la transmission qui évite aux synapses de rester bloquées ou saturées.

Une des questions fondamentales est de comprendre précisément les paramètres physiologiques qui orientent les synapses vers une LTP ou une LTD. Un modèle, dit BCM, établi par Bienenstock, Cooper et Munro (1982), propose que toute synapse active sera potentialisée si l'activité post-synaptique correspondante est supérieure à une valeur critique et sera déprimée si l'activation post-synaptique est inférieure à ce même seuil. Ce modèle a été confirmé expérimentalement dans l'hippocampe (Dudek et Bear, 1992) et dans le cortex (Sjostrom et al., 2001) où il a été observé qu'au-delà d'une certaine fréquence d'activation, seule une LTP pouvait

être induite. Plus récemment, plusieurs études ont montré que la séquence temporelle entre les activations pré- et post-synaptiques pouvait également être déterminante dans l'orientation de la plasticité synaptique vers une potentialisation ou une dépression : cette forme de plasticité, appelée « spike-timing dependent plasticity » (STDP) (Dan et Poo, 2004 ; 2006) sera développée dans le chapitre 5.

4.3 La plasticité synaptique : substrat cellulaire de la mémoire ?

Il est aujourd'hui classiquement admis que les changements d'efficacité synaptique à long-terme seraient un des substrats cellulaires des phénomènes d'apprentissage et de mémorisation. Néanmoins, la démonstration de ce postulat n'a pas encore été totalement faite car il est difficile expérimentalement de faire le lien entre des événements observés au niveau cellulaire et des tâches comportementales et mnésiques. De nombreuses études ont tout de même fait nettement avancer nos connaissances des propriétés plastiques des circuits neuronaux et leur relation avec la mémoire.

Le lien entre la plasticité synaptique et les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation a été étudié dans différentes structures cérébrales telles que le cortex, l'hippocampe, le cervelet, le striatum ou encore l'amygdale. Néanmoins, la majorité des études se sont concentrées sur l'hippocampe et le cortex. En effet, l'hippocampe est reconnu pour avoir un rôle prépondérant dans les phénomènes de mémorisation et a été décrit comme la structure cérébrale siège de la mémoire. Plus récemment, des études au niveau du néocortex se sont développées car son interaction directe avec les entrées sensorielles permet de tester plus facilement la plasticité induite par des entrées synaptiques et pas seulement des stimulations électriques. Nous nous focaliserons donc ici sur les expériences menées dans l'hippocampe et le cortex qui ont permis de faire un parallèle entre les changements d'efficacité synaptique à long-terme et la mémoire. Il est considéré que la LTP serait le substrat de l'apprentissage tandis que la LTD celui de « l'oubli ». Cette vision est quelque peu caricaturale puisqu'une diminution de l'efficacité synaptique pourrait être en soi un apprentissage tout aussi bien qu'une augmentation de la transmission. Néanmoins, la majorité des

études sur la mémoire ont été menées sur la LTP. Pour cette raison, dans les chapitres qui suivent, la LTP sera omniprésente. Ces études, bien que restrictives, n'en sont pas moins extrêmement informatives.

Il a été proposé quatre critères de base qui devraient être totalement validés expérimentalement pour pouvoir établir une relation entre un apprentissage et la plasticité synaptique (Martin et al., 2000 ; Martin et Morris, 2002):

- *DéTECTABILITÉ* : si un animal a gardé en mémoire une expérience passée, il doit être possible de détecter un changement d'efficacité synaptique quelque part dans son cerveau.
- *Altération antérograde* : des interventions qui empêcheraient l'induction d'une plasticité synaptique pendant une phase d'apprentissage devraient affecter la mémoire de l'animal concernant cet évènement.
- *Altération rétrograde* : des interventions qui altèreraient les changements d'efficacité synaptique induit par un apprentissage antérieur devrait altérer la mémoire de l'animal concernant cet évènement.
- *Mimétisme* : s'il est possible d'induire artificiellement un changement d'efficacité synaptique avec un patron d'activité adapté, l'animal devrait présenter une sorte de mémoire apparente d'un évènement qui en fait ne s'est jamais produit.

Nous allons détailler ces quatre critères pour voir s'ils ont pu être validés expérimentalement ou non.

4.3.1 DéTECTABILITÉ : l'apprentissage est-il corrélé à une LTP ?

Le pré-requis, pour valider l'hypothèse de la plasticité synaptique comme substrat de l'apprentissage, est d'observer des changements d'efficacité synaptique lors de l'apprentissage. Les premières études sur la LTP et la mémoire étaient basées sur des corrélations. Il a été observé que la mise en place de la LTP était corrélée à un apprentissage et le maintien de la mémoire spatiale, c'est-à-dire la capacité à retrouver une plateforme dans une piscine (Barnes et McNaughton, 1985). Plus récemment, dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer, il a été observé que ces souris ne pouvaient plus développer de LTP et que ceci était corrélé avec une altération des performances d'apprentissage (Chapman et al., 1999). Ces corrélations ne permettent pas de faire un lien clair entre l'apprentissage et la LTP mais constituent une première étape. D'autre part, des expériences ont comparé les

potentiels de champ (c'est-à-dire une activité globale) du gyrus denté évoqués par une stimulation de la voie perforante sur des tranches de cerveaux issus, soit de rats préalablement soumis à un apprentissage, soit de rats naïfs ; il a été observé une augmentation des potentiels de champ chez les rats ayant « appris » (Green et Greenough, 1986). Dans la même idée, grâce à des enregistrements électrophysiologiques de l'hippocampe d'un rat vigile, il a été observé une augmentation transitoire du potentiel de champ du gyrus denté quand le rat explore un nouvel environnement (Moser et al., 1994). Il apparaît donc que des changements d'efficacité synaptique ont pu être corrélés avec des phénomènes d'apprentissage. Néanmoins, ces expériences font un parallèle entre les deux mais ne permettent pas de conclure si la plasticité synaptique est nécessaire, voire suffisante, pour la mise en place d'un apprentissage. Une corrélation restant... une corrélation, cela ne constitue pas une démonstration mais une piste prometteuse et un premier élément de réponse.

4.3.2 Altération antérograde : le blocage ou l'augmentation des mécanismes responsables de la LTP ont-ils un effet sur l'apprentissage et la mémoire ?

De nombreuses études ont cherché à déterminer quels traitements pouvaient interférer avec le développement de la plasticité synaptique et éventuellement la mise en place de la mémoire. Suite à l'observation que l'AP5 (antagoniste des récepteurs NMDA) bloquait l'apprentissage spatial (Morris et al., 1986), de nombreuses études se sont intéressées au rôle des récepteurs NMDA et ont conclu qu'ils jouaient un rôle central dans l'apprentissage (Danysz et al., 1995). Des outils génétiques tels que les souris knock-out ont permis de cibler d'autres protéines pour déterminer leur rôle dans la plasticité synaptique et surtout leur implication dans les phénomènes d'apprentissage et de mémoire ; par exemple les récepteurs métabotropiques au glutamate, la protéine kinase A (PKA), la protéine kinase de type II dépendante du calcium (CaMKII) ou des protéines post-synaptiques d'échafaudage comme PSD-95 (Martin et Morris, 2002 ; Lynch, 2004). Nous ne détaillerons pas ici toutes les protéines qui ont été identifiées mais nous retiendrons surtout que ces études ont permis de mettre en lumière que l'invalidation de

certaines protéines impliquées dans la plasticité synaptique pouvaient altérer l'apprentissage et la mémoire. Néanmoins, il reste encore à étudier avec précision le rôle de chacune de ces protéines dans la mise en place de l'apprentissage, comment elles interagissent entre elles et déterminer ainsi quelles sont les bases moléculaires de la mémoire.

4.3.3 Altération rétrograde : le blocage de la LTP entraîne-t-il l'oubli ?

Pour neutraliser les effets de la LTP induite par un apprentissage, il faudrait soit induire une dépotentialisation juste après sa mise en place à l'issue de l'apprentissage, soit saturer le système pour bloquer les changements d'efficacité synaptique induits. Néanmoins, ces tests sont très difficiles à mettre en place expérimentalement.

Pour aller dans le même sens que le protocole de dépotentialisation, il a été observé que placer un rat dans un environnement nouveau peut annuler la LTP récemment induite par une stimulation à haute fréquence (Xu et al., 1998). La LTP n'est pas annulée si les animaux sont placés dans un environnement familier, la nouveauté est donc le facteur entraînant l'annulation de la LTP. L'explication serait que la confrontation à un nouvel environnement effacerait la mémoire (en tout cas celle codée par des changements d'efficacité synaptiques) qui n'est pas encore consolidée car la confrontation au nouvel environnement faite juste avant ou longtemps après la LTP n'a aucun effet (Izquierdo et al., 1999).

La stratégie de saturation du système pour perturber les effets de la LTP semble également affecter la mémoire. Des rats ayant été entraînés à accomplir une tâche impliquant la mémoire spatiale (retrouver une plateforme dans une piscine) ne sont plus capables d'effectuer cette tâche simple si une stimulation à haute fréquence (tétanus) est appliquée dans l'hippocampe après l'apprentissage alors que des rats contrôles (qui n'ont pas reçu le tétanus) en sont parfaitement capables (Brun et al., 2001). Par contre, les rats ayant subi le tétanus sont tout à fait capables d'apprendre une nouvelle localisation de la plateforme, aussi bien que les contrôles. D'autre part, le tétanus ne semble pas avoir d'autres effets sur l'hippocampe puisqu'en présence d'antagonistes du récepteur NMDA, le rat est capable de retrouver la plateforme (Brun et al., 2001). Ces expériences de saturation montrent que si l'on bloque les changements d'efficacité synaptique induits par l'apprentissage

d'une tâche, la mémoire de cette tâche est altérée, sans affecter la mise en place d'autres apprentissages sur des voies différentes. Ceci constitue une preuve de la nécessité de la plasticité synaptique dans le maintien de la mémoire.

4.3.4 Mimétisme : est-il possible de créer une mémoire « artificielle » ?

Créer une mémoire « artificielle » en potentialisant certaines voies « stratégiques » serait effectivement une démonstration concrète que la plasticité synaptique est suffisante pour induire un apprentissage et sa mémorisation, sans qu'il y ait eu besoin d'un apprentissage réel. Ce critère est le plus difficile à valider expérimentalement et la démonstration expérimentale n'en a pas encore été faite. Des stimulations électriques pour mimer un apprentissage sensoriel ont permis d'approcher des expériences de mimétisme (Laroche et al., 1989 ; Doyère et Laroche, 1992 ; Shinkman et al., 1996). Ainsi, des stimulations électriques d'une voie sensorielle induisent des changements d'efficacité synaptique similaires à ceux observés lors d'un apprentissage. Néanmoins, pour valider le parallèle entre les deux, il faudrait s'assurer que les stimulations électriques appliquées miment fidèlement l'activation de cette voie par des stimuli sensoriels au cours de l'apprentissage et ceci est difficile à évaluer. Une expérience a permis de le tester plus directement en exploitant la plasticité du cortex auditif (Talwar et Gerstein, 2001). Un apprentissage impliquant des stimuli auditifs correspondant à une fréquence donnée est souvent accompagné d'un élargissement de l'activation de la région du cortex auditif correspondant à cette fréquence et cette modification anatomo-fonctionnelle entraîne une amélioration de la capacité de l'animal à discriminer cette fréquence. Les auteurs ont étudié les conséquences d'un élargissement artificiellement induit (par des micro-stimulations intra-corticales) dans la partie du cortex auditif correspondant à cette fréquence particulière et ont observé que les micro-stimulations induisent la même réorganisation corticale que celle induite par un apprentissage impliquant des stimuli auditifs. Néanmoins, après cet élargissement artificiel, les rats ont été testés sur leur capacité à discriminer des sons autour de la fréquence donnée et aucune augmentation de la discrimination auditive n'a été observée (Talwar et Gerstein, 2001). Cet échec peut être expliqué par de nombreux paramètres car les micro-stimulations électriques peuvent ne pas mimer exactement un apprentissage sensoriel.

L'ensemble de ces expériences indique qu'il existe une corrélation indéniable entre la plasticité synaptique et l'apprentissage et la mémoire. Elles démontrent que la plasticité synaptique est nécessaire, mais il n'est pas encore établi que cette plasticité soit suffisante pour induire un apprentissage (voir les résultats négatifs de l'expérience de mimétisme). Il faut donc prendre en compte le fait que les changements d'efficacité synaptique, bien que nécessaires, ne seraient pas les seuls phénomènes qui sous-tendent l'apprentissage et la mémoire.

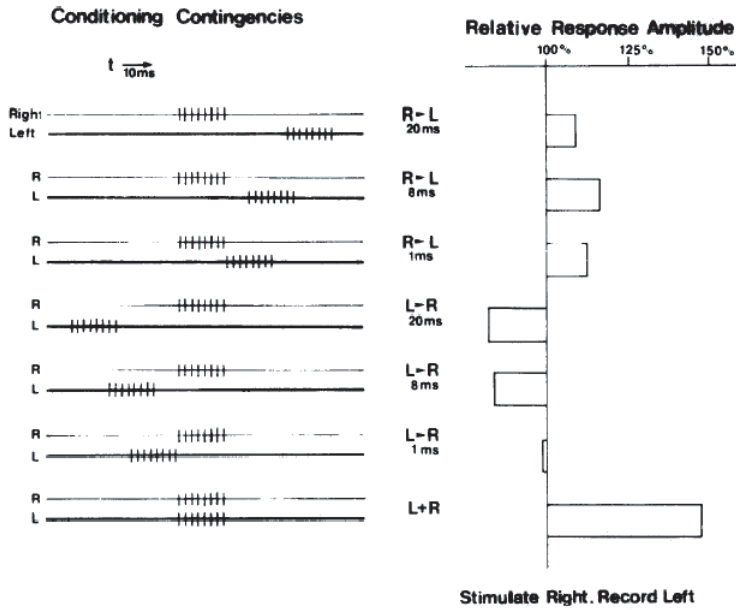
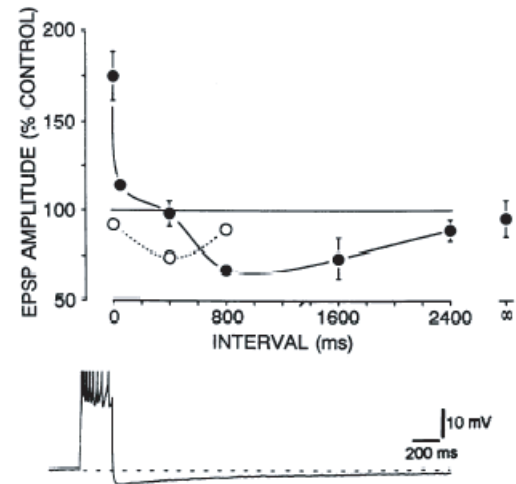
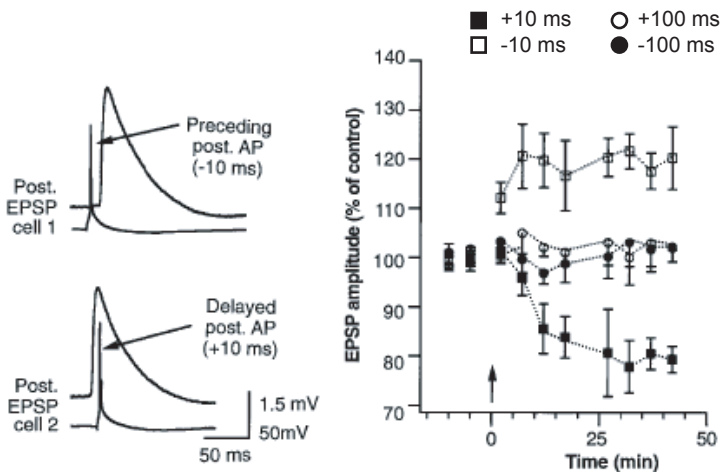
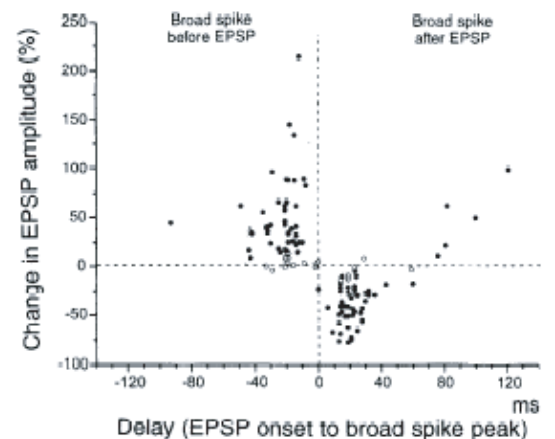
A**B****C****D**

Figure 19. Mise en évidence de la "spike-timing dependent plasticity".

A: La séquence de stimulation (trains de PA) des afférences du cortex enthorinal ipsi- (L) et contralatérales (R) est déterminante dans l'induction de la LTP ou la LTD dans l'hippocampe. Si la stimulation contra-latérale (R) précède ou est faite en même temps que la stimulation ipsi-latérale (L), la réponse à une stimulation unique contralatérale est potentialisée. Une séquence inverse entraîne une dépression de la réponse. **B:** Dans l'aire CA1 de l'hippocampe, une activité concomittante des éléments pré- (stimulation des afférences) et post-synaptiques (bouffée de PA illustrée en dessous) entraîne une potentialisation des synapses alors qu'une activité asynchrone entraîne une dépression. **C:** Dans le cortex, si un potentiel d'action post-synaptique précède de 10 ms un EPSP évoqué par une stimulation pré-synaptique, les synapses sont déprimées. Si la séquence est inverse, les synapses sont potentialisées. **D:** Dans le lobe électro-sensoriel du poisson électrique, les séquences sont inversées: une stimulation post-synaptique suivie d'une stimulation pré-synaptique (avec un intervalle entre les deux stimulations de 0 à 50 ms) entraîne une potentialisation tandis que la séquence inverse (dans le même intervalle de temps) entraîne une dépression. D'après Levy et Steward, 1983 (A), Debanne et al., 1994 (B), Markram et al., 1997 (C) et Bell et al., 1997 (D).

5. Spike-timing dependent plasticity

5.1 Historique et présentation de la spike-timing dependent plasticity

Suite à l'observation qu'il existait des phénomènes de plasticité synaptique bidirectionnels à long-terme, l'engouement pour la compréhension de ces phénomènes de plasticité synaptique n'a cessé d'augmenter. Les neurobiologistes ont cherché d'une part à disséquer de plus en plus précisément les mécanismes moléculaires et d'autre part à tenter de se rapprocher d'une réalité physiologique dans les protocoles de conditionnement cellulaire. Alors qu'ils étudiaient la spécificité temporelle de la plasticité associative dans l'hippocampe, Levy et Steward (1983) remarquèrent que lorsqu'une faible et une forte afférence issue des cortex enthorinal (ipsi- et contralatéral) arrivaient de manière quasi-coïncidente au niveau du gyrus denté, la séquence temporelle des deux activations était déterminante pour l'orientation des plasticités induites (Figure 19A). En effet, une LTP de la voie de l'entrée faible était induite quand l'entrée forte était activée en même temps, ou juste après (environ 20 ms) l'entrée faible. Au contraire, une LTD était induite lors d'une séquence temporelle inverse. Cette étude constituait une démonstration qu'un décalage temporel d'activation des éléments pré- et post-synaptiques était déterminant dans l'orientation de la plasticité. Une nouvelle étude montra qu'une activité asynchrone des éléments pré- et post-synaptiques entraînait une LTD dans l'aire CA1 de l'hippocampe (Figure 19B) (Debanne et al., 1994). Un pas décisif fut franchi par l'étude des effets d'un décalage de quelques millisecondes dans les deux sens entre l'activité pré- et post-synaptique, grâce à des enregistrements en double patch-clamp : si l'élément pré-synaptique est activé 10 ms avant l'élément post-synaptique, la force des synapses est augmentée. Inversement, lorsque l'élément post-synaptique est activé 10 ms avant l'élément pré-synaptique, les synapses sont déprimées (Figure 19C) (Markram et al., 1997). La même année, une étude similaire rapportait une orientation strictement inverse des plasticités au niveau du lobe électro-sensoriel du poisson électrique (Figure 19D) (Bell et al., 1997). De nombreuses équipes ont ensuite étudié l'importance de la séquence temporelle entre les activations des éléments pré- et post-synaptiques et ont défini une fenêtre

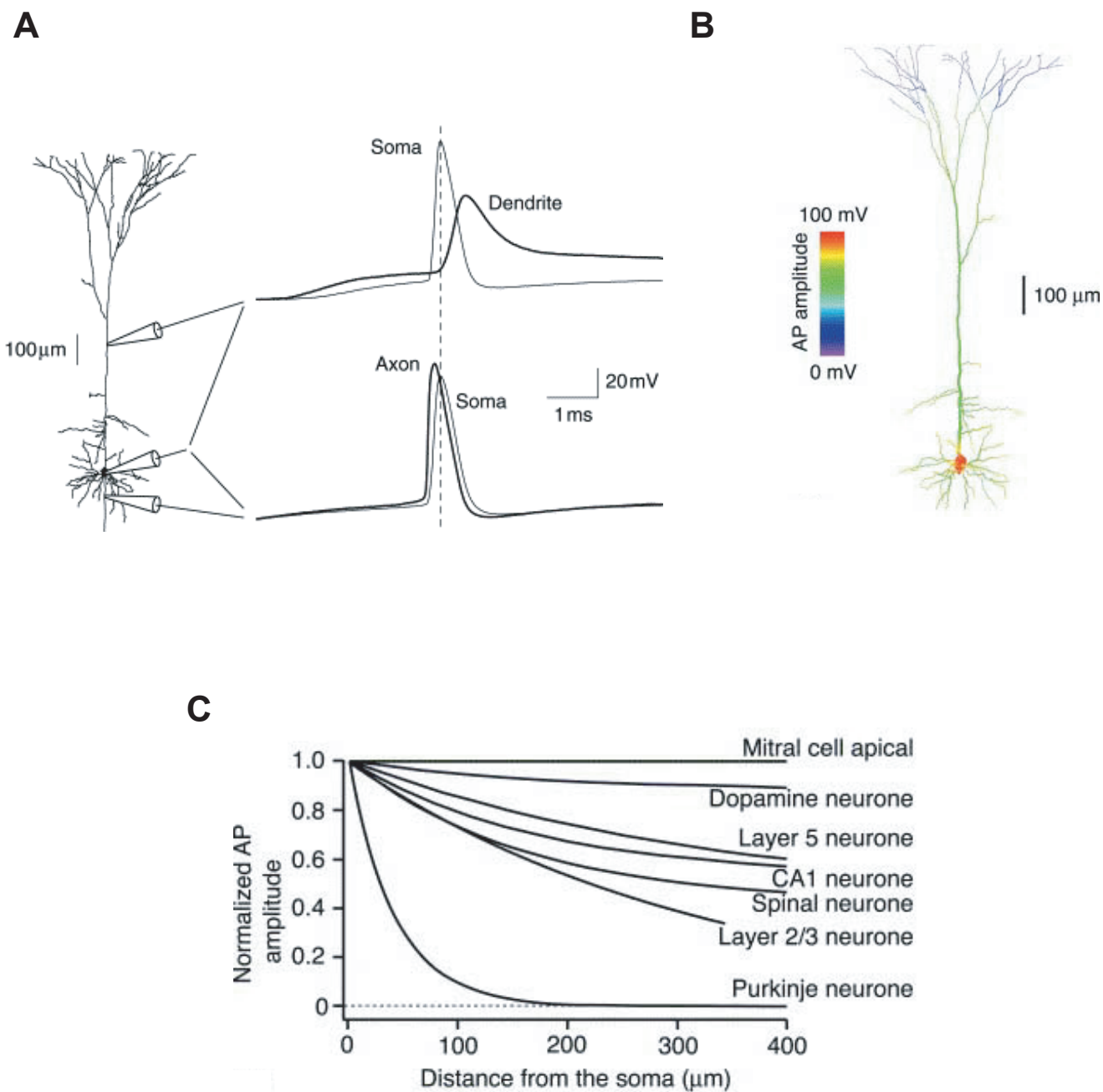


Figure 20. Rétro-propagation d'un potentiel d'action dans l'arbre dendritique.

A: Le potentiel d'action émis au niveau du soma d'une cellule pyramidale corticale rétro-propage dans les dendrites mais son amplitude et sa cinétique sont altérées. **B:** Illustration de l'efficacité de la rétro-propagation d'un PA le long de l'arbre dendritique dans une cellule pyramidale corticale: au-delà des dendrites proximaux, la transmission du PA se fait moins bien. **C:** L'efficacité de la rétro-propagation varie en fonction des types neuronaux considérés. Par exemple, cette rétro-propagation est très efficace dans les neurones dopaminergiques mais quasiment inexistante dans les cellules de Purkinje. Adapté de Stuart et al., 1997 (A), Waters et al., 2005 (B et C).

temporelle dans laquelle cette quasi-coïncidence entre l'activité pré- et post-synaptique est capable d'induire des phénomènes de plasticité à long-terme. Cette forme de plasticité a été baptisée « spike-timing dependent plasticity » ou STDP. Ce type de protocoles consiste à stimuler (de 50 à 100 fois), à basse fréquence, les éléments pré- et post-synaptiques ; les stimulations sont décalées de quelques millisecondes. Les protocoles de STDP ont permis d'étendre les protocoles classiquement utilisés pour étudier la plasticité à long-terme (HFS, LFS) à des protocoles plus physiologiques.

5.2 Principe de la spike-timing dependent plasticity: la rétro-propagation du potentiel d'action

Dans un neurone, un PA est émis à partir du soma, ou plus exactement à partir du segment initial de l'axone et se propage jusqu'aux terminaisons axonales pour transmettre l'information au neurone suivant. Néanmoins, il a été démontré que le PA peut également rétro-propager dans l'arbre dendritique et ainsi moduler l'excitabilité dendritique et donc l'intégration des entrées synaptiques. La rétro-propagation du PA dans les dendrites a été observée à la fois *in vitro* et *in vivo* (Hausser et al., 2000 ; Waters et al., 2005).

La transmission du PA se fait moins efficacement dans les dendrites que dans l'axone puisqu'il est généralement fortement atténué au fur et à mesure de sa remontée dans l'arbre dendritique (Figure 20). La différence de propagation d'un PA dans l'axone et dans les dendrites est due à des différences de densité de canaux ioniques. De plus, la propagation axonale est régénérative, ce qui n'est pas le cas dans les dendrites. Néanmoins, un PA peut être rétro-propagé relativement loin dans l'arbre dendritique et son atténuation dépend grandement des types cellulaires considérés (Figure 20). Par exemple, la rétro-propagation se fait très bien dans les neurones dopaminergiques de la SNc alors qu'un PA rétro-propage peu dans une cellule de Purkinje du cervelet (Figure 20). La différence d'efficacité de la rétro-propagation en fonction des types neuronaux serait due à différents facteurs tels que la nature des canaux exprimés au niveau de l'arbre dendritique, leur répartition et leur densité, la morphologie de l'arbre dendritique ou les entrées synaptiques (nature

et localisation). L'impact de la densité dendritique des canaux ioniques et l'influence de leur blocage pharmacologique sur la rétro-propagation ont été étudiées dans différents types cellulaires (Reyes, 2001 ; Migliore et Shepherd, 2002). Dans la majorité des neurones, la densité et la distribution des canaux ioniques, sodiques, calciques et potassiques, présents le long de l'arbre dendritique constituent des facteurs déterminants dans la rétro-propagation d'un PA (Hausser et al., 2000 ; Waters et al., 2005). Ainsi, en fonction de l'équipement en canaux ioniques, la rétro-propagation s'effectue de manière plus ou moins efficace dans différents types cellulaires.

La morphologie de l'arbre dendritique peut également influencer la rétro-propagation (Hausser et al., 2000 ; Vetter et al., 2001). Néanmoins, comme il est difficile de différencier expérimentalement l'influence des canaux ioniques de celle de la morphologie, la question a été abordée grâce à des modèles mathématiques. Ainsi, l'efficacité de la rétro-propagation est influencée par la morphologie dendritique lorsqu'une répartition homogène des canaux ioniques de même nature le long de l'arbre dendritique est considérée (Hausser et al., 2000 ; Vetter et al., 2001).

Enfin, la rétro-propagation du PA peut également être influencée par des entrées synaptiques le long de l'arbre dendritique. En effet, il a été montré expérimentalement que des entrées excitatrices faciliteront la propagation alors que des entrées inhibitrices (hyperpolarisantes ou silencieuses) seraient responsables de l'atténuation de la rétro-propagation du PA. Des neuromodulateurs peuvent également influencer la propagation en modulant l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques localement au niveau des dendrites (Waters et al., 2005).

Le PA qui rétro-propage va permettre d'apporter à l'arbre dendritique un message rétrograde pour lui indiquer que le neurone a émis un PA. Ce message permettrait de faire un lien entre l'excitation pré-synaptique et la réponse post-synaptique. Ce lien serait nécessaire au développement de certaines formes de plasticité. En effet, le principe de la STDP est basé sur la rétro-propagation d'un PA, émis dans le neurone post-synaptique, dans l'arbre dendritique, et sa rencontre quasi-coïncidente au niveau des dendrites avec un PPSE induit par une stimulation du neurone pré-synaptique.

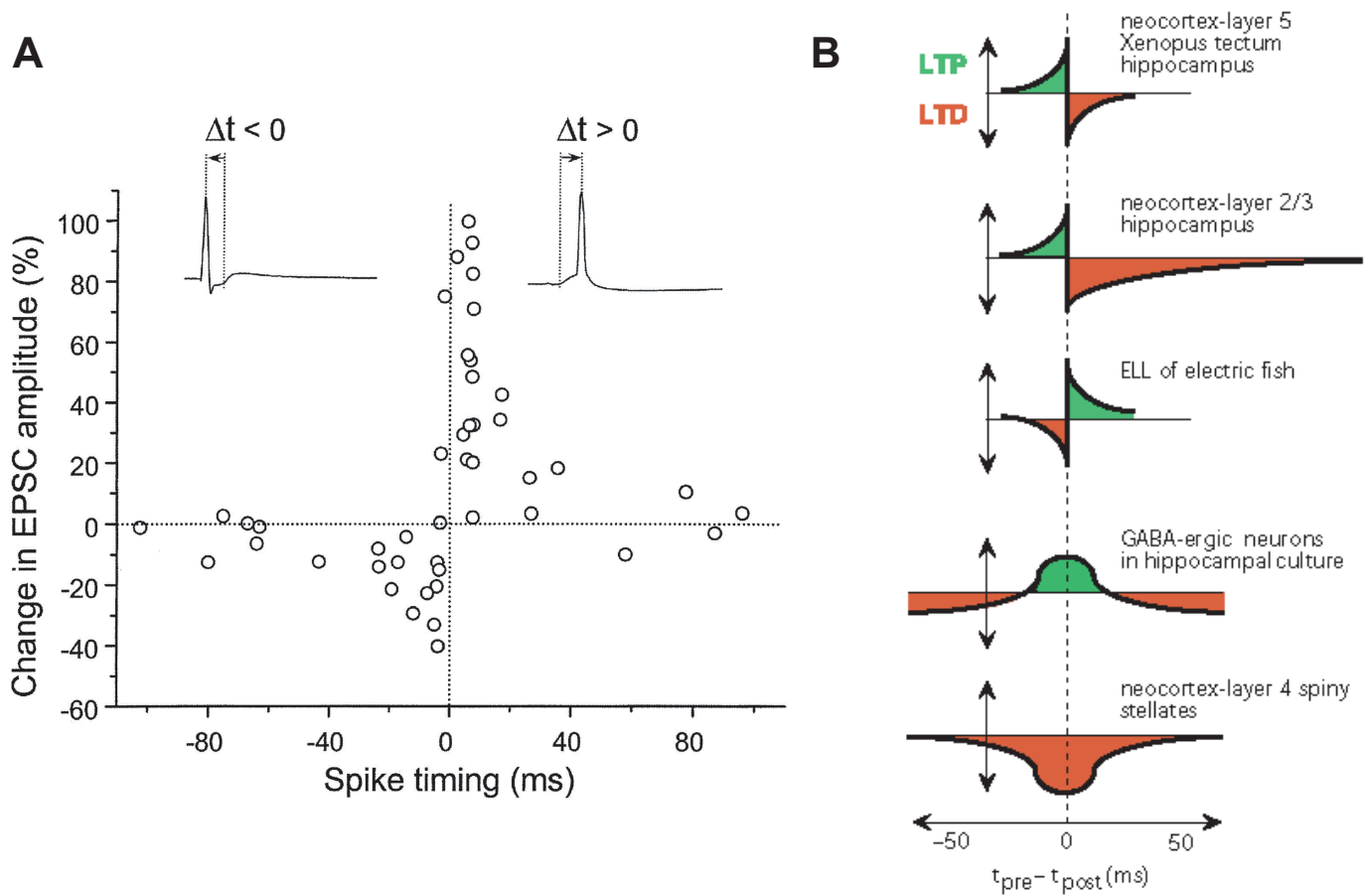


Figure 21. Règles d'orientation de la "spike timing dependent plasticity".

A: L'orientation "classique" de la STDP est la suivante: si l'élément post-synaptique est activé avant l'élément pré-synaptique (séquence post-pré, $\Delta t < 0$), les synapses développent une LTD. La séquence inverse pré-post ($\Delta t > 0$) entraîne une LTP. **B:** D'autres formes de STDP ont été observées en fonction des neurones et des structures considérées. Adapté de Dan et Poo., 1998 (A) et Abbott et Nelson, 2000 (B).

5.3 Orientation des plasticités synaptiques à long-terme

La STDP a fait l'objet d'études principalement au niveau du cortex et de l'hippocampe. Dans la quasi-totalité des cas, l'orientation des STDP observées suit la même règle qui a donc été définie comme étant l'orientation dite « classique ». Une LTP est induite lorsque l'activation pré-synaptique précède le PA émis dans l'élément post-synaptique (séquence dite pré-post) et une LTD est observée dans le cas inverse où le PA post-synaptique est émis avant l'activation de l'élément pré-synaptique (séquence post-pré) (Dan et Poo, 2004 ; 2006). Il apparaît donc que la STDP suit à la fois une règle Hébbienne et anti-Hébbienne selon la séquence d'activation considérée. En effet, en accord avec le postulat de Hebb, que nous avons vu dans le chapitre 4, l'activation du neurone pré-synaptique suivie de celle du neurone post-synaptique qui entraîne une potentialisation des synapses suivrait une logique Hébbienne. A l'inverse, la séquence post-pré serait anti-Hébbienne.

La référence prise pour déterminer le signe du décalage temporel entre les activations pré- et post-synaptiques est l'activation pré-synaptique. Ainsi, si l'on appelle Δt l'intervalle de temps entre l'activation pré-synaptique et l'activation post-synaptique, Δt est négatif pour une séquence post-pré et Δt est positif pour une séquence d'activation pré-post (Figure 21A). Il est important de noter que, selon les types cellulaires, la fenêtre temporelle pendant laquelle une plasticité peut être induite varie (Table 1). Cependant, ces variations se produisent dans une gamme relativement étroite, globalement de -50 ms à 50 ms (Dan et Poo, 2004 ; 2006). Pour un même type cellulaire, des différences dans l'étendue des fenêtres temporelles pendant lesquelles une LTP ou une LTD pouvait être induite ont été observées. Certaines STDP, dites asymétriques, montrent une différence entre les deux fenêtres temporelles, la LTD pouvant être induite pour un Δt beaucoup plus long que celui de la LTP (Debanne et al., 1998 ; Feldman, 2000 ; Nishiyama et al., 2000 ; Boettiger et Doupe, 2001; Sjostrom et al., 2001; Li et al., 2004 ; Tzounopoulos et al., 2004 ; Froemke et al., 2005); mais il a également été observé des STDP, dites symétriques, qui développent une LTP et une LTD dans des fenêtres de temps identiques (Markram et al., 1997 ; Bi et Poo, 1998 ; Zhang et al., 1998) (Figure 21B, Table 1).

Références	Modèles	Fenêtre LTP (ms)	Fenêtre LTD (ms)
Levy et Steward, 1983	Rat, tranches hippocampe	0 à +20	<0
Bell et al., 1997	Poisson électrique, lobe électrosensoriel	<0 ou >+50	0 à +50
Magee et Johnston, 1997	Rat, tranches d'hippocampe	0 à +15	-
Markram et al., 1997	Rat, tranches de néocortex	+10	-10
Bi et Poo, 1998	Rat, cultures d'hippocampe	0 à +30	-40 à 0
Debanne et al., 1998	Rat, tranches organotypiques d'hippocampe	+15	-200 à 0
Egger et al., 1999	Rat, tranches de barrel cortex	-	-10 à +25
Feldman, 2000	Rat, tranches de barrel cortex	0 à +15	-100 à 0
Nishiyama et al., 2000	Rat, tranches d'hippocampe	0 à +10	-15 à -30
Boettiger et Doupe, 2001	Zebra finch	0 à +15	-7 à 0
Sjöstrom et al., 2001	Rat, tranches de cortex visuel	+10	-50 à 0
Lin et al., 2003	Rat, tranches d'hippocampe	+3 à +10	-
Li et al., 2004	Rat, cultures d'hippocampe	0 à +30	-40 à 0
Tzounopoulos et al., 2004	Souris, tranches de tronc cérébral		
	Neurones de sortie	0 à +25	-50 à 0
	Interneurones glycinergiques	-	+5
Froemke et al., 2005	Rat, tranches de cortex visuel	0 à +25	-100 à 0
Haas et al., 2006	Rats, tranches cortex enthorinal, interneurones	0 à +20	-20 à 0
Couey et al., 2007	Souris, tranches cortex préfrontal	+5	-

Tableau 1. Différences dans les fenêtres temporelles d'induction de la spike-timing dependent plasticity.

Les temps positifs ($\Delta t > 0$) correspondent à une séquence pré-post et les temps négatifs ($\Delta t < 0$) correspondent à une séquence d'activation post-pré.

Des STDP avec des orientations « non classiques » ont également été mises en évidence. Au niveau du lobe électro-sensoriel du poisson électrique, comme nous l'avons signalé dans l'historique, il a été observé une forme de STDP inverse, par rapport à celle dite classique : une séquence pré-post induit une LTD et une séquence post-pré une LTP, avec des fenêtres temporelles équivalentes ($-50 < \Delta t < +50$ ms) (Bell et al., 1997). Cette forme de STDP, bien qu'ayant été une des toutes premières rapportées, a été considérée comme une exception « phylogénétique ». Cependant, chez les mammifères, Egger et al. (1999) ont décrit, au niveau des neurones « spiny stellate » de la couche IV du cortex, l'induction uniquement de LTD quelle que soit la séquence d'activation (post-pré *versus* pré-post). D'autre part, les cellules de Purkinje du cervelet développent une STDP qui est inverse par rapport à l'orientation classique (Wang et al., 2000). Enfin, au niveau des interneurons glycinergiques du noyau cochléaire, si une séquence post-pré induit très classiquement une LTD, une séquence pré-post, par contre, ne donne lieu à aucune plasticité (Tzounopoulos et al., 2004) (Figure 21B).

En conclusion, il semble donc qu'il existe une règle générale dans l'induction et l'orientation de la STDP. Néanmoins la mise en évidence de STDP non classiques dans différentes structures remet en question l'existence d'une règle systématique et montre que différentes formes de STDP co-existent au niveau du système nerveux central.

5.4 Mécanismes d'induction

L'induction de la STDP repose majoritairement sur des changements de concentration de calcium intra-cellulaire, tout comme les plasticités à long-terme induites par des protocoles classiques de type HFS ou LFS. Pour de nombreuses synapses glutamatergiques, l'induction de la STDP (LTP et LTD) dépend uniquement de l'activation des récepteurs NMDA (Magee et Johnston, 1997 ; Markram et al., 1997 ; Debanne et al., 1998 ; Zhang et al., 1998 ; Bi et Poo, 1998). De par la levée de leur bloc magnésium induite par une dépolarisation, nécessaire à leur activation, les récepteurs NMDA agissent comme des détecteurs de coïncidence des activités post- et pré-synaptiques. Le principal mécanisme utilisé pour expliquer la STDP

serait que l'intervalle de temps entre la fixation du glutamate aux récepteurs NMDA et la rétro-propagation du PA évoqué en post-synaptique détermine les niveaux de calcium nécessaires pour l'induction soit de la LTP, soit de la LTD. En effet, une séquence pré-post entraînerait un influx important de calcium dû à l'activation des récepteurs NMDA par le PA rétro-propageant alors qu'une séquence post-pré entraînerait un plus faible influx de calcium à cause d'une activation des récepteurs NMDA limitée par la phase de post-hyperpolarisation du PA post-synaptique. Des expériences en imagerie calcique ont confirmé cette hypothèse en montrant que l'influx calcique par les récepteurs NMDA et les canaux calciques voltage-dépendants est plus important avec une séquence pré-post qu'avec une séquence post-pré (Koester et Sakmann, 1998 ; Nevian et Sakmann, 2004). Néanmoins, au niveau des cellules pyramidales des couches II/III corticales, bien que les quantités de calcium intra-cellulaire induites par l'une ou l'autre des deux séquences ne sont pas très différentes, les mécanismes mis en jeu le sont et induisent des formes de plasticité opposées, LTP ou LTD (Nevian et Sakmann, 2006).

Le calcium nécessaire à l'induction de la STDP peut également provenir d'autres sources que les seuls récepteurs NMDA. En effet, l'influx de calcium peut se faire via les canaux calciques voltage-dépendants (Bi et Poo, 1998) ou par la libération de calcium des stocks internes (via l'IP3) (Nishiyama et al., 2000 ; Bender et al., 2006). De plus, un modèle suggère que, via leur couplage à des canaux calciques voltage-dépendants, la voie des récepteurs métabotropiques au glutamate (mGluR) pourrait jouer aussi un rôle de détecteur de coïncidence dans l'induction de la STDP (Karmarkar et Buonomano, 2002). Cette hypothèse est cohérente avec des résultats expérimentaux reportant que la LTD induite par une séquence post-pré dans l'hippocampe est insensible à l'AP5 mais dépend de l'activation des mGluR (Normann et al., 2000). Elle est également cohérente avec le fait que la LTD au niveau des cellules pyramidales des couches II/III corticales est dépendante de l'activation des mGluRs (Bender et al., 2006 ; Nevian et Sakmann, 2006).

Par ailleurs, un PA post-synaptique peut entraîner la libération de facteurs rétrogrades tels que les endocannabinoïdes qui influencent l'activité pré-synaptique en agissant sur les récepteurs aux endocannabinoïdes de type 1 (CB1) et favorisent le développement d'une forme de plasticité, la LTD. Au niveau cortical, les endocannabinoïdes sont impliqués dans le développement de la LTD, avec l'activation concomitante des récepteurs NMDA pré-synaptiques (Sjostrom et al.,

2003). Les endocannabinoïdes seuls peuvent être à l'origine de LTD dans le cortex car le blocage des récepteurs CB1 prévient son induction (Bender et al., 2006 ; Tzounopoulos et al., 2007). Enfin, le NO, un autre messager rétrograde, a été montré comme étant déterminant dans l'induction de la LTP (Hawkins et al., 1998 ; Wang et al., 2005 ; Sjostrom et al., 2007). Il apparaît donc que les mécanismes moléculaires sous-tendant l'induction de la STDP sont complexes et n'impliquent pas seulement la détection de coïncidence des récepteurs NMDA mais plusieurs paramètres qui vont orienter les changements d'efficacité synaptique vers une LTP ou une LTD.

5.5 Extension à d'autres formes de protocoles

Les protocoles de STDP sont basés sur le déclenchement de stimulations uniques, l'une en post-synaptique et l'autre en pré-synaptique et ce, répété de 50 à 100 fois à basse fréquence (environ 1 Hz). Pourtant, *in vivo*, le déclenchement d'un PA unique suite à l'activation d'un réseau neuronal n'est pas la situation la plus fréquente et il est plus souvent observé des trains ou des bouffées de PA.

Il a donc été testé *in vitro* l'effet de triplets de stimulations, espacés de différents intervalles, au niveau des couches II/III du cortex visuel (Froemke et Dan, 2002). Ces triplets consistent à évoquer soit un PA en post-synaptique, puis une stimulation pré-synaptique et enfin à nouveau un PA en post-synaptique (séquence post-pré-post) ou la séquence inverse pré-post-pré. Cette étude montre que dans chaque triplet, c'est la paire des premiers PA qui va orienter la plasticité induite, supprimant alors l'influence du troisième PA émis. Néanmoins, dans des cultures d'hippocampe, des résultats différents ont été obtenus puisqu'un triplet pré-post-pré n'induit pas de changements d'efficacité synaptique alors qu'un triplet post-pré-post induit une LTP robuste (Wang et al., 2005). Donc, dans ce cas, l'effet de la paire des derniers PA semble prépondérant dans l'induction de la plasticité.

L'effet de trains de PA a été également étudié dans la couche V du cortex en faisant varier le Δt entre les PA des trains pré- et post-synaptiques et la fréquence des trains (Sjostrom et al., 2001). Au-delà de l'influence du Δt , les changements d'efficacité synaptique induits sont dépendants de la fréquence de décharge du train

de PA. En effet, l'amplitude de la LTP induite augmente avec la fréquence du train ; ainsi, passer d'une fréquence de 10 Hz à une de 50 Hz permet d'induire une LTP de plus forte amplitude (160% *versus* 120%). Ce phénomène n'est pas observé pour la LTD puisque pour des fréquences élevées, la LTD ne peut plus être induite (même pour des protocoles post-pré). La séquence des activations pré- et post-synaptiques n'a d'ailleurs plus d'effet à partir d'une certaine fréquence car seule de la LTP est induite (Sjostrom et al., 2001). Ceci montre que, au-delà d'une fréquence donnée, les changements d'efficacité synaptique induit par des trains de PA ne sont plus sensibles à la séquence des PA mais c'est la fréquence de décharge qui va être déterminante dans l'orientation de la plasticité induite. Cette idée a été confirmée par une étude montrant dans l'hippocampe que la LTP peut être induite par des paires de bouffées de PA en pré- et post-synaptique et que l'induction de cette LTP dépend de la séquence temporelle entre les deux bouffées de PA et non pas de celle entre les PA uniques (Kobayashi et Poo, 2004).

5.6 Limites de la spike-timing dependent plasticity

5.6.1 Plasticité dépendante de la localisation dendritique

Comme nous l'avons vu précédemment, la morphologie de l'arbre dendritique des neurones influe fortement sur la rétro-propagation du PA et pourrait par conséquent influencer le développement de la LTP ou de la LTD. L'impact de la distance électrotonique sur la mise en place de la STDP a été abordée dans des études récentes (Froemke et al., 2005 ; Letzkus et al., 2006). Par exemple, dans les cellules pyramidales du cortex visuel, la fenêtre temporelle dans laquelle les plasticités sont induites et l'amplitude varient le long des dendrites (Froemke et al., 2005). En effet, des enregistrements dendritiques ont permis de comparer les propriétés de la STDP au niveau de l'arborisation proximale et distale : dans les dendrites distales, l'amplitude de la LTP est plus faible (sans altérer sa fenêtre temporelle) et la fenêtre temporelle de la LTD plus large (sans changer l'amplitude des LTD induites) qu'au niveau des dendrites proximales. La diminution de l'amplitude de la LTP au niveau distal peut être expliquée par l'atténuation plus

importante du PA rétro-propageant dans les dendrites, ce qui entraînerait une plus faible augmentation de calcium dans les synapses correspondantes. Concernant la fenêtre d'induction de la LTD, celle-ci correspond à la période durant laquelle le PPSE induit par l'activation des récepteurs NMDA est diminué par la post-hyperpolarisation du PA rétro-propageant. Cette expérience confirme l'importance de ce mécanisme dans l'induction de la LTD et suggère que la variabilité des fenêtres d'induction de la LTD dépendrait principalement de la localisation dendritique des synapses. En accord avec cette hypothèse, il a récemment été montré que la localisation dendritique des synapses peut à elle seule orienter la plasticité (Sjostrom et Hausser, 2006). Ainsi, au niveau d'une cellule pyramidale de la couche V du cortex, un même protocole pré-post peut induire une LTP au niveau des synapses proximales et une LTD au niveau des synapses distales. Ces observations indiquent que, au-delà de l'hétérogénéité des plasticités observées entre les différents types neuronaux, il y aurait plusieurs règles de plasticité au sein d'un même neurone en fonction des synapses considérées.

5.6.2 Où le PA rétro-propageant n'est pas une fatalité...

Pour expliquer les règles de plasticité de la STDP, il est admis que la seule source de dépolarisation post-synaptique est le PA rétro-propageant. Pourtant, il apparaît que d'autres mécanismes, en particulier directement au niveau des dendrites, pourraient participer à la dépolarisation post-synaptique impliquée dans le développement de la plasticité à long-terme. Ainsi, il a été montré qu'une activation des afférences des cellules pyramidales de l'aire CA1 de l'hippocampe couplée à un train de PA évoqués en post-synaptique permet l'induction d'une LTP. Néanmoins, le blocage des PA post-synaptiques n'empêche pas l'induction de la LTP (Kelso et al., 1986 ; Gustafsson et al., 1987). De plus, le niveau du potentiel membranaire du neurone est déterminant dans l'induction d'une LTP ou d'une LTD (Artola et al., 1990). Un même conditionnement cellulaire (à haute fréquence) dans le cortex induit soit de la LTP (si le neurone est dépolarisé sous-seuil) soit de la LTD (si le neurone est maintenu à son potentiel de repos). D'autre part, le blocage du PA rétro-propageant par de la tétrodoxtine (TTX) n'empêche pas le développement d'une plasticité (Golding et al., 2002), à condition qu'un PA calcique dendritique soit induit par une forte stimulation pré-synaptique; ce PA dendritique devient alors la source

de dépolarisation post-synaptique nécessaire à l'induction de la plasticité à long-terme. De la même façon, une simple stimulation évoquée dans un neurone pyramidal de la couche V du cortex induit un PA dendritique. Quand elle est couplée à une EPSP dans une séquence post-pré (c'est-à-dire PA dendritique-EPSP), cela est suffisant pour induire de la LTD (Holthoff et al., 2004). Enfin, il a été montré qu'une dépolarisation sous-liminaire des neurones du cortex couplée à des activations pré-synaptiques quasi-concomitantes suffirait à induire de la plasticité à long-terme (Sjostrom et al., 2004). Néanmoins, quelle que soit la séquence d'activation, seule une LTD était induite.

Ces résultats remettent en question l'absolue nécessité d'un PA rétro-propageant pour induire de la plasticité synaptique à long-terme, d'autres sources de dépolarisation post-synaptique pouvant contribuer à la mise en place de plasticité à long-terme (Lisman et Spruston, 2005).

5.7 Spike-timing dependent plasticity *in vivo*

La plupart des expériences de caractérisation de la STDP ont été faites *in vitro*, sur des cultures neuronales ou des tranches de cerveaux. Néanmoins, un certain nombre d'études ont exploré les conséquences fonctionnelles de la STDP *in vivo*, principalement dans le cortex. L'induction des protocoles de STDP a été faite soit directement par des stimulations électriques, soit grâce à des stimulations sensorielles (souvent visuelles).

Les premières expériences de STDP *in vivo* ont été faites dans le système rétino-tectal du Xénope (Zhang et al., 1998). Si les afférences rétino-tectales sont activées 20 ms avant la décharge des neurones tectaux, les synapses sont potentialisées. La séquence inverse entraîne une dépression des synapses rétino-tectales. Une telle STDP, avec une orientation « classique » induite *in vivo*, jouerait un rôle déterminant au cours du développement pour la mise en place des projections rétino-tectales. L'importance fonctionnelle de la STDP a également été testée dans le système visuel du chaton. Des paires de stimulations ont été faites, la stimulation pré-synaptique consistant en un stimulus visuel (avec une orientation donnée) et celle post-synaptique en une stimulation électrique. Quand le cortex était

activé visuellement 10-20 ms avant la stimulation électrique, la réponse corticale était potentialisée. Avec la séquence inverse, les synapses corticales étaient déprimées (Schuett et al., 2001) ; cette orientation est celle « classique » observée *in vitro*. Là encore, les plasticités induites par ces séquences sont très importantes dans l'agencement des champs récepteurs visuels puisque lorsqu'une potentialisation est induite au niveau d'une cellule, elle est renforcée dans le rôle de détection de l'orientation correspondant à la stimulation visuelle du protocole d'induction. De façon intéressante, de la plasticité s'apparentant à la STDP a également été observée chez l'homme (Stefan et al., 2002 ; Wolters et al., 2003) grâce à des stimulations du nerf médian et des stimulations magnétique trans-crânienne du cortex moteur. Le résultat de stimulations appariées faites entre le nerf médian et le cortex est évalué grâce à un électromyogramme dans le muscle correspondant. L'activité du muscle est augmentée ou diminuée en fonction de la séquence d'activation et suit les mêmes règles que celles décrites *in vitro*.

Dans d'autres études, les activations corticales pré- et post-synaptiques étaient faites uniquement grâce à des stimuli sensoriels (visuels) pour mimer une situation plus physiologique. Des expériences chez le chat adulte consistaient à faire des stimulations visuelles successives dans deux orientations qui induisaient un changement dans la mise au point de l'orientation, le changement étant dépendant de la séquence temporelle des stimuli visuels (Yao et Dan, 2001). Cette séquence est cohérente avec celle observée dans la STDP corticale *in vitro*. L'influence des séquences de stimuli sensoriels sur la plasticité corticale a également été observée dans le domaine spatial. Des stimuli visuels envoyés dans deux régions adjacentes de la rétine peuvent contrôler la décharge des neurones corticaux avec une précision de dizaines de millisecondes et ils peuvent induire des modifications des connexions intra-corticales et de l'organisation des champs récepteurs (Fu et al., 2002).

Ces expériences montrent bien que la STDP n'est pas seulement le reflet de protocoles appliqués *in vitro* mais qu'elle peut avoir une implication importante dans des phénomènes existant *in vivo* comme, par exemple, la mise en place des connexions corticales au cours du développement et, ensuite, la plasticité de ces connexions en fonction de l'expérience et de l'environnement.

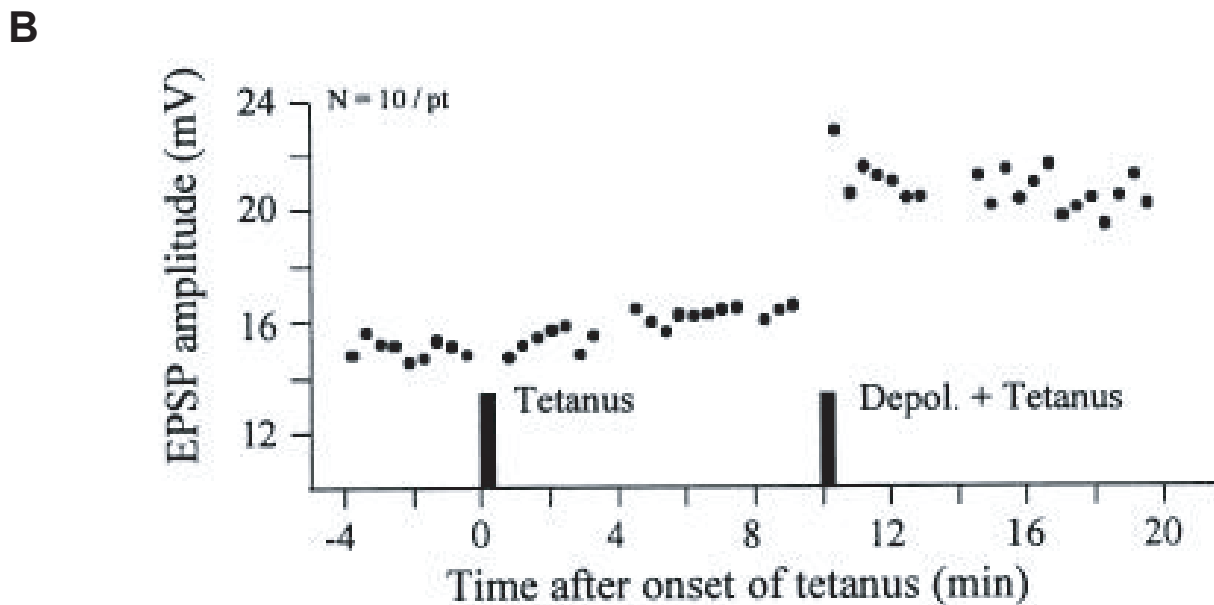
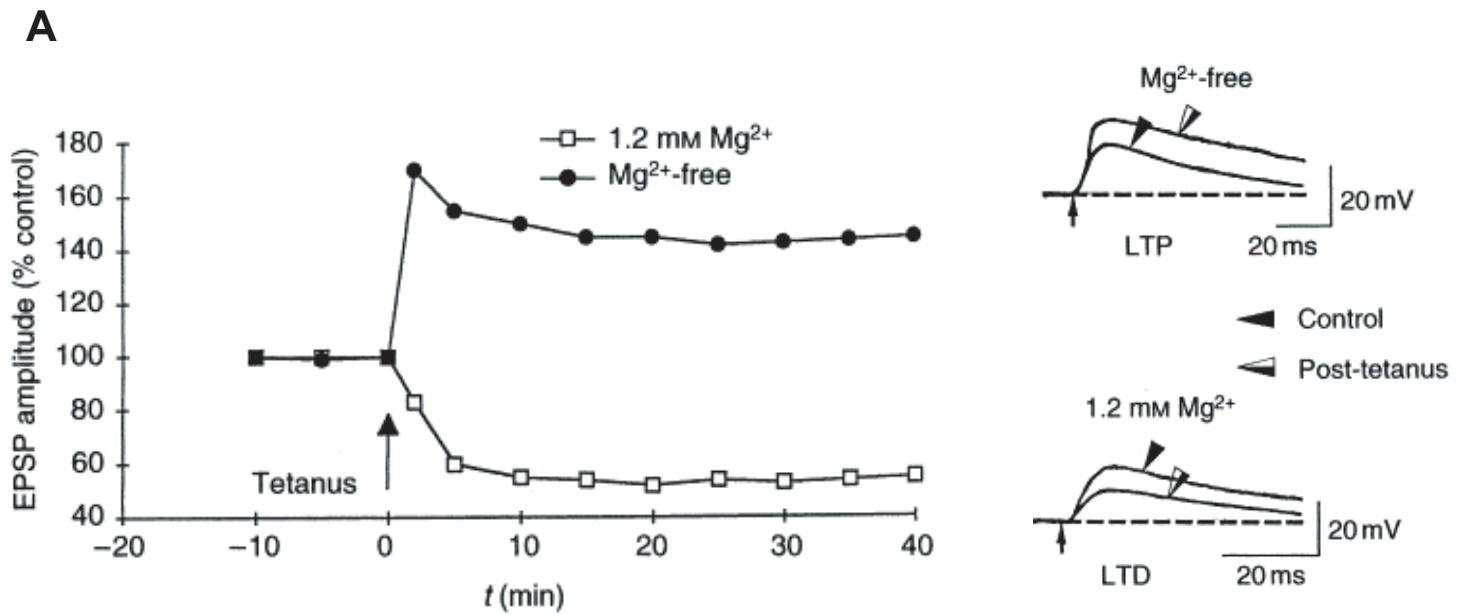


Figure 22. La plasticité synaptique à long-terme cortico-striatale.

A: *In vitro*, suite à une stimulation à haute fréquence du corps calleux, une LTD est induite dans un milieu contenant du magnésium (carrés blancs) et une LTP est induite si le milieu est dépourvu de magnésium (ronds noirs). A droite sont représentés des exemples de PPSEs induits avant et après le protocole de conditionnement cellulaire. **B:** *In vivo*, une stimulation à haute fréquence induit de la LTP, mais la stimulation seule n'est pas suffisante et la dépolarisation du NETM concomittante est nécessaire. D'après Calabresi et al, 1996 (A) et Charpier et Deniau, 1997 (B).

6. Plasticité à long-terme des synapses cortico-striatales

Les GB sont impliqués dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation de séquences cognitivo-motrices, comme nous l'avons vu dans le chapitre 3. Le consensus actuel est que ces phénomènes sont sous-tendus par des changements d'efficacité synaptique à long-terme (Martin et al., 2000; Martin et Morris, 2002; Lynch, 2004; Malenka et Bear, 2004). En tant que porte d'entrée des GB chargée de la détection et de l'intégration des informations corticales, la plasticité au niveau de la voie cortico-striatale est déterminante dans les processus d'apprentissage. La plasticité synaptique à long-terme des synapses cortico-striatales a donc fait l'objet de nombreuses études. Néanmoins, les conclusions tirées des expériences réalisées (Calabresi et al., 1996 ; Mahon et al., 2004) font que la nature des plasticités cortico-striatales reste, à notre avis, posée. En effet, le sens des changements d'efficacité synaptique observés semble dépendre des conditions expérimentales utilisées, comme par exemple le type de préparation, *in vitro* vs. *in vivo*, les concentrations ioniques ou la pharmacologie utilisées, les protocoles de stimulation ou la présence ou non de dopamine dans la préparation.

6.1 Les études *in vitro* : le règne de la LTD

Les premières études concernant la plasticité cortico-striatale ont été réalisées *in vitro* sur tranches de cerveau. L'équipe de Paolo Calabresi a été la première à mettre en évidence une plasticité des synapses cortico-striatales. En effet, suite à des stimulations à haute fréquence effectuée dans le corps calleux, une LTD a été observée (Calabresi et al., 1992) (Figure 22A). Ces observations ont été confirmées par d'autres équipes décrivant également une LTD en stimulant soit dans le corps calleux (Walsh, 1993) soit directement dans le striatum (Lovinger et al., 1993). Plus récemment, la LTD a également été induite par des protocoles de stimulation à une fréquence plus faible (10 Hz) (Ronesi et Lovinger, 2005). Il a alors été suggéré que la LTD était la forme physiologique de plasticité synaptique au niveau de la voie cortico-striatale (Calabresi et al., 1996).

Une LTP a néanmoins pu être observée *in vitro* mais elle requiert des conditions pharmacologiques particulières. En effet, une LTP peut être induite en réponse à une stimulation haute fréquence du corps calleux lorsque le magnésium est absent du milieu extra-cellulaire, levant ainsi le blocage voltage dépendant des récepteurs NMDA, (Figure 22A) (Calabresi et al., 1992 ; Walsh et Dunia, 1993). L'obtention d'une LTP dans des concentrations physiologiques de magnésium suite à une HFS a pu être observée mais nécessiterait tout de même un blocage des récepteurs métabotropiques au glutamate ou une dénervation dopaminergique (Dos Santos Villar et Walsh, 1999). Ces résultats ont donc conduit à l'hypothèse que la LTP était une forme pathologique de plasticité au niveau des synapses cortico-striatales (Calabresi et al., 1996). Par conséquent, la LTD était considérée comme la forme de plasticité synaptique exclusive de la voie cortico-striatale (Table 2).

En fait, comme l'ont montré Spencer et Murphy (1999), le site de stimulation semble être déterminant pour l'orientation de la plasticité. Ainsi, un même protocole de conditionnement par HFS induit une LTD si la stimulation est effectuée dans le striatum et une LTP si la stimulation est spécifiquement appliquée dans le corps calleux. L'explication de l'obtention d'une LTD exclusive pourrait donc être que les stimulations du corps calleux diffuseraient dans le striatum et dépolariseraient directement les terminaisons nerveuses et les neurones localisés dans le striatum. Cette activation directe entraînerait la libération de neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine, le GABA ou la dopamine qui influenceraient les formes de plasticité synaptique observées.

Le stade du développement semble également avoir une influence sur la mise en place de l'une ou l'autre forme de plasticité. C'est à partir des deuxième et troisième semaines post-natales que l'induction de la LTP devient moins fréquente et les stimulations à haute fréquence induisent alors majoritairement de la LTD (Partridge et al., 2000). D'autre part, l'induction de la LTD ou la LTP dépend du territoire striatal testé : les NETM localisés dans la partie dorso-latérale du striatum développent préférentiellement une LTD suite à une HFS alors que la LTP est plus importante au niveau de la partie médiane du striatum (Partridge et al., 2000 ; Smith et al., 2001).

Bien qu'il ait été observé que la région striatale ou le site de stimulation soit déterminant dans l'induction de l'une ou l'autre forme de plasticité, la LTD est

considérée comme étant la forme de plasticité physiologique et la LTP comme pathologique.

6.2 Les études *in vivo* : LTP ou LTD

In vivo, une LTP peut être induite en réponse à une stimulation haute fréquence (Charpier et Deniau, 1997) (Figure 22B) mais également suite à une LFS (Charpier et al., 1999). La LTP induite par une HFS est dépendante d'une entrée de calcium dans le NETM et ne peut pas être induite si la stimulation corticale n'est pas couplée avec une dépolarisation post-synaptique du NETM, ce qui constitue un protocole de type Hebbien (Charpier et Deniau, 1997). D'autre part, il a également été observé une LTD suite à une HFS (Reynolds et Wickens, 2000) et cette même stimulation induit de la LTP si elle est couplée à une stimulation concomitante de la substance noire *pars compacta* à basse fréquence (Reynolds et Wickens, 2000).

6.3 Question soulevée par la prépondérance d'une forme de plasticité sur l'autre

De la même façon que les études *in vitro*, les observations faites *in vivo* n'ont pas permis de mettre en évidence les deux formes de plasticité dans les mêmes conditions expérimentales. Pourtant, de par le fonctionnement même du système nerveux central, et surtout étant donné le rôle de ces synapses dans les phénomènes d'apprentissage, il est difficilement concevable qu'il n'existe qu'une seule forme de changements d'efficacité synaptique à long-terme au niveau des synapses cortico-striatales. En effet, l'homéostasie synaptique requiert la co-existence des deux formes de plasticité. De cette façon, la synapse cortico-striatale ne sera pas bloquée dans un mode exclusif de plasticité mais pourrait revenir à un niveau « naïf » afin d'être à nouveau plastique.

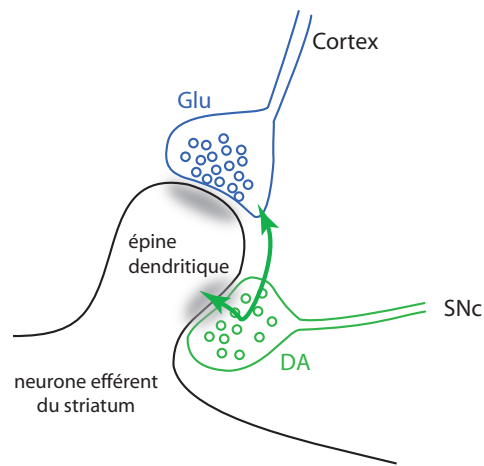


Figure 23. Afférences glutamatergiques et dopaminergiques sur les neurones striataux.

Une épine dendritique d'un NETM est représentée, avec l'afférence glutamatergique formant une synapse sur la tête de l'épine, tandis que l'afférence dopaminergique est située sur le cou de l'épine. La dopamine libérée peut ainsi contrôler efficacement les entrées corticales sur les neurones striataux. D'après Bamford et al., 2004a.

Références		Conditions expérimentales		Plasticité à long-terme		
		Stimulation	Protocoles	DA basale	Hypo-DA	Hyper-DA
<i>In vitro</i>	Kreitzer et Malenka, 2007	Stim striatum	HFS	-	=	
	Wang et al., 2006	Stim CC	HFS	-	=	
	Kreitzer et Malenka, 2005	Stim CC	HFS	-	=	-
	Ronesi et Lovinger, 2005	Stim CC	LFS (10 Hz)	-		
	Kerr et Wickens, 2001	Stim CC	HFS, 0 Mg ²⁺	+	=	
	Smith et al., 2001	Stim CC	HFS	+/-	+/-	
	Tang et al., 2001	Stim CC	HFS	-	=	
	Calabresi et al., 2000	Stim CC	HFS	+/-	=	
	Partridge et al., 2000	Stim CC	HFS	+/-		
	Spencer et Murphy, 2000	Stim CC, striatum	HFS	+/-		
	Centonze et al., 1999	Stim CC	HFS, 0 Mg ²⁺	+	-	
	Dos Santos Villar et Walsh, 1999	Stim striatum	HFS	-	+	
	Nishioku et al., 1999	Stim CC	HFS	-		+
	Wickens et al., 1998	Stim CC	HFS	-		
	Calabresi et al., 1997	Stim CC	HFS	-	+	
	Choi et Lovinger, 1997	Stim CC	HFS	-		
	Wickens et al., 1996	Stim CC	HFS	-		+
	Lovinger et al., 1993	Stim CC	HFS	-		
	Walsh, 1993	Stim striatum	HFS	-		
	Calabresi et al., 1992b	Stim CC	HFS, 0 Mg ²⁺	+		
Calabresi et al., 1992c	Stim CC	HFS	-	=		
<i>In vivo</i>	Quik et al., 2006	Stim CC	HFS	-	=	
	Reynolds et al., 2001	Stim cortex et SNc	HFS SNc	-	=	+
	Reynolds et Wickens, 2000	Stim cortex et SNc	HFS Cx, SBF SNc	-	-	=
	Charpier et Deniau, 1997	Stim cortex	HFS	+		

Tableau 2. Plasticité cortico-striatale et effets de la dopamine.

(+): potentialisation à long-terme. (-): dépression à long terme (+/-) : les deux formes de plasticité peuvent être observées. (=) : pas d'effet.

Stim CC: stimulations du corps calleux, HFS: stimulation haute fréquence, LFS: stimulation basse fréquence, SNc: substance noire *pars compacta*.

6.4 Effets de la régulation dopaminergique sur la plasticité cortico-striatale

Le rôle de la dopamine dans les phénomènes de plasticité cortico-striatale a fait l'objet de nombreuses études. Il s'agit en effet d'un candidat « naturel » puisque l'innervation nigro-striatale dopaminergique est massive et que sa dérégulation entraîne des troubles cognitivo-moteurs sévères.

La localisation des afférences dopaminergiques au niveau du cou des épines dendritiques des NETM (Freund et al., 1984) les place dans une position idéale pour contrôler les entrées corticales des NETM (Bamford et al., 2004a ; 2004b) et la plasticité pouvant se développer au niveau de ces synapses (Reynolds et Wickens, 2002). La dopamine va alors moduler les entrées synaptiques à deux niveaux de la synapse : en post-synaptique en agissant directement sur leur intégration, mais également en pré-synaptique en modulant la libération de neurotransmetteur (Figure 23). Un modèle de l'influence de la dopamine sur la plasticité cortico-striatale prédisait qu'une LTP serait induite par des activations conjointes pré-synaptique (des afférences corticales) et post-synaptique (dépolérisation du NETM) associées à un signal de récompense (codé par une activité phasique des afférences dopaminergiques) (Miller, 1981). Un complément à ce modèle prédit qu'à l'inverse, l'absence de signaux dopaminergiques dans des conditions d'activité pré- et post-synaptiques simultanées entraînerait une dépression des synapses cortico-striatales (Wickens, 1993).

Les nombreuses études expérimentales qui ont cherché à évaluer l'influence de la dopamine sur la plasticité cortico-striatale n'ont pas permis de valider totalement ce modèle. En effet, les résultats sont très contrastés, voire contradictoires, et ne permettent pas de conclure clairement quant à l'effet de la dopamine sur les changements d'efficacité synaptique se développant aux synapses cortico-striatales (Reynolds et Wickens, 2002 ; Calabresi et al., 2007). A notre avis, si la question de la nature des plasticités cortico-striatales existant dans les conditions physiologiques reste posée, elle s'est transposée à l'effet de la régulation dopaminergique. De plus, s'ajoute à ce problème celui d'une quantification exacte des taux de dopamine présents dans les différentes conditions expérimentales utilisées. En effet, la régulation dopaminergique de la plasticité cortico-striatale a été

majoritairement explorée dans des conditions pathologiques d'hypo- ou d'hyperdopaminergie « extrêmes ». D'autre part, dans des conditions physiologiques, la dopamine module l'activité striatale dans des gammes de concentrations beaucoup plus faibles qui n'ont pas été véritablement explorées.

Les résultats des différentes études (Table 2) sont donc relativement variés et la dopamine a été rapportée comme pouvant favoriser soit la LTP soit la LTD ; les données expérimentales sont donc difficiles à interpréter. Tout comme pour les formes de plasticité en contrôle, ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par les différences de conditions expérimentales. En effet, l'influence d'une hyperdopaminergie sur la plasticité de la voie cortico-striatale a été testée *in vitro* soit en ajoutant directement de la dopamine (Wickens et al., 1996), soit des agonistes synthétiques des récepteurs dopaminergiques (Kreitzer et Malenka, 2005) ou de la métamphétamine (qui conduit à une vidange des terminaisons dopaminergiques) (Nishioku et al., 1999). Les effets d'une hypo-dopaminergie sur la plasticité cortico-striatale ont été explorés grâce à des lésions faites à la 6-OHDA dans la SNc ou dans le striatum (Centonze et al., 1999 ; Dos Santos Villar et Walsh, 1999 ; Smith et al., 2001, Tang et al., 2001 ; Kreitzer et Malenka, 2007), à des antagonistes des récepteurs dopaminergiques (Calabresi et al., 1992c ; Calabresi et al., 2000 ; Wang et al., 2006), à des traitements par l'alpha-methyl-para-tyrosine (α -MPT, un inhibiteur de la synthèse de dopamine) (Kerr et Wickens, 2001) ou des souris transgéniques invalidées pour les récepteurs D1 ou D2 (Calabresi et al. 1997 ; Calabresi et al., 2000 ; Tang et al., 2001). Pour les expériences *in vivo*, une hypo-dopaminergie était induite soit par le MPTP chez le singe (Quirk et al., 2006), soit par l' α -MPT chez le rat (Reynolds et Wickens, 2000). La modulation de la plasticité cortico-striatale par les afférences dopaminergiques a pu être testée en stimulant la SNc directement (Reynolds et Wickens, 2000 ; Reynolds et al., 2001). La variabilité des conditions expérimentales de ces différentes études rend donc difficile de donner une conclusion claire quant à l'effet de la dopamine sur la plasticité cortico-striatale.

Enfin, deux études récentes (Quirk et al., 2006 ; Wang et al., 2006) suggèrent que la régulation dopaminergique pourrait être indirecte et passer par un relais, tel que les interneurons cholinergiques. Ces deux études arrivent à une conclusion similaire quant à l'implication des interneurons cholinergiques dans la mise en place de la LTD cortico-striatale, en suivant pourtant des protocoles expérimentaux très différents, voire opposés. En effet, dans l'étude de Wang et al., l'application

d'antagonistes cholinergiques (des récepteurs muscariniques M1) restaure la LTD (induite par une HFS) préalablement inhibée par des antagonistes des récepteurs D2. Dans l'étude de Quik et al., la suppression de la LTD induite par une lésion au MPTP est levée par des agonistes cholinergiques de type nicotiniens. Cela est en accord avec le rôle de l'acétylcholine et du NO, libérés respectivement par les interneurons cholinergiques et à NO-synthase, sur la plasticité cortico-striatale au niveau des NETM (Centonze et al., 1999). Il avait alors été montré que le NO était nécessaire à la mise en place de la LTD (Calabresi et al., 1999a) et l'acétylcholine à celle de la LTP (via l'activation de récepteurs M1) (Calabresi et al., 1999b). Ces études impliquant les interneurons striataux mettent en lumière le rôle très important des interneurons dans la physiologie striatale et la régulation des entrées et sorties du striatum.

Il apparaît donc primordial de prendre en compte l'hétérogénéité des populations neuronales du striatum dans la compréhension des phénomènes d'intégration des informations corticales au niveau du striatum et leur régulation par la dopamine.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

1. Modèle expérimental : les tranches de cerveaux de rat

Les enregistrements électrophysiologiques en patch-clamp ont été réalisés sur des tranches de cerveau de rat. Les rats sont issus de portées naturelles de souche Sprague-Dawley et sont âgés de 15 à 21 jours post-nataux.

L'animal est décapité et le cerveau rapidement extrait de la boîte crânienne. Il est ensuite immergé dans une solution extra-cellulaire maintenue à 4°C dont la composition ionique est proche du liquide céphalo-rachidien (composition en mM : 125 NaCl, 25 glucose, 25 NaHCO₃, 2.5 KCl, 2 CaCl₂, 1.25 NaH₂PO₄, 1 MgCl₂, 1 K-pyruvate maintenue à un pH de 7.3 grâce à un bullage constant par un mélange gazeux O₂/CO₂ (95% / 5%)). Le cerveau est ensuite coupé en tranches grâce à un vibratome (VT1000S, Leica, Wetzlar, Allemagne). Des coupes horizontales ou sagittales de 330 µm d'épaisseur sont réalisées et laissées ensuite à reposer à 32°C, pendant environ 1 heure dans une cuve de stockage avant de commencer les enregistrements.

Dans un premier temps, les tranches sagittales ont été utilisées pour l'étude comparant les propriétés membranaires passives et actives des différents types neuronaux du striatum (NETM et les trois principaux types d'interneurones striataux) en condition contrôle et lors d'une déplétion de dopamine (voir article 1).

Pour l'étude des propriétés de transmission et de plasticité synaptique à long-terme cortico-striatales au niveau des NETM et des interneurones striataux (GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase), nous avons utilisé des tranches de cerveau conservant intactes les afférences cortico-striatales depuis les corps cellulaires des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel jusqu'au striatum (Figure 1). Il est important de signaler que cela n'était pas le cas dans les études précédentes concernant la plasticité cortico-striatale. En effet, les expérimentateurs activaient les afférences cortico-striatales en stimulant électriquement dans le corps calleux ou directement dans le striatum. Pourtant, ce type de stimulations n'est pas spécifique de la seule activation de la voie cortico-striatale puisqu'elle recrute non seulement des afférences neuromodulatrices (dopaminergiques, sérotoninergiques, GABAergiques) mais met aussi en jeu

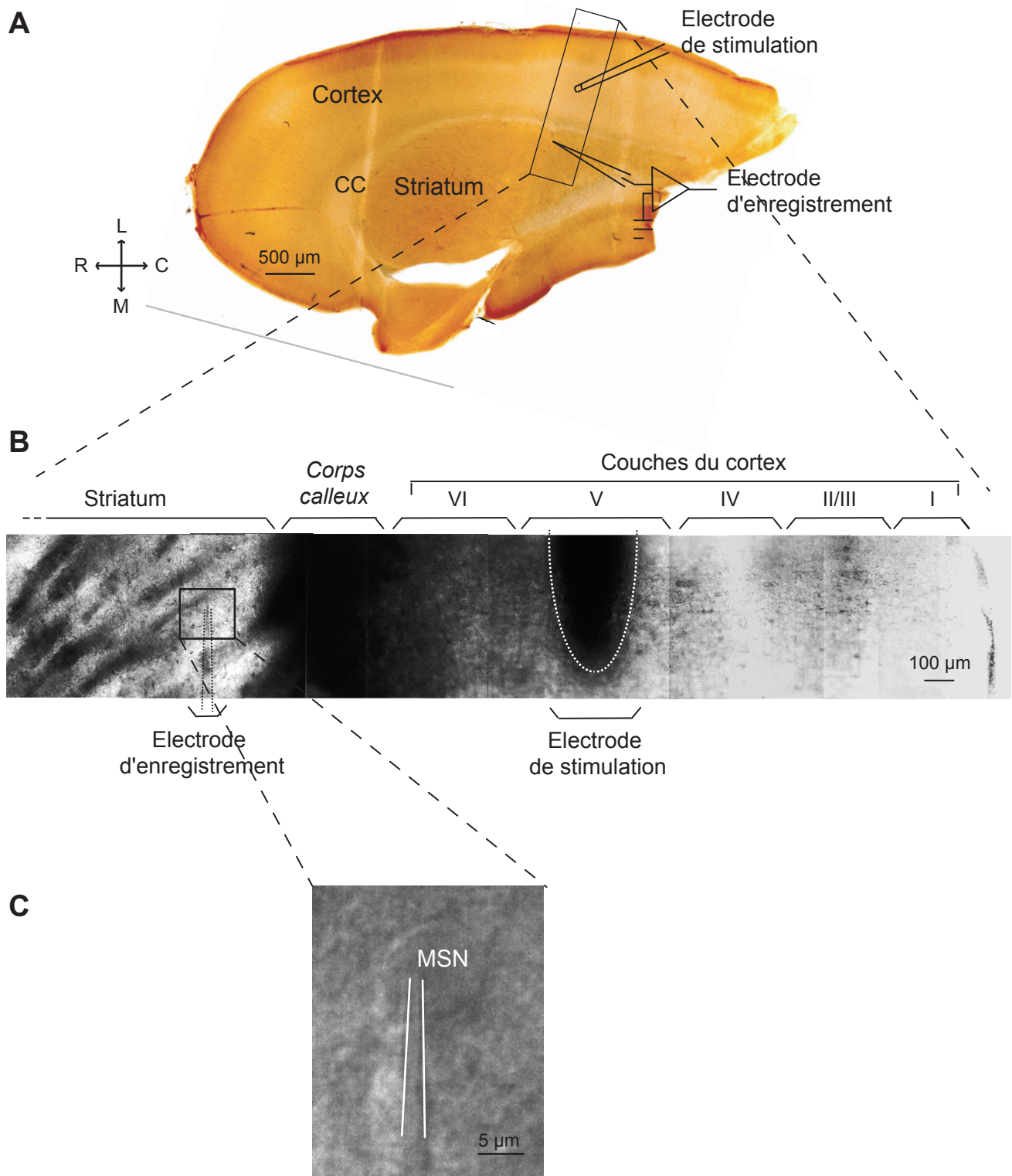


Figure 1. Tranche cortico-striatale et visualisation des neurones striataux.

A: Photographie d'une tranche cortico-striatale horizontale utilisée pour les expériences d'électrophysiologie. CC: Corps Calleux **B:** Microphotographies en infra-rouge des zones corticales et striatales d'intérêt: l'électrode de stimulation est placée dans la couche V du cortex somato-sensoriel et l'électrode d'enregistrement dans le striatum adjacent. **C:** Visualisation à fort grossissement (grossissement x80) et en lumière infra-rouge d'un neurone de projection du striatum (NETM).

directement les circuits locaux. Ceci pourrait probablement expliquer les résultats contrastés et débattus concernant la plasticité synaptique cortico-striatale (voir article 2 et le chapitre 6 de l'introduction). Pourquoi cet état de fait ? Les projections cortico-striatales, une fois sorties du cortex, pénètrent dans le corps calleux et suivent généralement des chemins longs et tortueux avant d'arriver à destination dans le striatum dorsal. L'intégrité des afférences cortico-striatales est donc difficile à conserver dans une tranche de cerveau de 300-350 μm d'épaisseur telles que celles utilisées en électrophysiologie *in vitro*. Cependant, afin de démarrer le projet d'étude de la transmission et la plasticité cortico-striatales, nous nous sommes fixés comme pré-requis de travailler sur de « vraies » tranches cortico-striatales. Des données anatomiques (Lévesque et Parent, 1998) et des injections juxta-cellulaires de neurobiotine au niveau des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel, faites *in vivo* chez des rats adultes au laboratoire, nous ont permis de visualiser des projections cortico-striatales qui traversent le corps calleux de manière orthogonale directe vers le striatum. Nous avons alors pu déterminer un angle de coupe horizontal des cerveaux qui permet de conserver intacte l'intégralité des projections cortico-striatales. Et il fut donc possible de stimuler spécifiquement les cellules pyramidales corticales et enregistrer électrophysiologiquement dans le striatum dorsal adjacent (Figure 1).

2. Identification morphologique des neurones du striatum par vidéo-microscopie à infra-rouge

Les tranches de cerveaux sont ensuite placées dans une chambre d'enregistrement baignée par un flux continu de 2-3 ml/min de milieu extracellulaire (composition en mM : 125 NaCl, 25 glucose, 25 NaHCO₃, 2.5 KCl, 2 CaCl₂, 1.25 NaH₂PO₄, 1 MgCl₂ et 10 μM K-pyruvate maintenu à un pH de 7.3 grâce à un bullage constant par un mélange gazeux O₂/CO₂ (95% / 5%)) maintenu à 32°C grâce à un système de contrôle de la température (ΔTC3 ; Bioptechs, Butler, USA). Les tranches sont observées grâce à un microscope droit (BX51WI, Olympus, Rungis, France) grâce à deux objectifs à immersion de grossissement x10 et x40 ; l'image

est ensuite grossie grâce à une lentille (x2) montée juste avant la caméra CCD (C2400-07 ; Hamamatsu, Shizouka, Japon).

Les régions corticales et striatales d'intérêt sont localisées à un grossissement de x20, ce qui va permettre de placer exactement l'électrode de stimulation dans la couche V du cortex somato-sensoriel ; la distance entre le corps calleux et l'électrode était en moyenne de 580 μm (voir le détail dans les articles correspondants). Les neurones striataux sont visualisés par vidéo-microscopie à infra-rouge à un grossissement global de x80 et la morphologie des différents types neuronaux du striatum peut ainsi être visualisée (Figure 1). Les NETM sont les plus nombreux et ont le corps cellulaire le plus petit (environ 12 μm) d'où partent 4-5 dendrites primaires (Wilson and Groves, 1980). Les interneurones cholinergiques sont les plus aisément reconnaissables par leur soma de grande taille (50 μm) qui leur a valu l'appellation de « neurones géants » (Kawaguchi, 1995). En vidéo-microscopie par infra-rouge, le choix des neurones basé sur leur morphologie est relativement aisé pour les NETM et les interneurones cholinergiques mais beaucoup moins pour les interneurones GABAergiques et à NO-synthase. En effet, en plus de leur rareté (environ 1-2% des neurones totaux striataux), leur morphologie visualisée par infra-rouge est assez proche de celle des NETM. Cependant, les interneurones GABAergiques et à NO-synthase ont des corps cellulaires de taille légèrement supérieure à celle des NETM (environ 15 μm) et sont reconnaissables grâce à la forme de leur soma, rond pour les interneurones GABAergiques et plus fusiformes pour les interneurones à NO-synthase (Kawaguchi, 1995).

3. Enregistrement électrophysiologique par la technique de patch-clamp

Les neurones striataux sont enregistrés grâce à la technique de patch-clamp (Hamill et al., 1981) en configuration cellule entière ou patch perforé. Des pipettes en borosilicate (Harvard Apparatus, Edenbridge, UK) sont préparées grâce à une étireuse (PiP5, HEKA, Lambrecht, Allemagne) et ont des résistances comprises entre 10 et 15 M Ω . En configuration cellule entière, la composition de la solution intra-cellulaire, en mM, est : 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 10

Phosphocréatine, 4 ATP-Mg²⁺, 0.3 GTP-Tris, 0.3 EGTA, ajustée à pH 7.3 avec du KOH. Les donneurs de phosphate permettent de contre-balancer la dialyse des réserves énergétiques de la cellule. Pour le patch perforé, la solution intra-cellulaire est composée de (en mM) 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 0.3 EGTA, amphotéricine B (0.2 mg/mL) ajustée à pH 7.3 avec du KOH (pour le patch-clamp perforé, on n'utilise pas de donneurs de phosphate, ATP, GTP et phosphocréatine, car ils ne sont pas nécessaires puisqu'on ne dialyse pas la cellule et d'autre part, ils peuvent, de part leur conformation tridimensionnelle, déstabiliser le patch perforé en déformant la membrane). L'amphotéricine B est un antibiotique qui forme des pores ioniques dans la membrane plasmique qui sont perméables aux ions mono- et divalents. Ainsi les ions vont pouvoir transiter librement de part et d'autre de la membrane cellulaire mais sans dialyser le milieu intra-cellulaire. Ainsi, on conserve intact le contenu cytoplasmique dont l'intégrité pourrait être capitale dans l'induction et la maintenance des phénomènes de plasticité à long-terme.

Les signaux enregistrés sont amplifiés grâce à un amplificateur de patch-clamp (HEKA EPC9-2) piloté par le logiciel Pulse 8.54 (HEKA). Les enregistrements en courant imposé sont filtrés à 2.5 kHz et échantillonnés à 5 kHz et les enregistrements en voltage imposé sont filtrés à 5 kHz et échantillonnés à 10 kHz. La composante rapide de la capacité membranaire (Cfast) est compensée entre 70 et 80%. Le potentiel de jonction (« liquid junction potential »), calculé suivant la formule de Barry et Lynch (1991), était égal à 13.6 mV et corrigé.

4. Protocoles de conditionnements cellulaires

Les stimulations électriques des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel sont effectuées par une électrode bipolaire (Phymep, Paris, France). Le stimulateur (WPI, Stevenage, UK) est piloté via le « pulse generator » du logiciel Pulse (HEKA). Ces stimulations sont monophasiques et en courant constant. Nous avons vérifié qu'il n'y avait aucune polarisation significative de l'électrode de stimulation au cours du temps, y compris pour des stimulations à haute fréquence (100 Hz) répétées. La durée de la stimulation est comprise entre 100 et 150 µs. En dehors des protocoles de conditionnement cellulaire, les afférences corticales sont

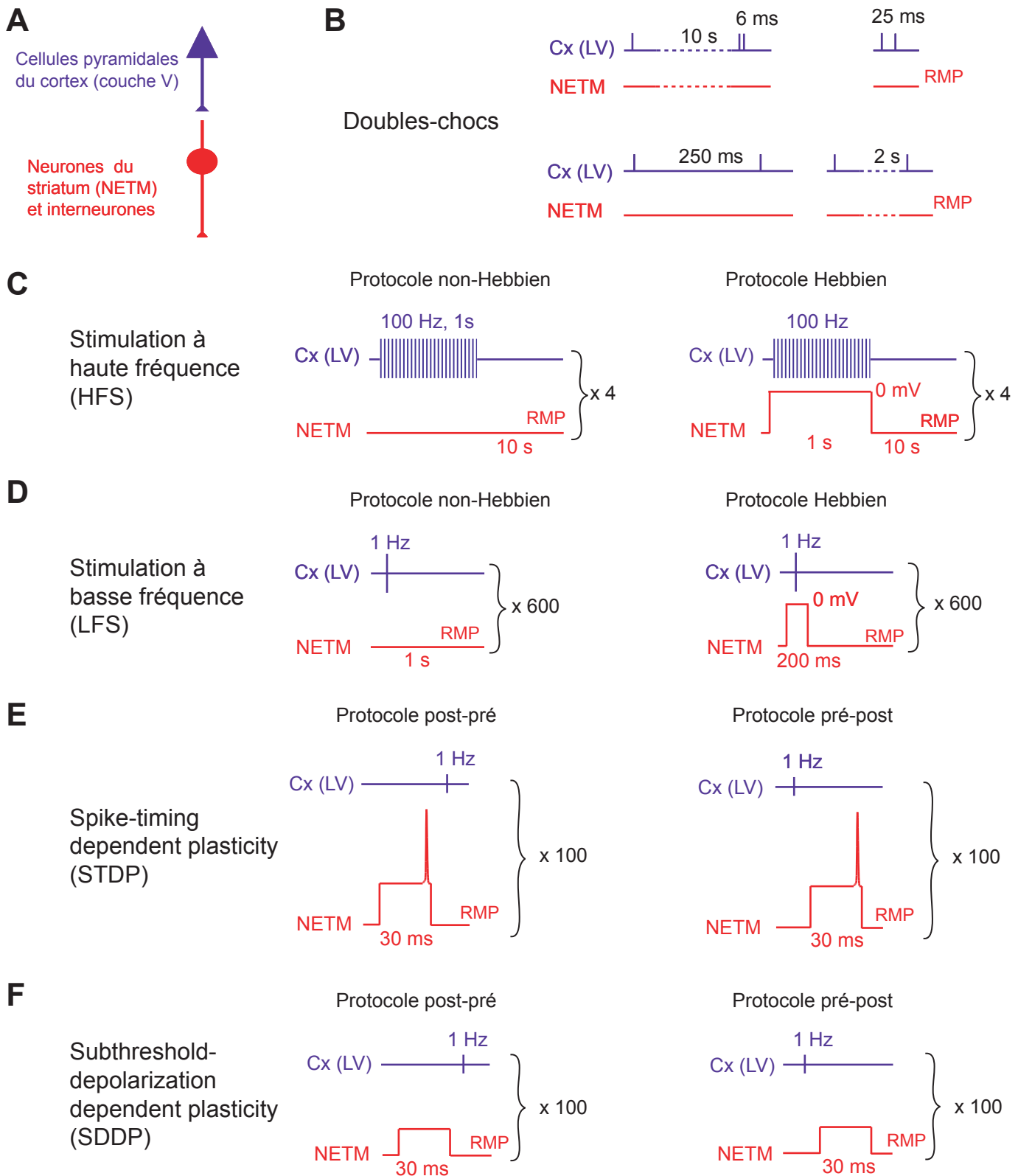


Figure 2. Protocoles de conditionnements cellulaires.

A, Schéma des neurones de la synapse cortico-striatale. **B**, Protocoles des expériences de doubles-chocs avec des exemples d'intervalles de 6, 25 et 250 ms et 2 s. **C**, Protocoles de stimulation à haute fréquence: 4 trains de stimulations à 100 Hz (durée du train: 1 sec) espacés de 10 s, en mode non-Hebbien (à gauche) et en mode Hebbien (à droite). **D**, Protocoles de stimulation à basse fréquence: 600 stimulations à 1 Hz, en mode non-Hebbien (à gauche) et en mode Hebbien (à droite). **E**, Protocoles de "spike-timing dependent plasticity" (STDP) qui consiste à décaler de quelques millisecondes une stimulation corticale et un potentiel d'action déclenché en post-synaptique. **F**, Protocoles de "subthreshold depolarization dependent plasticity" (SDDP) qui consiste à décaler de quelques millisecondes une stimulation corticale et une dépolarisation induite sous-liminaire en post-synaptique.

stimulées à une fréquence de 0.1 Hz pour laquelle aucune plasticité synaptique à court- ou à long-terme de l'amplitude des EPSCs induits n'est observée (voir article 2). Différents types de protocoles de conditionnement cellulaire ont été utilisés pour explorer la plasticité synaptique de la voie cortico-striatale.

4.1 Stimulations en double-chocs

Les expériences de double-chocs permettent d'évaluer les phénomènes de plasticité synaptique à court-terme. Pour cela, deux stimulations sont effectuées de façon consécutive et espacées par différents intervalles de temps pour estimer la réactivité du neurone striatal s'il reçoit deux entrées corticales plus ou moins corrélées dans le temps. Nous avons choisi différents intervalles (2, 4, 6, 8, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ms et 1, 2 et 10 secondes) afin d'évaluer les changements d'efficacité synaptique à court-terme. Pour les intervalles courts (de 2 à 10 ms), le deuxième EPSC induit par la stimulation corticale commence avant la fin du premier ; il est donc impossible de mesurer l'amplitude du premier EPSC pour la comparer à celle du second. Pour ces intervalles, une première stimulation unique est faite puis, 10 secondes plus tard, le double choc est appliqué (Figure 2 B). Ainsi, le premier simple choc constitue le contrôle. Cette séquence, simple choc suivi d'une double stimulation 10 secondes plus tard, est répétée 15 fois à 0.1 Hz. Pour les intervalles supérieurs à 10 ms, les doubles-chocs sont appliqués 15 fois à 0.1 Hz.

4.2 Stimulations à haute et à basse fréquences

Les stimulations à haute (HFS) et à basse fréquence (LFS) sont des protocoles de conditionnement cellulaire classiquement utilisés pour explorer la plasticité synaptique à long-terme. Il est à noter que la fréquence et le nombre de stimulations peuvent varier suivant les études. Nous avons choisi une HFS constituée de 4 trains de stimulation à une fréquence de 100 Hz et d'une durée d'une seconde chacune, chaque train étant séparé de 10 secondes (Figure 2 C). La LFS correspond à 600 stimulations appliquées à une fréquence de 1 Hz (Figure 2 D). Ces deux types de protocoles ont été effectués en mode Hebbien et en mode non-Hebbien. Le mode Hebbien mime une activité concomitante des éléments pré- et

post-synaptiques. Pratiquement, le neurone post-synaptique est dépolarisé (à partir de son potentiel de repos jusqu'à 0 mV) pendant les stimulations pré-synaptiques. Le mode non-Hebbien mime une situation pendant laquelle seul l'élément pré-synaptique est actif. Expérimentalement, le neurone post-synaptique est alors maintenu à son potentiel de repos pendant les stimulations pré-synaptiques (Figure 2 C et D).

4.3 « Spike-timing dependent plasticity » (STDP)

Les protocoles de STDP sont des protocoles plus « physiologiques » que la HFS ou la LFS (car moins drastiques) et permettent d'explorer la plasticité à long-terme induite par une activité quasi-coïncidente du cortex et du striatum. En effet, ces protocoles consistent à stimuler les éléments pré- et post-synaptiques quasiment concomitamment, avec un décalage (positif ou négatif) de quelques millisecondes (Figure 2 E). La stimulation du neurone post-synaptique consiste à dépolariser la cellule, en injectant du courant, pendant 30 ms, afin d'évoquer un PA unique. La stimulation pré-synaptique consiste à appliquer un choc unique cortical. Soit le PA est émis puis les afférences corticales stimulées quelques millisecondes plus tard (protocole post-pré), soit la stimulation corticale précède le potentiel d'action post-synaptique (protocole pré-post). Les stimulations sont répétées 100 fois à une fréquence de 1 Hz. Il est à noter que la durée de la dépolarisation de 30 ms est un choix de notre part pour respecter le plus possible la physiologie des NETM. S'il est en effet usuel en STDP cortico-cortical de dépolariser le neurone pendant 5 à 10 ms au plus, les propriétés membranaires des NETM nous obligeraient à injecter un courant extrêmement important pour parvenir à déclencher un potentiel d'action. Pour cette raison, nous avons choisi d'opter pour un temps un peu plus long, mais qui respecte la physiologie membranaire de ce type de neurones.

4.4 « Subthreshold-depolarization dependent plasticity » (SDDP)

Nous avons enfin utilisé des protocoles que nous avons dénommés SDDP pour mimer une partie des activités de la voie cortico-striatale. En effet, de nombreuses activités corticales donnent lieu à des dépolarisations des NETM qui restent sous-liminales ; ceci étant principalement dû aux propriétés membranaires

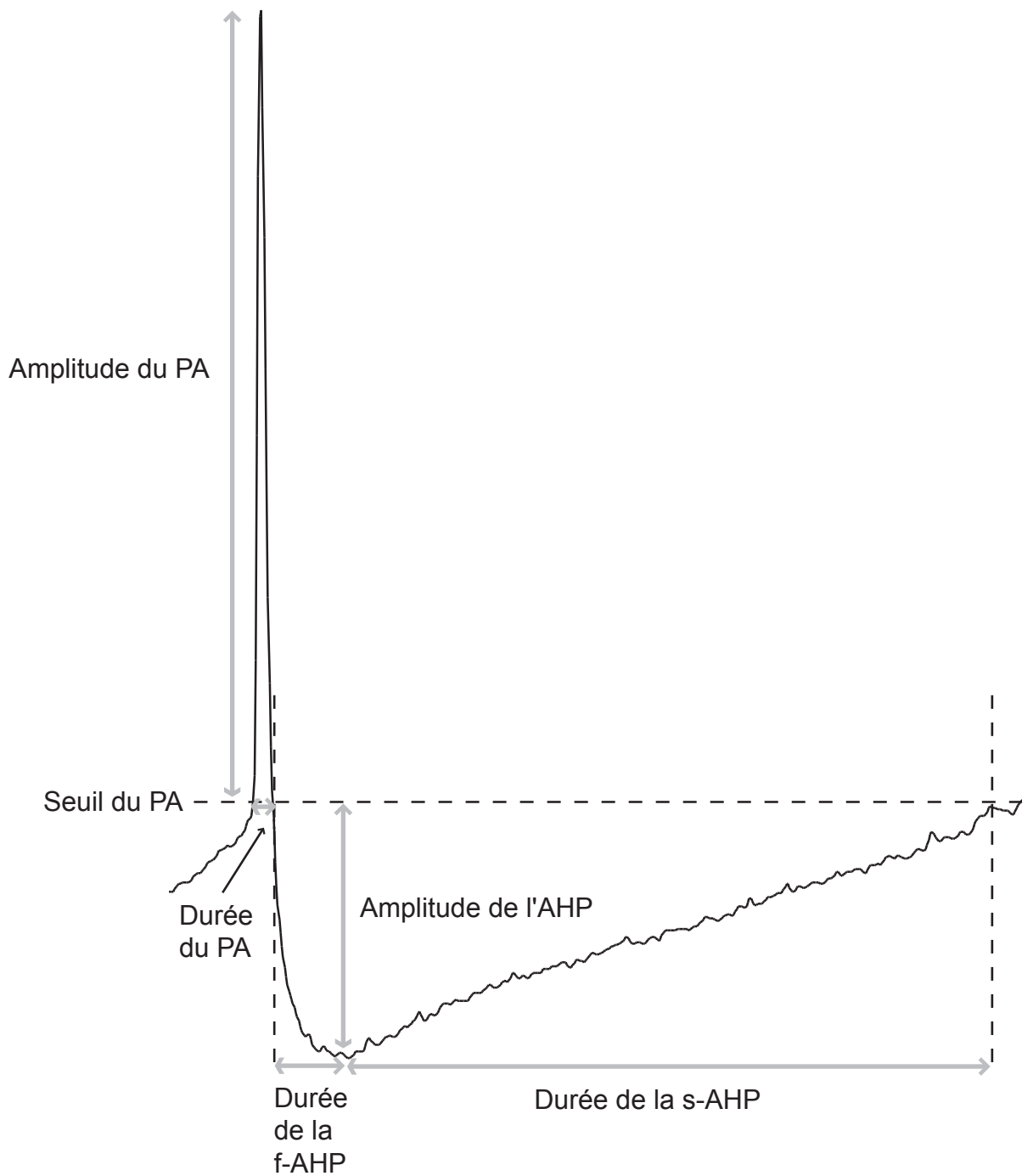


Figure 3. Mesure des caractéristiques du potentiel d'action.

Exemple d'un potentiel d'action d'un NETM et mode de mesure des caractéristiques du potentiel d'action (PA). AHP: post-hyperpolarisation, f-AHP: phase rapide de la post-hyperpolarisation, s-AHP: phase lente de la post-hyperpolarisation.

particulières des NETM (voir chapitre 2.4.1 des Rappels Bibliographiques). Les protocoles de SDDP sont semblables à ceux utilisés pour explorer les phénomènes de STDP sauf que la stimulation du neurone post-synaptique consiste à injecter un courant dépolarisant pendant 30 ms pour induire une dépolarisation qui va rester, dans le cas de la SDDP, sous-liminaire (Figure 2 F). De la même façon, soit la dépolarisation sous-liminaire post-synaptique est induite avant la stimulation pré-synaptique (protocole post-pré), soit la dépolarisation suit la stimulation corticale (protocole pré-post). Les stimulations pré- et post-synaptique sont répétées 100 fois à une fréquence de 1 Hz.

5. Mesures et analyses de données

L'analyse des enregistrements électrophysiologiques a été faite à l'aide des logiciels PulseFit 8.54, IgorPro 4.01 (Wavemetrics, Lake Oswego, OR, USA) et l'analyse statistique à l'aide du logiciel InStat (GraphPad, San Diego, CA, USA).

5.1. Propriétés passives et actives des neurones du striatum

Résistance d'entrée (R_i) : elle est calculée lors de l'injection d'un faible courant hyperpolarisant (-10/-20 pA) pendant 500 ms. Lors des expériences d'induction de plasticité à long-terme, la R_i est estimée 500 ms après chaque EPSC évoqué à 0.1 Hz, grâce à un saut hyperpolarisant de -5 mV et d'une durée de 100 ms.

Caractéristiques du potentiel d'action : elles ont été mesurées sur les premiers PA évoqués par des dépolarisations induites par un courant injecté de +30 pA au-delà du seuil de déclenchement d'un PA (Figure 3). L'amplitude du PA est mesurée entre le seuil d'activation et l'amplitude maximale du pic; sa durée est mesurée entre le déclenchement au niveau du seuil et le point équipotentiel observé pendant la phase de repolarisation. La durée et l'amplitude de la phase hyperpolarisante (f-AHP) de la post-hyperpolarisation ont été mesurées entre le point équipotentiel de la phase de repolarisation du potentiel d'action et l'amplitude maximale de la post-hyperpolarisation. La durée et l'amplitude de la phase de repolarisation (s-AHP) de la

post-hyperpolarisation ont été mesurées entre l'amplitude maximale de la post-hyperpolarisation et le retour au potentiel de base (celui-ci étant le seuil d'activation du PA suivant).

5.2. Mesures des changements d'efficacité synaptique

Pour mesurer l'amplitude des plasticités synaptiques à long-terme, nous avons comparé la moyenne des amplitudes des EPSC enregistrés une heure après le protocole de conditionnement cellulaire à celle des amplitudes des EPSCs évoqués en contrôle. 60 EPSCs « contrôles » sont évoqués par des stimulations corticales à 0.1 Hz avant l'application du protocole de conditionnement cellulaire ; la moyenne des amplitudes de ces EPSC constitue l'amplitude dite « contrôle ». 60 minutes après le protocole de conditionnement cellulaire, les amplitudes de 25 EPSCs sont mesurées. Chaque EPSC est normalisé par rapport à la moyenne en contrôle et la moyenne des 25 EPSCs normalisés donne la valeur des changements d'efficacité synaptique induits. Ces changements d'efficacité synaptique sont considérés comme étant une LTP ou une LTD si cette valeur est significativement différente de la ligne de base.

Pour l'ensemble des protocoles, la HFS, la LFS, la STDP ou la SDDP, les protocoles de conditionnements cellulaires sont enregistrés et toute défaillance dans la réalisation des protocoles conduit au rejet de l'expérience.

6. Dosage de la dopamine sur des « punches » de tranches de cerveaux

Le dosage de dopamine a été fait à partir de « punches » de striatum (des disques de 0.9 mm de diamètre et de 330 μ m d'épaisseur) prélevés à partir de tranches de cerveau identiques à celles utilisées pour les expériences d'électrophysiologie. Ces échantillons de tissu sont stockés à -80°C dans une solution d'acide perchlorique (0.1 M) et de sodium métabisulfite 5%. Juste avant le dosage, ils sont ensuite soniqués, centrifugés et les surnageants sont récupérés. La détection et le dosage de la dopamine sont assurés par un système de chromatographie liquide sous haute pression (HPLC). La phase stationnaire est

constituée par une colonne de silice (type HR 80, 80 × 4.6 mm, granulométrie = 3 µm ; ESA, Chelmsford, MA, USA). Les molécules retenues par la phase fixe sont éluées par une phase mobile (NaH₂PO₄ 0.1 M, EDTA 0.1 mM, octane sulfate 3.8 mM, triéthylamine 0.25 mM, méthanol 10 %, pH = 2,9) en fonction de leur degré d'hydrophobicité et leur polarité. La circulation de la phase mobile à travers la colonne est assurée par une pompe ESA-580 à un débit de 0,7 ml/min. Les échantillons sont complétés avec 10 µl de la phase mobile et 25 µl sont injectés dans la colonne toutes les 30 minutes. La détection électrochimique est assurée par un détecteur coulométrique (Coulochem II 5100A équipé d'une cellule électrique de type 5014B ; ESA). Une première électrode est fixée à - 0.175 mV et l'électrode de détection est maintenue à + 0,175 mV ce qui permet d'obtenir un bon rapport signal sur bruit pour la mesure du courant d'oxydation de la dopamine. Des solutions standards sont injectées avant chaque expérience pour vérifier que la sensibilité de l'appareil est stable (0,3-0.4 pg).

7. Histologie

Marquage des neurones à la biocytine

La biocytine est dissoute dans la solution intracellulaire, à la concentration de 5 mg/ml. Le neurone est enregistré pendant au moins 15 min pour permettre la diffusion suffisante de la biocytine de la pipette de patch-clamp vers le cytoplasme. Après l'enregistrement, la tranche de cerveau est ensuite incubée pendant environ 45 min dans la solution extra-cellulaire à température ambiante pour permettre la diffusion de la biocytine jusque dans les dendrites (par un mécanisme actif de transport rétrograde). La totalité du temps de diffusion (enregistrement et incubation ultérieure) ne dépasse pas 1h30, pour éviter la dégradation de la biocytine. Les tranches sont ensuite fixées au paraformaldéhyde 2% pendant 12h à 4°C. La biocytine est révélée à l'aide du kit ABC Elite peroxydase (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), par incubation d'1h30 à température ambiante avec l'avidine (ligand à très haute affinité de la biocytine) conjuguée à l'enzyme horseradish peroxydase, puis 7 à 8 min en présence de 3-3-diaminobenzidine (DAB), substrat chromogène de la peroxydase en présence d'eau oxygénée.

RESULTATS

RESULTATS- Introduction générale

En tant que porte d'entrée des GB, le striatum a pour rôle de détecter et d'intégrer les informations pertinentes de l'environnement. Il reçoit des informations de l'ensemble du cortex cérébral et relaie ces informations vers les structures de sortie des GB afin de mettre en place un comportement adapté aux stimuli environnementaux (Graybiel et al., 1994 ; Wilson, 1995). Le rôle du striatum dans l'apprentissage procédural (Graybiel, 1995 ; 2005 ; Yin et Knowlton, 2006) souligne l'importance fonctionnelle de la plasticité synaptique au niveau de la voie cortico-striatale. De plus, l'activité du réseau cortico-striatal est efficacement modulée par les afférences dopaminergiques de la SNc (Nicola et al., 2000). En effet, la dopamine influence l'activité des neurones striataux et module donc le transfert des informations cortico-striatales.

Le projet initial de cette thèse était d'étudier la régulation par les afférences dopaminergiques des phénomènes de plasticité synaptique à long-terme au niveau des synapses cortico-striatales.

Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer les effets de la régulation dopaminergique sur les différents types neuronaux du striatum. Nous avons choisi d'étudier les effets d'une déplétion aiguë de dopamine et pour l'induire, nous avons utilisé l'alpha-methyl-para-tyrosine, un inhibiteur de la synthèse de dopamine, dont l'efficacité pour diminuer les taux de dopamine striatale avait été démontrée (Besson et al., 1969 ; Watanabe et al., 2005). Nous avons analysé les effets de cette déplétion de dopamine sur les propriétés membranaires passives et actives des NETM et des interneurones GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase (Article 1).

Nous avons voulu ensuite aborder l'effet de la régulation dopaminergique sur la transmission et la plasticité au niveau de la voie cortico-striatale. En effet, la littérature abondante concernant ce sujet ne dégagait pas de consensus clair quant aux effets de la dopamine et les résultats étaient relativement divers, voire contradictoires. Nous nous sommes alors aperçus que cela était probablement dû au fait que, même dans des conditions normales, c'est-à-dire sans perturber le système dopaminergique, les études concernant la plasticité cortico-striatale étaient déjà contradictoires. Cela était probablement dû à des différences dans les préparations

et les conditions expérimentales. Par exemple, *in vitro* les stimulations des afférences corticales étaient effectuées soit dans le corps calleux, soit directement dans le striatum. Ce type de stimulations pourrait recruter de nombreuses autres afférences modulatrices qui peuvent influencer les formes de plasticité induites. D'autre part, dans toutes les études, une seule forme de plasticité à long-terme était induite et jamais les deux dans les mêmes conditions expérimentales, quel que soit le protocole de stimulation utilisé. Pourtant, l'observation d'une seule forme de plasticité n'est pas cohérente avec l'homéostasie synaptique. Cette homéostasie est primordiale, notamment dans les processus d'apprentissage.

Par conséquent, nous avons décidé de revoir quelque peu le projet initial et de commencer par étudier la plasticité cortico-striatale dans des conditions contrôlées, c'est-à-dire sans faire varier les concentrations en dopamine. Il nous est tout d'abord apparu indispensable d'obtenir une préparation dans laquelle il était possible de stimuler spécifiquement les afférences cortico-striatales directement dans le cortex et ainsi avoir un modèle de « vraie » tranche cortico-striatale. Grâce à des injections de neurobiotine *in vivo*, il a été possible de déterminer l'orientation des projections cortico-striatales provenant du cortex somato-sensoriel. Ces projections se font dans un plan horizontal et traversent orthogonalement le corps calleux pour aller contacter les cellules striatales. Nous avons pu, dans des tranches horizontales de cerveau de rat, stimuler spécifiquement les cellules de la couche V du cortex somato-sensoriel et enregistrer les réponses électrophysiologiques induites dans le striatum adjacent.

Grâce à ce modèle, nous avons étudié la plasticité cortico-striatale à long-terme en fonction de la fréquence d'activation du cortex et la coïncidence d'activité entre le cortex et le striatum. Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux neurones de sortie du striatum, les NETM (Article 2). Nous avons opté tout d'abord pour des protocoles de conditionnement cellulaire qui sont classiquement utilisés dans les études de la plasticité synaptique à long-terme. Nous avons utilisé des protocoles qui consistent à stimuler les afférences corticales à haute ou à basse fréquence et permettent de mettre en évidence l'occurrence de la LTP ou la LTD. Néanmoins ces protocoles sont massifs puisqu'ils impliquent un grand nombre de stimulations des afférences corticales ou des fréquences d'activation très élevées. Nous avons donc voulu aller plus loin et chercher des protocoles un peu plus physiologiques. Il avait été décrit que la relation temporelle entre l'activité d'un neurone pré-synaptique et un neurone post-synaptique est déterminante dans les

changements d'efficacité synaptique à long-terme qui peuvent se développer entre ces deux neurones, cette forme de plasticité étant la STDP (Dan et Poo, 2004 ; 2006). Nous avons alors testé au niveau des synapses cortico-striatales l'effet de la relation temporelle entre l'activité corticale et l'activité striatale sur l'induction de la plasticité à long-terme (Article 2).

D'autre part, outre les NETM, population neuronale majoritaire, le striatum est composé d'interneurones qui ont un rôle déterminant dans la modulation de l'activité des NETM et donc dans le transfert des informations cortico-striatales. En effet, les interneurones GABAergiques ont un poids inhibiteur important sur les NETM, ainsi que les interneurones à NO-synthase, dans une moindre mesure (Tepper et al., 2004). Les interneurones cholinergiques, quant à eux, relaient les informations liées à la récompense dans le striatum (Apicella, 2002). Malgré leur importance fonctionnelle au sein du réseau striatal, la transmission cortico-striatale au niveau des interneurones striataux a peu été explorée. De plus, leur capacité à développer de la plasticité synaptique à long-terme était inconnue pour les interneurones GABAergiques et à NO-synthase et abordée avec des protocoles de HFS pour les interneurones cholinergiques (Suzuki et al., 2001 ; Bonsi et al., 2004). Dans le même modèle de tranche cortico-striatale, nous avons étudié la transmission corticale au niveau de chaque type d'interneurone striatal et, grâce à des protocoles de STDP, étudier quelles formes de plasticité synaptique ils étaient capables de développer et quelles conditions d'activité du cortex et du striatum étaient requises pour les induire (Article 3).

Enfin, les NETM possèdent des propriétés membranaires particulières (Calabresi et al., 1987 ; Nisenbaum et Wilson, 1995) qui impliquent qu'une activité corticale de forte amplitude et corrélée dans le temps est nécessaire pour induire leur décharge. Ce mode de fonctionnement particulier de la voie cortico-striatale implique que la majorité des entrées corticales ne va pas donner lieu à un PA mais à des dépolarisations sous-liminales. Etant donné la forte occurrence de ces événements synaptiques sous-liminales, nous avons voulu étudier s'ils étaient perdus ou s'ils pouvaient être pris en compte dans le codage à long-terme (Article 4).

1. Effets d'une déplétion aiguë de dopamine sur les propriétés électrophysiologiques des neurones du striatum

“Effects of acute dopamine depletion on the electrophysiological properties of striatal neurons”

Elodie Fino, Jacques Glowinski and Laurent Venance

Neuroscience Research, July, 2007, 58(3): 305-16

&

Résumé et discussion



Effects of acute dopamine depletion on the electrophysiological properties of striatal neurons

Elodie Fino^a, Jacques Glowinski^b, Laurent Venance^{a,*}

^a*Dynamique et Physio-pathologie des Réseaux Neuronaux, INSERM U667, Collège de France, 75231 Paris Cedex 05, France*

^b*Neurobiologie Pharmacologique, INSERM U114, Collège de France, 11 Place Marcelin Berthelot, 75005 Paris, France*

Received 5 December 2006; accepted 4 April 2007

Available online 7 April 2007

Abstract

The striatum, the main input nucleus of basal ganglia, receives a massive innervation from the entire cerebral cortex and is in charge of the detection of behaviorally relevant signals. In turn, via its projections to the output nuclei of basal ganglia, the striatum contributes to the organization of appropriate compartmental responses. Substantia nigra *pars compacta* dopaminergic neurons project predominantly to the striatum and regulate striatal functions. Implications of dopaminergic receptors on the physiology of striatal neurons are now well documented. By contrast, the effects of acute dopamine depletion on striatal neurons remain poorly explored. Here, the α -methyl-*para*-tyrosine was used to deplete dopamine from rat brain slices. We analyzed the consequences of a α -methyl-*para*-tyrosine treatment on membrane properties of striatal neurons: the medium-sized spiny neurons and the interneurons (GABAergic, cholinergic and NO-synthase). After acute dopamine depletion, medium-sized spiny neurons became more excitable. GABAergic interneurons became less excitable whereas cholinergic cells displayed an increased excitability. NO-synthase-containing interneurons did not show noticeable changes in their excitability. Such membrane properties changes indicate that striatal circuits should undergo major alteration in cortico-basal ganglia information processing.

© 2007 Elsevier Ireland Ltd and the Japan Neuroscience Society. All rights reserved.

Keywords: Striatum; Medium-sized spiny neurons; Striatal interneurons; α -Methyl-*para*-tyrosine; Membrane properties; Firing properties; Dopamine depletion

1. Introduction

Basal ganglia, an ensemble of sub-cortical nuclei, are involved in the control of movement and cognitive functions (Haber, 2003). The striatum, the main input nucleus of basal ganglia, receives a massive convergent glutamatergic innervation from the cerebral cortex. The striatum operates a contextual selection of behaviorally relevant cortical informations (Graybiel et al., 1994; Wilson, 1995).

In addition to glutamatergic cortical inputs, the striatum is densely innervated by substantia nigra *pars compacta* dopaminergic neurons. Due to the expression of dopaminergic receptors on corticostriatal afferents and striatal neurons, both striatal inputs and outputs are tightly regulated by dopamine (Calabresi et al., 2000; Nicola et al., 2000; Onn et al., 2000; Bamford et al., 2004a,b). The control of dopamine on striatal

physiology is highlighted by Parkinson's disease, in which the loss of dopaminergic nigrostriatal neurons induces severe motor and cognitive disorders. It is thus fundamental to analyze the effects of a dopamine deficit on the membrane properties and firing pattern of striatal neurons.

Two main neuronal classes compose the striatum: the medium-sized spiny neurons (MSNs) and the interneurons composed of GABAergic (fast-spiking cells, FS), cholinergic (long-lasting afterhyperpolarization cells, LA) and, NO-synthase-containing (persistent and low-threshold spike cells, PLTS) cells (Kawaguchi et al., 1995). MSNs represent 90–95% of the striatal neurons and act as detectors and integrators of distributed patterns of cortical inputs (Graybiel et al., 1994; Wilson, 1995). Indeed, to fire MSNs need to receive a convergence of strong cortical inputs in a narrow time window. In addition to MSNs membrane properties, the striatal processing of cortical information may be influenced by interneurons (Koos and Tepper, 1999). Indeed, interneurons regulate the excitability of MSNs via series of local circuits. GABAergic interneurons contribute to the funneling of the

* Corresponding author. Tel.: +33 144 27 12 26; fax: +33 144 27 12 60.

E-mail address: laurent.venance@college-de-france.fr (L. Venance).

cortico-striatal information and cholinergic interneurons are involved in the reward information processing.

The biochemical and electrophysiological effects induced by exogenous dopamine, synthetic agonists or antagonists of different dopaminergic receptors on striatal neurons are now well documented (Aosaki et al., 1998; Hernández-López et al., 1997, 2000; Calabresi et al., 2000; Nicola et al., 2000; Pisani et al., 2000; Suzuki et al., 2001; Bracci et al., 2002; Yasumoto et al., 2002; Centonze et al., 2003). Concerning MSNs, dopamine has been reported to have differential complex actions that cannot be simply classified as excitatory or inhibitory (Surmeier et al., 1996; Calabresi et al., 2000; Sealfon and Olanow, 2000). In fact, both effects appear to co-exist at the level of MSNs. By contrast, the effects resulting from acute dopamine depletion on membrane properties of MSNs and striatal interneurons remain poorly documented.

Here, using patch-clamp recordings, we investigated the changes of the membrane properties of striatal neuronal subpopulations induced by acute depletion of dopamine by applying a tyrosine hydroxylase (a dopamine synthesis enzyme) inhibitor: the α -methyl-*para*-tyrosine (α MPT) (Besson et al., 1969; Groppetti et al., 1977; Watanabe et al., 2005). α MPT treatment inhibits the newly synthesized dopamine and therefore totally emptied the functional dopamine pool. In slice preparation, the only dopamine pool spontaneously releasable is the functional pool and not the storage pool. Accordingly, α MPT constitutes a pharmacological approach to induce acute deficit of the functional dopamine in slice preparations.

2. Materials and methods

2.1. *In vitro* slice preparation

Sagittal brain slices were prepared from Wistar rats of both sexes (postnatal days 13–18). Animals were killed by decapitation, in accordance with local Ethical Committee and EU guidelines (directive 86/609/EEC). Brain slices (330 μ m thick), cut with a vibrating microslicer (Leica VT1000S, Nussloch, Germany), were incubated 45 min at 32 °C, in an extracellular solution containing (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 25 glucose, 25 NaHCO₃, 1.25 NaH₂PO₄, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂ and 1 pyruvic acid bubbled with 95% O₂ and 5% CO₂ before electrophysiological recordings.

2.2. Electrophysiological recordings

Whole-cell recordings were made, as previously described (Venace et al., 2004; Fino et al., 2005), using borosilicate glass pipettes of 10–15 M Ω resistance containing (mM): 105 potassium gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 10 phosphocreatine, 4 ATP-Mg, 0.3 GTP-Tris and 0.3 EGTA (adjusted to pH 7.4 with KOH). Slices were placed in the recording chamber under an upright microscope (BX51WI, Olympus, Rungis, France) fitted with 5 \times /0.10 numerical aperture and 40 \times W/IR/0.80 objectives. Whole-cell recordings were performed at 32 °C using a temperature control system (Bioptechs DTC3, Butler, PA, USA) and slices were continuously superfused at 2–3 ml/min with the extracellular solution (with 10 μ M pyruvic acid). Signals were amplified using an EPC10 amplifier (HEKA Elektronik, Lambrecht, Germany). Current-clamp recordings were filtered at 2.5 kHz and sampled at 5 kHz and voltage-clamp recordings were filtered at 5 kHz and sampled at 10 kHz using the program Pulse-8.50 (HEKA Elektronik). Acquired data were analyzed with Igor (Wave-metrics, Lake Oswego, OR, USA). The sweep interval between each current step was of 4–7 s.

2.3. Dopamine and protein levels estimation

2.3.1. Dopamine levels estimation

Micro-discs (diameter 0.9 mm) of striatum slices (330 μ m thick) were taken and then stored at 80 °C in 100 μ l of a mix of perchloric acid 0.1 N and sodium metabisulfite 5%. Before HPLC analysis, samples were sonicated, centrifuged and supernatants were taken for HPLC processing. Samples (dilution 1/80, 25 μ l) were injected through a rheodyne valve in the mobile phase circuit. HPLC was performed with a reverse-phase column (80 mm \times 4.6 mm; 3 μ m particle size; HR-80; ESA, Chelmsford, MA). Mobile phase (NaH₂PO₄ 75 mM, EDTA 20 μ M, octane sulfonic acid 2.75 mM, triethylamine 0.7 mM, acetonitrile 6%, and methanol 6%, pH 7.2) was delivered at 0.7 ml/min by an ESA-580 pump. Electrochemical detection was performed with an ESA coulometric detector (Coulchem II 5100A; with a 5014B analytical cell; Eurosep, Cergy, France). The conditioning electrode was set at 0.175 V, and the detecting electrode was set at +0.175 V, allowing a good signal-to-noise ratio of the dopamine oxidation current. External standards were regularly injected to determine the stability of the sensitivity (0.3–0.4 pg of dopamine).

2.3.2. Protein levels estimation

Protein levels were estimated with the bicinchoninic acid method, from similar punches and rat brain slices used for dopamine assay and electrophysiological experiments.

From each brain, one hemisphere was used for control experiments and the other one for α MPT (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin, France) treatments. Striatal punches (0.9 mm diameter) were equally processed for protein and dopamine levels estimation.

2.4. Data analysis

All results are expressed as mean \pm S.E.M. and statistical significance was assessed using the Student's *t*-test when appropriate or the non-parametric Mann-Whitney test at the significance level (*p*) indicated. When specified, Fisher's exact test was used. Input resistance (R_i) was calculated from voltage responses obtained after injecting a hyperpolarizing current (10–20 pA; 500 ms duration). Instantaneous firing frequency was calculated as the reciprocal of the interspike interval. The spike frequency adaptation (SFA) was calculated using the formula: adaptation ratio = $F_{\text{final}}/F_{\text{initial}}$, where F_{initial} is the initial spike frequency (1/first interspike) and F_{final} is the average frequency calculated from the two last interspike intervals. A neuron exhibiting no SFA ($F_{\text{init}} = F_{\text{final}}$) would have an adaptation ratio of one. Since an unambiguous adaptation was observed for cells exhibiting a SFA ratio above 1.5, this value was arbitrarily chosen to distinguish non-adapting and adapting cells (Venace and Glowinski, 2003). For each neuron, the adaptation ratio was estimated by applying four repeated depolarizing steps of equal duration (500 ms). Inward rectification ratio was estimated by the ratio between voltage responses to 90 and 20 pA hyperpolarizing pulses. In addition to the action potential (AP) threshold value, to take into account the fluctuating value of the resting membrane potential (RMP) among neurons, we estimated the $\Delta V|_{\text{RMP-AP threshold}}$. It should be noted that $\Delta V|_{\text{RMP-AP threshold}}$ values did not display significant difference when compared to AP threshold values (Tables 1 and 2). Data of each parameter presented in Tables 1 and 2 correspond to two measurements per neuron.

3. Results

3.1. Kinetic of dopamine depletion after α -methyl-*para*-tyrosine treatment

Time course of α MPT (100 μ M)-induced dopamine depletion was evaluated in our rat brain slice preparation using HPLC quantification. For this purpose, the tissue contents of dopamine and proteins were simultaneously measured in brain slices from 15 min to 4 h (Fig. 1). First of all, we have estimated the tissue content of dopamine in control conditions: it was constant and did not display significant variation along

Table 1
Passive and active membrane properties of MSNs in control condition and after α MPT treatment

	Control condition			α -methyl- <i>para</i> -tyrosine condition			Statistics				
	MSNs (n = 64), a	Regular spiking MSNs (n = 54), b	Adapting MSNs (n = 10), c	MSNs (n = 45), d	Regular spiking MSNs (n = 38), e	Adapting MSNs (n = 7), f	a vs. d	b vs. e	c vs. f	b vs. c	e vs. f
Passive membrane properties											
RMP, mV	75.4 ± 0.7	75.3 ± 0.7	73.0 ± 1.5	77.6 ± 0.8	77.4 ± 1.0	78.6 ± 2.2	<0.05	ns	<0.05	ns	ns
Ri, M Ω	251 ± 11	235 ± 9	363 ± 52	333 ± 17	333 ± 23	333 ± 45	<0.001	<0.001	ns	<0.001	ns
Inward rectification ratio	–	0.27 ± 0.01	0.32 ± 0.04	–	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.01	–	ns	ns	ns	ns
Action potentials properties											
AP threshold, mV	38.0 ± 0.8	37.7 ± 0.8	45.4 ± 1.2	32.7 ± 1.0	33.7 ± 1.0	34.2 ± 1.4	<0.001	<0.01	<0.001	<0.001	ns
ΔV [RMP-AP threshold], mV	37.4 ± 0.9	37.7 ± 0.8	27.6 ± 0.5	44.9 ± 1.0	44.9 ± 1.1	44.5 ± 1.7	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	ns
Rheobase, pA	155 ± 6	165 ± 7	88 ± 16	131 ± 6	139 ± 6	94 ± 12	<0.01	<0.01	ns	<0.001	<0.01
Delay to first spike, ms	384 ± 6	390 ± 5	219 ± 18	402 ± 5	418 ± 5	328 ± 13	<0.05	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
AP amplitude, mV	69.8 ± 1.0	70.0 ± 0.9	72.8 ± 0.9	62.2 ± 1.2	64.8 ± 1.3	53.3 ± 1.4	<0.001	<0.01	<0.001	ns	<0.001
AP duration, ms	3.7 ± 0.1	3.5 ± 0.1	5.5 ± 0.3	4.9 ± 0.2	4.6 ± 0.2	6.6 ± 0.5	<0.001	<0.001	ns	<0.001	<0.001
fAHP peak amplitude, mV	7.8 ± 0.2	7.6 ± 0.2	9.0 ± 0.4	7.8 ± 0.2	7.6 ± 0.2	8.8 ± 0.5	ns	ns	ns	<0.01	<0.05
fAHP time to peak, ms	19.2 ± 1.1	18.9 ± 1.2	29.0 ± 1.7	18.1 ± 1.1	15.6 ± 1.0	30.6 ± 2.9	ns	<0.05	ns	<0.001	<0.001
fAHP (dV/dt), mV ms ⁻¹	0.48 ± 0.02	0.50 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0.53 ± 0.03	0.57 ± 0.03	0.34 ± 0.03	ns	ns	ns	<0.05	<0.01
sAHP peak amplitude, mV	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.8 ± 0.3	3.4 ± 0.1	3.4 ± 0.1	3.2 ± 0.3	ns	ns	ns	ns	ns
sAHP duration, ms	40.0 ± 1.3	40.3 ± 1.3	50.8 ± 4.4	35.6 ± 1.6	31.9 ± 1.6	53.4 ± 4.7	<0.05	<0.001	ns	<0.01	<0.001
sAHP (dV/dt), mV ms ⁻¹	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.06 ± 0.01	<0.001	<0.001	ns	<0.05	ns
AP rise (dV/dt), mV ms ⁻¹	91.6 ± 4.1	92.5 ± 4.3	99.8 ± 16.4	73.4 ± 4.8	79.2 ± 5.6	45.2 ± 7.9	<0.01	ns	<0.05	ns	<0.05
AP decay (dV/dt), mV ms ⁻¹	29.8 ± 1.3	31.2 ± 1.3	17.2 ± 1.4	20.0 ± 0.8	21.6 ± 0.9	12.7 ± 1.3	<0.001	<0.001	<0.05	<0.001	ns
Ratio rise/decay	3.37 ± 0.17	3.27 ± 0.19	5.73 ± 0.73	3.80 ± 0.21	3.87 ± 0.26	3.46 ± 0.31	ns	ns	<0.05	<0.001	ns
Action potentials trains											
Initial firing rate, Hz	12.2 ± 0.3	12.2 ± 0.3	12.3 ± 1.4	13.7 ± 0.5	13.7 ± 0.5	14.1 ± 1.7	<0.01	<0.01	ns	ns	ns
Final firing rate, Hz	12.0 ± 0.4	12.2 ± 0.4	7.3 ± 0.4	12.7 ± 0.4	13.7 ± 0.4	7.4 ± 0.5	ns	<0.05	ns	<0.001	<0.001
SFA ratio	1.09 ± 0.04	1.06 ± 0.04	1.65 ± 0.13	1.15 ± 0.04	1.01 ± 0.03	1.87 ± 0.14	ns	ns	ns	<0.001	<0.001

The AP characteristics have been measured when injecting a current of 30 pA above AP threshold. $p < 0.001$, extremely significant; $p < 0.01$, very significant; $p < 0.05$, significant; ns, not significant.

E. Fina et al. / Neuroscience Research 58 (2007) 305–316

307

Table 2
Passive and active membrane properties of striatal interneurons (FS, LA and PLTS interneurons) in control condition and after α MPT treatment

	FS interneurons			LA interneurons			PLTS interneurons		
	Control (n=16) a	α MPT (n=13) b	a vs. b	Control (n=20) c	α MPT (n=17) d	c vs. d	Control (n=21) e	α MPT (n=21) f	e vs. f
Passive membrane properties									
RMP, mV	73.2 ± 0.8	74.5 ± 0.7	ns	66.2 ± 0.8	63.0 ± 0.4	<0.01	67.7 ± 1.1	67.0 ± 1.2	ns
Ri, M Ω	206 ± 8	157 ± 13	<0.01	398 ± 26	508 ± 30	<0.01	547 ± 77	568 ± 64	ns
Inward rectification ratio	0.25 ± 0.01	0.26 ± 0.01	ns	0.34 ± 0.02	0.37 ± 0.03	ns	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.05	ns
Action potentials properties									
AP threshold, mV	30.8 ± 1.1	34.7 ± 0.7	<0.01	42.1 ± 0.3	45.0 ± 0.4	<0.001	38.5 ± 1.3	40.1 ± 1.1	ns
ΔV [RMP-AP threshold], mV	42.4 ± 1.3	39.8 ± 0.8	ns	24.1 ± 0.9	18.0 ± 0.6	<0.001	29.2 ± 1.7	26.9 ± 0.8	ns
Rheobase, pA	167 ± 10	232 ± 17	<0.01	47 ± 4	23 ± 1	<0.001	23.2 ± 2.4	33.2 ± 2.5	<0.01
Delay to first spike, ms	256 ± 18	333 ± 9	<0.01	284 ± 14	352 ± 12	<0.001	176 ± 28	338 ± 9	<0.001
AP amplitude, mV	47.4 ± 1.1	56.3 ± 1.7	<0.001	60.2 ± 1.0	69.0 ± 1.2	<0.001	56.4 ± 1.9	60.0 ± 1.5	ns
AP duration, ms	1.9 ± 0.1	1.3 ± 0.1	<0.001	5.2 ± 0.2	6.1 ± 0.3	<0.05	3.3 ± 0.3	5.4 ± 0.5	<0.001
fAHP peak amplitude, mV	8.4 ± 1.6	14.4 ± 0.5	<0.01	10.9 ± 0.3	9.9 ± 0.4	<0.05	11.9 ± 0.9	9.0 ± 0.6	<0.05
fAHP time to peak, ms	2.9 ± 0.2	3.7 ± 0.4	ns	28.3 ± 2.3	29.6 ± 1.8	ns	12.8 ± 1.4	18.1 ± 2.3	ns
fAHP (dV/dt), mV ms ⁻¹	5.7 ± 0.6	5.1 ± 0.5	ns	0.61 ± 0.07	0.46 ± 0.06	ns	2.00 ± 0.61	0.88 ± 0.15	ns
sAHP peak amplitude, mV	6.5 ± 1.1	10.0 ± 0.6	<0.05	5.7 ± 0.3	4.8 ± 0.3	<0.05	5.2 ± 0.6	4.5 ± 0.4	ns
sAHP duration, ms	28.3 ± 3.4	38.0 ± 2.6	<0.05	65.0 ± 3.0	55.0 ± 3.1	<0.05	33.3 ± 3.8	36.0 ± 2.3	ns
sAHP (dV/dt), mV ms ⁻¹	0.23 ± 0.06	0.29 ± 0.03	ns	0.12 ± 0.02	0.10 ± 0.01	ns	0.18 ± 0.02	0.13 ± 0.01	<0.05
AP rise (dV/dt), mV ms ⁻¹	58.1 ± 4.6	106.0 ± 5.3	<0.001	60.0 ± 4.0	75.7 ± 5.3	<0.05	55.7 ± 4.7	58.1 ± 4.4	ns
AP decay (dV/dt), mV ms ⁻¹	48.1 ± 4.0	88.9 ± 6.6	<0.001	15.2 ± 0.7	17.4 ± 1.4	ns	38.1 ± 5.3	18.0 ± 1.7	<0.001
Ratio rise/decay	1.40 ± 0.13	1.31 ± 0.10	ns	4.23 ± 0.32	5.27 ± 0.43	ns	1.75 ± 0.16	3.79 ± 0.37	<0.001
Action potentials trains									
Initial firing rate, Hz	33.4 ± 2.2	22.4 ± 2.0	<0.01	9.6 ± 0.5	10.9 ± 0.8	ns	51.1 ± 8.4	53.5 ± 4.8	ns
Final firing rate, Hz	21.2 ± 1.8	15.6 ± 1.4	<0.05	7.9 ± 0.3	8.4 ± 0.4	ns	13.0 ± 0.9	11.8 ± 0.7	ns
SFA ratio	2.08 ± 0.27	1.52 ± 0.10	ns	1.23 ± 0.06	1.32 ± 0.08	ns	4.33 ± 0.73	4.86 ± 0.46	ns

The AP characteristics have been measured when injecting a current of 30 pA above AP threshold. $p < 0.001$, extremely significant; $p < 0.01$, very significant; $p < 0.05$, significant; ns, not significant.

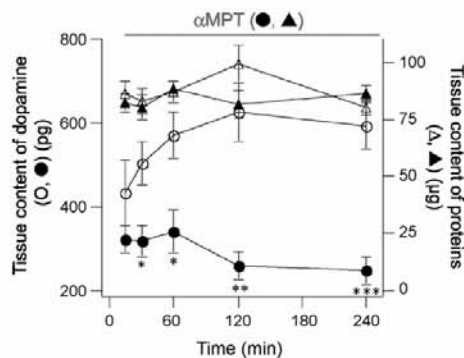


Fig. 1. Time course of the tissue content of dopamine decrease induced by αMPT (HPLC quantification). The tissue content of dopamine in control rat brain slices remains stable since there was no significant variation all along the 4 h time course investigated (○, *n* = 50 brain slices, *n* = 5 rats). The tissue content of proteins (△) remained stable in control (*n* = 60 brain slices, *n* = 6 rats) (non-significant variation). When αMPT was added in the external solution, the tissue content of dopamine (●) displayed a large decrease, significant from 30 min and finally reached a decrease of $-57 \pm 6\%$ after 4 h of treatment (*n* = 50 slices, *n* = 5 rats). During αMPT treatment, no significant variation of the tissue content of proteins was observed (▲, *n* = 60 brain slices, *n* = 6 rats). *: *p* < 0.05, **: *p* < 0.01, ***: *p* < 0.001.

the time course investigated (*n* = 50 brain slices, *n* = 5 rats). The tissue content of proteins did not show any significant variation in control (*n* = 60 brain slices, *n* = 6 rats) as well as in αMPT (*n* = 60 brain slices, *n* = 6 rats) for the different incubation times. αMPT acute treatment induces very efficient dopamine depletion. Indeed, following αMPT addition in the external solution (*n* = 50 brain slices, *n* = 5 rats), the tissue content of dopamine dropped down significantly from 30 min αMPT incubation time ($-32 \pm 12\%$) to reach a plateau after 2 h ($-56 \pm 8\%$ and $-57 \pm 6\%$ after 2 and 4 h, respectively) (Fig. 1). Consequently, electrophysiological recordings were performed after a minimal αMPT incubation time of 2 h.

Whole-cell patch-clamp recordings (at 32 °C) were performed on 236 neurons from the dorsal striatum from P13 to P18 rat brains. Each striatal neuronal subpopulation, MSNs (*n* = 117), FS (GABAergic interneurons) (*n* = 32), LA (cholinergic interneurons) (*n* = 41) and PLTS (NO-synthase-containing interneurons) (*n* = 46) cells, was distinguished based on electrophysiological properties (Tables 1 and 2) (Kawaguchi et al., 1995).

3.2. Medium-sized spiny neurons

MSNs were identified by a very hyperpolarized RMP (-75.4 ± 0.7 mV, *n* = 64), a low Ri (251 ± 11 MΩ), a fast inward rectification, and a characteristic long depolarizing ramp to spike threshold (Fig. 2 and Table 1).

MSNs can be classified into two functional groups on the basis of their SFA ratio (Venance and Glowinski, 2003). Analysis of the evoked spiking activity (*n* = 64 cells) in control condition revealed that MSNs displayed a wide range of SFA ratio (from 0.62 to 2.74) (Fig. 2) and the histogram of SFA ratios distribution does not indicate a homogeneous population

(Fig. 2C). Accordingly, MSNs were classified as regular spiking (84% of the MSNs, SFA ratio = 1.06 ± 0.04) and 16% as adapting neurons (SFA ratio = 1.65 ± 0.13) (Fig. 2A and B).

In αMPT condition among recorded MSNs (*n* = 45 cells), ratio of regular spiking and adapting neurons were similar (84% and 16%, respectively) to those found in control condition (Table 1 and Fig. 2). SFA ratio of non-adapting and adapting MSNs estimated in control or αMPT conditions did not show significant difference.

A main consequence of acute dopamine depletion on regular spiking MSNs (*n* = 38 cells) was an increased excitability as evidenced by the significant decrease of the rheobase (-16% compared to control condition) (Table 1). Such a decrease of the rheobase is likely explained by a large increase of the Ri ($+45\%$) that counteracts efficiently the increase of the AP threshold ($+11\%$). Altogether, the decrease of the rheobase and the significant increase of the initial spiking frequency in response to depolarizing current injection support the conclusion that, in αMPT condition, regular spiking MSNs were more excitable. Concerning the adapting MSNs (*n* = 7 cells), despite some variations of their passive and active membrane properties, their excitability did not change significantly (Table 1).

In addition, we investigated the effect of acute dopamine depletion along time in the same neuron: the membrane properties of the MSN were recorded before αMPT application and for 1 h of αMPT treatment (*n* = 8). Membrane properties changes were similar to those reported in Table 1 and rheobase variations (-22% for regular spiking and -4% for adapting MSNs) illustrate the increased excitability of regular spiking MSNs (*n* = 5) (Fig. 2D) while adapting MSNs excitability was unaffected (*n* = 3) (Fig. 2E).

In conclusion, when dopamine is strongly reduced, MSNs displayed either no noticeable change in their excitability (adapting MSNs) or an increased excitability (regular spiking MSNs).

3.3. Shaping of the evolution of MSN spiking pattern

To better understand the mechanisms underlying the different spiking patterns observed after acute dopamine depletion, the evolutions of the AP threshold, the fAHP (fAHP amplitude, duration and decay) and the sAHP (sAHP duration and rise) were further analyzed during firing discharges (evoked by 30–40 pA injected current above AP threshold) in representative regular spiking and adapting MSNs, in control as well as in αMPT (regular spiking: *n* = 11 and 11, and adapting: *n* = 10 and 7, respectively) (Fig. 3). Evaluations of these spike components during the course of the evoked discharge were analyzed as follows: values of AP thresholds, fAHP amplitudes, fAHP durations, fAHP decays, sAHP durations and sAHP rises of successive spikes were subtracted from those of the first spike.

3.3.1. Evolution of the AP threshold

In control, regular spiking MSNs did not show significant changes of their AP threshold, whereas adapting MSNs

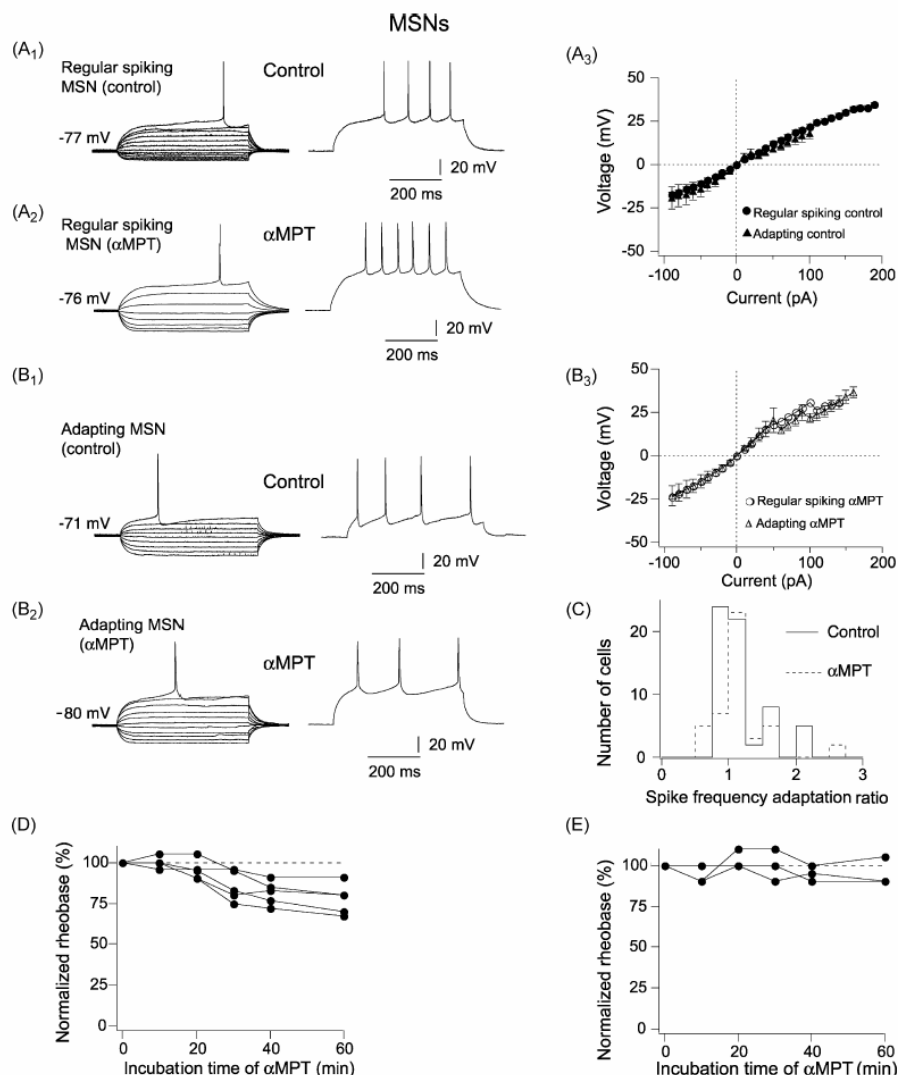


Fig. 2. Electrophysiological properties of MSNs recorded in control and α MPT conditions. (A) and (B) Recordings of membrane potential changes in response to current steps from -90 pA to AP threshold (with 20 pA increments) (left traces) and $+30$ pA above AP threshold (right traces). Note the long depolarizing ramp to the AP threshold. In control, two phenotypes were observed: the regular spiking (A₁) and the adapting (B₁) MSNs (SFA ratios were 0.8 and 1.8 , respectively). During dopamine depletion, regular spiking (A₂) and adapting (B₂) MSNs were observed with similar ratio (84 vs. 16%); SFA ratios were 1.0 and 1.5 , respectively. (A₃ and B₃) I–V relationships of regular spiking and adapting MSNs in control ($n = 54$ and 10 , respectively) and in α MPT ($n = 38$ and 7 , respectively). Note that regular spiking MSNs in α MPT displayed a lower rheobase denoting a higher excitability. (C) Distribution histograms of SFA ratio are indicative of similar ratios of regular vs. adapting MSNs in control ($n = 64$ neurons, continuous line) as well in α MPT ($n = 45$ neurons, dashed line). (D and E) Evolution of the rheobase of regular spiking (D) and adapting MSNs (E). Each line represents one MSN recorded before and for 1 h of α MPT treatment. The averaged rheobase decrease was 22% ($n = 5$) for regular spiking MSNs at 60 min. No variation of the rheobase was observed for adapting MSNs (4% , $n = 3$).

displayed a significant marked increase in their AP threshold (Fig. 3B). Similar evolutions of the AP threshold of regular spiking and adapting MSNs were observed in α MPT. Nevertheless, dopamine depletion led to a significant increase of the AP threshold of the regular spiking MSN and a significant decrease of the AP threshold of the adapting neurons.

3.3.2. Evolution of the fAHP amplitude

In control, regular spiking MSNs did not show significant changes of their fAHP amplitude while adapting MSNs displayed a significant marked increase of their fAHP amplitude (Fig. 3C). In α MPT, similar evolutions of the fAHP amplitude of regular spiking and adapting MSNs were observed. In addition, dopamine depletion did not change

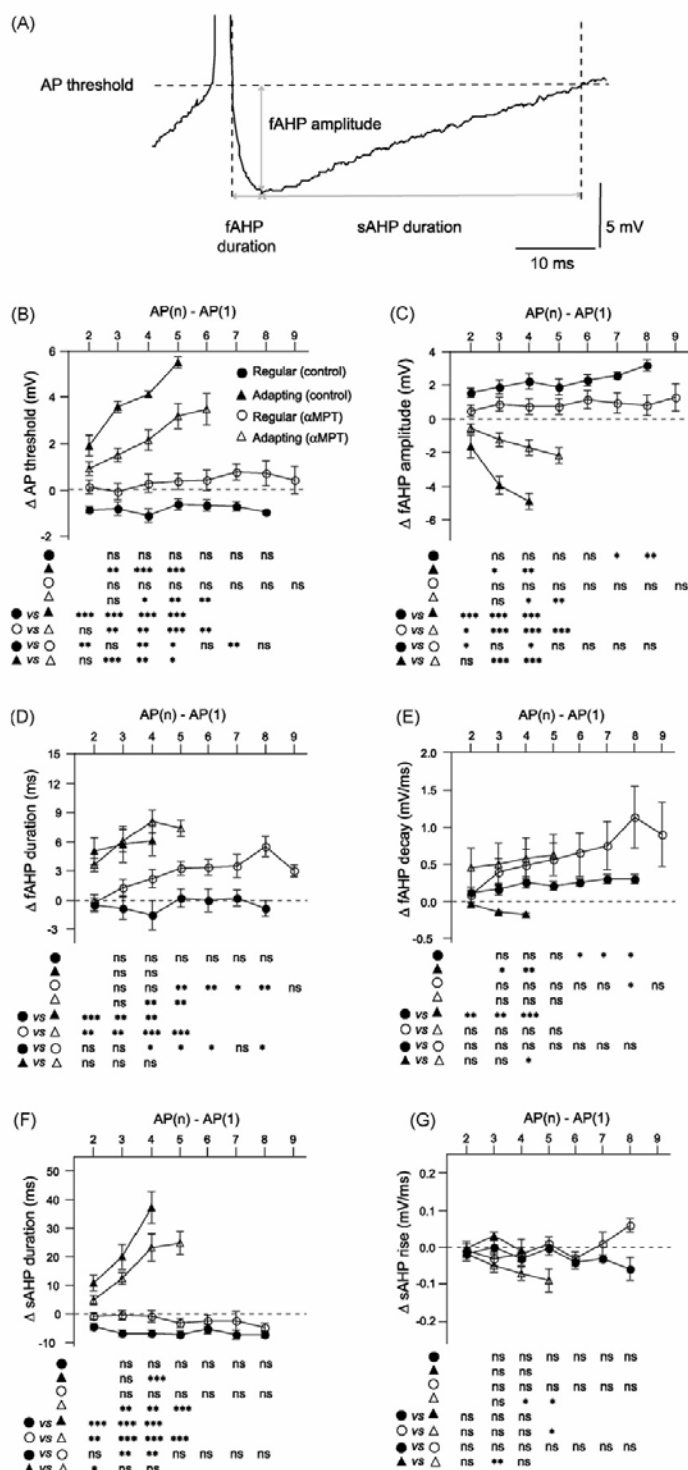


Fig. 3. Analysis of the evolution of AP characteristics during an evoked firing in MSNs, in control and αMPT conditions. (A) Voltage trace of a MSN AHP illustrating the measurement of the fast and slow components of the AHP. Evolutions of (B) AP thresholds, (C) the fAHP amplitude, (D) the fAHP duration, (E) the fAHP decay, (F) the sAHP duration, (G) the sAHP rise. Evolutions of AP threshold, fAHP (amplitude, duration and decay) and sAHP (duration and rise) were analyzed during a

significantly the fAHP amplitudes of regular spiking MSNs whereas it induced a significant decrease of the fAHP amplitudes of adapting neurons.

3.3.3. Evolution of the fAHP duration

In control, regular spiking and adapting MSNs did not display significant variations of their fAHP durations. In contrast, in α MPT, regular spiking and adapting MSNs displayed significant increases of their fAHP durations (Fig. 3D). In α MPT regular spiking MSNs displayed significant larger fAHP durations whereas no significant difference was found concerning adapting neurons.

3.3.4. Evolution of the fAHP decay

In control, regular spiking and adapting MSNs displayed, respectively, a significant decrease and increase of their fAHP decays (Fig. 3E). In α MPT, regular spiking and adapting MSNs did not show significant variation of their fAHP decays. Dopamine depletion did not induce significant variation of the fAHP decay of the regular spiking MSNs and the adapting neurons.

3.3.5. Evolution of the sAHP duration

In control, regular spiking MSNs showed no significant variation of their sAHP durations whereas the adapting MSNs displayed a marked increase of their sAHP durations (Fig. 3F). In α MPT, similar evolutions were observed for regular spiking and adapting MSNs. After dopamine depletion, regular spiking MSNs and adapting neurons did not show significant variation of successive sAHP durations.

3.3.6. Evolution of the sAHP rise

No significant difference were observed for each and between regular spiking and adapting MSNs in control and in α MPT conditions, when the successive sAHP rises were compared with the first one (Fig. 3G).

Altogether, these results indicate that dopamine depletion induced significant variations of the evolutions of AP thresholds and fAHP amplitudes between regular spiking and between adapting MSNs. In addition, the AP threshold, the fAHP amplitude and the sAHP duration are the parameters responsible for the SFA both in control and α MPT conditions.

3.4. FS interneurons

FS interneurons were identified on the basis of their very narrow AP (spike duration: 1.9 ± 0.1 ms) and their high frequency discharge in response to depolarizing current (frequency for 30 pA current injected above AP threshold: 33.4 ± 2.2 Hz) (Fig. 4 and Table 2). In addition, FS cells displayed a very hyperpolarized RMP (-73.2 ± 0.8 mV, $n = 16$).

The membrane properties of FS cells have been analyzed in control ($n = 16$ cells) and α MPT ($n = 13$ cells) conditions. After

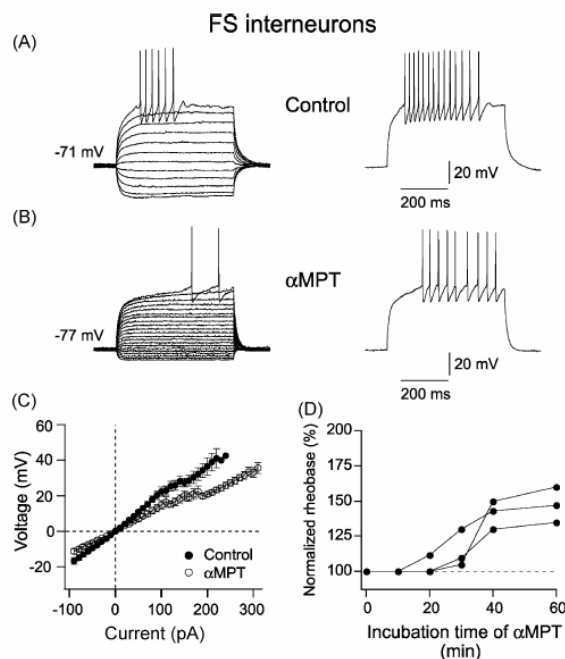


Fig. 4. Electrophysiological properties of FS interneurons recorded in control and α MPT conditions. (A and B) Recordings of membrane potential changes in response to current steps from 90 pA with 20 pA increments until AP threshold (left traces) and +30 pA above AP threshold (right traces), in control (A) and α MPT (B). Note the linear I/V relationship, the short duration spike, the brief AHP phase and the high firing frequency. In dopamine depletion, the rheobase was increased (130 vs. 310 pA, control vs. α MPT, in this example) and the firing frequency was significantly decreased (50 vs. 27 Hz, control vs. α MPT conditions, in this example). (C) $I-V$ curves in control ($n = 16$ FS cells) and α MPT ($n = 13$ FS cells) conditions displayed linear relationships and a significant decrease of excitability of FS cells in dopamine depletion since the AP thresholds were reached for higher depolarizing pulses. Significant variations of these relationships were obtained for hyperpolarizing pulses between -90 and -10 pA and for depolarizing pulses from +20 pA (due to the significant decrease of the R_i in α MPT when compared to control). (D) Evolution of the rheobase of FS interneurons. Each line represents one FS recorded before and for 1 h of α MPT treatment. The averaged rheobase increase was +47% ($n = 3$) at 60 min.

acute dopamine depletion, FS cells became globally less responsive to current injections (Fig. 4A and B and Table 2). First of all, a significant decrease (24%) of the R_i likely responsible of a large increase (+39%) of the rheobase, led to a decreased excitability. Accordingly, $I-V$ relationships indicated the need to inject higher positive currents under α MPT to reach membrane potentials changes similar to those induced in control (Fig. 4C). These strong variations in passive membrane parameters largely counteracted the slight, but significant, decrease in AP threshold (13%). In addition, after dopamine depletion, the delay to first spike was largely increased (+30%). The other striking changes in FS electrophysiological properties

train of spikes, evoked by 30–40 pA injected currents above AP threshold, in regular spiking and adapting MSNs in control [$n = 11$ (●) and 10 (▲) cells, respectively] and α MPT [$n = 11$ (○) and 7 (△) neurons, respectively]. Component values of successive spikes were subtracted from those of the first spike. ns, not significant, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$.

under α MPT were the shortening of spike duration (32%) and the slowing down of the firing rate (33% and 26% when initial and final firing rates were respectively considered; Table 2). This lower firing frequency appeared to be caused by a significant increase of the fAHP amplitude (+42%) as well as of the sAHP amplitude (+35%) and sAHP duration (+26%).

In addition, we investigated the effect of acute dopamine depletion along time in the same neuron: the membrane properties of the FS were recorded before α MPT application and for 1 h of α MPT treatment. Membrane properties changes were similar to those reported in Table 2 and rheobase variations (+47%) illustrate the decreased excitability of FS ($n = 3$) (Fig. 4D).

Overall, when dopamine is depleted, FS cells are less reactive to current injections and the expected inhibition exerted by these interneurons on MSNs should be delayed and weaker.

3.5. LA interneurons

LA interneurons were identified by a depolarized RMP (-66.2 ± 0.8 mV), a high Ri (398 ± 26 M Ω), a hyperpolarized AP threshold (-42.1 ± 0.3 mV), a large AP duration (5.2 ± 0.2 ms), a long-lasting fast and slow afterhyperpolarizations (fAHP and sAHP) (fAHP + sAHP duration: 96.4 ± 4.2 ms) and a low firing rate in response to depolarizing current pulses (9.5 ± 0.5 Hz) (Fig. 5 and Table 2).

Conversely to FS cells, LA interneurons recorded after acute dopamine depletion ($n = 17$) displayed an increased excitability compared to those observed in control ($n = 20$ cells). Indeed, after α MPT treatment, LA cells displayed a more depolarized RMP (5%), an increase of Ri (+28%) associated with a decrease of the rheobase (48%) and AP threshold (7%) (Fig. 5A and B and Table 2); note the shift of the AP threshold during dopamine deficit indicated by the arrow in Fig. 5C. In addition, the fAHP amplitude (9%), the sAHP amplitude (16%) and duration (15%) were also reduced. In the subthreshold range of membrane potentials, dopamine depletion did not significantly modify the $I-V$ relationship (Fig. 5C). Finally, dopamine depletion affected the shape of the APs, the spike amplitude and duration being significantly increased (+15% and +17%, respectively) that might allow a greater release of acetylcholine. Altogether, these modifications induced by dopamine depletion should lead to a hyperactivity of LA cells.

In addition, we investigated the effect of acute dopamine depletion along time in the same LA neuron: its membrane properties were recorded before α MPT application and for 1 h of α MPT treatment. Membrane properties changes were similar to those reported in Table 2 and rheobase variations (66%) illustrate the large increase of excitability of LA ($n = 4$) (Fig. 5D).

3.6. PLTS interneurons

PLTS cells were easily distinguished from the other neuronal subtypes by their characteristic spiking pattern (consisting in fast

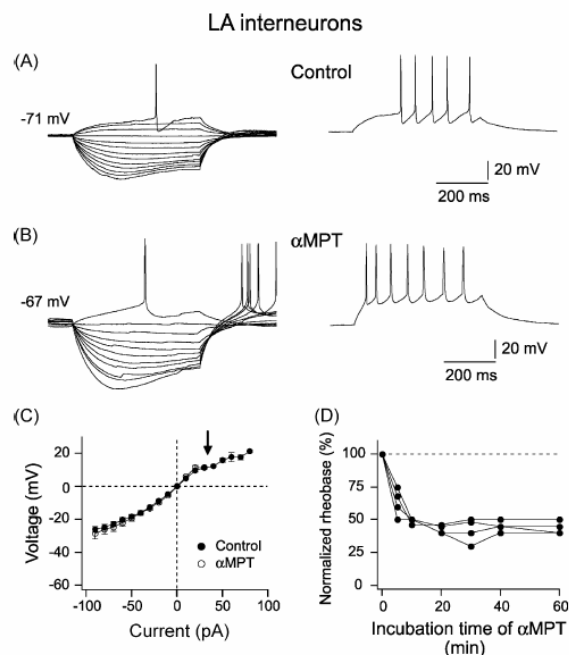


Fig. 5. Electrophysiological properties of LA interneurons recorded in control and α MPT conditions. (A–B) Recordings of membrane potential changes in response to current steps from 90 pA with 10 pA increments until AP threshold (left traces) and +30 pA above AP threshold (right traces), in control (A) and α MPT (B). Note the sag during hyperpolarizing current pulses, the large AHP and the low firing frequency. In dopamine depletion, LA cells displayed a more excitable state: the membrane potential rebound after cessation of hyperpolarizing pulses allowed the triggering of APs, the AP threshold was reached for lower depolarizing pulses (+30 pA vs. +10 pA, control vs. α MPT conditions, in this example) and the firing rate was increased (14 vs. 19 Hz, control vs. α MPT, in this example). (C) $I-V$ curves in control ($n = 20$ LA cells) and α MPT ($n = 17$ LA cells) conditions displayed linear relationships, no significantly different. The arrow indicates the shift of the AP threshold after dopamine depletion indicating an increase of excitability of LA cells. (D) Evolution of the rheobase of LA interneurons. Each line represents one MSN recorded before and for 1 h of α MPT treatment. The averaged rheobase decrease was 66% ($n = 4$) at 60 min.

initial APs doublets at 51.1 ± 8.4 Hz) and their low-threshold spikes (-38.5 ± 1.3 mV) (Fig. 6 and Table 2). In addition, PLTS cells displayed the highest Ri values (547 ± 77 M Ω) when compared to other striatal neuronal subtypes.

The effect of dopamine depletion on the membrane properties of PLTS appeared to be quite subtle ($n = 21$ cells recorded in control as well as in α MPT conditions) (Fig. 6 and Table 2), compared to those observed on the other striatal interneurons. When $I-V$ relationships in control and α MPT conditions were compared, no significant variation was observed (Fig. 6C). However, two parameters displayed significant variations: the rheobase and delay to first spike were increased (Table 2). Indeed, after dopamine depletion an additional current of 10 pA was needed to reach the AP threshold and the delay to first spike was increased of +48%.

In addition, we investigated the effect of acute dopamine depletion along time in the same PLTS neuron: its membrane

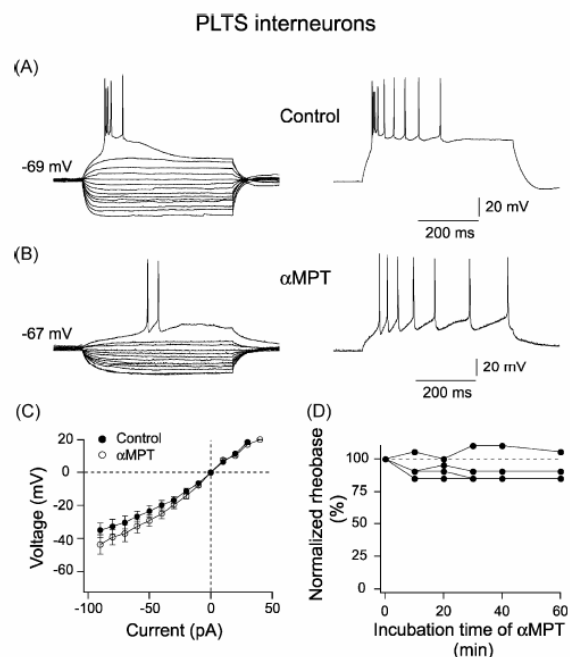


Fig. 6. Electrophysiological properties of PLTS interneurons in control and α MPT conditions. (A–B) Recordings of membrane potential changes in response to current steps from -90 pA with 10 pA increments until AP threshold (left traces) and $+30$ pA above AP threshold (right traces), in control (A) and α MPT (B) conditions. Note the characteristic initial APs grouped in doublets followed by a slower firing activity. The PLTS I - V relationship illustrates the low-threshold spiking of these cells, and displays a slight inward rectification. Few noticeable variations were observed, including a slight but significant decrease of the excitability (see details in Table 1). (C) I - V curves in control ($n = 21$ PLTS cells) and α MPT ($n = 21$ PLTS cells) conditions displayed an inward rectification for hyperpolarizing pulses. (C) Mean values of the I - V relationship of PLTS cells in control and α MPT conditions (no significant difference was observed between both I - V relationships). (D) Evolution of the rheobase of PLTS interneurons. Each line represents one PLTS recorded before and for 1 h of α MPT treatment. The averaged rheobase displayed a slight decrease (9% , $n = 4$) at 60 min.

properties were recorded before α MPT application and for 1 h of α MPT treatment. Membrane properties changes were similar to those reported in Table 2 and rheobase variations (9%) illustrate the unaffected excitability of PLTS ($n = 4$) (Fig. 6D).

In conclusion, dopamine depletion does not affect drastically the passive and active membrane properties of PLTS cells but could decrease the excitability of these cells.

4. Discussion

Dopamine neurons of the substantia nigra *pars compacta* exert a potent neuromodulatory role on striatal neurons that is essential to basal ganglia functions. Within the striatum, dopamine modulates the transmission of cortical information by acting both presynaptically at corticostriatal synapses (Bamford et al., 2004a,b) and postsynaptically on the membrane properties of striatal neurons (Calabresi et al.,

2000; Nicola et al., 2000; Onn et al., 2000). Dopamine induces an inhibition of glutamate release from a subset of cortical afferents via activation of presynaptic D2 receptors. Conversely, a dopamine depletion leads to an increase of glutamate release (Reynolds and Wickens, 2002; Bamford et al., 2004a,b). Both pre and postsynaptic corticostriatal dopamine effects should therefore participate to the shaping of the changes of the membrane properties of striatal neurons.

In this study, functional dopamine was depleted directly from the rat brain slices with α MPT (Besson et al., 1969; Groppetti et al., 1977; Watanabe et al., 2005). Most of the studies have addressed the effects of dopamine on striatal physiology by dopamine applications or dopaminergic receptors stimulations (*in vitro* and *in vivo*) (Nicola et al., 2000). These experimental data did not allow classifying the effect of dopamine as strictly excitatory or inhibitory in the striatum (Surmeier et al., 1996; Calabresi et al., 2000; Sealton and Olanow, 2000). However, some studies have used dopaminergic receptors blockers to investigate neuronal striatal excitability (Kiyatkin and Rebec, 1999; West and Grace, 2002) and have reported an increase of the MSNs excitability after blockade of D1 receptors. Such observations are in accordance with our results. Activation of either D1 or D2 receptors leads to, respectively, an inhibition or an activation of the evoked activity of MSNs (Uchimura et al., 1986; Akaike et al., 1987; Calabresi et al., 1987). Conversely, an increase of the MSNs excitability has been observed after blockade of DA receptors (due to D1 receptors inhibition) (Kiyatkin and Rebec, 1999; West and Grace, 2002). Concerning D2 receptors activation, it should be noted that some studies have reported various effects (Nicola et al., 2000). Therefore, it remains to determine if the changes of excitability observed in our study or in DA receptors blockade approaches are caused by a preferential expression of D1 versus D2 receptors.

The α MPT treatment allows realizing a potent decrease of the tissue content of dopamine, and offers the possibility to analyze the overall effects (included putative non receptor mediated) of such acute depletion on the membrane properties of the striatal neurons. It should be noted that although α MPT inhibits synthesis of two catecholamines (dopamine and noradrenaline), only dopamine depletion in the striatum is induced since it has been reported that noradrenergic afferences are absent from the striatum (Aston-Jones, 2002). In slice preparation, the only spontaneously available dopamine is provided by a tonic release from the functional dopamine pool, which is totally depleted after α MPT treatment (Besson et al., 1969; Groppetti et al., 1977; Watanabe et al., 2005). Indeed, the dopamine storage pool is recruited exclusively during a sustained phasic activity of nigrostriatal dopaminergic neurons and such phasic activity cannot be generated spontaneously in striatal slice preparation. 6-Hydroxy-dopamine (6-OHDA)-induced lesion models affect both dopamine pools, including the storage dopamine pool that is not spontaneously available anyway in slice preparation. Therefore, depleting the functional dopamine pool in slice preparation leads to a total depletion of the spontaneously available striatal dopamine.

Striatal interneurons through local circuits regulate the excitability of MSNs (Tepper and Bolam, 2004). During α MPT treatment, GABAergic interneurons and, in a lower degree, NO-synthase-containing cells became less excitable while cholinergic interneurons displayed an increased excitability. The decreased excitability of GABAergic interneurons is consistent with the results of previous *in vitro* studies reporting an increased excitability of GABAergic cells induced by dopamine (Bracci et al., 2002; Centonze et al., 2003). We report here that cholinergic interneurons become more excitable during dopamine depletion. This could be put in relation with an *in vitro* study showing that stimulation of D2 dopamine receptor induced a reduction in cholinergic interneurons activity (Maurice et al., 2004). In addition, *in vivo* studies have reported an increase of the neurotransmitter release and a hyperactivity of cholinergic interneurons in Parkinson's disease experimental model (Hornykiewicz and Kish, 1987).

It is expected that alterations of interneurons membrane properties, induced by dopamine depletion, affect cortical information processing in the striatum. Among local circuits controlling MSNs, striatal GABAergic microcircuits are the best characterized (Tepper et al., 2004). Such inhibitory microcircuits may contribute to a focalization of corticostriatal information within the striatum. Lateral GABAergic transmission has been reported between GABAergic interneurons and between GABAergic interneurons and MSNs (Koo and Tepper, 1999). The first picture expected after dopamine depletion should be that GABAergic interneurons, becoming less excitable, may display delayed and lower inhibitory inputs on MSNs. Consequently, focalization of corticostriatal information processing within the striatum should be weaker in dopamine depletion. Concerning NO-synthase-containing cells, it is not known if they are tonically active *in vivo*, therefore the only functional implication that can be assumed is that the transmission between NO-synthase-containing interneurons and MSNs, recently reported as inhibitory (Tepper and Bolam, 2004), should be delayed. In addition to GABAergic microcircuits, interactions between cholinergic interneurons and MSNs appear to play a major role in the striatal physiology. It has been reported that stimulation of MSNs muscarinic M1-type receptor induced a higher firing activity by reducing the AHP phase and extend the number of MSNs involved in the same task by limiting the lateral GABAergic inhibition between MSNs (Perez-Rosello et al., 2004). Consequently, an increased excitability of cholinergic interneurons cells reported here during dopamine deficit should induced a postsynaptic facilitation of MSNs discharge associated with presynaptic inhibition of the lateral GABAergic control mediated by MSNs collaterals. Such changes of excitability should lead to a larger recruiting of MSNs involved in the same cognitive-motor task during dopamine deficit. These hypothesis, concerning the variations of interactions between GABAergic and cholinergic interneurons with MSNs, are in accordance with studies reporting uncorrelated firing of neurons in the globus pallidus (supporting a segregation of the functional sub-circuits of basal ganglia) whereas after dopamine depletion, firing of these

neuron firing becomes correlated (denoting a breakdown of this independent processing) (Bergman et al., 1998).

MSNs can be divided in different subpopulations according to morphological criteria, compartmental distribution, projection sites and biochemical markers (Gerfen, 1992; Nicola et al., 2000). The notion of MSNs heterogeneity has been strengthened with the recent evidence that MSNs are linked to other MSNs by unidirectional GABAergic synapses or electrical synapses but not by both types of synapses (Venance et al., 2004). In addition, based on their SFA ratio, MSNs can be classified into regular and adapting cells (Venance and Glowinski, 2003). Acute dopamine depletion induced an increased excitability of MSNs, as similarly observed after dopaminergic receptors blockade (Kiyatkin and Rebec, 1999; West and Grace, 2002) or in 6-OHDA-induced lesions experimental models (Nisenbaum et al., 1986; Twery et al., 1993; Tseng et al., 2001; Pang et al., 2001).

The main issue is now to determine the links between the functional neuronal subpopulations of MSNs and their projection sites. Indeed, two pathways of cortical information processing have been described in basal ganglia: the direct pathway by which striatal informations are directly conveyed to basal ganglia output nuclei (the internal globus pallidus and substantia nigra *pars reticulata*) and the indirect pathway through which striatum influence output nuclei (the external globus pallidus and the subthalamic nucleus) (Gerfen, 1992). Activation of the direct pathway induces an inhibition of the GABAergic neurons of basal ganglia output nuclei leading to a disinhibition of their thalamic and brain stem premotor targets and consequently to the initiation of a motor activity. Activation of the indirect pathway will lead to an activation of the inhibitory output of basal ganglia and to a selection or a brake of the motor response. The next step would be to link the observed changes in excitability among MSNs to MSNs heterogeneities (based on morphological, biochemical, electrophysiological and projection sites differences). In particular, a recent study has reported different functional modifications when direct and indirect pathways are considered after dopamine depletion (Day et al., 2006). Indeed, the cortical glutamatergic transmission is particularly affected after a dopamine depletion at the level of the indirect pathway through a decrease of MSNs spines amount. It remains to link such functional dichotomy described by Day et al. (2006) with MSNs excitability changes reported here.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Gérard Blanc, Gérard Godeheu and Dr. Jean-Pol Tassin for HPLC assistance, Pr. Jean-Michel Deniau and Dr. Yves Gioanni for careful reading of the manuscript, and Dr. Marie-Louise Kemel for helpful comments.

Grant Information. This work was supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Action Concertée Intégrative "Jeune Chercheur" from the Ministère de la Recherche, Fondation pour la Recherche Médicale grant 20020111943 and the Collège de France.

References

Akaike, A., Ohno, Y., Sasa, M., Takaori, S., 1987. Excitatory and inhibitory effects of dopamine on neuronal activity of the caudate nucleus neurons *in vitro*. *Brain Res.* 418, 262–272.

Aosaki, T., Kiuchi, K., Kawaguchi, Y., 1998. Dopamine D1-like receptor activation excites rat striatal large aspiny neurons *in vitro*. *J. Neurosci.* 18, 5180–5190.

Aston-Jones, G., 2002. Locus coeruleus. In: Adelman, Smith, (Eds.), *Encyclopedia of Neuroscience*. 3rd ed. Elsevier Science, New York.

Bamford, N.S., Zhang, H., Schmitz, Y., Wu, N.P., Cepeda, C., Levine, M.S., Schmauss, C., Zakharenko, S.S., Zablow, L., Sulzer, D., 2004a. Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals. *Neuron* 42, 653–663.

Bamford, N.S., Robinson, S., Palmiter, R.D., Joyce, J.A., Moore, C., Meshul, C.K., 2004b. Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. *J. Neurosci.* 24, 9541–9552.

Bergman, H., Feingold, A., Nini, A., Raz, A., Slovín, H., Abeles, M., Vaadia, E., 1998. Physiological aspects of information processing in the basal ganglia of normal and parkinsonian primates. *Trends Neurosci.* 21, 32–38.

Besson, M.J., Cheramy, A., Feltz, P., Glowinski, J., 1969. Release of newly synthesized dopamine from dopamine-containing terminals in the striatum of the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 62, 741–748.

Bracci, E., Centonze, D., Bernardi, G., Calabresi, P., 2002. Dopamine excites fast-spiking interneurons in the striatum. *J. Neurophysiol.* 87, 2190–2194.

Calabresi, P., Mercuri, N., Stanzione, P., Stefani, A., Bernardi, G., 1987. Intracellular studies of the dopamine-induced firing inhibition of neostriatal neurons *in vitro*: evidence for D1 receptor involvement. *Neuroscience* 20, 757–771.

Calabresi, P., Centonze, D., Bernardi, G., 2000. Electrophysiology of dopamine in normal and denervated striatal neurons. *Trends Neurosci.* 23, S57–S63.

Centonze, D., Grande, C., Usiello, A., Gubellini, P., Erbs, E., Martin, A.B., Pisani, A., Tognazzi, N., Bernardi, G., Moratalla, R., Borrelli, E., Calabresi, P., 2003. Receptor subtypes involved in the presynaptic and postsynaptic actions of dopamine on striatal interneurons. *J. Neurosci.* 23, 6245–6254.

Day, M., Wang, Z., Ding, J., An, X., Ingham, C.A., Shering, A.F., Wokosin, D., Lhijic, E., Sun, Z., Sampson, A.R., Mugnaini, E., Deutch, A.Y., Sesack, S., Arbuthnott, G.W., Surmeier, D.J., 2006. Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nat. Neurosci.* 9, 251–259.

Fino, E., Glowinski, J., Venance, L., 2005. Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. *J. Neurosci.* 25, 11279–11287.

Gerfen, C.R., 1992. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci.* 15, 133–139.

Graybiel, A.M., Aosaki, T., Flaherty, A.W., Kimura, M., 1994. The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265, 1826–1831.

Groppetti, A., Algeri, S., Cattabeni, F., Di Giulio, A.M., Galli, C.L., Ponzio, F., Spano, P.F., 1977. Changes in specific activity of dopamine metabolites as evidence of a multiple compartmentalization of dopamine in striatal neurons. *J. Neurochem.* 28, 191–197.

Haber, S.N., 2003. The primate basal ganglia: parallel and integrative networks. *J. Chem. Neuroanat.* 26, 317–330.

Hernández-López, S., Bargas, J., Surmeier, D.J., Reyes, A., Galarraja, E., 1997. D1 receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by modulating an L-type Ca²⁺ conductance. *J. Neurosci.* 17, 3334–3342.

Hernández-López, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraja, E., Bargas, J., Hamm, H., Surmeier, D.J., 2000. D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLCβ1-IP3-calcineurin-signaling cascade. *J. Neurosci.* 20, 8987–8995.

Homykiewicz, O., Kish, S.J., 1987. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 45, 19–34.

Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J., Emson, P.C., 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18, 527–535.

Kiyatkin, E.A., Rebec, G.V., 1999. Striatal neuronal activity and responsiveness to dopamine and glutamate after selective blockade of D1 and D2 dopamine receptors in freely moving rats. *J. Neurosci.* 19, 3594–3609.

Koos, T., Tepper, J.M., 1999. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat. Neurosci.* 2, 467–472.

Maurice, N., Mercer, J., Chan, S., Hernandez-Lopez, S., Held, J., Tkatch, T., Surmeier, D.J., 2004. D2 dopamine receptor-mediated modulation of voltage-dependent Na⁺ channels reduces autonomous activity in striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci.* 24, 10289–10301.

Nicola, S.M., Surmeier, D.J., Malenka, R.C., 2000. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Ann. Rev. Neurosci.* 23, 185–215.

Nisenbaum, E.S., Stricker, E.M., Zigmond, M.J., Berger, T.W., 1986. Long-term effects of dopamine-depleting brain lesions on spontaneous activity of type II striatal neurons: relation to behavioral recovery. *Brain Res.* 398, 221–230.

Onn, S.P., West, A.R., Grace, A.A., 2000. Dopamine-mediated regulation of striatal neuronal and network interactions. *Trends Neurosci.* 23, S48–S56.

Pang, Z., Ling, G.Y., Gajendiran, M., Xu, Z.C., 2001. Enhanced excitatory synaptic transmission in spiny neurons of rat striatum after unilateral dopamine denervation. *Neurosci. Lett.* 308, 201–205.

Perez-Rosello, T., Figueroa, A., Salgado, H., Vilchis, C., Tecuapetla, F., Guzman, J.N., Galarraja, E., Bargas, J., 2004. Cholinergic control of firing pattern and neurotransmission in rat neostriatal projection neurons: role of Ca_v2.1 and Ca_v2.2 Ca²⁺ channels. *J. Neurophysiol.* 93, 2507–2519.

Pisani, A., Bonsi, P., Centonze, D., Calabresi, P., Bernardi, G., 2000. Activation of D2-like dopamine receptors reduces synaptic inputs to striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci.* 20, 1–6.

Reynolds, J.N., Wickens, J.R., 2002. Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses. *Neural Netw.* 15, 507–521.

Sealfon, S., Olanow, C.W., 2000. Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends Neurosci.* 23, S34–S40.

Surmeier, D.J., Song, W.J., Yan, Z., 1996. Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *J. Neurosci.* 16, 6579–6591.

Suzuki, T., Miura, M., Nishimura, K., Aosaki, T., 2001. Dopamine-dependent synaptic plasticity in the striatal cholinergic interneurons. *J. Neurosci.* 21, 6492–6501.

Tepper, J.M., Bolam, J.P., 2004. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 685–692.

Tepper, J.M., Koos, T., Wilson, C.J., 2004. GABAergic microcircuits in the neostriatum. *Trends Neurosci.* 27, 662–669.

Tseng, K.Y., Kasanetz, F., Kargieman, L., Riquelme, L.A., Murer, M.G., 2001. Cortical slow oscillatory activity is reflected in the membrane potential spike trains neurons in rats with chronic nigrostriatal lesions. *J. Neurosci.* 21, 6430–6439.

Twery, M.J., Thompson, L.A., Walters, J.R., 1993. Electrophysiological characterization of rat striatal neurons *in vitro* following a unilateral lesion of dopamine cells. *Synapse* 13, 322–332.

Uchimura, N., Higashi, H., Nishi S., 1986. Hyperpolarizing and depolarizing actions of dopamine via D-1 and D-2 receptors on nucleus accumbens neurons. *Brain Res.* 11, 368–372.

Venance, L., Glowinski, J., 2003. Heterogeneity of spike frequency adaptation among medium spiny neurons from the rat striatum. *Neuroscience* 122, 77–92.

Venance, L., Glowinski, J., Giaume, C., 2004. Electrical and chemical transmission between striatal output neurons in rat brain slices. *J. Physiol.* 559, 215–230.

Watanabe, S., Aono, Y., Fusa, K., Takada, K., Saigusa, T., Koshikawa, N., Cools, A.R., 2005. Contribution of vesicular and cytosolic dopamine to the increased striatal dopamine efflux elicited by intrastriatal injection of dexamphetamine. *Neuroscience* 136, 251–257.

West, A.R., Grace, A.A., 2002. Opposite influences of endogenous dopamine D1 and D2 receptor activation on activity states and electrophysiological properties of striatal neurons: studies combining *in vivo* intracellular recordings and reverse microdialysis. *J. Neurosci.* 22, 294–304.

Wilson, C.J., 1995. The contribution of cortical neurons to the firing pattern of striatal spiny neurons. In: Houk (Eds.), *Model of Information Processing in Basal Ganglia I*. Davis and Beiser, pp. 29–31.

Yasumoto, S., Tanaka, E., Hattori, G., Maeda, H., Higashi, H., 2002. Direct and indirect actions of dopamine on the membrane potential in medium spiny neurons of the mouse neostriatum. *J. Neurophysiol.* 87, 1234–1243.

Résumé et discussion

L'activité des neurones striataux est finement régulée par les afférences dopaminergiques de la SNc. Paradoxalement, si l'implication des différents récepteurs dopaminergiques dans cette régulation est bien connue, les effets d'une déplétion aiguë de dopamine striatale sur les propriétés membranaires des neurones striataux ont peu été étudiés. Or, des variations importantes ou pathologiques de concentration en dopamine affectent l'ensemble des neurones du striatum. Dans cette étude, nous avons donc caractérisé les propriétés membranaires passives et actives des différents types neuronaux du striatum, non seulement au niveau des neurones de sortie (NETM), mais également au niveau des différents types d'interneurones (les interneurones GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase). L'étude des propriétés membranaires neuronale a tout d'abord été effectuée dans des conditions contrôles, puis nous avons déterminé l'influence d'une déplétion aiguë de dopamine. Nous avons utilisé l' α -methyl-para-tyrosine (α -MPT), un inhibiteur de la synthèse de la dopamine, pour induire une déplétion aiguë de dopamine striatale. Le niveau de déplétion de dopamine induit par l' α -MPT a été déterminé grâce à un dosage de la dopamine striatale par HPLC. La déplétion de dopamine entraîne différents effets sur les propriétés électrophysiologiques selon le type cellulaire considéré. En effet, les NETM deviennent plus excitables, tout comme les interneurones cholinergiques alors que les interneurones GABAergiques deviennent moins excitables. Les interneurones à NO-synthase quant à eux sont légèrement moins excitables suite à la déplétion de dopamine.

Déplétion aiguë de dopamine striatale induite par l' α -MPT

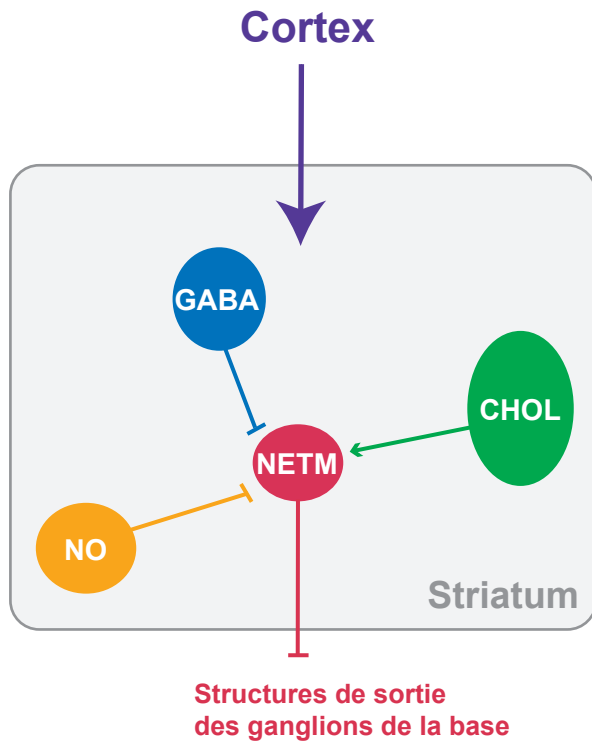
Nous avons choisi dans cette étude d'étudier les effets d'une déplétion aiguë de dopamine induite par l' α -MPT. En effet, la plupart des études s'intéressant à l'effet de la dopamine sur le striatum ont utilisé des approches différentes : appliquer de la dopamine ou bloquer les récepteurs dopaminergiques (Nicola et al., 2000). Ces études n'ont pas permis de déterminer si la dopamine exerce des effets strictement excitateurs ou inhibiteurs dans le striatum (Surmeier et al., 1996 ; Calabresi et al., 2000b ; Sealfon et Olanow, 2000).

Le traitement à l' α -MPT induit une diminution importante de la quantité de dopamine dans le tissu et permet d'étudier les effets globaux d'une déplétion de dopamine sur les propriétés membranaires des neurones striataux. L' α -MPT inhibe la synthèse de deux catécholamines, la dopamine et la noradrénaline. Néanmoins, comme il n'existe pas d'innervation noradrénergique au niveau du striatum (Aston-Jones, 2002), nous avons pu observer seulement les effets d'une déplétion de dopamine. Dans les tranches de cerveaux, la seule dopamine pouvant être libérée est celle libérée de façon tonique à partir des vésicules de dopamine fonctionnelle, dont la synthèse est inhibée par l' α -MPT (Besson et al., 1969 ; Gropetti et al., 1977 ; Watanabe et al., 2005). La dopamine présente dans des vésicules de stockage n'est libérée que lors d'une activité phasique soutenue des neurones dopaminergiques nigro-striataux et une telle activité phasique ne peut pas être générée spontanément dans un modèle de tranches de cerveaux. L'efficacité de l' α -MPT a été validée par HPLC puisque la concentration de dopamine globale dans nos tranches de cerveau est diminuée de 60% (les 40% restants correspondraient à la dopamine présente dans les vésicules de stockage). En diminuant la quantité de dopamine fonctionnelle, l' α -MPT permet donc d'induire une déplétion efficace de la dopamine striatale.

Effets de la déplétion de dopamine sur l'excitabilité des interneurons striataux et implications fonctionnelles

Après le traitement à l' α -MPT, les interneurons GABAergiques et, dans une moindre mesure les interneurons à NO-synthase, deviennent moins excitables alors que les interneurons cholinergiques deviennent plus excitables. La diminution de l'excitabilité des interneurons GABAergiques est cohérente avec des études faites *in vitro* reportant que l'application de dopamine augmente l'excitabilité des interneurons GABAergiques (Bracci et al., 2002 ; Centonze et al., 2003b). En ce qui concerne les interneurons cholinergiques, la déplétion de dopamine entraîne une augmentation de leur excitabilité. Ce résultat est en accord avec une étude *in vitro* montrant que la stimulation du récepteur D2 induit une réduction de l'activité des interneurons cholinergiques (Maurice et al., 2004). De plus, il a été observé *in vivo* une hyperactivité des interneurons cholinergiques dans un modèle expérimental de la maladie de Parkinson (singé lésé au MPTP) (Hornykiewicz et Kish, 1987).

Contrôle



Déplétion aiguë de dopamine

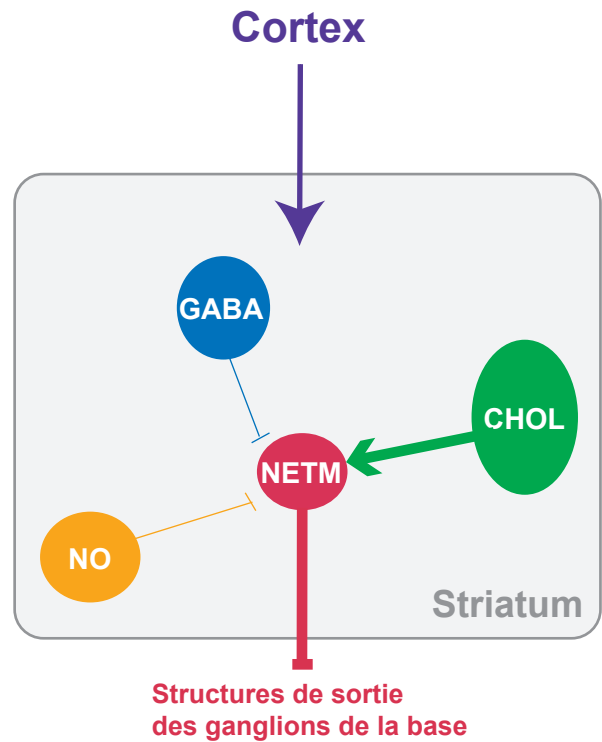


Figure complémentaire 1. Bilan schématique des effets d'une déplétion aiguë de dopamine sur l'excitabilité des neurones striataux.

Représentation des interactions synaptiques entre les interneurons striataux et les NETM. A gauche est représentée la situation contrôle et à droite les effets d'une déplétion aiguë de dopamine sur l'excitabilité des neurones striataux. Lors d'une déplétion de dopamine, la sortie striatale sera favorisée par une augmentation de l'excitabilité des NETM renforcée par une diminution de l'inhibition des interneurons GABAergiques et à NO-synthase conjointement à une augmentation de l'activation par les interneurons cholinergiques.

Comme les interneurons striataux régulent finement l'excitabilité des NETM (Tepper et Bolam, 2004), les changements de propriétés membranaires des interneurons striataux induites par la déplétion de dopamine devraient donc affecter le transfert des informations corticales dans le striatum (Figure complémentaire 1). L'impact des interneurons GABAergiques sur les NETM est le mieux caractérisé dans le striatum (Koos et Tepper, 1999 ; Koos et Tepper, 2002 ; Tepper et al., 2004). Ils ont un poids inhibiteur important sur les NETM puisqu'ils peuvent contrôler efficacement la décharge des NETM. Cela va dans le sens de l'hypothèse qu'ils pourraient être impliqués dans la focalisation des informations corticales dans le striatum. Une déplétion de dopamine entraîne une diminution de l'excitabilité des interneurons GABAergiques. Par conséquent, leur impact inhibiteur sur les NETM devrait donc être diminuée et/ou retardée, réduisant ainsi la focalisation des informations corticales au sein du striatum. En ce qui concerne les interneurons à NO-synthase, ils ont récemment été montré comme inhibiteurs et pouvant retarder l'émission d'un potentiel d'action dans les NETM (Tepper et Bolam, 2004). La déplétion de dopamine devrait donc diminuer cette inhibition sur les NETM. Outre les micro-circuits GABAergiques du striatum, les interneurons cholinergiques jouent également un rôle important dans la régulation de l'activité des NETM. Ainsi, il a été montré que la stimulation des récepteurs M1 présents sur les NETM induit une augmentation de l'activité de décharge en diminuant la phase d'AHP (Perez-Rosello et al., 2005). D'autre part, les interneurons cholinergiques inhibent les afférences GABAergiques des NETM en agissant directement sur les terminaisons axonales GABAergiques (Koos et Tepper, 2002 ; Perez-Rosello et al., 2005). L'augmentation de l'excitabilité des interneurons cholinergiques induite par la déplétion de dopamine devrait donc, en post-synaptique, faciliter la décharge des NETM et, en pré-synaptique, diminuer leurs entrées inhibitrices (Figure complémentaire 1).

La dopamine influe donc considérablement sur les micro-circuits striataux et une déplétion de dopamine (aiguë dans notre cas) devrait avoir des conséquences importantes sur le transfert des informations cortico-striatales.

Effets de la déplétion de dopamine sur l'excitabilité des NETM et implications fonctionnelles

Les NETM peuvent se diviser en plusieurs sous-populations en fonction de leur site de projection, leurs interactions locales, leurs propriétés électrophysiologiques, leur expression de certains biomarqueurs ou leur localisation dans les différents compartiments striataux (Gerfen, 1992 ; Nicola et al., 2000 ; Venance et Glowinski, 2003 ; Venance et al., 2004). Nous avons observé que les effets de la déplétion de dopamine sont différents en fonction des propriétés électrophysiologiques : les NETM « regular spiking » ont une excitabilité augmentée alors que ceux qui « adaptent » ne présentent pas de changements significatifs d'excitabilité. La déplétion de dopamine induit une augmentation de l'excitabilité des NETM, comme ce qu'il avait été observé lorsque les récepteurs D1 sont inhibés (Kiyatkin et Rebec, 1999 ; West et Grace, 2002) ou dans des modèles de la maladie de Parkinson induits par des lésions de la SNc à la 6-OHDA (Nisenbaum et al., 1986 ; Twery et al., 1993 ; Tseng et al., 2001 ; Pang et al., 2001). L'effet de l'activation des récepteurs D2 reste encore controversé car des effets variés ont été reportés par différentes études (Nicola et al., 2000). Il reste tout de même à déterminer si les effets de la déplétion de dopamine que nous avons observé sont sous-tendus plutôt par les récepteurs D1 ou D2.

Il est important maintenant de faire un lien entre les changements d'excitabilité des NETM et leur hétérogénéité, entre autre par rapport à leurs sites de projections, donc leur appartenance à la voie directe ou indirecte. Par exemple, une étude récente a montré qu'il existe différentes modifications fonctionnelles sur les neurones de la voie directe et ceux de la voie indirecte après une déplétion de dopamine (Day et al., 2006). En effet, la transmission corticale glutamatergique est diminuée au niveau de la voie indirecte après la déplétion dopaminergique.

Connaissant maintenant l'effet global d'une déplétion aiguë de dopamine sur les propriétés membranaires des neurones striataux, il reste tout de même à tenir compte maintenant des spécificités striatales, telles que la ségrégation des voies directe et indirecte, les interactions locales ou les compartiments anatomo-fonctionnels. Ceci permettra de mieux comprendre les effets de la dopamine sur les modalités de transfert des informations cortico-striatales et leur relais vers les structures de sortie.

2. Plasticité bidirectionnelle et activité-dépendante au niveau des synapses cortico-striatales

***“Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal
synapses”***

Elodie Fino, Jacques Glowinski and Laurent Venance

The Journal of Neuroscience, December 7, 2005, 25(49) : 11279-11287

&

Résultats complémentaires:

- Plasticité cortico-striatale à court-terme**
- Pharmacologie de la STDP au niveau des NETM**

&

Résumé et discussion

Behavioral/Systems/Cognitive

Bidirectional Activity-Dependent Plasticity at Corticostriatal Synapses

Elodie Fino,¹ Jacques Glowinski,² and Laurent Venance¹¹Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U-667, and ²Neurobiologie Pharmacologique, INSERM U-114, Collège de France, 75231 Paris Cedex 05, France

Corticostriatal projections originate from the entire cerebral cortex and provide the major source of glutamatergic inputs to the basal ganglia. Despite the importance of corticostriatal connections in sensorimotor learning and cognitive functions, plasticity forms at these synapses remain strongly debated. Using a corticostriatal slice preserving the connections between the somatosensory cortex and the target striatal cells, we report the induction of both non-Hebbian and Hebbian forms of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) on striatal output neurons (SONs). LTP and LTD can be induced selectively by different stimulation patterns (high-frequency trains vs low-frequency pulses) and were evoked with similar efficiency in non-Hebbian and Hebbian modes. Combination of LTP–LTD and LTD–LTP sequences revealed that bidirectional plasticity occurs at the same SONs and provides efficient homeostatic mechanisms leading to a resetting of corticostriatal synapses avoiding synaptic saturation. The effect of temporal relationship between cortical stimulation and SON activity was assessed using spike-timing-dependent plasticity (STDP) protocols. An LTP was observed when an action potential was triggered in the striatal neuron before the cortical stimulus, and, conversely, an LTD was induced when the striatal neuron discharge was triggered after the cortical stimulation. Such STDP was reversed when compared with those described so far in other mammalian brain structures. This mechanism may be essential for the role of the striatum in learning of motor sequences in which sensory and motor events are associated in a precise time sequence.

Key words: basal ganglia; striatum; cortex; LTP; LTD; homeostasis; spike-timing-dependent plasticity

Introduction

The cerebral cortex and the basal ganglia constitute tightly interconnected structures involved in sensorimotor learning and cognitive functions (Graybiel, 1995). The striatum, the main input nucleus of basal ganglia, receives massive convergent glutamatergic inputs from the whole cortex. In turn, the striatum exerts a disinhibitory influence on thalamic nuclei by inhibiting the GABAergic neurons of the substantia nigra pars reticulata and of the internal segment of the globus pallidus (the two basal ganglia output nuclei). GABAergic striatal output neurons (SONs), which represent the main neuronal striatal population, act as detectors and integrators of distributed patterns of cortical activity (Graybiel et al., 1994; Wilson, 1995). SONs are silent at rest and need strong and highly time-correlated cortical inputs to discharge. This allows the striatum to detect relevant contextual information from the environment. Because SON discharges finally generate an activation of thalamocortical circuits, the identification of mechanisms regulating transmission at corticostriatal

synapses is essential for a better understanding of basal ganglia function.

Activity-dependent changes in synaptic efficacy may contribute to the formation of precisely organized neural circuits and to learning and memory processes (Malenka and Bear, 2004). Although the striatum is regarded as a major site of memory formation for sensorimotor associations, the occurrence of different forms of plasticity at corticostriatal synapses is still under debate (Calabresi et al., 1996; Mahon et al., 2004).

From previous *in vivo* and *in vitro* studies, the inductions of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) in the striatum were reported to be mutually exclusive and dependent on experimental conditions (Calabresi et al., 1996; Mahon et al., 2004). Moreover, LTD was found to be the preferential form of evoked plasticity. However, if LTP and LTD were indeed mutually exclusive, a resetting of transmission efficacy at these synapses would be impossible, a situation hardly consistent with striatal functions in sensorimotor learning. Therefore, it is essential to determine under which conditions of presynaptic and postsynaptic activity the different forms of plasticity occur at corticostriatal synapses.

In previous experiments *in vitro*, the stimulation of corticostriatal axons was applied in the *corpus callosum* or directly in the striatum using slices whose section plane did not strictly conform to the geometry of corticostriatal projections. To obtain specific activation of corticostriatal connections, we used horizontal slices preserving connections between pyramidal neurons of the

Received May 25, 2005; accepted Oct. 24, 2005.

This work was supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Action concertée incitative Jeune Chercheur from the Ministère de la Recherche, Fondation de France Grant 20020111943, and the Collège de France. We thank Dr. Nicolas Maurice and Anne-Marie Godeheu for *in vivo* experiments and Prof. Jean-Michel Deniau and Dr. Dominique Debanne for helpful comments and careful reading of this manuscript.

Correspondence should be addressed to Laurent Venance, Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U-667, Collège de France, 75231 Paris Cedex 05, France. E-mail: laurent.venance@college-de-france.fr.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.4476-05.2005

Copyright © 2005 Society for Neuroscience 0270-6474/05/2511279-09\$15.00/0

somatosensory cortical area and their striatal target cells. In these conditions, a stimulation applied in the cortical layer V reliably elicited EPSCs in striatal neurons. We report here for the first time in the same experimental conditions the occurrence of both LTP and LTD at the same corticostriatal synapses using non-Hebbian and Hebbian stimulation protocols. By applying a combination of either LTP–LTD or LTD–LTP sequences, we show that these opposite forms of plasticity allow an efficient homeostasis of corticostriatal transmission. Finally, spike-timing-dependent plasticity (STDP) protocols were performed to determine the effect of temporal relationship between cortical stimulation and SON activity. Surprisingly, we observed reversed STDP at corticostriatal synapses when compared with those described so far in several mammalian brain structures (Dan and Poo, 2004).

Materials and Methods

In vivo Neurobiotin injection: anatomical analysis of corticostriatal projections. Corticostriatal neurons were extracellularly labeled with Neurobiotin in Sprague Dawley rats weighting 305–320 g (8 weeks old). All experiments were performed in accordance with local Ethical Committee and European Union guidelines (Directive 86/609/EEC). Briefly, anesthesia was induced by pentobarbital injection (60 mg/kg, i.p.; Ceva Santé Animale, Libourne, France) and maintained by ketamine local injections (15 mg/kg, i.m., repeated as needed; Merial, Lyon, France). Animals were fixed in a conventional stereotaxic head frame (Horsley Clarke Apparatus; Unimécanique, Epinay-sur-Seine, France). Body temperature was maintained at 36.5°C. Unit recordings were performed with glass micropipettes (2.6 μ m external diameter; 12 M Ω impedance) filled with a solution of 0.5 M NaCl containing 2.5% Neurobiotin (Vector Laboratories, Burlingame, CA) and positioned in the somatosensory cortex (anteriority from the interaural line, 7.2 mm; laterality from the midline, 6.0 mm; depth, 2.8 mm from the cortical surface) according to the atlas of Paxinos and Watson (1986). Neurobiotin was ejected by passing positive current pulses of 2.6 μ A (1 s on/1 s off) for 20 min. After an overnight survival, animals were deeply anesthetized with pentobarbital (130 mg/kg, i.p.) and intracardially perfused with Ringer's solution (300 ml), followed by a 0.1 M PBS, pH 7.4 (500 ml) containing 4% paraformaldehyde and 0.1% glutaraldehyde. Brains were removed, and, after a 2 h postfixation in a 4% paraformaldehyde PBS, they were stored for 48 h in 30% phosphate-buffered sucrose. Horizontal sections (70 μ m) were cut using a freezing microtome and collected in 0.1 M PBS, pH 7.4. After several rinses in this buffer, sections were incubated overnight in avidin–biotin–horseradish peroxidase complex (Vectastain ABC kit; Vector Laboratories) and exposed to a solution of diaminobenzidine (0.05%) and H₂O₂ (0.03%) containing cobalt chloride (1%) for intensification of the reaction. Sections were then mounted onto gelatin-coated slides and counterstained with safranin.

Electrophysiological recordings. Whole-cell recordings of SONs were performed on horizontal brain slices (330 μ m) from Sprague Dawley rats (postnatal days 15–21). These slices were prepared at the level of the somatosensory cortical area and of the corresponding corticostriatal projection field. Patch-clamp whole-cell recordings were made as described previously (Venance et al., 2004). Briefly, borosilicate glass pipettes of 15–20 M Ω resistance contained the following (mM): 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 10 phosphocreatine, 4 ATP-Mg, 0.3 GTP-Na, and 0.3 EGTA, adjusted to pH 7.35 with KOH. The composition of the extracellular solution was the following (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 25 glucose, 25 NaHCO₃, 1.25 NaH₂PO₄, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, and 10 μ M pyruvic acid (bubbled with 95% O₂ and 5% CO₂). All whole-cell recordings were performed at 32°C using a temperature control system (Δ TC3; Biopatch, Butler, PA), and slices were continuously superfused at 2–3 ml/min with the extracellular solution. Individual neurons were identified using infrared-differential interference contrast microscopy with CCD camera (C2400-07; Hamamatsu, Shizouka, Japan). Signals were amplified using an EPC9-2 amplifier (HEKA Elektronik, Lambrecht, Germany). Current-clamp recordings were filtered at 2.5 kHz and sam-

pled at 5 kHz, and voltage-clamp recordings were filtered at 5 kHz and sampled at 10 kHz using the program Pulse-8.50 (HEKA Elektronik). Off-line analysis was performed using Igor (WaveMetrics, Lake Oswego, OR). Series resistance compensation was set to 75–80% in whole-cell configuration (13.7 \pm 0.9 M Ω ; n = 145). Liquid junction potential error was calculated (–13.6 mV) and corrected.

All chemicals were purchased by Sigma (St. Quentin, France) except 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) and DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP-5) (Tocris Cookson, Ellisville, MO).

Biocytin filling and histochemistry. Biocytin (Sigma) at 5 mg/ml was dissolved into the patch-clamp pipette solution, and cells were filled during at least 20 min of recording (performed at 32°C). Subsequently, slices were fixed overnight in 2% paraformaldehyde at 4°C. Biocytin-filled cells were visualized using the avidin–biotin–horseradish peroxidase reaction (ABC Elite peroxidase kit; Vector Laboratories) according to the instructions of the manufacturer.

Stimulation protocols. Electrical stimulations of the cerebral cortex were performed with a bipolar electrode (Phymep, Paris, France) placed in the layer V of the somatosensory cortex. Electrical stimulations were monophasic and at constant current (without detectable polarization of the electrode along time). There was no significant difference of current intensities of cortical stimulations between each stimulation protocol group. This indicates that there was no relationship between the stimulation intensity and the induced plasticities. Currents were adjusted to evoke striatal EPSCs ranging from 50 to 200 pA amplitudes. Repetitive control stimuli were applied at a frequency of 0.1 Hz, a frequency for which no short- and long-term changes in EPSCs amplitudes were induced (supplemental Fig. 1, available at www.jneurosci.org as supplemental material).

Long-term plasticities were investigated by applying either high-frequency stimulation (HFS) (train of 1 s duration at 100 Hz repeated four times, separated by 10 s) or low-frequency stimulation (LFS) (600 stimuli at 1 Hz). HFS and LFS protocols were performed in a Hebbian mode [the depolarization of the postsynaptic element from its resting membrane potential (RMP) to 0 mV was coincident with the presynaptic stimulation] or in a non-Hebbian mode (the postsynaptic element being maintained at its RMP during the presynaptic stimulation). It should be noted that non-Hebbian and Hebbian terms referred strictly to the stimulation protocols and the corresponding induced-plasticities and did not designate underlying induction mechanisms.

STDP experiments consisted in time shifting the presynaptic stimulation with a postsynaptic action potential (AP) evoked by application of suprathreshold depolarizing current pulse. Cortical stimulations and evoked APs in SONs were delivered 100 times at 1 Hz. Neurons were recorded for at least 1 h after stimulation protocol for long-term plasticities (induced by HFS, LFS, and spike-timing protocols) and at least 2 h after the first stimulation protocol when LTP and LTD were combined. Input resistances and injected currents were monitored all along the experiments. Variations of these parameters >20% lead to the rejection of the experiment.

Data analysis. All results were expressed as mean \pm SEM, and statistical significance was assessed using the Student's t test or the nonparametric Mann–Whitney U test when appropriate at the significance level (p) indicated. Neuronal input resistance was calculated from voltage responses obtained after injecting a hyperpolarizing current (–10 pA, 500 ms duration). EPSC mean amplitudes were the average of 25 evoked EPSCs for long-term plasticity experiments. Synaptic efficacy changes were classified as either LTP or LTD when the normalized EPSC amplitudes (mean EPSC amplitude after stimulation protocol/mean EPSC amplitude before stimulation protocol) were significantly different from the control baseline. Plasticity loci were determined by the mean variance analysis method (Faber and Korn, 1991; Clements and Silver, 2000). Briefly, EPSCs coefficients of variation (CVs) were calculated by the ratio of the SD and the mean EPSC amplitude. The plasticity loci were deduced from the relationship between the normalized CV^{–2} after induction of plasticity/CV^{–2} control and the normalized EPSC amplitudes (EPSC mean amplitude after induction of plasticity/control EPSC mean amplitude). EPSCs amplitude is proportional to npq , with n being the number of releasing sites, p the probability of release, and q the quantum size. It is admitted that n and p describe presynaptic events, and q is a

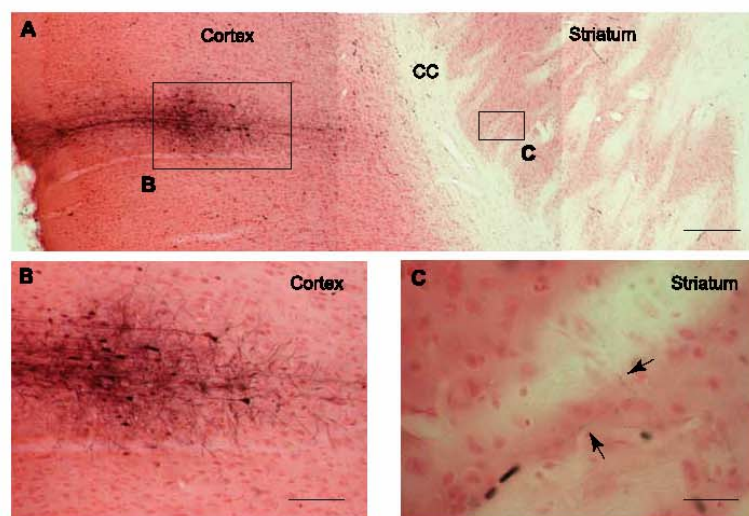


Figure 1. Corticostriatal projections (*in vivo* Neurobiotin injection). **A**, Microphotograph of a horizontal brain slice obtained from an *in vivo* juxtacellular Neurobiotin injection (rat at 8 postnatal weeks) performed in the layer IV/V of the somatosensory cortex. Scale bar, 300 μ m. **B**, Microphotograph showing at a higher magnification the cortical injection site of Neurobiotin. Note, on the right side, the stained pyramidal cells projecting toward the striatum. Scale bar, 100 μ m. **C**, Stained axons of injected pyramidal cells were visualized in the adjacent striatal area. Scale bar, 50 μ m. CC, Corpus callosum.

postsynaptic indicator. If normalized $CV^{-2} >$ normalized EPSCs amplitude, both n and p can vary, and if normalized $CV^{-2} =$ normalized EPSC amplitude, only n can vary. In both cases, changes in EPSC amplitude reflect mainly presynaptic modifications. If normalized $CV^{-2} <$ normalized EPSC amplitude, changes in EPSC amplitude are related to variations of n , p , and q , indicating a mixed (presynaptic and postsynaptic) origin of the modifications. Finally, a variation of normalized EPSC amplitude without any variation of normalized CV^{-2} indicates postsynaptic modifications because only q can vary.

Results

Reliable corticostriatal transmission

Corticostriatal projections mainly travel through long and curved pathways that are difficult to keep intact within a brain slice. Anatomical studies have indicated that connections from the somatosensory cortex (layer V) to the striatum are organized in an horizontal plane (Levesque and Parent, 1998). Accordingly, after *in vivo* Neurobiotin injections in layer V of this cortical area ($n = 3$ rats), axons of pyramidal cells were visualized as traversing straight across the corpus callosum up to the adjacent striatal area in horizontal slices (Fig. 1). Therefore, stimulations were made in cortical layer V on horizontal brain slices, and recordings were performed on morphologically and electrophysiologically identified SONs ($n = 102$) (Fig. 2A–C). All experiments were performed at 32°C without any pharmacological treatments or ionic modifications to respect the overall effects of local striatal microcircuits involved in corticostriatal transmission. This contrasts with most reported studies *in vitro* in which GABAergic transmission was blocked and/or ionic concentrations (Mg^{2+} and Ca^{2+}) were modified.

Based on their morphological and electrophysiological properties, SONs were easily distinguished from the striatal interneurons (Kawaguchi et al., 1989; Venance et al., 2004). Morphologically, SONs displayed a medium-sized soma with highly spiny branched dendrites (Fig. 2B). Electrophysiologically, SONs ($n = 102$) displayed a very hyperpolarized RMP (-89.0 ± 0.7 mV), a

low input resistance (251 ± 11 M Ω), a fast inward rectification, a long depolarizing ramp to spike threshold, a long delay to first spike (384 ± 6 ms), and, finally, a medium-range discharge frequency in response to depolarizing current pulses (12.2 ± 0.3 Hz for +50 pA injected current above AP threshold) (Fig. 2C).

Cortical stimulation evoked PSCs in SONs (Fig. 2D) with a success rate of 90% ($n = 102$). Once corticostriatal transmission occurred, no failure was observed, and PSC amplitude was stable along time (supplemental Fig. 1, available at www.jneurosci.org as supplemental material). Such reliable cortically evoked postsynaptic events (Fig. 2D) were glutamatergic because they were totally blocked by CNQX (20μ M) and AP-5 (50μ M) treatments ($n = 3$). Latency times and amplitudes of the cortically evoked EPSCs displayed very narrow Gaussian distributions (Fig. 2E–H). When 71 SON corticostriatal transmissions were considered, narrow distributions of latency time (Fig. 2G) and latency SD (<1 ms) (Fig. 2H) centered around, respectively, 2.1 and 0.3 ms, denoted a monosynaptic corticostriatal transmission.

Bidirectional long-term plasticity

The occurrence of both LTP and LTD at corticostriatal synapses was investigated on SONs in slices superfused with a physiological extracellular solution without ionic modification or pharmacological treatment. We investigated first the EPSC amplitude stability during 70 min recordings by applying a 0.1 Hz stimulation (supplemental Fig. 1, available at www.jneurosci.org as supplemental material). There was no significant variation of EPSC amplitudes along time ($n = 5$ experiments).

At rest, SONs are characterized by a very hyperpolarized RMP and are maintained mostly silent (subthreshold) by intrinsic membrane conductances that shunt uncorrelated cortical inputs (Calabresi et al., 1987; Nisenbaum and Wilson, 1995). Through this filtering process, SONs contribute to the selection of cortical signals (Wickens, 1993; Graybiel et al., 1994; Wilson, 1995). To discharge, SONs require strong and correlated cortical inputs. In the meantime, they can receive other cortical signals when they are already in a suprathreshold state. Therefore, by the use of non-Hebbian (1) and Hebbian (2) stimulation protocols, attempts were made to mimic these two situations of corticostriatal activities: (1) a situation in which depolarization of SONs by cortical afferences remains subthreshold; (2) a situation in which a discharge of convergent corticostriatal neurons leads to a suprathreshold depolarization of SONs.

Long-term potentiation

HFS (four trains of 1 s duration at 100 Hz separated by 10 s intervals) of the cerebral cortex were applied in both non-Hebbian (Fig. 3A) and Hebbian (Fig. 3D) modes. The non-Hebbian HFS protocol induced a reliable LTP with a success rate of 80% ($n = 10$) (see example in Fig. 3B). This non-Hebbian LTP displayed a large increase of EPSC amplitude, which ranged from 87 to 399% at 45 min ($n = 10$), with a mean value of $221 \pm 33\%$

(Fig. 3C). This value is significantly ($p < 0.01$) different from the baseline recorded in control. Changes in CV^{-2} ratio related to corresponding normalized mean amplitudes were analyzed to determine the loci of long-term synaptic efficacy modifications. Mean variance analysis indicates whether EPSC potentiation or depression had a presynaptic or a postsynaptic origin (Faber and Korn, 1991; Clements and Silver, 2000). Non-Hebbian LTP appeared to display mainly a presynaptic origin (Fig. 3C).

The Hebbian HFS protocol also induced an LTP of the cortically evoked EPSCs with a success rate of 79% ($n = 14$) (see example in Fig. 3E). The induced changes of EPSC amplitude ranged from 76 to 598% at 45 min ($n = 14$), with a mean value of $249 \pm 46\%$ (Fig. 3F). This value was significantly ($p < 0.01$) different from the baseline recorded in control. Mean variance analysis suggested that the Hebbian LTP was mainly underlain by a presynaptic mechanism (Fig. 3F).

Long-term depression

Changes in synaptic efficacy induced by cortical LFS (600 stimulations delivered at 1 Hz) were also investigated with either non-Hebbian (Fig. 4A) or Hebbian (Fig. 4D) stimulation protocols. Non-Hebbian LFS reliably induced an LTD of the cortically evoked EPSCs with a success rate of 80% ($n = 10$) (see example in Fig. 4B). The non-Hebbian LFS protocol induced changes of EPSC amplitude ranged from 11 to 120% of the control at 45 min ($n = 10$). The corresponding mean value of EPSC depression at 45 min was $-40 \pm 10\%$ ($n = 10$) and was significantly ($p < 0.0001$) different from the baseline recorded in control (Fig. 4C). Mean variance analysis of the non-Hebbian LTD revealed that synaptic efficacy changes were mainly originated from the postsynaptic element (Fig. 4C). When Hebbian LFS was used, LTD was also observed with a success rate of 89% ($n = 9$) (see example in Fig. 4E). In this case, the changes of EPSC amplitude ranged from 27 to 95% of the control ($n = 9$). The corresponding mean value of EPSC decrease was $-47 \pm 8\%$ at 45 min and was significantly ($p < 0.0001$) different from the baseline recorded in control (Fig. 4F). Mean variance analysis of Hebbian LTD indicated mainly a postsynaptic origin of such plasticity (Fig. 4F).

Interestingly, similar high success rates and similar magnitude of EPSC potentiation and depression were observed with non-Hebbian and Hebbian HFS and LFS protocols, respectively. As described previously in others systems (Alonso et al., 1990; Urban and Barrionuevo, 1996; Murphy and Glanzman, 1997; Bao et al., 1998) (for review, see Lechner and Byrne, 1998; Sejnowski, 1999; Bi and Poo, 2001), we report here the existence of bidirectional plasticity induced by non-Hebbian as well as Hebbian protocols at corticostriatal synapses.

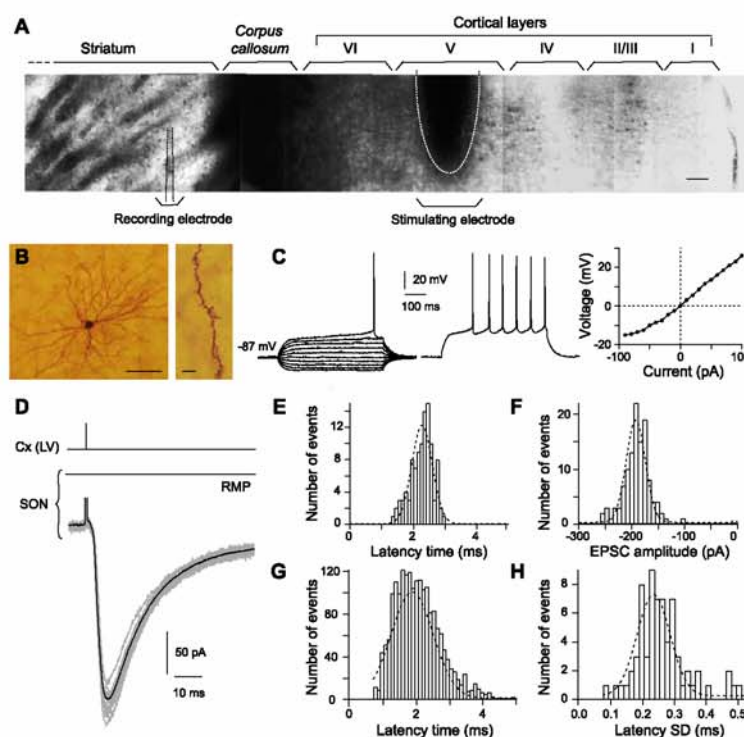


Figure 2. Characteristics of the corticostriatal transmission. **A**, Infrared microphotographs of a horizontal corticostriatal slice showing the dorsal striatum, the corpus callosum, and the successive cortical layers of the somatosensory cortex (noted from I to VI). Scale bar, 100 μ m. The stimulation electrode was placed in the cortical layer V (mean distance from corpus callosum, $579 \pm 8 \mu$ m; $n = 102$), and the SONs were recorded in the dorsal striatum at a mean distance from corpus callosum of $292 \pm 22 \mu$ m. **B**, High-magnification view of an SON injected with biocytin (scale bar, 100 μ m) and a characteristic spiny dendrite (scale bar, 5 μ m). **C**, Characteristic membrane properties and spiking pattern of an SON: note the very hyperpolarized RMP (-87 mV), the inward rectification (illustrated in the steady-state $I-V$ relationship, right side), and the long depolarizing ramp to the AP threshold leading to a delayed spike discharge (the delay to first spike is 452 ms in this example). Raw traces show individual voltage responses to series of 500 ms current pulses from -90 to 90 pA with 20 pA increasing current steps (left side) and to $+50$ pA above AP threshold (middle panel; spike frequency, 15 Hz). **D**, Example of SON EPSCs evoked by cortical layer V [Cx(LV)] stimulations. The black line represents the average of 12 consecutive EPSCs raw traces (gray lines). **E**, Latency distribution of 103 EPSCs recorded in a single SON (well fitted by a Gaussian curve). Note the short latency time centered around 2.3 ms. **F**, Amplitude distribution of 103 EPSC amplitudes recorded in the same SON shown in **E** (distribution well fitted by a Gaussian curve centered around -222 pA). **G**, Latency distribution of EPSCs recorded in 71 SONs was centered around 2.1 ms and well fitted by a Gaussian curve. **H**, SD distribution of averaged EPSC latency recorded in 71 SONs was centered around 0.3 ms and well fitted by a Gaussian curve. Such narrow distributions indicate a monosynaptic corticostriatal transmission.

Corticostriatal homeostatic plasticity

Because of the high occurrence ($\sim 80\%$) of LTP and LTD at corticostriatal synapses, both forms of plasticity could be induced on the same SON, and this should allow to explore interactions between LTP and LTD and therefore the possible existence of homeostatic processes.

Combinations of cortical HFS-LFS and LFS-HFS sequences were thus used to look for the occurrence of both LTP and LTD on the same SON. More precisely, the following sequences of protocols were performed: non-Hebbian HFS followed by non-Hebbian LFS, Hebbian HFS followed by Hebbian LFS, non-Hebbian LFS followed by non-Hebbian HFS, and Hebbian LFS followed by Hebbian HFS. As shown by representative experiments (Fig. 5A–D), in both non-Hebbian and Hebbian modes, HFS and LFS protocols induced, respectively, LTP and LTD on the same SON. This demonstrates that bidirectional plasticity takes place at the same corticostriatal synapses. In all cases, long-

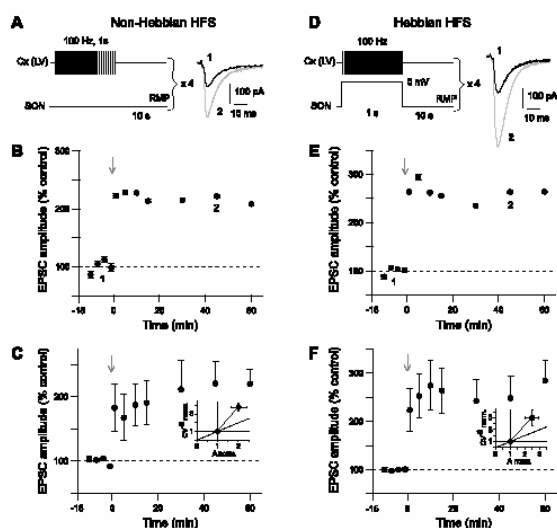


Figure 3. Non-Hebbian and Hebbian HFS protocols induce potent and reliable LTP. **A–C**, LTP induced by non-Hebbian HFS protocol. **A**, Schematic representation of the non-Hebbian HFS protocol: cortical stimulations (4 trains of 1 s at 100 Hz, repeated every 10 s) were applied while maintaining SONs at their RMP. Raw traces show examples of EPSCs evoked before (1, black trace) and 45 min after (2, gray trace) non-Hebbian HFS protocol. Current traces were taken from the experiment shown in **B**. **B**, Representative experiment of a potent non-Hebbian LTP ($222 \pm 3\%$ of EPSC amplitude at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline) induced by non-Hebbian HFS. **C**, Averaged data of 10 experiments show potent and sustained LTP of the cortically evoked EPSCs ($221 \pm 33\%$ at 45 min; $p < 0.01$ when compared with control baseline). **C**, Inset, Mean variance analysis suggests that a presynaptic mechanism underlies the non-Hebbian LTP. Indeed, normalized CV^{-2} was significantly more than normalized EPSCs amplitude ($p < 0.01$) (estimated 45 min after the non-Hebbian LTP induction). **D–F**, LTP induced by Hebbian HFS protocol. **D**, Schematic representation of Hebbian HFS protocol: cortical stimulations (4 trains of 1 s at 100 Hz, repeated every 10 s) were applied concomitantly with a 1 s SON depolarization (from RMP to 0 mV). **E**, Representative experiment of a potent EPSC potentiation ($264 \pm 2\%$ at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline) induced by Hebbian HFS. **F**, Averaged data of 14 experiments show potent and sustained LTP of the cortically evoked EPSCs ($249 \pm 46\%$ EPSC potentiation at 45 min; $p < 0.01$ when compared with control baseline). **F**, Inset, Mean variance analysis of Hebbian LTP indicates a presynaptic origin. Indeed, changes of normalized CV^{-2} were not significantly different from normalized EPSC amplitude after LTP induction. The gray arrows indicate the stimulation protocols.

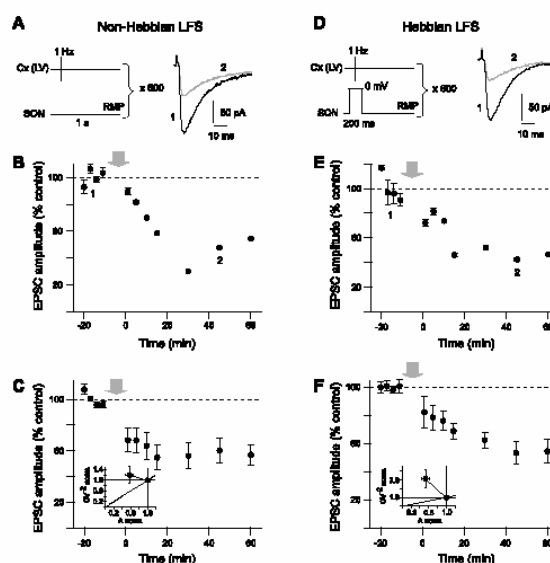


Figure 4. Non-Hebbian and Hebbian LFS protocols induce potent and reliable LTD. **A–C**, LTD induced by non-Hebbian LFS. **A**, Schematic representation of the non-Hebbian LFS protocol: cortical stimulations (600 stimulations at 1 Hz) were applied while maintaining SONs at their RMP. Raw traces show examples of EPSCs evoked before (1, black trace) and 45 min after (2, gray trace) LFS protocol. **B**, Representative experiment of an effective EPSC depression ($-47 \pm 1\%$ at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline) induced by non-Hebbian LFS. **C**, Averaged data of 10 experiments show potent and sustained non-Hebbian LTD ($-40 \pm 10\%$ EPSC depression at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline). **C**, Inset, Mean variance analysis revealed that synaptic efficacy changes are mainly originated from the postsynaptic element. Indeed, variation of EPSCs normalized amplitudes occurred without any significant variations of normalized CV^{-2} . **D–F**, Hebbian LFS induced LTD. **D**, Schematic representation of Hebbian LFS protocol: cortical stimulations (600 stimulations at 1 Hz) were applied concomitantly to a 200 ms depolarization of the SON (from RMP to 0 mV). **E**, Representative experiment of an effective LTD induced by Hebbian LFS ($-43 \pm 1\%$ EPSC depression at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline). **F**, Averaged data of nine experiments show potent and sustained LTD of the cortically evoked EPSCs ($-47 \pm 8\%$ EPSC depression at 45 min; $p < 0.0001$ when compared with control baseline). **F**, Inset, Mean variance analysis indicates mainly a postsynaptic origin of the Hebbian LFS-induced LTD. The gray arrows indicate the stimulation protocols.

term synaptic efficacy changes induced by either HFS or LFS were efficiently counteracted by application of the stimulation protocol eliciting the opposite form of plasticity. Remarkably, no significant difference was observed between EPSC amplitudes in control situations and those recorded on the same cell after either a sequence of LTP followed by LTD ($n = 6$) or LTD followed by an LTP ($n = 6$) (Fig. 5E). Interestingly, such bidirectional plasticity occurred in non-Hebbian as well as Hebbian modes (Fig. 5E). These observations revealed the existence of efficient homeostatic mechanisms at corticostriatal synapses, allowing a re-setting of synaptic weights and thereby avoiding synaptic saturation.

Reversed spike-timing dependent plasticity

According to several studies performed in structures such as the hippocampus and the cerebral cortex, the temporal relationship between activity in presynaptic and postsynaptic elements constitutes a determinant factor for the induction of synaptic plasticity (Debanne et al., 1994, 1998; Magee and Johnston, 1997; Markram et al., 1997; Bi and Poo, 1998; Egger et al., 1999; Feldman, 2000; Sjostrom et al., 2001; Froemke and Dan, 2002; Tzou-

nopoulos et al., 2004) (for review, see Dan and Poo, 2004). Therefore, we examined the influence of the temporal relationship between the discharges of SONs and the activation of their cortical afferences on the induction of long-term plasticity. For this purpose, an AP was evoked in the recorded SON by applying a suprathreshold depolarizing current pulse either before or after the stimulation of cortical afferences. This pairing protocol was repeated 100 times at 1 Hz frequency. An LTP was mainly observed when an AP was triggered in the target SON before the cortical stimulus (Fig. 6A, post-pre protocol, B, E). LTP induction occurred with a success rate of 53% ($n = 15$) for time intervals from -7 to -40 ms (minus sign indicates that postsynaptic AP precedes the presynaptic cortical stimulation). The potentiation of EPSC amplitude estimated at 45 min after the application of this spike-timing “post-pre” protocol ranged from 87 to 253%, with a mean value of $141 \pm 17\%$ ($n = 15$). This value was significantly different from the baseline recorded in control ($p < 0.05$) (see averaged baseline data of the post-pre experiments in Fig. 6E) ($n = 15$). No synaptic efficacy changes were observed when the time interval was higher than -30 ms. Conversely, an LTD was induced (Fig. 6D, E) when the SON discharge was triggered

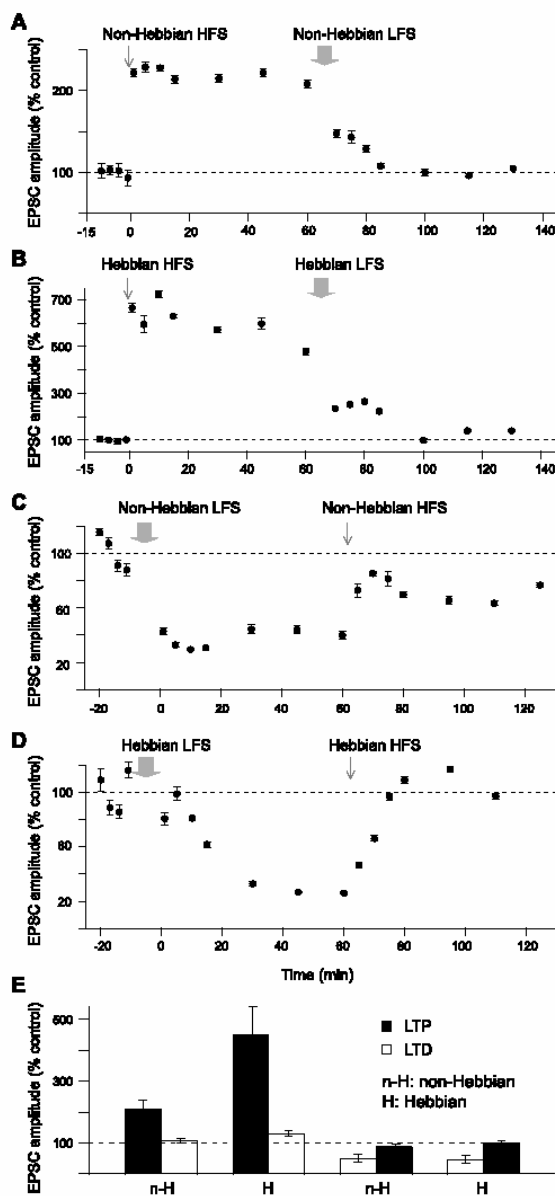


Figure 5. Homeostatic plasticity of corticostriatal transmission. **A**, Representative experiment of a combination of a non-Hebbian HFS followed by a non-Hebbian LFS. The non-Hebbian HFS induced a potentiation of the EPSC amplitude of $222 \pm 3\%$ (estimated at 45 min), and the subsequent non-Hebbian LFS induced a depression of -12.6% . The EPSC amplitudes measured at 130 min returned to $96 \pm 1\%$ of the control. These values were not significantly different from those recorded in control. **B**, Representative experiment of a combination of a Hebbian HFS followed by a Hebbian LFS. Hebbian HFS induced an LTP with a potentiation of the EPSC amplitude of $598 \pm 15\%$ (estimated at 45 min). The subsequent Hebbian LFS induced a depression of -45.8% , and EPSC amplitudes measured at 130 min returned to $140 \pm 2\%$ of the control. **C**, Representative experiment of a non-Hebbian LFS followed by a non-Hebbian HFS. Non-Hebbian LFS induced an LTD with a depression of the EPSC amplitude of $-66 \pm 1\%$ (estimated at 45 min). The subsequent Hebbian HFS induced a potentiation of 33% , with EPSC amplitudes measured at 125 min representing $77 \pm 1\%$ of the control. **D**, Representative experiment of a Hebbian LFS followed by a Hebbian HFS. Hebbian LFS induced an LTD with a depression of the EPSC amplitude of $-73 \pm 1\%$ (estimated at 45 min), and the subsequent

after the cortical stimulation (Fig. 6C, pre-post protocol). This LTD occurred with a success rate of 67% ($n = 12$) for time intervals between 5 and 37 ms. The mean EPSC amplitudes estimated at 45 min after the spike-timing “pre-post” protocol ranged from 24 to 117%. The corresponding mean value of EPSC depression was $-25 \pm 9\%$ ($n = 12$). This value was significantly different from the baseline recorded in control ($p < 0.05$) (see averaged baseline data of the pre-post experiments in Fig. 6E) ($n = 12$). No synaptic efficacy changes were observed when the time interval between the cortical stimulation and the SON discharge was higher than +30 ms. Mean variance analysis of the cortically evoked synaptic events indicated that the spike-timing-dependent LTP arose mainly from the presynaptic element and the spike-timing-dependent LTD had mainly a postsynaptic origin (Fig. 6E). As illustrated in the representative experiments (Fig. 6B, D), the STDP-induced plasticities displayed a longer delay before being fully established when compared with those induced by HFS and LFS protocols. In STDP protocols, being less drastic than HFS and LFS protocols, long-term synaptic efficacy changes might be induced by more subtle intracellular mechanisms, which need longer delays to be fully established.

LTP was induced in SONs when the SON discharge preceded cortical stimulation, whereas LTD was observed when the SON discharge followed the cortical stimulation (Fig. 6E). Interestingly, such responses indicated that the corticostriatal transmission exhibits specific features of STDP because opposite forms of plasticity were found in the other brain structures studied so far in mammals. Indeed, in these structures, an LTP was observed when the discharge of the postsynaptic element followed the activation of the presynaptic element, whereas an LTD occurred when the postsynaptic stimulation preceded the presynaptic stimulation (Debanne et al., 1994, 1998; Magee and Johnston, 1997; Markram et al., 1997; Bi and Poo, 1998; Egger et al., 1999; Feldman, 2000; Sjostrom et al., 2001; Froemke and Dan, 2002; Tzounopoulos et al., 2004) (for review, see Dan and Poo, 2004).

Discussion

Studies of corticostriatal plasticities required setting up appropriate conditions to record a genuine corticostriatal transmission. Until now, *in vitro* corticostriatal transmission has been studied indirectly by stimulating in either the corpus callosum or the striatum itself. In addition to activate corticostriatal fibers, such stimulations also recruit extracortical afferences of striatal neurons (GABAergic, serotonergic, dopaminergic, cholinergic, and noradrenergic) that could orientate plasticity toward either LTP or LTD. Here, we show that stimulations of the somatosensory cortex triggered reliable monosynaptic glutamatergic EPSCs on SONs. The absence of ionic and pharmacological modifications has allowed us to investigate corticostriatal plasticities in a physiological situation that preserves the functionality of the local intrastriatal microcircuits normally involved in the processing of cortical signals.

Hebbian HFS induced a potentiation of 70%. The EPSC amplitudes measured at 110 min returned to $97 \pm 1\%$ of the control. This value was not significantly different from the one recorded in control. **E**, Evaluation of the homeostatic plasticity (average of 3 experiments for each combination). In all cases, the second induced plasticity fully counteracted the first one. The amplitudes of EPSCs measured at the end of the second induced plasticity returned to values not significantly different from those of the control. The gray arrows indicate the stimulation protocols.

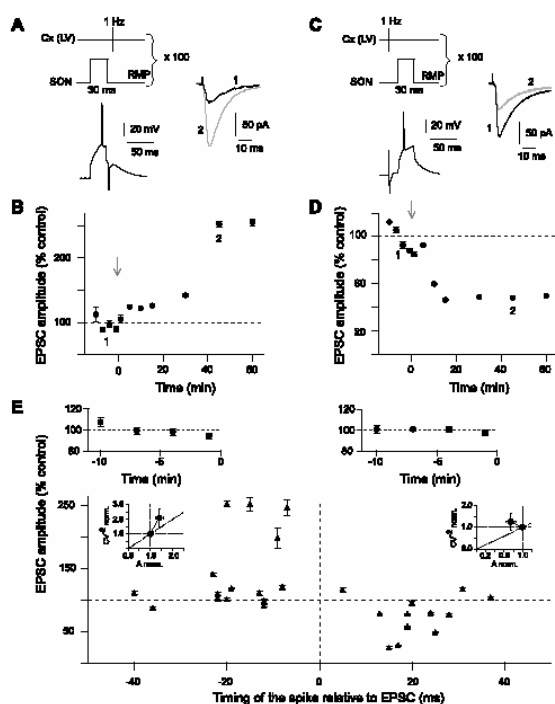


Figure 6. Corticostriatal spike-timing-dependent plasticity. **A**, Post-pre STDP protocol: an AP was evoked in SON (postsynaptic) before the cortical stimulation (100 stimulations at 1 Hz). Raw traces illustrate the potent increase of the EPSCs mean amplitudes 45 min after the STDP post-pre induction (2, gray trace) compared with the control (1, black trace). Traces were taken from the experiment shown in **B**. **B**, Representative experiment of a significant ($p < 0.0001$) LTP induced by the post-pre STDP protocol ($2.53 \pm 5\%$ at 45 min after protocol induction). **C**, Pre-post STDP protocol in which an AP is evoked in SON (postsynaptic) after the cortical stimulation (100 stimulations at 1 Hz). Raw traces illustrate the potent decrease of the EPSC mean amplitudes 45 min after the STDP pre-post induction (2, gray trace) compared with the control (1, black trace). Traces were taken from the experiment shown in **D**. **D**, Representative experiment of a significant ($p < 0.0001$) LTD induced by the pre-post STDP protocol ($-52 \pm 1\%$ at 45 min after protocol induction). **E**, Spike-timing-dependent changes in synaptic efficacy estimated 45 min after STDP induction (each recorded SON is indicated by a black triangle). Top graphs show the average of the normalized EPSC amplitudes recorded in control before post-pre (top left graph) and pre-post (top right graph) protocols ($n = 15$ and $n = 12$, respectively); note the low variability of the control baseline. When an AP was evoked before the cortical stimulation (from -7 to -40 ms), a significant ($p < 0.05$) LTP ($141 \pm 17\%$; $n = 15$) occurred. No more LTP was observed when the timing of the evoked spike relative to cortical stimulation was more than -30 ms. When an AP was evoked after the cortical stimulation (from $+5$ to $+37$ ms), a significant ($p < 0.05$) LTD ($-25 \pm 9\%$; $n = 12$) occurred. No more LTD was observed for timing >30 ms. **E**, Insets, Normalized CV^{-2} were plotted as a function of the normalized EPSC amplitude to determine the loci of the STDP. LTP is mainly underlain by presynaptic mechanisms, and LTD has mainly a postsynaptic origin. The gray arrows indicate the stimulation protocols. Cx(LV), Cortical layer V.

LTP, LTD, and homeostatic plasticity at corticostriatal synapses

As already underlined, long-term plasticity at corticostriatal synapses is still under debate (Calabresi et al., 1996; Mahon et al., 2004). Indeed, pioneering studies *in vitro* suggested that LTD was the major form of corticostriatal plasticity (Calabresi et al., 1992a; Lovinger et al., 1993; Ronesi and Lovinger, 2005). In addition, LTP was thought to be pathological because it was necessary to remove Mg^{2+} to observe this response (Calabresi et al., 1992b). The occurrence of LTD or LTP was dependent on experimental conditions: *in vitro* versus *in vivo*, stimulation protocols, dopa-

minergic tone, localization of the striatal recording site, and magnesium block of NMDA receptors. In studies *in vitro*, LTD was induced with either HFS (Calabresi et al., 1992a; Lovinger et al., 1993) or LFS (10 Hz) (Ronesi and Lovinger, 2005). In experiments *in vivo*, LTD has also been observed using HFS (Reynolds and Wickens, 2000), whereas LTP was shown after HFS (Charpier and Deniau, 1997), LFS (5 Hz) (Charpier et al., 1999), or hyperdopaminergic (Reynolds and Wickens, 2000). Moreover, the occurrence of LTD or LTP depended on the striatal region and development because they were observed in distinct striatal area and not at the same period during ontogenesis (Partridge et al., 2000; Smith et al., 2001). However, the occurrence of both plasticities in the same conditions has never been reported. Consequently, this raises also the central question of the existence of homeostatic processes at these synapses.

Here, using a slice preparation preserving corticostriatal connections, we report the occurrence of both LTP and LTD at the same synapses and in the same experimental conditions. The evoked plasticity forms depended exclusively on the type of stimulation protocols applied. LTP was elicited by HFS and LTD by LFS protocols. Here, we report the existence of bidirectional plasticity induced by non-Hebbian as well as Hebbian stimulation protocols at the same synapses. According to Hebb's postulate, if an association of neuronal events induces a Hebbian plasticity, each single event should be neutral. Hebb's postulate has been extended to example studies reporting the coexistence of Hebbian and non-Hebbian plasticities at the same synapses (Alonso et al., 1990; Urban and Barrionuevo, 1996; Murphy and Glanzman, 1997; Bao et al., 1998) (for review, see Lechner and Byrne, 1998; Sejnowski, 1999; Bi and Poo, 2001). At corticostriatal synapses, a non-Hebbian mode mimics a situation of subthreshold cortical inputs. In contrast, a Hebbian stimulation protocol mimics the synchronization of cortical inputs, from the same or different cortical areas, leading thus to a suprathreshold depolarization of SONs. Studies performed in other brain structures report that non-Hebbian protocols either fail (Baranyi and Fehér, 1981; Gustafsson et al., 1987) or induce plasticity with lower magnitude than Hebbian protocols (Alonso et al., 1990; Urban and Barrionuevo, 1996). Therefore, we investigated whether LTP and LTD induced by Hebbian protocols displayed larger synaptic efficacy changes than those induced by non-Hebbian protocols. Surprisingly, in our experiments, LTP and LTD were evoked in the same range of synaptic efficacy changes using both non-Hebbian and Hebbian protocols. This indicates that SONs can develop robust long-term plasticities not only when they are first depolarized by other excitatory inputs but also when they are at a resting state. It should be noted that, because of the highly branched dendritic architecture of the SONs, a space-clamp effect could occur. Nevertheless, Carter and Sabatini (2004) have reported that an absence of stimulation never induced any calcium variation at the SON dendritic level, whereas suprathreshold depolarization triggered a calcium rise in the dendrites. Accordingly, it can be assumed that the evoked somatic suprathreshold depolarization used in Hebbian protocol may backpropagate until corticostriatal dendritic connections. Therefore, the similar synaptic efficacy changes triggered by non-Hebbian and Hebbian modes indicate that the main element to induce long-term plasticity could be the frequency of cortical inputs, whatever the SON membrane potential.

Another major observation of our study is that sequences of LTP-LTD and LTD-LTP revealed the existence of efficient homeostatic processes, allowing the resetting of synaptic efficacy changes and thus avoiding synaptic saturation. This means that

corticostriatal transmission efficacy can easily return to a naive state, allowing SONs to be fully receptive to subsequent synaptic efficacy modifications. Such an observation is coherent with the role of corticostriatal transmission in sensorimotor learning. Indeed, corticostriatal transmission needs to be highly plastic to take into account environmental variations and to deliver appropriate signals toward basal ganglia output nuclei to produce adapted cognitivomotor responses.

Reversed STDP at corticostriatal synapses

The temporal relationship between cortical activity and SON discharge was explored using STDP protocols. Our results provide the first evidence that corticostriatal network expresses STDP forms that are reversed to those observed so far in different mammalian brain structures (Magee and Johnston, 1997; Markram et al., 1997; Bi and Poo, 1998; Debanne et al., 1998; Egger et al., 1999; Feldman, 2000; Sjostrom et al., 2001; Froemke and Dan, 2002; Dan and Poo, 2004; Tzounopoulos et al., 2004). An LTP occurred when the SON AP happened before a cortical stimulation, whereas an LTD was observed when an AP was triggered in an SON after a cortical stimulation. To ascertain that such a reversed STDP was not attributable to our experimental conditions, comparative experiments were performed in the cerebral cortex. Corticocortical STDP (with pyramidal cells of layer II/III as presynaptic elements and pyramidal cells of layer V as postsynaptic elements) displayed the “classical” bidirectional plasticity: LTP when the presynaptic stimulation preceded the postsynaptic stimulation and LTD in the reverse situation (data not shown). As for corticostriatal transmission, reversed STDP have also been described in the cerebellum-like structure of the electric fish (Bell et al., 1997) and in the cartwheel cells of the dorsal cochlear nucleus of mammals (Tzounopoulos et al., 2004), but, in the latter case, this was only a partial reversed STDP (pre–post induced LTD, whereas no plasticity was observed for post–pre protocols).

Mechanisms underlying STDP remain under investigations (Bi and Poo, 1998; Koester and Sakmann, 1998; Goldberg et al., 2002; Froemke et al., 2005) (for review, see Dan and Poo, 2004). Several experimental and theoretical attempts were made to evaluate the impact of different parameters on STDP. In fact, the amplitude and broadness of STDP can be modulated by several factors, such as the dendritic location of the stimulation (Froemke et al., 2005), the shape of the postsynaptic depolarization, the RMP (Saudargiene et al., 2005), and the number of coincidence detectors (density of NMDA receptors) (Karmarkar and Buonomano, 2002). However, when considered separately, none of these factors were shown to be determinant for the observation of a reversed STDP. It is conceivable that several combined factors contribute to the STDP orientation. First, the nature of the neurons (excitatory vs inhibitory) could orientate STDP. For instance, studies reporting reversed STDP (Bell et al., 1997) and partial reversed STDP (Tzounopoulos et al., 2004) involve inhibitory neurons. Second, the architecture of dendritic trees could also play a major role in the shaping of the STDP (Goldberg et al., 2002). Accordingly, SONs exhibit a very hyperpolarized RMP, are GABAergic, and have a highly branched spiny dendritic tree, which receive cortical glutamatergic afferences at a proximal level. The combination of these factors could underlie the reversed STDP observed at the corticostriatal transmission. As shown previously *in vivo*, corticostriatal synapses exhibit a form of short-term intrinsic memory by which an SON spike discharge increases corticostriatal transmission via a change in membrane conductances (Mahon et al., 2003). The present demonstration

of LTP with a post–pre protocol provides an additional mechanism by which inputs paired to a previous suprathreshold synaptic activation can be reinforced. This mechanism may be essential for the role of the striatum in learning of motor sequences in which sensory and motor events are associated in a precise time sequence.

For years, LTD was considered as the unique physiological form of activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. Our results demonstrate in the same conditions the occurrence of both LTP and LTD at these synapses. These findings reconcile the corticostriatal plasticity with the general features of plasticity observed in the CNS. Moreover, the bidirectional plasticity observed in our study underlies the existence of efficient homeostatic corticostriatal plasticity. Finally, the reversed STDP observed at corticostriatal synapses appears to be a specific feature of these synapses.

References

- Alonso A, de Curtis M, Llinas R (1990) Postsynaptic Hebbian and non-Hebbian long-term potentiation of synaptic efficacy in the entorhinal cortex in slices and in the isolated adult guinea pig brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9280–9284.
- Bao JX, Kandel ER, Hawkins RD (1998) Involvement of presynaptic and postsynaptic mechanisms in a cellular analog of classical conditioning at *Aplysia* sensory-motor neuron synapses in isolated cell culture. *J Neurosci* 18:458–466.
- Baranyi A, Fehér O (1981) Synaptic facilitation requires paired activation of convergent pathways in the neocortex. *Nature* 290:413–415.
- Bell CC, Han VZ, Sugawara Y, Grant K (1997) Synaptic plasticity in a cerebellum-like structure depends on temporal order. *Nature* 387:278–281.
- Bi GQ, Poo MM (1998) Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci* 18:10464–10472.
- Bi GQ, Poo MM (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb’s postulate revisited. *Annu Rev Neurosci* 24:139–166.
- Calabresi P, Misgeld U, Dodt HU (1987) Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. *Neuroscience* 20:293–303.
- Calabresi P, Maj R, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992a) Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci* 12:4224–4233.
- Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992b) Long-term potentiation in the striatum is unmasked by removing the voltage-dependent magnesium block of NMDA receptor channels. *Eur J Neurosci* 4:929–935.
- Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1996) The corticostriatal projection: from synaptic plasticity to dysfunctions of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 19:19–24.
- Carter AG, Sabatini BL (2004) State-dependent calcium signalling in dendritic spines of striatal medium spiny neurons. *Neuron* 44:483–493.
- Charpier S, Deniau JM (1997) *In vivo* activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:7036–7040.
- Charpier S, Mahon S, Deniau JM (1999) *In vivo* induction of striatal long-term potentiation by low-frequency stimulation of the cerebral cortex. *Neuroscience* 91:1209–1222.
- Clements JD, Silver RA (2000) Unveiling synaptic plasticity: a new graphical and analytical approach. *Trends Neurosci* 23:105–113.
- Dan Y, Poo MM (2004) Spike timing-dependent plasticity of neural circuits. *Neuron* 44:23–30.
- Debanne D, Gähwiler BH, Thompson SM (1994) Asynchronous pre- and postsynaptic activity induces associative long-term depression in area CA1 of the rat hippocampus *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1148–1152.
- Debanne D, Gähwiler BH, Thompson SM (1998) Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *J Physiol (Lond)* 507:237–247.
- Egger V, Feldmeyer D, Sakmann B (1999) Coincidence detection and

- changes of synaptic efficacy in spiny stellate neurons in rat barrel cortex. *Nat Neurosci* 2:1098–1105.
- Faber DS, Korn H (1991) Applicability of the coefficient of variation method for analyzing synaptic plasticity. *Biophys J* 60:1288–1294.
- Feldman DE (2000) Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron* 27:45–56.
- Froemke RC, Dan Y (2002) Spike-timing-dependent synaptic modification induced by natural spike trains. *Nature* 416:433–438.
- Froemke RC, Poo MM, Dan Y (2005) Spike-timing-dependent synaptic plasticity depends on dendritic location. *Nature* 434:221–225.
- Goldberg J, Holthoff K, Yuste R (2002) A problem with Hebb and local spikes. *Trends Neurosci* 25:433–435.
- Graybiel AM (1995) Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 5:733–741.
- Graybiel AM, Aosaki T, Flaherty AW, Kimura M (1994) The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265:1826–1831.
- Gustafsson B, Wigström H, Abraham WC, Huang YY (1987) Long-term potentiation in the hippocampus using depolarizing current pulses as the conditioning stimulus to single volley synaptic potentials. *J Neurosci* 7:774–780.
- Karmarkar UR, Buonomano DV (2002) A model of spike-timing dependent plasticity: one or two coincidence detectors? *J Neurophysiol* 88:507–513.
- Kawaguchi Y, Wilson CJ, Emson PC (1989) Intracellular recording of identified neostriatal patch and matrix spiny cells in a slice preparation preserving cortical inputs. *J Neurophysiol* 62:1052–1068.
- Koester HJ, Sakmann B (1998) Calcium dynamics in single spines during coincident pre- and postsynaptic activity depend on relative timing of back-propagating action potentials and sub-threshold excitatory postsynaptic potentials. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9596–9601.
- Lechner HA, Byrne JH (1998) New perspectives on classical conditioning: a synthesis of Hebbian and non-Hebbian mechanisms. *Neuron* 20:355–358.
- Levesque M, Parent A (1998) Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prefrontal cortex in the rat. *Cereb Cortex* 8:602–613.
- Lovinger DM, Tyler EC, Merritt A (1993) Short- and long-term synaptic depression in rat neostriatum. *J Neurophysiol* 70:1937–1949.
- Magee JC, Johnston D (1997) A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science* 275:209–213.
- Mahon S, Casassus G, Mülle C, Charpier S (2003) Spike-dependent intrinsic plasticity increases firing probability in rat striatal neurons in vivo. *J Physiol (Lond)* 550:947–959.
- Mahon S, Deniau JM, Charpier S (2004) Corticostriatal plasticity: life after the depression. *Trends Neurosci* 27:460–467.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5–21.
- Markram H, Lübke J, Frotscher M, Sakmann B (1997) Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science* 275:213–215.
- Murphy GG, Glanzman DL (1997) Mediation of classical conditioning in *Aplysia californica* by long-term potentiation of sensorimotor synapses. *Science* 278:467–471.
- Nisenbaum ES, Wilson CJ (1995) Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J Neurosci* 15:4449–4463.
- Partridge JG, Tang KC, Lovinger DM (2000) Regional and postnatal heterogeneity of activity-dependent long-term changes in synaptic efficacy in the dorsal striatum. *J Neurophysiol* 84:1422–1429.
- Paxinos G, Watson C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic.
- Reynolds JN, Wickens JR (2000) Substantia nigra dopamine regulates synaptic plasticity and membrane potential fluctuations in the rat neostriatum, in vivo. *Neuroscience* 99:199–203.
- Ronesi J, Lovinger DM (2005) Induction of striatal long-term synaptic depression by moderate frequency activation of cortical afferents in rat. *J Physiol (Lond)* 562:245–256.
- Saudargiene A, Porr B, Worgotter F (2005) Local learning rules: predicted influence of dendritic location on synaptic modification in spike-timing-dependent plasticity. *Biol Cybern* 92:128–138.
- Sejnowski TJ (1999) The book of Hebb. *Neuron* 24:773–776.
- Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2001) Rate, timing, and cooperativity jointly determine cortical synaptic plasticity. *Neuron* 32:1149–1164.
- Smith R, Musleh W, Akopian G, Buckwalter G, Walsh JP (2001) Regional differences in the expression of corticostriatal synaptic plasticity. *Neuroscience* 106:95–101.
- Tzounopoulos T, Kim Y, Oertel D, Trussell LO (2004) Cell-specific, spike timing-dependent plasticities in the dorsal cochlear nucleus. *Nat Neurosci* 7:719–725.
- Urban N, Barrionuevo G (1996) Induction of Hebbian and non-Hebbian mossy fiber long-term potentiation by distinct patterns of high-frequency stimulation. *J Neurosci* 16:4293–4299.
- Venance L, Glowinski J, Giaume C (2004) Electrical and chemical transmission between striatal GABAergic output neurons in rat brain slices. *J Physiol (Lond)* 559:215–230.
- Wickens JA (1993) *Theory of the striatum*. Oxford: Pergamon.
- Wilson CJ (1995) *Models of information processing in the basal ganglia*. Cambridge, MA: MIT.

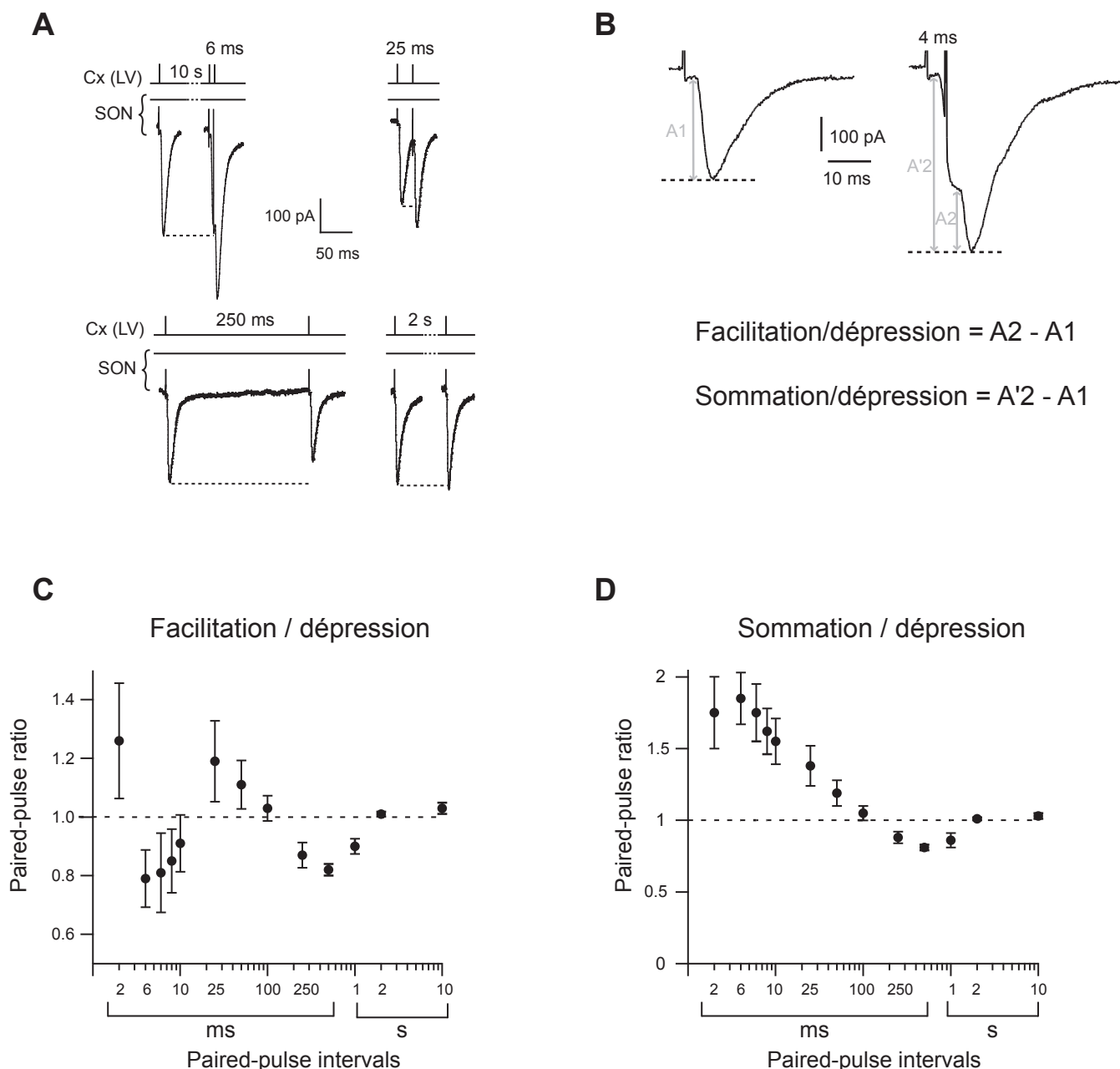


Figure complémentaire 1. Plasticité à court-terme au niveau des NETM.

A: Exemples d'EPSCs évoqués par des doubles chocs espacés de 6, 25 ou 250 ms ou 2 secondes. **B:** Mode de calcul de la facilitation/dépression et des phénomènes de sommation/dépression. **C:** Les protocoles de double-chocs n'induisent pas de facilitation significative pour des intervalles de temps courts (<250 ms) mais révèlent une dépression significative pour les intervalles de temps 250, 500 ms et 1 seconde. **D:** A l'inverse, les protocoles de doubles-chocs montrent des sommations efficaces et significatives pour des intervalles de temps courts, entre 2 et 25 ms et une dépression significative pour les intervalles 250, 500 ms et 1 seconde.

Résultats complémentaires :

1. Plasticité cortico-striatale à court-terme

Nous avons étudié l'influence de la fréquence des entrées corticales sur la transmission cortico-striatale et sur la plasticité à court-terme pouvant se développer en utilisant des protocoles de double-chocs. *In vivo*, les NETM reçoivent des entrées corticales dans une gamme de fréquence très étendue. Pour cette raison, nous avons choisi de tester un large panel d'intervalles de temps : 2, 4, 6, 8, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ms et 1, 2, 10 secondes (Figure complémentaire 1). Nous avons différencié les phénomènes de facilitation/dépression entraînés par les protocoles de double-chocs des phénomènes de sommation. Le mode de mesure est explicité dans la figure complémentaire 1B. Pour les intervalles de 1 ms à 100 ms, aucune plasticité à court-terme significative n'a été observée. Une dépression significative est induite pour les intervalles 250, 500 ms et 1 seconde ($p < 0.05$, $n=7$). La dépression était de $-13 \pm 4\%$ pour 250 ms, $-18 \pm 2\%$ pour 500 ms et $-10 \pm 3\%$ pour 1 seconde ($n=7$). Au-delà de 2 secondes, les doubles-chocs n'induisent plus de plasticité à court-terme ($+1 \pm 1\%$, $n=7$) (Figure complémentaire 1C). Si les intervalles courts n'induisent pas de plasticité synaptique significative, nous avons tout de même systématiquement observé une sommation significative des EPSCs pour les intervalles courts (de 2 à 25 ms) ($p < 0.01$) (Figure complémentaire 1D). Par exemple, la sommation était de $+85 \pm 18\%$ pour un intervalle de 4 ms et $+38 \pm 14\%$ pour un intervalle de 25 ms ($n=7$). Une dépression significative est induite dans les mêmes cellules pour les intervalles 250, 500 ms et 1 seconde ($p < 0.05$) et les intervalles au-delà de 2 secondes n'induisent plus de changements d'efficacité synaptique à court-terme ($+3 \pm 2\%$, $n=7$).

2. Récepteurs impliqués dans la STDP des NETM

Afin de mieux caractériser les mécanismes sous-tendant la STDP au niveau des NETM, nous avons cherché à déterminer les récepteurs impliqués dans la mise en place de la LTP ou de la LTD. Les expériences de pharmacologie ont été faites pour $-30 < \Delta t < +30$ ms car ces intervalles de temps correspondent à l'occurrence

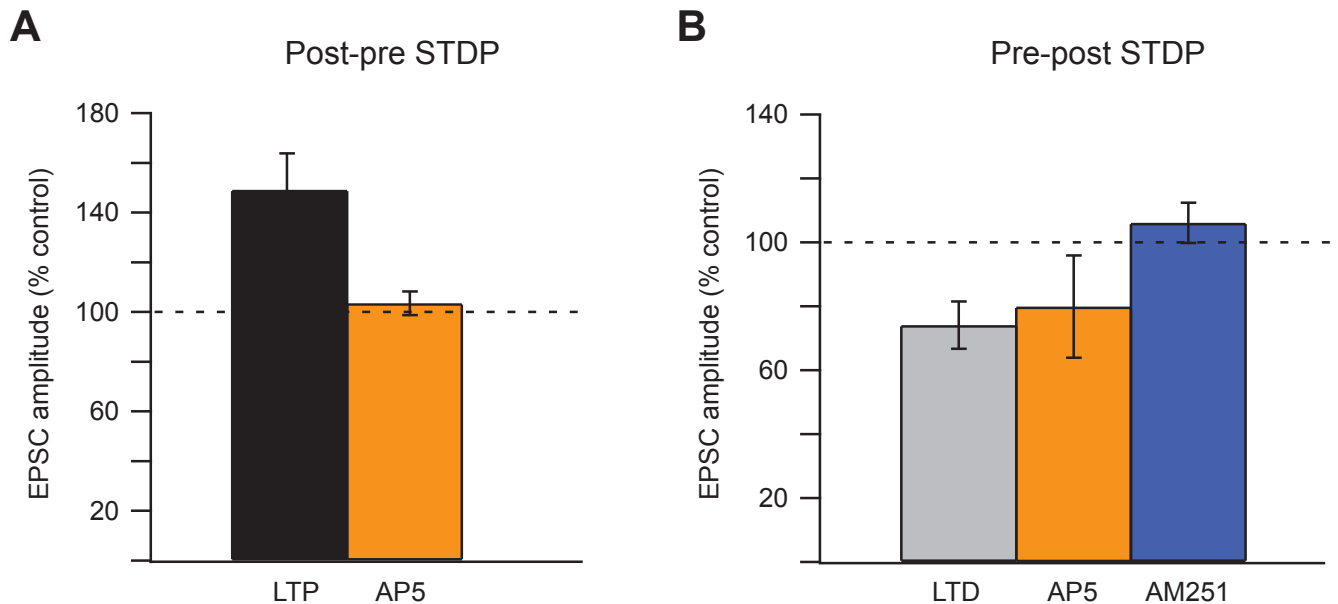


Figure complémentaire 2. Mécanismes d'induction de la STDP au niveau des synapses cortico-striatales.

A: Histogramme représentant les plasticités induites par les protocoles post-pré dans des conditions contrôles (barre noire, n=8) et en présence d'AP5 50 μ M (barre orange, n=5). En condition contrôle, les protocoles post-pré induisent une LTP (149.1 ± 14.6 %) et en présence d'AP5, aucune plasticité n'est induite (103.5 ± 4.8 %). La LTP est donc dépendante de l'activation des récepteurs NMDA. **B:** Histogramme représentant les plasticités induites par les protocoles pré-post dans des conditions contrôles (barre grise, n=13) et en présence d'AP5 50 μ M (barre orange, n=5) ou d'AM251 3 μ M (barre violette, n=5). En condition contrôle, les protocoles pré-post induisent une LTD (-25.1 ± 7.5 %). En présence d'AP5, la LTD est toujours présente (-20.1 ± 16.0 %) tandis que l'application d'AM251 bloque son induction (106.1 ± 6.3 %). La LTD est donc dépendante de l'activation des récepteurs CB1.

maximale d'induction de la LTP par des protocoles post-pré ($-30 < \Delta t < 0$ ms) ou de la LTD par des protocoles pré-post ($0 < \Delta t < +30$ ms). Les drogues sont appliquées 10 minutes avant le protocole de conditionnement cellulaire et restent dans le milieu jusqu'à la fin de l'enregistrement. Les protocoles post-pré induisent de la LTP et la moyenne de la potentialisation de l'amplitude des EPSCs est de 149.1 ± 14.6 % ($n=18$). Lorsque l'on applique de l'AP5 (un antagoniste des récepteurs NMDA, $50 \mu\text{M}$), on n'observe plus de LTP. La moyenne de l'amplitude des EPSCs obtenue est de 103.5 ± 4.8 % ($n=5$) et n'est pas significativement différente de la ligne de base ; ceci indique une absence de plasticité à long-terme induite par les protocoles post-pré en présence d'AP5. Les protocoles pré-post induisent de la LTD et la moyenne de la dépression de l'amplitude des EPSCs est de -25.1 ± 7.5 % ($n=13$). L'application d'AP5 ne bloque pas significativement l'induction de la LTD (-20.1 ± 16.0 %, $n=5$). A l'inverse, l'AM251 ($3 \mu\text{M}$) (un inhibiteur des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1, CB1) bloque l'induction de la LTD car la moyenne de l'amplitude des EPSCs obtenue (106.1 ± 6.3 %, $n=5$) n'est pas significativement différente de la ligne de base. En conclusion, la STDP des NETM impliquerait deux mécanismes différents : la LTP serait sous-tendue par l'activation des récepteurs NMDA alors que la LTD serait dépendante de l'activation des récepteurs CB1.

Résumé et discussion

Le point majeur de cette étude est la description d'une plasticité synaptique bidirectionnelle au niveau des synapses cortico-striatales dans les mêmes conditions expérimentales : l'induction de la LTP ou la LTD dépend exclusivement de la fréquence d'activation du cortex ou de la coïncidence temporelle entre l'activité corticale et l'activité striatale.

Dans cette étude, nous avons tout d'abord développé une tranche de cerveau de rat qui permet de conserver intactes les afférences depuis les corps cellulaires des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel, jusqu'à leurs terminaisons dans le striatum dorsal adjacent. Grâce à ce modèle expérimental, nous avons pu stimuler électriquement et spécifiquement les cellules pyramidales dans la couche V du cortex et enregistrer les réponses évoquées dans les NETM dans le striatum adjacent. Nous avons observé que cette transmission est monosynaptique et glutamatergique.

Nous avons ensuite exploré les formes de plasticité synaptique pouvant se développer au niveau de ces synapses. Une LTP est induite en réponse à une stimulation haute fréquence du cortex et une LTD en réponse à une stimulation à basse fréquence. Il est à noter que l'induction de ces plasticités est aussi efficace en terme d'occurrence et d'amplitude en modes Hebbien et non-Hebbien. Des séquences de LTP suivie de LTD ou vice-versa ont permis de mettre en évidence que les deux formes de plasticité peuvent se développer au niveau d'un même NETM et cette co-existence permet une homéostasie efficace à ces synapses.

Enfin, nous avons étudié l'effet de la relation temporelle entre l'activité corticale et l'activité striatale grâce à des protocoles de STDP. Une LTP était induite si un PA était émis dans le NETM avant la stimulation corticale (protocole post-pré) et une LTD était induite lors de la séquence inverse (protocole pré-post). De façon surprenante, cette orientation de la STDP au niveau des synapses cortico-striatales est inversée par rapport à celles décrites jusqu'ici dans d'autres structures cérébrales chez les mammifères.

Plasticité bidirectionnelle des synapses cortico-striatales

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 6 des Rappels Bibliographiques, bien que faisant l'objet d'un consensus, les formes de plasticité synaptique pouvant se développer au niveau des synapses cortico-striatales posaient tout de même un certain nombre de questions. En effet, les études *in vitro* ont montré que la forme prépondérante de plasticité (et donc « physiologique ») était la LTD et que la LTP devait être globalement une forme pathologique (Calabresi et al, 1996 ; Mahon et al., 2004). Jusqu'ici les études *in vitro* stimulaient les afférences cortico-striatales soit dans le corps calleux, soit directement dans le striatum. Or, ce type de stimulations peut recruter d'autres afférences que les seules afférences corticales glutamatergiques et ceci influencerait fortement les formes de plasticité induites.

Nous avons donc tout d'abord mis au point une tranche de cerveau dans laquelle les afférences cortico-striatales sont conservées et où il est donc possible de stimuler spécifiquement dans la couche V du cortex somato-sensoriel. Nous avons ainsi montré qu'une stimulation corticale induit une réponse monosynaptique (les SDs des latence sont inférieurs à 1 ms) et glutamatergique (car inhibée par l'AP5 et le CNQX) dans les NETM.

Les expériences de doubles-chocs nous ont permis de mettre en évidence que, quand des entrées corticales contactent un NETM dans une fenêtre de temps courte (≤ 25 ms) les EPSCs induits vont efficacement se sommer. Ceci va permettre aux NETM de se rapprocher du seuil de déclenchement d'un potentiel d'action et donc le faire décharger plus facilement. A l'inverse, si les entrées corticales sont plus dispersées (entre 250 ms et 1 seconde), la transmission d'une seconde entrée sera déprimée par rapport à la première (et ce dans la gamme d'amplitude abordée dans cette étude). L'absence de plasticité à court-terme pour des intervalles au-delà de 2 secondes nous a permis de confirmer que la fréquence de 0.1 Hz n'induisait aucun changement d'efficacité synaptique et pouvait donc être utilisée comme fréquence de stimulation en contrôle dans les expériences de plasticité à long-terme. La plasticité à court-terme observée au niveau des NETM montre leur réactivité et leur propriété de filtre passe-haut des entrées corticales. En effet, les NETM sont silencieux à leur potentiel de repos et, pour décharger, nécessitent une activité corticale de forte amplitude et corrélée dans le temps (Calabresi et al., 1987 ; Nisenbaum et Wilson, 1995). La sommation des EPSCs observée pour des intervalles de temps courts

indique que les NETM favorisent la transmission des fréquences élevées de l'activité corticale alors qu'ils vont filtrer une activité à des fréquences plus faibles. La sommation observée associée à une absence de facilitation renforce la stringence du filtre passe-haut. Ceci va permettre aux NETM de trier et d'intégrer les informations particulièrement importantes de l'environnement par rapport au bruit de fond.

Grâce aux tranches cortico-striatales que nous avons mises au point, nous avons pu observer l'occurrence de la LTP aussi bien que de la LTD au niveau des synapses cortico-striatales, et ce, dans les mêmes conditions expérimentales. La forme de plasticité induite dépend de la fréquence d'activation du cortex : une LTP est induite exclusivement suite à une HFS (100 Hz) et une stimulation LFS (1 Hz) induit uniquement de la LTD. Nous avons observé les deux types de plasticité que ce soit avec un protocole Hebbien ou non-Hebbien. Selon le postulat de Hebb, l'activation concomitante des neurones pré- et post-synaptiques est nécessaire pour induire de la plasticité à long-terme et l'activation de l'un ou l'autre des éléments ne devrait pas avoir de conséquence sur l'efficacité synaptique. Le postulat de Hebb a depuis été confirmé expérimentalement et étendu. En effet, il a été décrit l'occurrence de plasticité Hebbienne et non-Hebbienne au niveau d'une même synapse (Alonso et al., 1990 ; Urban et Barrionuevo, 1996 ; Murphy et Glanzman , 1997 ; Bao et al., 1998). Au niveau des synapses cortico-striatales, il était important de tester les deux formes de plasticité car les modes Hebbien et non-Hebbien reflètent deux états du mode de fonctionnement de la voie corticostriatale. Le mode non-Hebbien mime une situation dans laquelle les entrées corticales n'induisent que des dépolarisations sous-liminales au niveau des NETM pendant qu'un autre cortex est actif. Le mode Hebbien, à l'inverse, mime une synchronisation corticale, d'une même aire ou de plusieurs aires corticales, qui va entraîner des dépolarisations supra-liminales et donc l'émission de potentiels d'action dans les NETM. La majorité des études ayant exploré la co-existence de plasticité Hebbienne et non-Hebbienne au niveau des mêmes synapses ont observé que les protocoles non-Hebbiens ne sont pas capables d'induire de la plasticité synaptique à long-terme (Baranyi et Feher, 1981 ; Gustafsson et al., 1987), ou que cette plasticité non-Hebbienne est d'amplitude moindre que la plasticité Hebbienne (Alonso et al., 1990 ; Urban et Barrionuevo, 1996). Au niveau des synapses cortico-striatales, nous avons observé au contraire que les protocoles non-Hebbien et Hebbien étaient aussi efficaces pour induire de la plasticité à long-terme. Ceci montre que les NETM sont très réactifs et

sont capables d'induire des plasticités de même amplitude qu'ils soient déjà dépolarisés par des entrées synaptiques ou qu'ils soient à leur potentiel de repos.

Homéostasie des synapses cortico-striatales

Les séquences de LTP suivies de LTD ou vice-versa ont permis de mettre en évidence que les deux formes de plasticité co-existent au niveau du même NETM. De plus, cela nous a permis d'observer une homéostasie puissante qui permet de ramener les synapses à un niveau de base après la mise en place d'une augmentation ou d'une diminution de l'efficacité synaptique. Il est à noter que le phénomène d'homéostasie est aussi efficace en mode Hebbien et en mode non-Hebbien. La voie cortico-striatale peut donc rapidement retourner à un état naïf pour être à nouveau réceptive à de nouvelles modifications de l'efficacité synaptique. Les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation sous-tendus par la voie cortico-striatale impliquent que ce processus est indispensable. En effet, elle doit en permanence tenir compte des changements de stimuli environnementaux pour délivrer un message approprié aux structures de sortie des GB qui vont ainsi pouvoir mettre en place un comportement adapté.

STDP inverse au niveau des synapses cortico-striatales

Nous avons pu observer des phénomènes de STDP au niveau des synapses cortico-striatales. De plus, cette STDP constitue la première observation chez les mammifères d'une STDP inverse par rapport à celles décrites jusqu'ici dans d'autres structures cérébrales telles que l'hippocampe ou le cortex (Dan et Poo, 2004 ; 2006). En effet, si le PA est évoqué dans le NETM avant la stimulation des afférences corticales (séquence post-pré), une LTP est induite alors qu'une LTD est induite si la stimulation corticale précède l'émission du PA post-synaptique (séquence pré-post). Comme nous avons été très étonné par cette inversion totale de l'orientation de la STDP cortico-striatale, nous avons voulu nous assurer que cela n'était pas dû à nos conditions expérimentales. Pour cela, nous avons fait des expériences de STDP cortico-corticale en prenant les cellules pyramidales des couches II/III comme les cellules pré-synaptiques et celles de la couche V comme l'élément post-synaptique (dans les mêmes tranches et les mêmes conditions que celles utilisées pour les

expériences de STDP cortico-striatale). Nous avons observé une orientation classique de cette STDP cortico-corticale, c'est-à-dire qu'une séquence post-pré induisait de la LTD et une séquence pré-post de la LTP, excluant ainsi un biais de nos conditions expérimentales.

Une STDP inverse a également été observée dans le lobe électro-sensoriel du poisson électrique (Bell et al., 1997). Dans les interneurons glycinergiques du noyau cochléaire, une STDP partiellement inversée a été décrite puisqu'une séquence pré-post induit de la LTD alors qu'une séquence post-pré n'induit aucune plasticité à long-terme (Tzounopoulos et al., 2004). L'induction d'une LTP par une séquence post-pré que nous avons observée apporte une confirmation qu'une entrée synaptique couplée à un PA émis juste avant va être potentialisée. En effet, il a également été montré *in vivo* que les synapses cortico-striatales développent une forme de plasticité intrinsèque à court-terme basée sur le fait que la décharge d'un NETM augmente l'efficacité de la transmission cortico-striatale via un changement de conductances membranaires (Mahon et al., 2003).

Si l'implication des récepteurs NMDA dans la mise en place de la STDP a été confirmée dans de nombreuses structures cérébrales, d'autres mécanismes soutenant la STDP ont été mis en évidence (Dan et Poo, 2006). Nous avons donc cherché à savoir quels récepteurs étaient impliqués dans la STDP cortico-striatale. Nous avons observé que la LTP dépend de l'activation des récepteurs NMDA et la LTD des récepteurs CB1. Le striatum est une structure cérébrale particulièrement riche en endocannabinoïdes (Freund and Piomelli, 2003). Les endocannabinoïdes agiraient donc comme des messagers rétrogrades et seraient déterminant dans la mise en place de la LTD de manière similaire à ce qui a été observé au niveau du cortex par exemple (bien que pour des séquences inverses) (Sjostrom et al., 2003 ; Bender et al., 2006). D'autres facteurs tels que la localisation dendritique des afférences (Froemke et al., 2005 ; Letzkus et al., 2006) ou le potentiel de membrane (Saudargiene et al., 2005) pourraient influencer l'amplitude ou l'orientation de la STDP. Néanmoins, nous n'avons trouvé aucune corrélation entre le potentiel de repos des NETM et les plasticités induites. En ce qui concerne la localisation des afférences, le cortex contacte l'ensemble de la partie épineuse des dendrites des NETM ; ceci ne pourrait donc pas expliquer une orientation inverse. L'architecture de l'arbre dendritique pourrait aussi jouer un rôle majeur dans l'orientation de la STDP (Goldberg et al., 2002). Les NETM ont un arbre dendritique épineux, très branché et

pas très étendu par rapport aux arbres dendritiques des neurones de l'hippocampe ou du cortex. Cette hypothèse pourrait être un début d'explication mais il semble plus plausible que l'origine de l'orientation inverse de la STDP cortico-striatale soit multifactorielle. Une autre explication pourrait être l'influence de la régulation dopaminergique des NETM. En effet, un modèle basé sur nos données expérimentales indique que l'inversion de la STDP des NETM serait due à un faible taux de dopamine présent dans nos tranches et prédit qu'une plus grande quantité de dopamine inverserait cette orientation (Thivierge et al., 2007).

3. Spécificité cellulaire de la STDP cortico-striatale au niveau des interneurones GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase

***“Corticostriatal cell-specific spike-timing dependent
plasticity on GABAergic and cholinergic interneurons”***

Elodie Fino, Jean-Michel Deniau and Laurent Venance

(soumis)

&

Résultats complémentaires:

- Transmission cortico-striatale au niveau des
interneurones à NO-synthase**
- STDP cortico-striatale au niveau des interneurones à
NO-synthase**

&

Résumé et discussion

Corticostriatal cell-specific spike-timing dependent plasticity on GABAergic and cholinergic interneurons

Abbreviated title: Striatal interneurons STDP

Elodie FINO, Jean-Michel DENIAU and Laurent VENANCE

Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, INSERM U-667, Collège de France, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Corresponding author: L. VENANCE: Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, INSERM U-667, Collège de France, 75231 Paris Cedex 05, France

E-mail: laurent.venance@college-de-france.fr

Tel: +331 44 27 12 26, Fax: +331 44 27 12 60

Keywords: corticostriatal, STDP, cholinergic interneurons, GABAergic interneurons, LTP, LTD

Acknowledgements.

This work was supported by the INSERM, ANR Mecarec and Collège de France.

ABSTRACT

Striatum, the main input nucleus of basal ganglia, is involved in learning of cognitive-motor sequences in response to environmental stimuli. Striatal output neurons (medium spiny neurons, MSNs) integrate cortical activity and the two main classes of interneurons (GABAergic and cholinergic interneurons) tightly regulate the corticostriatal information transfer. We have explored the transmission between cortex and striatal interneurons and their capability to develop activity-dependent long-term plasticity based on the quasi-coincident cortical and striatal activities (spike-timing dependent plasticity, STDP). We have observed glutamatergic monosynaptic connections between cortical cells and both striatal interneurons. Excitatory post-synaptic currents latencies and rise times have indicated that a cortical stimulation activates GABAergic interneurons before cholinergic and both interneurons before MSNs. In addition, we have observed that striatal interneurons are able to develop long-term plasticity and that there is a cell-specificity of STDP among striatal interneurons. Indeed, GABAergic developed a “classical” STDP meaning that post-pre protocols induced long-term depression (LTD) and pre-post protocols induced long-term potentiation (LTP). Cholinergic interneurons displayed a partially reversed STDP: post-pre protocols induced LTP as well as LTD (the induction of either LTP or LTD is correlated with rheobase) and pre-post protocols induced LTD. The cell-specificity of STDP also concerned the receptors activated for the induction of LTP and LTD in GABAergic and cholinergic interneurons: in GABAergic interneurons LTP and LTD required NMDA receptors activation whereas, in cholinergic interneurons, LTP was underlain by NMDA receptors activation and LTD by glutamate metabotropic receptors.

INTRODUCTION

Basal ganglia are involved in learning of contextual cognitive-motor sequences related to environmental stimuli (Wilson, 1995; Graybiel, 2005; Yin and Knowlton, 2006). Striatum, the main input nucleus of basal ganglia, is considered to play a major role in this process. Indeed, the striatum receives glutamatergic inputs from the whole cortex. In turn, it relays the integrated cortical information toward the basal ganglia output nuclei through which it operates a selected activation of behavioral effectors. As learning and memory are believed to be underlain by long-term synaptic efficacy changes (Martin et al., 2000; Martin and Morris, 2002), the corticostriatal long-term plasticity provides a basic mechanism for the function of basal ganglia in implicit form of learning and memory.

Striatum comprises two main neuronal populations: the GABAergic output neurons (medium spiny neurons, MSNs) and the interneurons, composed mainly of GABAergic and cholinergic cells. MSNs are thought to act as coincidence detectors of cortical activity; they require a strong and synchronized cortical activity to discharge. MSNs excitability is further regulated by the striatal interneurons which consequently exert a critical role in cortico-basal ganglia information processing. GABAergic interneurons exert a powerful inhibitory weight on MSNs (Kita, 1996; Plenz and Kitai, 1998; Koos and Tepper, 1999). Because they also receive a direct cortical input (Kita et al., 1990; Lapper et al., 1992; Bennett and Bolam, 1994; Parthasarathy and Graybiel, 1997; Ramanathan et al., 2002; Mallet et al. 2005), they are considered to provide a feed-forward mechanism increasing the selectivity of MSNs responsiveness to cortical inputs. Cholinergic interneurons also receive cortical inputs (Contant et al., 1996; Thomas et al., 2000; Reynolds and Wickens, 2004) and regulate the excitability of MSNs. These cells which fire tonically *in vivo* provide a synchronized signal throughout the striatal network in response to the occurrence of sensory cues predictive of reward (Aosaki et al., 1994; Morris et al., 2004; Apicella, 2007).

The existence of direct cortical inputs to striatal interneurons strengthens the role of these cells in controlling striatal microcircuits as well as corticostriatal information processing. Nevertheless, most of the studies on corticostriatal synaptic transmission have focused on MSNs and consequently the integration of cortical information by

interneurons and the subsequent long-term activity-dependent synaptic plasticity they could develop remain poorly documented.

The temporal relationship between activity in presynaptic and postsynaptic elements is now recognized as a critical factor that can rule the induction of activity-dependent long-term synaptic plasticity, a process named spike-timing dependent plasticity (STDP). In various mammalian brain structures, long-term potentiation (LTP) was induced when postsynaptic activation followed presynaptic activation and long-term depression (LTD) when postsynaptic activation preceded the presynaptic one (Abbott and Nelson, 2000; Bi and Poo, 2001; Sjöström and Nelson, 2002; Dan and Poo, 2004, 2006). Interestingly, we showed that corticostriatal synapses at the level of MSNs constitutes an exception to this rule in mammals since these cells displayed STDP with a reversed orientation (Fino et al., 2005).

In the present study, we investigated the transmission and the activity-dependent long-term plasticity on striatal GABAergic and cholinergic interneurons.

MATERIAL AND METHODS

Electrophysiological recordings

Whole-cell recordings were performed on horizontal brain slices (330 μm) from Sprague-Dawley rats (postnatal days 15-18). Such slices preserved the corticostriatal projections from the pyramidal cells of the somatosensory cortical area to their terminal sites in the adjacent dorsal striatum (Fino et al., 2005). Patch-clamp recordings were made as previously described (Venance et al., 2004; Fino et al., 2005). Briefly, borosilicate glass pipettes of 12-15 $\text{M}\Omega$ resistance contained (mM): 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 0.3 EGTA (adjusted to pH 7.35 with KOH). The composition of the extracellular solution was (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 25 glucose, 25 NaHCO_3 , 1.25 NaH_2PO_4 , 2 CaCl_2 , 1 MgCl_2 , 10 μM pyruvic acid bubbled with 95% O_2 and 5% CO_2 . All recordings were performed at 32°C using a temperature control system (Bioptechs ΔTC3 , Butler, PA, USA) and slices were continuously superfused at 2-3 ml/min with the extracellular solution. Individual neurons were identified using infrared-differential interference contrast microscopy with CCD camera (Hamamatsu C2400-07; Hamamatsu, Japan). Signals were amplified using an EPC9-2 amplifier (HEKA Elektronik, Lambrecht, Germany). Current-clamp recordings were filtered at 2.5 kHz and sampled at 5 kHz and voltage-clamp recordings were filtered at 5 kHz and sampled at 10 kHz using the program Pulse-8.53 (HEKA Elektronik). Series resistance compensation was set to 75-80% ($13.7 \pm 0.9 \text{ M}\Omega$, $n=110$). Off-line analysis was performed using Igor software (Wavemetrics, Lake Oswego, OR, USA). All chemicals were purchased by Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, Illkirch, France) except 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX), DL-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5) and LY341495 (Tocris, Ellisville, MO, USA).

Perforated patch-clamp experiments

Amphotericin B (Sigma-Aldrich) was used to perform perforated patch-clamp experiments. The concentration of amphotericin B in the patch-clamp pipette solution was 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Perforated patch prevent a dialysis of intracellular content and therefore avoid a loss of intracellular molecules that could be involved in long-term plasticity occurrence and maintenance.

Stimulation protocols

Electrical stimulations of the cerebral cortex were performed with a bipolar electrode (Phymep, Paris, France) placed in the layer V of the somatosensory cortex (mean distance from *corpus callosum* 586 ± 10 μm , $n=110$). Electrical stimulations were monophasic and at constant current (Stimulator WPI, Stevenage, United Kingdom), without detectable polarization of electrodes along time. Stimulations intensity was 329.4 ± 13.4 μA in average. There was no significant difference in the current intensities of cortical stimulations between each stimulation protocol group (post-pre and pre-post STDP protocols) and between GABAergic and cholinergic interneurons. This indicates that the orientation of induced synaptic plasticities (LTP vs. LTD) was not related to the stimulation intensity. Currents were adjusted in order to evoke striatal excitatory post-synaptic currents (EPSCs) ranging from 50 to 200 pA amplitudes. Repetitive stimuli were applied at a frequency of 0.1 Hz, a frequency for which no short- or long- term changes in EPSCs amplitudes were induced (Fino et al., 2005).

STDP experiments consisted in time shifting the pre-synaptic stimulation with a post-synaptic action potential (AP) evoked by a direct application of a depolarizing current step. Cortical stimulations and striatal evoked APs were delivered 100 times at 1 Hz. The time interval between pre- and post-synaptic stimulations (Δt) was measured from the stimulation artifact (produced by cortical stimulation and recorded at the level of the striatum) to the peak of the striatal evoked AP. Neurons were recorded for 10 minutes in control and at least for 1 hour after cellular conditioning protocol. Input resistances and injected currents were monitored all along the experiments and variations of these parameters superior to 20% lead to the rejection of the experiment. To investigate STDP pharmacology, we first recorded 10 minutes of control baseline, then drugs were applied in the bath 10 minutes before STDP protocol and remained present continuously until the end of the recording.

Data analysis

All results were expressed as mean \pm SEM and statistical significance was assessed using the Student's t test, the non-parametric Mann-Whitney test when appropriate or the Pearson test for correlations at the significance level (p) indicated. Neuronal input resistance was calculated from voltage responses obtained after injecting a

hyperpolarizing current (-10 pA, 100 ms duration). The amplitude of action potentials was estimated as the potential difference between their voltage threshold (the abrupt increase in slope depolarization) and the peak of the spike waveform. Instantaneous firing frequency was calculated as the reciprocal of the interspike interval. The spike frequency adaptation (SFA) (i.e., a gradual reduction of the firing frequency) was calculated using the formula: adaptation ratio = $F_{\text{final}}/F_{\text{initial}}$, where F_{initial} is the initial spike frequency (1/first interspike) and F_{final} is the average frequency calculated from the two last interspike intervals. To determine the long-term synaptic efficacy changes, EPSC mean amplitudes, measured 60 minutes after the induction protocol, were the average of 25 evoked EPSCs (each 25 EPSC was normalized to the mean of EPSC amplitudes recorded before induction protocol). Synaptic efficacy changes were classified as either LTP or LTD when the mean of normalized EPSCs amplitudes was significantly different from the control baseline (supplemental Fig.1). Histograms concerning long-term synaptic efficacy changes induced in striatal interneurons by STDP protocols represent the distributions of normalized EPSC amplitude changes and 25 normalized EPSCs were plotted for each cell.

Plasticity loci were determined by the mean variance analysis method (Faber and Korn, 1991; Clements and Silver, 2000). Briefly, EPSCs coefficients of variation (CV) were calculated by the ratio of the standard deviation and the mean EPSCs amplitude. The plasticity loci were deduced from the relationship between the normalized CV^2 (CV^2 after induction of plasticity / CV^2 control) and the normalized EPSCs amplitudes (EPSCs mean amplitude after induction of plasticity / control EPSCs mean amplitude). EPSCs amplitude is proportional to npq with n being the number of releasing sites, p the probability of release and q the quantum size. It is admitted that n and p describe pre-synaptic events and q is a post-synaptic indicator. If normalized $CV^2 >$ normalized EPSCs amplitude, both n and p can vary, and if normalized $CV^2 =$ normalized EPSCs amplitude, only n can vary. In both cases, changes in EPSCs amplitude reflect mainly pre-synaptic modifications. If normalized $CV^2 <$ normalized EPSCs amplitude, changes in EPSCs amplitude are related to variations of n , p and q , indicating a mixed (pre- and post-synaptic) origin of the modifications. Finally, a variation of normalized EPSCs amplitude without any variation of normalized CV^2 indicates post-synaptic modifications since only q can vary.

RESULTS

Anatomical (Levesque and Parent, 1998) and functional (Fino et al., 2005) studies have indicated that connections between the somatosensory cortex (layer V) and the striatum are preserved in a horizontal plane. Accordingly, corticostriatal transmission and plasticity were investigated using horizontal brain slices. Stimulations were then applied in the layer V of the somatosensory cortex and perforated patch-clamp recordings performed on morphologically and electrophysiologically identified striatal interneurons (Fig. 1A). All electrophysiological recordings were realized in perforated patch configuration at 32°C and without any pharmacological treatments or ionic modifications to preserve the local striatal microcircuits involved in corticostriatal transmission.

Electrophysiological properties of striatal interneurons

Striatum, besides MSNs, is composed of two main types of interneurons, GABAergic and cholinergic. These different types of striatal neurons were easily distinguished based on their morphological and electrophysiological characteristics (Kawaguchi, 1995; Fino et al., 2007) (Table 1 and Fig. 1B and 2A).

GABAergic interneurons (fast-spiking cells) (n=45) were characterized by a hyperpolarized resting membrane potential (RMP) (-72.8 ± 0.7 mV), a short spike duration (1.36 ± 0.07 ms), a short after-hyperpolarization (AHP) (fast-AHP and slow-AHP durations were 1.84 ± 0.15 ms and 17.9 ± 0.8 ms, respectively) and a high frequency discharge in response to depolarizing current pulses (34.4 ± 2.0 Hz, for +30 pA injected current above AP threshold) (Fig. 1B). Cholinergic interneurons (long-lasting afterhyperpolarization cells) (n=65) were characterized by a depolarized RMP (-61.9 ± 0.4 mV), a long AP duration (5.2 ± 0.2 ms), a long-lasting AHP (fast-AHP and slow-AHP durations were 25.7 ± 1.5 ms and 64.6 ± 2.9 ms, respectively) and a low firing rate in response to depolarizing current pulses (9.4 ± 0.5 Hz, for +30 pA injected current above AP threshold) (Fig. 2A). Briefly, MSNs were identified by a very hyperpolarized RMP (-75.3 ± 0.9 mV, n=50), a long delay to first spike (414.6 ± 4.3 ms), a fast inward rectification, and a characteristic long depolarizing ramp to spike threshold underlain by potassium currents (Calabresi et al., 1987; Nisenbaum and Wilson, 1995). The electrophysiological properties of striatal interneurons were

clearly distinct from those of MSNs (see details in Table 1) (Kawaguchi et al., 1995; Fino et al., 2007).

Reliable monosynaptic transmission between pyramidal cells (cortical layer V) and striatal GABAergic and cholinergic interneurons

Cortical stimulation evoked post-synaptic currents in striatal interneurons with a success rate of 96 % for GABAergic (n=45) and 90% for cholinergic (n=65) interneurons (Fig. 1C and 2B). Once corticostriatal transmission occurred, no failure was observed in GABAergic as well as in cholinergic interneurons indicating a very reliable and efficient transmission. Latency and amplitudes of the cortically-evoked excitatory post-synaptic currents (EPSCs) for GABAergic and cholinergic interneurons displayed very narrow Gaussian distributions (see examples in Fig. 1D and E and Fig. 2C and D). Cortically-evoked EPSCs in GABAergic and cholinergic interneurons were glutamatergic since they were totally blocked by CNQX (20 μ M) and AP5 (50 μ M) treatments (cholinergic interneurons, n=6; GABAergic interneurons, n=4) (Fig. 1F and 2E). EPSC latencies displayed very narrow distributions centered on 1.67 and 1.86 ms for GABAergic (n=28) and cholinergic (n=35) interneurons, respectively (Fig. 1G and 2F). EPSC latency SDs were inferior to 1 ms (0.23 \pm 0.02 ms and 0.23 \pm 0.01 ms for GABAergic and cholinergic interneurons, respectively) denoting a monosynaptic corticostriatal transmission for both interneuron subtypes (Fig. 1H and 2G).

Temporal sequence of activation of striatal neurons in response to a cortical stimulation

In response to a cortical stimulation, a precise temporal sequence of activation of the different striatal neuronal populations could be determined (Fig. 3). Based on their shortest latency (1.93 \pm 0.03 ms) and rise time (2.70 \pm 0.05 ms) GABAergic interneurons were activated first, followed by cholinergic interneurons (latency: 2.07 \pm 0.02 ms, p <0.001, and rise time: 3.97 \pm 0.04 ms, p <0.001). Cortical stimulation activated MSNs after striatal interneurons. Indeed, latency and rise time of GABAergic interneurons were significantly (p <0.001) shorter than those of MSNs.

Although the latency of cortical evoked EPSC in cholinergic interneurons was not significantly different than that of MSNs, the rise time was significantly ($p < 0.001$) shorter (Fig. 3).

Cell-specific spike-timing dependent plasticity

The temporal relationship between activity in presynaptic and postsynaptic elements can lead to the induction of long-term synaptic efficacy changes named STDP (Abbott and Nelson, 2000; Bi and Poo, 2001; Sjöström and Nelson, 2002; Dan and Poo, 2004, 2006). Using STDP protocols, we examined the influence of the temporal relationship between the discharges of striatal interneurons and the activation of their cortical afferents on the induction of long-term synaptic plasticity. STDP protocols consisted in evoking an AP in a single striatal interneuron a few milliseconds before (post-pre protocol) or after (pre-post protocol) a stimulation of cortical afferents. This pairing protocol was repeated 100 times at 1 Hz frequency (Fig. 4A and 6A).

GABAergic interneurons

STDP protocols succeeded to induce efficient bidirectional long-term synaptic efficacy changes in GABAergic interneurons with a success rate of 95% ($n=20$) for time intervals between pre- and post-synaptic activation (Δt) comprised between -40 and +60 ms (minus sign indicates that post-synaptic AP precedes the pre-synaptic cortical stimulation) (Fig. 4).

Post-pre protocols (Fig. 4A) induced significant LTD with a success rate of 90% ($n=10$) for $-40 < \Delta t < 0$ ms (Fig. 4C). An example of post-pre LTD is illustrated by a representative experiment showing a depression of $-63.7 \pm 7.4\%$ (Fig. 4B). It should be noted that among 10 GABAergic interneurons tested, only one did not develop long-term plasticity (Fig. 4C). The bimodal distribution of EPSC amplitude changes observed for $-40 \text{ ms} < \Delta t < 0 \text{ ms}$ (the two peaks were centered on $43.1 \pm 1.2\%$ and $97.3 \pm 1.8\%$, $n = 250$ EPSCs measured from 10 GABAergic interneurons) illustrated the occurrence of LTD ($n=9$) or the absence of plasticity ($n=1$) (Fig. 4D). The mean value of the EPSC amplitude depression (estimated one hour after the STDP protocol induction) was $-39.5 \pm 8.3 \%$ ($n=10$). This EPSC amplitude depression was significantly different from the control baseline ($p < 0.01$) (see the averaged baseline

shown in supplemental Fig.1A, n=14). No more long-term synaptic efficacy change was observed for Δt beyond -40 ms (n= 4) (Fig. 4C), as also illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitudes changes centered on $94.5 \pm 2.8\%$ (n= 100 EPSCs measured from 4 GABAergic interneurons) (Fig. 4D, left panel). Mean variance analysis of the cortically-evoked synaptic events indicated that the spike-timing dependent LTD arose mainly from the postsynaptic element (Fig. 4C).

Pre-post STDP protocols (Fig. 4A) induced exclusively LTP, since significant EPSC amplitude potentiation occurred with a success rate of 100 % (n=10) for $0 < \Delta t < +60$ ms (n=10) (Fig. 4C). A pre-post LTP is illustrated by a representative experiment showing a potentiation of $+74.6 \pm 11.7\%$ (Fig. 4B). The exclusive occurrence of LTP is also illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $141.1 \pm 3.3\%$ (n= 250 EPSCs measured from 10 GABAergic interneurons) (Fig. 4D). The mean value of EPSC amplitude potentiation was $+43.8 \pm 10.4\%$. This EPSC amplitude potentiation was significantly different from the baseline ($p < 0.001$) (see the averaged baseline for pre-post protocols shown in supplemental Fig.1B, n=14). No more long-term plasticity was observed for $\Delta t > +60$ ms (n=4) (Fig. 4C), as also illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $89.9 \pm 2.4\%$ (n= 100 EPSCs measured from 4 GABAergic interneurons) (Fig. 4D, right panel). Mean variance analysis of the cortically-evoked synaptic events indicated that the spike-timing dependent LTP had mainly a presynaptic origin (Fig. 4C).

We have explored which receptors have to be activated to allow the induction of STDP in GABAergic interneurons. Pharmacology was investigated for $-40 < \Delta t < +45$ ms since this Δt allows a reliable induction of either LTD (post-pre protocol for $-40 < \Delta t < 0$ ms) or LTP (pre-post protocol for $0 < \Delta t < +45$ ms) (Fig. 4C). For post-pre protocols ($-40 < \Delta t < 0$ ms), when AP5 (NMDA receptor antagonist, 50 μM) was applied, LTD was no longer observed (Fig. 5A). The mean EPSC amplitude value ($92.5 \pm 6.5\%$, n= 4) did not significantly differ from the baseline, indicating the lack of STDP induced synaptic plasticity. Similarly, for pre-post protocols ($0 < \Delta t < +45$ ms), AP5 prevented the induction of LTP and we observed an absence of plasticity (Fig. 5B), the mean EPSC amplitude value ($96.3 \pm 11.9\%$, n= 6) being not significantly different from the baseline. In conclusion, LTD as well as LTP were both underlain by NMDA receptors activation in striatal GABAergic interneurons.

Cholinergic interneurons

STDP protocols were able to induce reliable and robust bidirectional long-term synaptic plasticity in cholinergic interneurons with a success rate of 86% (n=29) for $-50 < \Delta t < +60$ ms (Fig. 6).

For post-pre protocol (Fig. 6A), bidirectional long-term plasticities (LTP and LTD) occurred with a success rate of 82% (n=17) for $-50 < \Delta t < 0$ ms: significant LTP and LTD occurred with success rates of 40% (n=8) and 30% (n=6), respectively (Fig. 6C). Post-pre LTP and LTD are illustrated by representative experiments showing a depression of $-47.8 \pm 2.3\%$ and a potentiation of $+24.4 \pm 1.8\%$ (Fig. 6B). Among the sample of 17 cholinergic interneurons tested, only three did not develop long-term plasticity. The large unimodal distribution of EPSC amplitude changes for $-50 < \Delta t < 0$ ms centered on $100.9 \pm 2.7\%$ (n= 425 EPSCs measured from 17 cholinergic interneurons) reflected the fact that post-pre protocols led to LTP (n=8), LTD (n=6) and absence of plasticity (n=3) (Fig. 6D). It should be noted however that LTP was induced at a higher rate than LTD by post-pre protocol since LTP/LTD ratio was 1.3. The mean values of potentiation of EPSC amplitude were $+27.5 \pm 6.3\%$ (n=8) and the mean values of depression of EPSC amplitude were $-30.4 \pm 7.4\%$ (n=6). These values were significantly different from the baseline recorded in control ($p < 0.01$) (see averaged baseline data of the post-pre STDP experiments in supplemental Fig. 1C, n=20). No more synaptic efficacy changes were observed for Δt beyond -50 ms (Fig. 6C), as also illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $88.0 \pm 2.3\%$ (n= 75 EPSCs measured from 3 cholinergic interneurons) (Fig. 6D, left panel). Mean variance analysis of the cortically-evoked synaptic events indicated that post-pre LTP arose mainly from the presynaptic element and the post-pre LTD had mainly a postsynaptic origin (Fig. 6C). We investigated if occurrences of LTP or LTD induced by post-pre protocol could be predicted by parameters related to synaptic transmission (EPSC rise time) or neuronal membrane properties (RMP, input resistance and rheobase) of cholinergic interneurons. No significant correlation was observed between RMP or input resistance and the occurrence of either LTP or LTD (supplemental Fig. 2B and 2C). In addition, EPSC rise time is related to electrotonic distance, which has been proposed to be a key component for the orientation (LTP vs LTD) of cortical STDP (Sjöström and Häusser, 2006; Letzkus et

al., 2006). However, we did not observe any significant correlation between EPSC rise times and synaptic efficacy changes induced by post-pre protocols in cholinergic interneurons (supplemental Fig. 2A). Strikingly, rheobase parameter was found to be a key component for the orientation of plasticities induced by post-pre STDP protocols. Indeed, a significant ($p < 0.05$) correlation was observed between rheobase and long-term synaptic efficacy changes (Fig. 7A). Cholinergic interneurons displaying low rheobase values developed preferentially LTD whereas those with highest rheobases were correlated with induction of LTP. Accordingly, excitability of cholinergic interneurons appears to be determinant in the orientation of post-pre STDP.

Conversely, a pre-post STDP protocol (Fig. 6A) induced a unidirectional plasticity, orientated toward LTD ($n=8$) or an absence of plasticity ($n=4$) (Fig. 6C). Pre-post LTD is illustrated by a representative experiment showing a depression of $-64.4 \pm 6\%$ (Fig. 6B). Significant LTD occurred with a success rate of 67% ($n=12$) for $0 < \Delta t < +60$ ms. The occurrence of LTD or absence of plasticity is also evidenced by the bimodal distribution of EPSC amplitude changes: the two peaks were centered on $47.3 \pm 2.0\%$ and $101.6 \pm 0.8\%$ ($n=300$ EPSCs measured from 12 cholinergic interneurons). The mean value of EPSC amplitude depression estimated one hour after the pre-post protocol was $-27.4 \pm 8.3\%$ ($n=12$). This value was significantly different from the baseline recorded in control ($p < 0.01$) (see averaged baseline data of the pre-post experiments in supplemental Fig. 1D, $n=15$). No more synaptic efficacy changes were observed for Δt beyond $+60$ ms (Fig. 6C), as illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $96.5 \pm 2.1\%$ ($n=75$ EPSCs measured from 3 cholinergic interneurons) (Fig. 6D, right panel). Mean variance analysis indicated that the pre-post LTD had mainly a post-synaptic origin (Fig. 6C).

We have then explored the receptors involved in the induction of cholinergic interneurons STDP. Pharmacological experiments were performed for $-40 < \Delta t < +40$ ms since this Δt corresponds to the maxima of induction rate and magnitude of both LTP and LTD (Fig. 6C). For post-pre protocol ($-40 < \Delta t < 0$ ms), when AP5 ($50 \mu\text{M}$) was applied, LTP was no longer induced and either LTD or absence of plasticity was observed ($n=4$) (Fig. 8A). The mean value of EPSC amplitude changes in AP5 was $87.0 \pm 8.3\%$, which was not significantly different than the mean value of LTD observed in control condition, but still significantly different from the baseline.

Conversely, after LY341495 (glutamate metabotropic receptors antagonist, 100 μ M) treatment, no more significant long-term synaptic plasticity was observed (101.6 ± 7.9 %, $n=4$) (Fig. 8A). For pre-post protocols ($0 < \Delta t < +40$ ms), LY341495 prevented the induction of LTD and we observed an absence of long-term synaptic efficacy changes (108.3 ± 7.1 %, $n=4$) (Fig. 8B). In conclusion, LTD induced by post-pre or pre-post STDP protocols were underlain by glutamate metabotropic receptors activation whereas LTP induced by post-pre STDP protocols was NMDA receptor-activation dependent.

DISCUSSION

The implication of striatum in procedural learning and motor habits formation has stimulated much interest on the forms of activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. So far, attention has been merely focused on corticostriatal connections with the MSNs, the main population of striatal neurons whose discharge generates a disinhibitory signal to cognitive and premotor neural networks supporting behavioural expression. Besides MSNs, the striatum comprises GABAergic and cholinergic interneurons, which regulate MSNs excitability and consequently, the corticostriatal information processing. Although anatomical (Kita et al., 1990; Lapper et al., 1992; Bennett and Bolam, 1994; Contant et al., 1996; Thomas et al., 2000; Ramanathan et al., 2002), biochemical (Parthasarathy and Graybiel, 1997) and *in vivo* electrophysiological (Wilson et al., 1990; Reynolds and Wickens, 2004; Mallet et al., 2005) evidences have revealed the presence of excitatory cortical glutamatergic afferents of striatal interneurons, knowledge concerning the mode of corticostriatal transmission and plasticity at their level remains fragmentary. Using rat brain slices preserving cortical afferents (Fino et al., 2005), we observed a monosynaptic transmission highly reliable and efficient between pyramidal cells of the somatosensory cortex and GABAergic as well as cholinergic striatal interneurons. Concerning GABAergic interneurons, our observation is in accordance with *in vivo* studies that have reported a massive and efficient cortico-GABAergic interneurons transmission (Parthasarathy and Graybiel, 1997; Mallet et al., 2005). However, *in vivo* cortico-cholinergic interneurons transmission has been reported to be sparse and weak when the motor cortex is considered (Wilson et al., 1990; Reynolds and Wickens, 2004). The dissimilarity between such reports and our observation could come from the difference between the stimulated cortices, motor *versus* somatosensory. It remains to determine the synaptic weight of somatosensory cortical afferent on cholinergic interneurons *in vivo*.

Our genuine corticostriatal brain slice preparation allowed us to determine a precise temporal sequence of activation for the striatal neuronal subtypes in the same experimental condition. In response to a cortical stimulation: GABAergic interneurons were activated before cholinergic cells and both striatal interneurons were activated before MSNs. This observation is in accordance with *in vivo* studies reporting that, after cortical stimulations, GABAergic interneurons (Mallet et al., 2005) and

cholinergic interneurons (Reynolds and Wickens, 2004) are activated before MSNs. The earliest activation of interneurons in response to a cortical stimulation is functionally important. Indeed, striatal interneurons are in position to modulate the excitability of MSNs before they discharge in response to cortical inputs and relay other cortical informations that MSNs do not receive directly. Therefore, interneurons can affect the corticostriatal function transfer. The feed-forward inhibitory function of GABAergic interneurons of striatum has been particularly well documented by *in vivo* recordings in the striatum of GAERS, the genetic model of absence epilepsy rats from Strasbourg (Slaght et al., 2004). During the crisis, the early activation of GABAergic interneurons triggered by the synchronized discharges of cortico-striatal neurons exerts a shunting effect on the cortical excitatory synaptic inputs of MSNs, preventing these neurons to reach the threshold for action potentials. Interestingly, the innervation ratio provided by single corticostriatal axon appears to be much higher onto GABAergic interneurons than onto MSNs, supporting that corticostriatal integration by interneurons obeys to specific rules (Ramanathan et al., 2002). To date, the operational mode of regulation of cortico-striatal function transfer by the interneuronal feed forward circuits still remains to be determined.

Evidences for a role of striatum in procedural learning have stimulated investigations on the long-term synaptic plasticity of corticostriatal transmission. However, despite the role of striatal interneurons in corticostriatal information transfer, long-term synaptic plasticity at their level remains poorly documented. To our knowledge, the capability of striatal GABAergic interneurons to develop activity-dependent long-term synaptic efficacy changes has never been reported *in vivo* or *in vitro*. Concerning striatal cholinergic interneurons, the only available data are from *in vitro* experiments reporting LTP in response to high frequency stimulation of the *corpus callosum* (Suzuki et al., 2001; Bonsi et al., 2005).

Here, by coupling stimulations applied in the somatosensory cortex with direct suprathreshold depolarization of the recorded cells, a strong spike timing activity-dependent long-term plasticity was observed in striatal interneurons. Interestingly STDP of interneurons showed remarkable cell specificity. Yet, STDP developed with a very high occurrence in GABAergic (95%) and cholinergic interneurons (86%), these values being similar to the percentage of MSNs expressing STDP with the same stimulation protocol (90%, Fino et al., 2005). The temporal window in which STDP is induced displays a cell-specificity since it is much narrow for MSN ($-30 < \Delta t <$

+30 ms) than GABAergic (-40 $<\Delta t <$ +60 ms) and cholinergic (-50 $<\Delta t <$ +60 ms) interneurons. In GABAergic interneurons, STDP was strictly orientated such that post-pre protocols induced LTD and pre-post protocol LTP. The orientation of this bidirectional plasticity was opposite to the STDP observed in MSNs (Fino et al., 2005) but conformed to the classical STDP rules described so far in other mammalian brain structures (Dan and Poo, 2004; 2006). Conversely, cholinergic interneurons displayed a partially reversed STDP: post-pre protocol induced LTP as well as LTD while pre-post protocol induced LTD. This finding which provides the first observation of a STDP non orientated “on one side” of the spike timing conditioning protocol (for post-pre protocol) could be put in relation with the finding of Tzounopoulos et al (2004) of a partially reversed STDP in glycinergic interneurons of the cochlear nucleus. In these cells, whereas a pre-post protocol induced LTD, a lack of plasticity was observed in the case of post-pre protocol. Concerning striatal cholinergic interneurons, the orientation of plasticity induced by post-pre protocols was correlated with the rheobase. Therefore, the membrane excitability of cholinergic interneurons appears to be determinant in the induction of either LTP or LTD. Changes in excitability are likely due to synaptic inputs and not to intrinsic properties since no different sub-populations have been reported among striatal cholinergic interneurons (Kawaguchi, 1992; 1993). Synaptic inputs to cholinergic interneurons display various origins (glutamatergic, serotonergic, dopaminergic, GABAergic or cholinergic). We have recently reported that an acute depletion of striatal dopamine efficiently decrease the rheobase of cholinergic interneurons and consequently increase their excitability (Fino et al., 2007). In addition, the LTP and LTD evoked in cholinergic interneurons by post-pre protocols could also be explained by a difference in the distribution of glutamatergic receptors expressed at the level of the corticostriatal synapses activated. Indeed, whereas LTP induction in cholinergic interneurons depended on NMDA receptor activation, LTD required mGluR activation. Mean-variance analysis suggests that LTP has a presynaptic origin and LTD arose from the postsynaptic element. Therefore, a reasonable hypothesis could be that NMDA receptors involved in LTP are localized presynaptically (Sjöström et al., 2003; 2007; Tzounopoulos et al., 2007) and mGluR underlying LTD are postsynaptic. Interestingly, such a pharmacological distinction in the STDP induction of LTD and LTP was not observed in GABAergic interneurons, both forms of plasticity requiring activation of NMDA receptors. Nevertheless, mean-variance

analysis indicates that NMDA receptors involved in LTP are presynaptic whereas those involved in LTD are postsynaptically localized. The pharmacological specificity of GABAergic and cholinergic interneurons offers an additional illustration of the cell-specific properties of STDPs among the striatal interneuron populations.

The specific temporal sequence of activation and orientation of STDPs induced in striatal interneurons in response to cortical stimulation has important functional consequences for the integration of cortical information in striatum. Due to the strong inhibitory synaptic weight of GABAergic interneurons on MSNs (Koos and Tepper, 1999) and their numerous corticostriatal synapses (Ramanathan et al., 2002), their influence is major in the cortico-basal ganglia information processing. Remarkably, the GABAergic interneurons and MSNs displayed a strictly opposite STDP orientation. The same cellular conditioning protocols inducing LTP in MSNs induced LTD in GABAergic interneurons and vice versa. Although opposite, these changes in synaptic weight may act synergistically in cortico-striatal information transfer. Indeed, when a cellular conditioning induces LTP in MSNs, a LTD is induced in GABAergic interneurons leading to an increased potentiation of cortico-striatal transmission. On the contrary, a protocol inducing LTD in MSNs leads to a LTP in GABAergic interneurons thus reinforcing the depression of the cortico-striatal transmission by MSNs.

A much more complex picture is expected concerning the impact of cholinergic interneurons STDP on corticostriatal information transfer. Indeed, striatal signals are conveyed to the output nuclei of the basal ganglia through direct (striato-nigral) and indirect (striato-pallido-subthalamo-nigral) pathways originating from partly segregated subpopulations of MSNs (Gerfen, 1992). Because MSNs of the direct and indirect pathways bear distinct types of muscarinic receptors (respectively M4 inhibitory and M1 excitatory) (Acquas and Di Chiara, 2002), it is expected that a same change in the cortical synaptic weight of cholinergic interneurons results in opposite effects in the two subpopulations of MSNs. A second level of complexity is added by the fact that the orientation of the changes in synaptic efficacy evoked by post-pre STDP protocols varies according to the cholinergic cells recorded leading to an unpredictable effect on MSNs output.

In conclusion, current conceptual models of the cortico-striatal circuits rely essentially on the direct cortical connections with MSNs. This is particularly exemplified in the Parkinson's disease model of direct/indirect pathways in which the functional

consequence of the loss of dopaminergic striatal transmission is predicted based on the sole expected changes in MSNs excitability of the direct and indirect circuits. Striatal interneurons however are an integral component part of the striatum contributing to the processing of corticostriatal information. As stressed here, each interneuronal population react to cortical inputs with precise timing and expresses strong and specific STDP. Because the striatal functions in learning and memory may require a cooperation of the various striatal neuronal populations, it is of importance to consider the plasticity forms of corticostriatal transmission in integrated striatal circuits preserving local neuronal interactions rather than in isolated elements.

REFERENCES

Abbott LF, Nelson SB (2000) Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci* 3 Suppl:1178-1183.

Acquas E and Di Chiara G (2002) Dopamine-Acetylcholine interactions. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 154, Chapter 15, pp. 85-115, Springer-Verlag.

Aosaki T, Tsubokawa H, Ishida A, Watanabe K, Graybiel AM, Kimura M (1994) Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *J Neurosci* 14:3969-3984.

Apicella P (2007) Leading tonically active neurons of the striatum from reward detection to context recognition. *Trends Neurosci* 30:299-306.

Bennett BD, Bolam JP (1994) Synaptic input and output of parvalbumin-immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat. *Neuroscience* 62:707-719.

Bi G, Poo M (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu Rev Neurosci* 24:139-166.

Bonsi P, De Persis C, Calabresi P, Bernardi G, Pisani A (2004) Coordinate high-frequency pattern of stimulation and calcium levels control the induction of LTP in striatal cholinergic interneurons. *Learn and Mem* 11:755-760.

Calabresi P, Misgeld U, Dodt HU (1987) Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. *Neuroscience* 20:293-303.

Clements JD, Silver RA (2000) Unveiling synaptic plasticity: a new graphical and analytical approach. *Trends Neurosci* 23:105-113.

Contant C, Umbriaco D, Garcia S, Watkins KC, Descarries L (1996) Ultrastructural characterization of the acetylcholine innervation in adult rat neostriatum. *Neuroscience* 71:937-947.

Dan Y, Poo MM (2004) Spike timing-dependent plasticity of neural circuits. *Neuron* 44:23-30.

Dan Y, Poo MM (2006) Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* 86:1033-1048.

Faber DS, Korn H (1991) Applicability of the coefficient of variation method for analyzing synaptic plasticity. *Biophys J* 60:1288-1294.

Fino E, Glowinski J, Venance L (2005) Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. *J Neurosci* 25:11279-11287.

Fino E, Glowinski J, Venance L (2007) Effects of acute dopamine depletion on the electrophysiological properties of striatal neurons. *Neurosci Res*.

Gerfen CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. *Annu Rev Neurosci* 15:285-320.

Graybiel AM (2005) The basal ganglia: learning new tricks and loving it. *Curr Opin Neurobiol* 15:638-644.

Kawaguchi Y (1992) Large aspiny cells in the matrix of the rat neostriatum in vitro: physiological identification, relation to the compartments and excitatory postsynaptic currents. *J Neurophysiol* 67:1669-1682.

Kawaguchi Y (1993) Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J Neurosci* 13:4908-4923.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995) Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18:527-535.

Kita H (1996) Glutamatergic and GABAergic postsynaptic responses of striatal spiny neurons to intrastriatal and cortical stimulation recorded in slice preparations. *Neuroscience* 70:925-940.

Kita H, Kosaka T, Heizmann CW (1990) Parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat neostriatum: a light and electron microscopic study. *Brain Res* 536:1-15.

Koos T, Tepper JM (1999) Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat Neurosci* 2:467-472.

Lapper SR, Smith Y, Sadikot AF, Parent A, Bolam JP (1992) Cortical input to parvalbumin-immunoreactive neurones in the putamen of the squirrel monkey. *Brain Res* 580:215-224.

Letzkus JJ, Kampa BM, Stuart GJ (2006) Learning rules for spike timing-dependent plasticity depend on dendritic synapse location. *J Neurosci* 26:10420-10429.

Levesque M, Parent A (1998) Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prelimbic cortex in the rat. *Cereb Cortex* 8:602-613.

Mallet N, Le Moine C, Charpier S, Gonon F (2005) Feedforward inhibition of projection neurons by fast-spiking GABA interneurons in the rat striatum in vivo. *J Neurosci* 25:3857-3869.

Martin SJ, Morris RG (2002) New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* 12:609-636.

Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.

Morris G, Arkadir D, Nevet A, Vaadia E, Bergman H (2004) Coincident but distinct messages of midbrain dopamine and striatal tonically active neurons. *Neuron* 43:133-143.

Nisenbaum ES, Wilson CJ (1995) Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J Neurosci* 15:4449-4463.

Parthasarathy HB, Graybiel AM (1997) Cortically driven immediate-early gene expression reflects modular influence of sensorimotor cortex on identified striatal neurons in the squirrel monkey. *J Neurosci* 17:2477-2491.

Plenz D, Kitai ST (1998) Up and down states in striatal medium spiny neurons simultaneously recorded with spontaneous activity in fast-spiking interneurons studied in cortex-striatum-substantia nigra organotypic cultures. *J Neurosci* 18:266-283.

Ramanathan S, Hanley JJ, Deniau JM, Bolam JP (2002) Synaptic convergence of motor and somatosensory cortical afferents onto GABAergic interneurons in the rat striatum. *J Neurosci* 22:8158-8169.

Reynolds JN, Wickens JR (2004) The corticostriatal input to giant aspiny interneurons in the rat: a candidate pathway for synchronising the response to reward-related cues. *Brain Res* 1011:115-128.

Sjostrom PJ, Nelson SB (2002) Spike timing, calcium signals and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 12:305-314.

Sjostrom PJ, Hausser M (2006) A cooperative switch determines the sign of synaptic plasticity in distal dendrites of neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 51:227-238.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2003) Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 39:641-654.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2007) Multiple forms of long-term plasticity at unitary neocortical layer 5 synapses. *Neuropharmacology* 52:176-184.

Slaght SJ, Paz T, Chavez M, Deniau JM, Mahon S, Charpier S (2004) On the activity of the corticostriatal networks during spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *J Neurosci* 24:6816-6825.

Suzuki T, Miura M, Nishimura K, Aosaki T (2001) Dopamine-dependent synaptic plasticity in the striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 21:6492-6501.

Thomas TM, Smith Y, Levey AI, Hersch SM (2000) Cortical inputs to m2-immunoreactive striatal interneurons in rat and monkey. *Synapse* 37:252-261.

Tzounopoulos T, Kim Y, Oertel D, Trussell LO (2004) Cell-specific, spike timing-dependent plasticities in the dorsal cochlear nucleus. *Nat Neurosci* 7:719-725.

Tzounopoulos T, Rubio ME, Keen JE, Trussell LO (2007) Coactivation of pre- and postsynaptic signaling mechanisms determines cell-specific spike-timing-dependent plasticity. *Neuron* 54:291-301.

Venance L, Glowinski J, Giaume C (2004) Electrical and chemical transmission between striatal GABAergic output neurones in rat brain slices. *J Physiol* 559:215-230.

Wilson CJ, Chang HT, Kitai ST (1990) Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci* 10:508-519.

Wilson CJ (1995) *Models of information processing in the basal ganglia.* (MIT Press, Cambridge).

Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7:464-476.

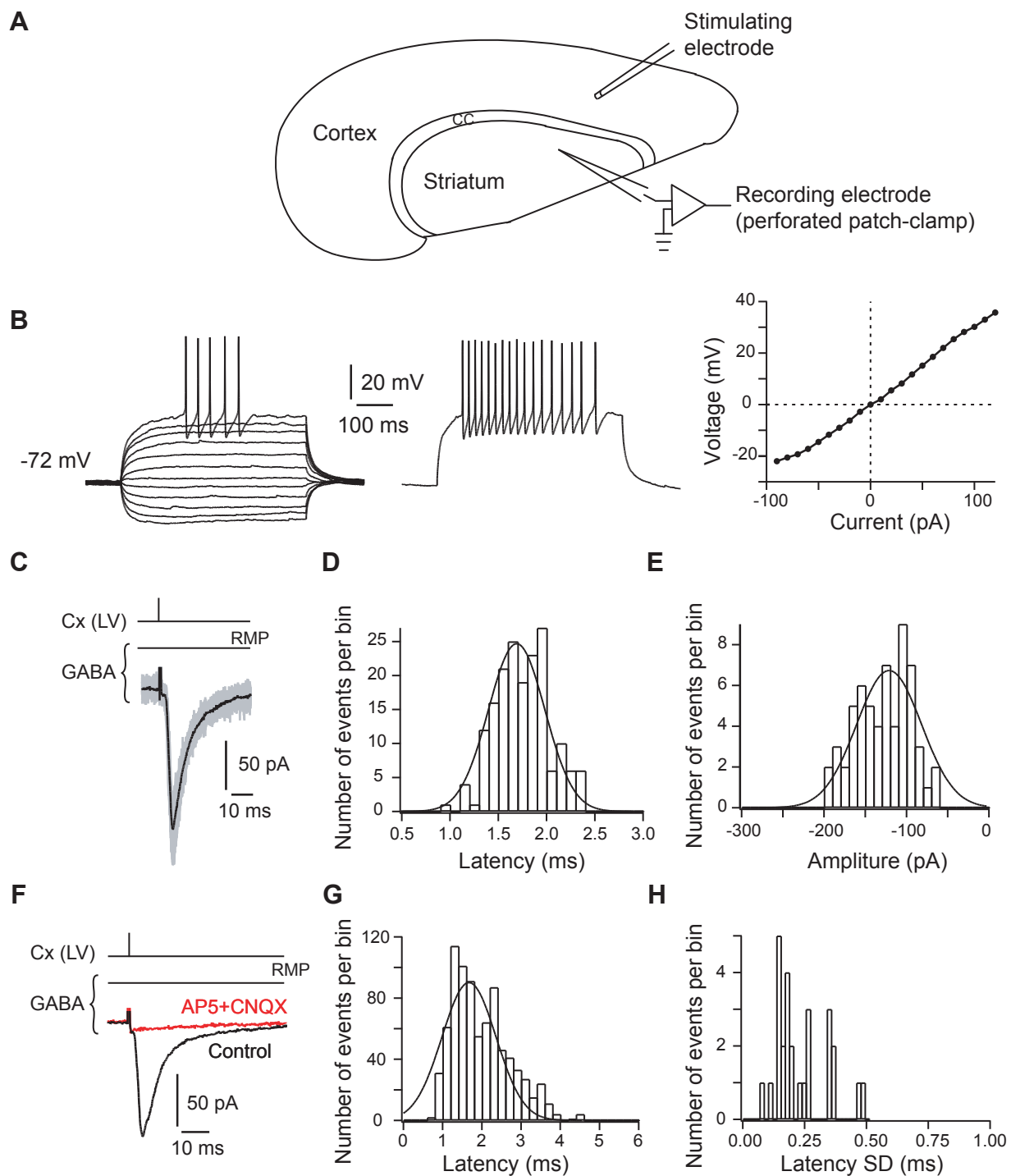


Figure 1: Corticostriatal transmission on striatal GABAergic interneurons.

A, Schematic representation of the horizontal corticostriatal brain slice preparation. Stimulating electrode was placed in the layer V of the somatosensory cortex (mean distance from *corpus callosum* 586 ± 10 μm , $n=110$) and the recording electrode in the adjacent striatum at a mean distance from *corpus callosum* of 543 ± 34 μm . **B**, Characteristic membrane properties and spiking pattern of a GABAergic interneuron. Raw traces show individual voltage responses to series of 500 ms current pulses from -90 pA to +130 pA with 20 pA increasing current steps (left side) and to +30 pA above AP threshold (middle panel, spike frequency= 40 Hz). Note the linear I/V relationship (right panel). **C**, GABAergic interneurons EPSCs evoked by cortical layer V (Cx-LV) stimulations. Black line represents the average of 20 consecutive EPSCs raw traces (grey lines). It should be noted a low variability of cortically-evoked EPSCs amplitudes. **D**, Latency distribution of 60 EPSCs recorded in a single GABAergic interneuron (well fitted by a Gaussian curve). Note the short latency centered on 1.7 ms. **E**, Amplitude distribution of 60 EPSCs amplitudes recorded in the same GABAergic interneuron shown in D (distribution well fitted by a Gaussian curve centered around -121 pA). **F**, Cortically-evoked EPSCs on GABAergic interneurons (average of 15 traces) were glutamatergic since totally inhibited with CNQX (10 μM) and AP5 (50 μM) treatments. **G**, Latency distribution of EPSCs was fitted with one Gaussian function centered on 1.67 ± 0.03 ($n=784$ EPSCs from 28 GABAergic interneurons). **H**, SD distribution of averaged EPSC latencies recorded in 28 GABAergic interneurons indicates a monosynaptic transmission between cortex and GABAergic interneurons (mean value of SD latency was 0.23 ± 0.02 ms).

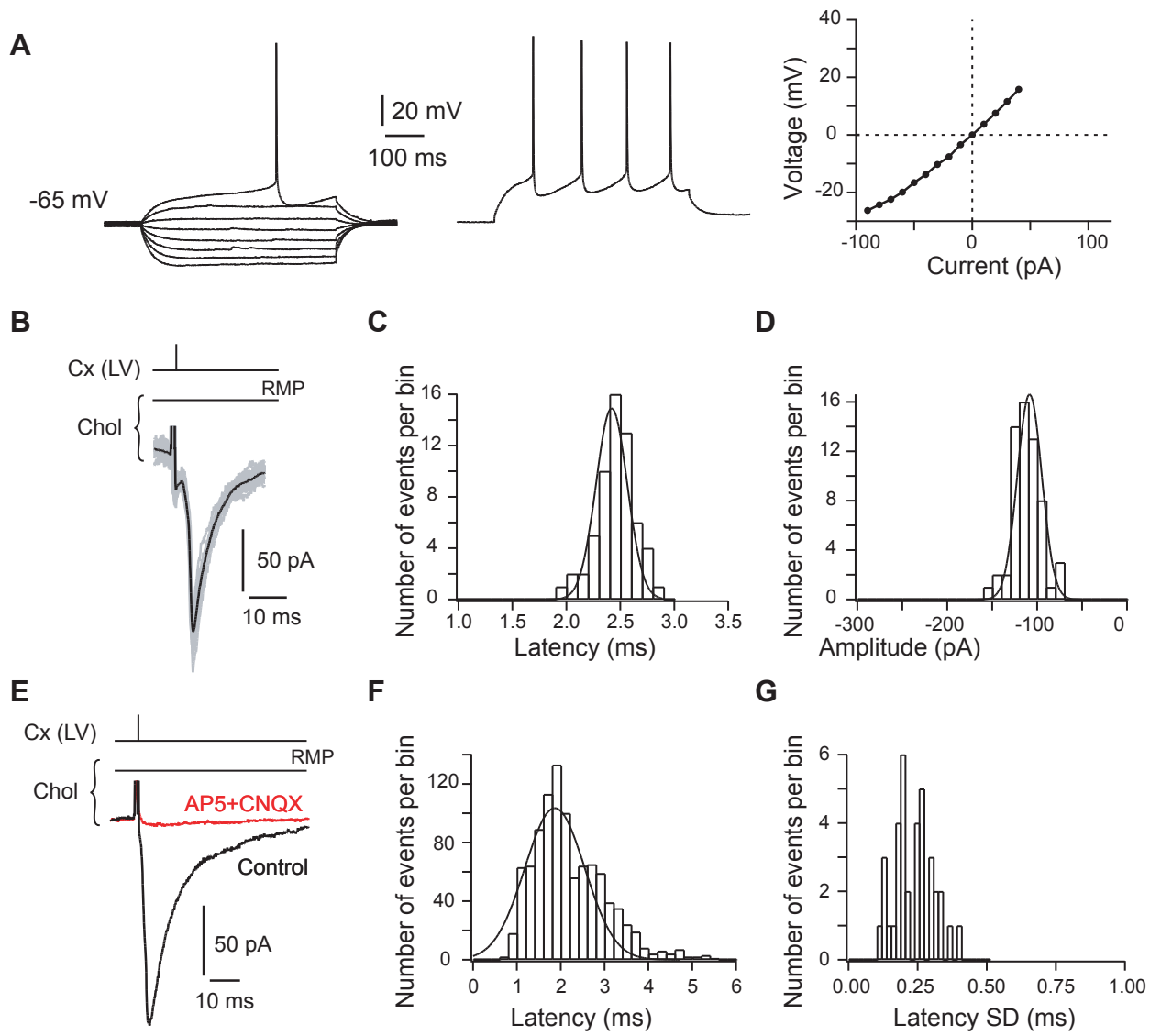


Figure 2: Corticostriatal transmission on striatal cholinergic interneurons.

A, Characteristic membrane properties and spiking pattern of a cholinergic interneuron. Raw traces show individual voltage responses to series of 500 ms current pulses from -90 pA to +50 pA with 20 pA increasing current steps (left side) and to +30 pA above AP threshold (middle panel, spike frequency= 8 Hz). Note the linear I/V relationship (right panel). **B**, EPSCs evoked by cortical layer V (Cx-LV) stimulations on cholinergic interneurons. Black line represents the average of 20 consecutive EPSCs raw traces (grey lines). It should be noted a low variability of cortically-evoked EPSCs amplitudes. **C**, Latency distribution of 60 EPSCs recorded in a single cholinergic interneuron (well fitted by a Gaussian curve). Note the short latency centered on 2.4 ms. **D**, Amplitude distribution of 60 EPSCs amplitudes recorded in the same cholinergic interneuron shown in C (distribution well fitted by a Gaussian curve centered around -108 pA). **E**, Cortically-evoked EPSCs on cholinergic interneurons (averages of 15 traces) were glutamatergic since totally inhibited with CNQX (20 μ M) and AP5 (50 μ M) treatments. **F**, Latency distribution of EPSCs was fitted with one Gaussian function centered on 1.86 ± 0.03 (n=980 EPSCs from 35 cholinergic interneurons). **G**, SD distribution of averaged EPSC latencies recorded in 35 cholinergic interneurons indicates a monosynaptic transmission between cortex and cholinergic interneurons (mean value of SD latency was 0.23 ± 0.01 ms).

Figure 3

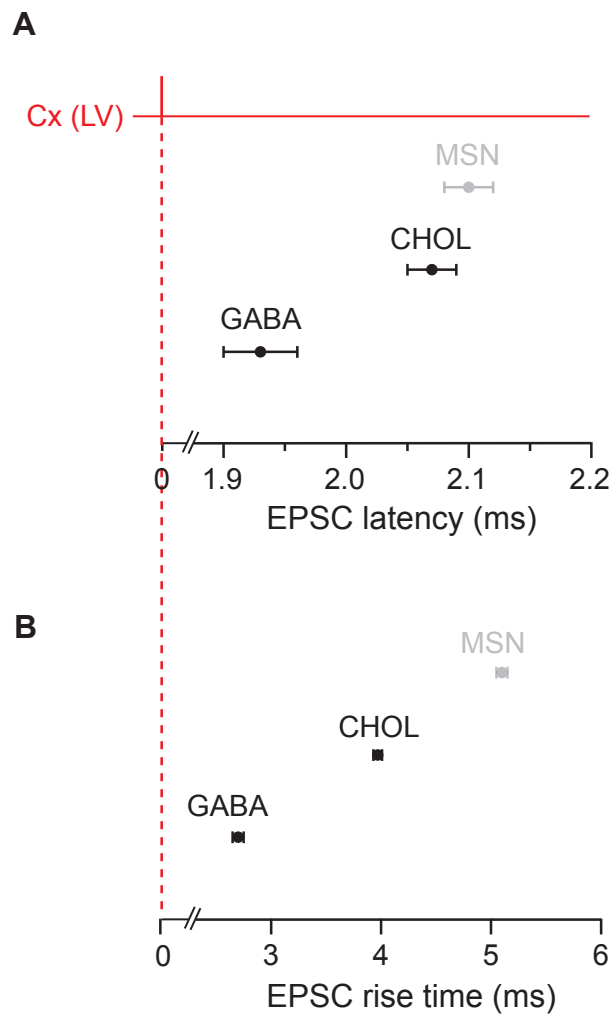
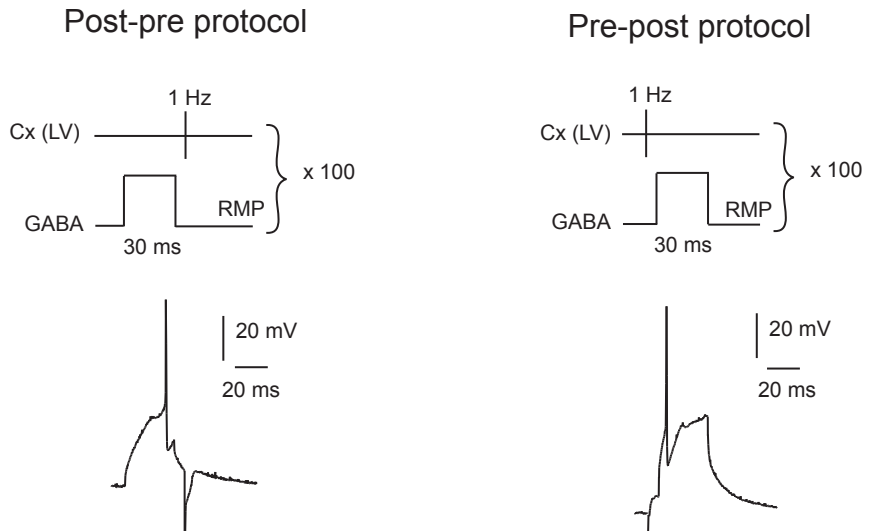


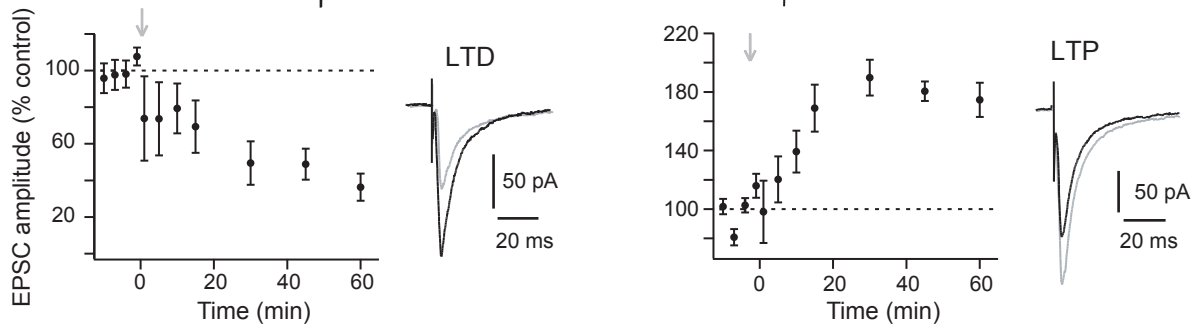
Figure 3: Temporal sequence of activation of striatal neurons in response to a cortical stimulation.

A cortical stimulation induced the following sequence of activation: first GABAergic interneurons, second cholinergic interneurons and finally MSNs. This is illustrated by **(A)** latencies and **(B)** rise times of striatal neurons in response to a cortical stimulation. MSN data are taken from Fino et al. (2005) study.

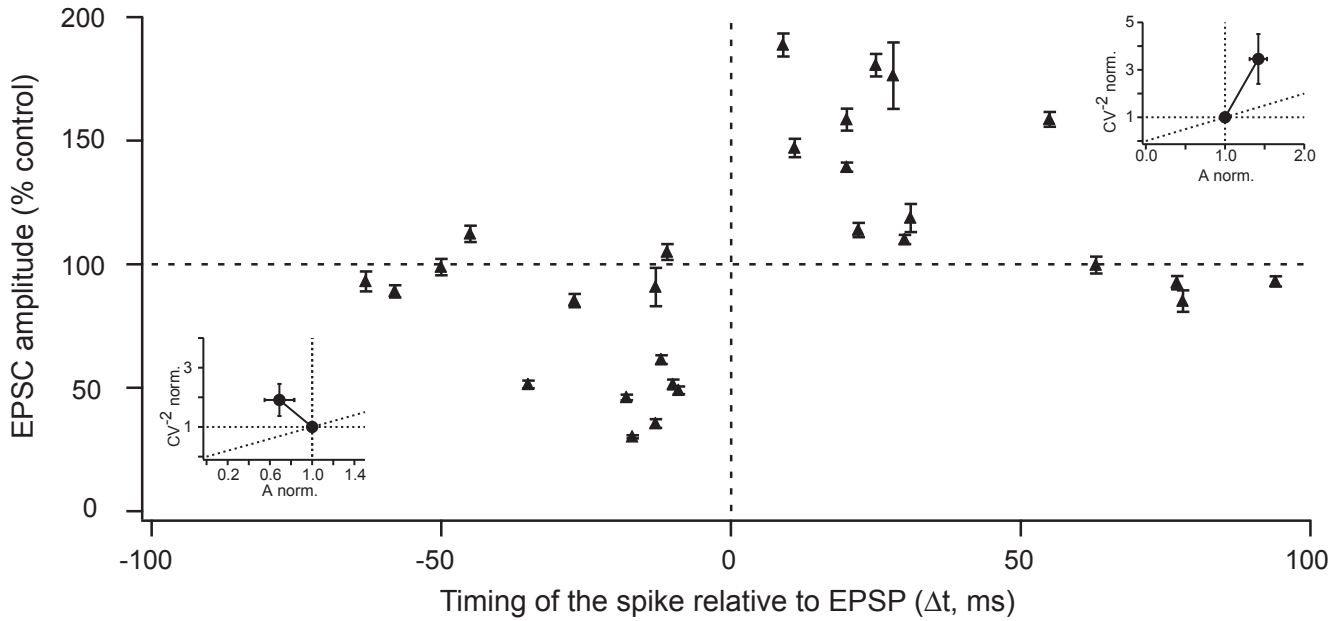
A



B



C



D

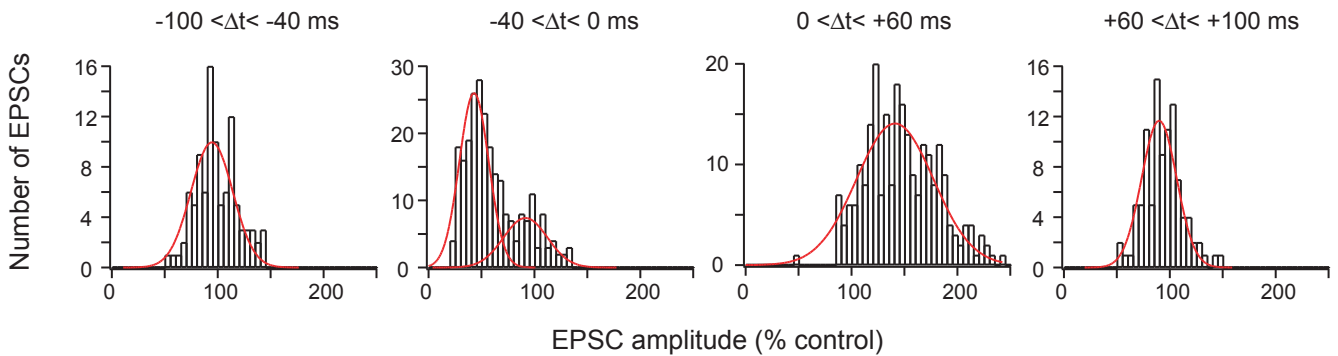


Figure 4: GABAergic interneurons spike-timing dependent plasticity.

A, Schematic representation of STDP protocols and the corresponding raw traces of the postsynaptic GABAergic interneuron recording. An AP was evoked in the GABAergic interneuron just few milliseconds before (post-pre protocol) or after (pre-post protocol) a cortical stimulation (100 paired stimulations at 1 Hz). **B**, Representative experiments of long-term plasticity induced by post-pre and pre-post protocols and EPSCs evoked in control (black) and 60 minutes after induction protocol (grey). Long-term synaptic efficacy changes were $-63.7 \pm 7.4\%$ for LTD induced by post-pre protocol and $+74.6 \pm 11.7\%$ for LTP induced by pre-post protocol (arrows indicate the induction protocols). **C**, STDP protocols induced bidirectional long-term synaptic plasticity (black triangles represent the mean \pm SEM of EPSC amplitude changes measured 60 minutes after induction protocol in 28 GABAergic interneurons). Post-pre protocols induced LTD for $-40 < \Delta t < 0$ ms ($n=10$). Pre-post protocols induced LTP for $0 < \Delta t < +60$ ms ($n=10$). No long-term plasticity occurred for $\Delta t < -40$ ms and $\Delta t > +60$ ms ($n=8$). C-inserts, Normalized CV^{-2} were plotted as a function of the normalized EPSCs amplitude to determine the loci of the STDP. LTD has mainly a postsynaptic origin and LTP is mainly underlain by presynaptic mechanisms. Δt and induced-plasticities were significantly correlated ($r=0.588$, $p<0.01$). This indicates a time-dependency of the STDP for GABAergic interneurons. **D**, Histograms of EPSC amplitude changes. Histogram for post-pre protocols for $-40 < \Delta t < 0$ ms displayed a bimodal distribution fitted with a sum of two Gaussian functions, plotted individually, centered on $43.1 \pm 1.2\%$ and $97.3 \pm 1.8\%$ ($n=250$ EPSCs, 10 GABAergic interneurons). This indicates the induction of either LTD ($n=9$) or absence of plasticity ($n=1$). Histogram for pre-post protocols for $0 < \Delta t < +60$ ms displayed a unimodal distribution fitted with one Gaussian function centered on $141.1 \pm 3.3\%$ ($n=250$ EPSCs, 10 GABAergic interneurons). This indicates that pre-post protocols induced LTP ($n=10$). Histograms for post-pre and pre-post protocols for $\Delta t < -40$ ms and $\Delta t > +60$ ms displayed unimodal distributions fitted with one Gaussian function centered on $94.5 \pm 2.8\%$ for $\Delta t < -40$ ms ($n=100$ EPSCs, 4 GABAergic interneurons) and $89.9 \pm 2.4\%$ for $\Delta t > +60$ ms ($n=100$ EPSCs, 4 GABAergic interneurons), indicating for both Δt an absence of long-term plasticity.

Figure 5

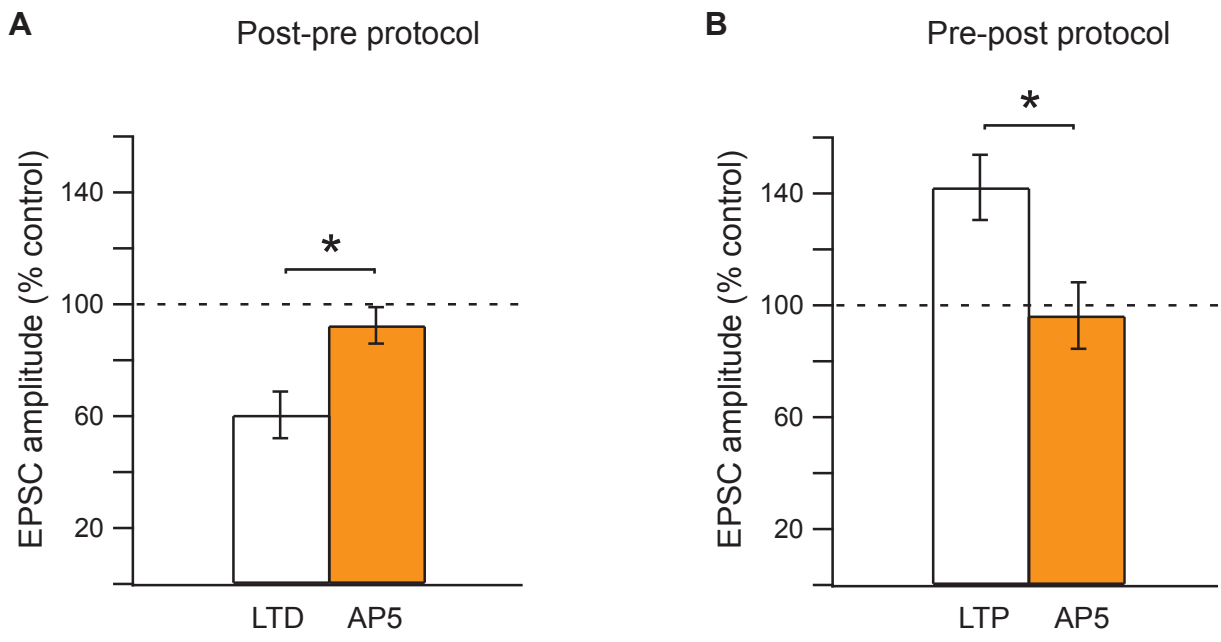


Figure 5: GABAergic interneurons LTP and LTD are NMDA receptor-activation-dependent.

A, Long-term synaptic efficacy changes induced by post-pre protocols for $-40 < \Delta t < 0$ ms, in control (n=10) (open bar) and in AP5 treatment (50 μ M) (n=6) (orange bar). In control, post-pre protocols induced significant LTD ($-39.5 \pm 8.3\%$, n=10) and in AP5 treatment, no more LTD was induced and an absence of long-term plasticity was observed ($92.5 \pm 6.5\%$, n=6). **B**, Long-term synaptic efficacy changes induced by pre-post protocols for $0 < \Delta t < +60$ ms in control (n=10) (open bar) and in AP5 treatment (50 μ M) (n=4) (orange bar). In control, pre-post protocols induced significant LTP ($+43.8 \pm 10.4\%$, n=10) and in AP5 treatment, no more LTP was observed but an absence of long-term plasticity ($96.3 \pm 11.9\%$, n=4). AP5 abolished the induction of both LTD and LTP induced, respectively, by post-pre and pre-post protocols in control. This indicates that in GABAergic interneurons STDP-induced LTD and LTP are NMDA receptor-activation-dependent.

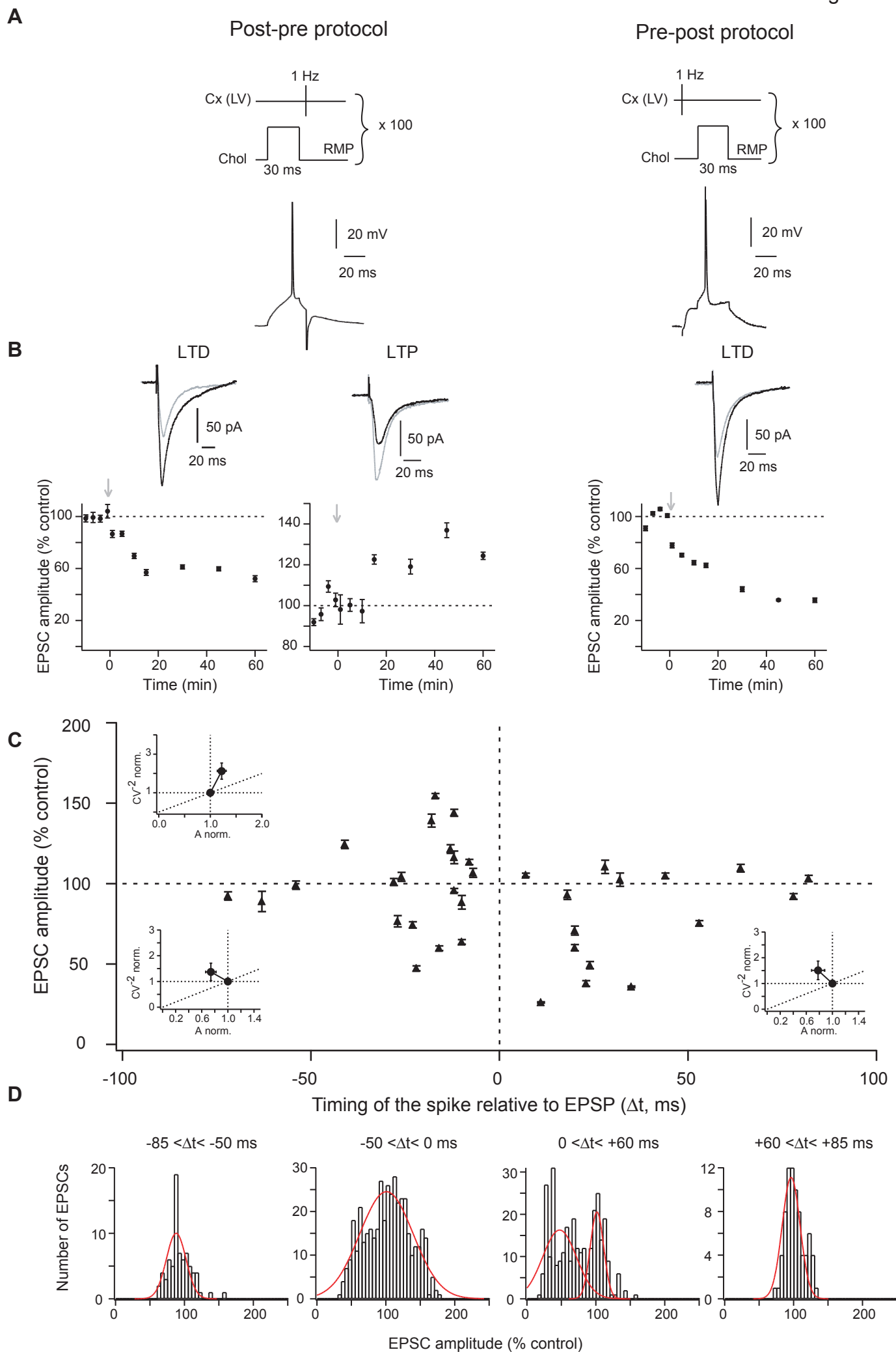
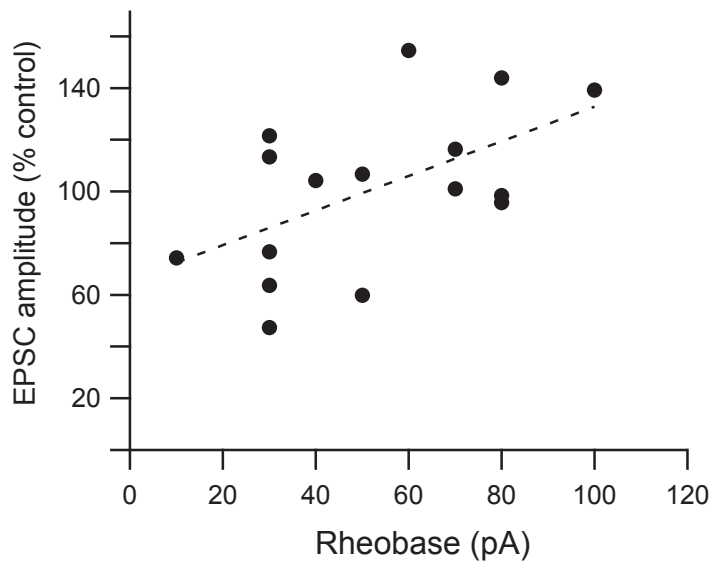


Figure 6: Cholinergic interneurons spike-timing dependent plasticity.

A, Schematic representation of STDP protocols and the corresponding raw traces of the postsynaptic cholinergic interneuron recording. An AP was evoked in the cholinergic interneuron just before (post-pre protocol) or after (pre-post protocol) cortical stimulation (100 paired stimulations at 1 Hz). **B**, Representative experiments of long-term plasticity induced by post-pre and pre-post protocols and EPSCs evoked in control (black) and 60 minutes after induction protocol (grey). Long-term synaptic efficacy changes were $-47.8 \pm 2.3\%$ for LTD and $+24.4 \pm 1.8\%$ for LTP induced by post-pre protocols and $-64.4 \pm 6\%$ for LTD induced by pre-post protocols (arrows indicate the induction protocols). **C**, STDP protocols induced bidirectional long-term synaptic plasticity (black triangles represent the mean \pm SEM of EPSC amplitude changes measured 60 minutes after induction protocol in 35 cholinergic interneurons). Post-pre protocols induced LTD as well as LTP for $-50 < \Delta t < 0$ ms ($n=17$). Pre-post protocols induced LTD for $0 < \Delta t < +60$ ms ($n=12$). No more long-term plasticity occurred for $\Delta t < -50$ ms and $\Delta t > +60$ ms ($n=6$). C-inserts, Normalized CV^{-2} were plotted as a function of the normalized EPSCs amplitude to determine the loci of the STDP. Post-pre induced LTP is mainly underlain by presynaptic mechanisms and LTD has mainly a postsynaptic origin. Pre-post induced LTD appears to be mainly postsynaptic. Δt and induced-plasticities were not significantly correlated for cholinergic interneurons (due to the non-orientated post-pre plasticities). **D**, Histograms of EPSC amplitude changes. Histograms for post-pre for $-50 < \Delta t < 0$ ms displayed a unimodal distribution fitted with one Gaussian function centered on $100.9 \pm 2.7\%$ ($n=425$ EPSCs, 17 cholinergic interneurons). This wide distribution indicates that post-pre protocols led to either LTP or LTD or absence of plasticity. Histograms for pre-post protocols for $0 < \Delta t < +60$ ms displayed bimodal distributions fitted with a sum of two Gaussian functions centered on $47.3 \pm 2.0\%$ and $101.6 \pm 0.8\%$ ($n=300$ EPSCs, 12 cholinergic interneurons). This indicates that pre-post protocols led to either LTD or absence of plasticity. Histograms for post-pre and pre-post protocols for $\Delta t < -50$ ms and $\Delta t > +60$ ms displayed unimodal distributions fitted with one Gaussian function centered on $88.0 \pm 2.3\%$ for $\Delta t < -50$ ms ($n=75$ EPSCs, 3 cholinergic interneurons) and $96.5 \pm 2.1\%$ for $\Delta t > +60$ ms ($n=75$ EPSCs, 3 cholinergic interneurons), indicating an absence of long-term plasticity for both Δt .

Figure 7

A



B

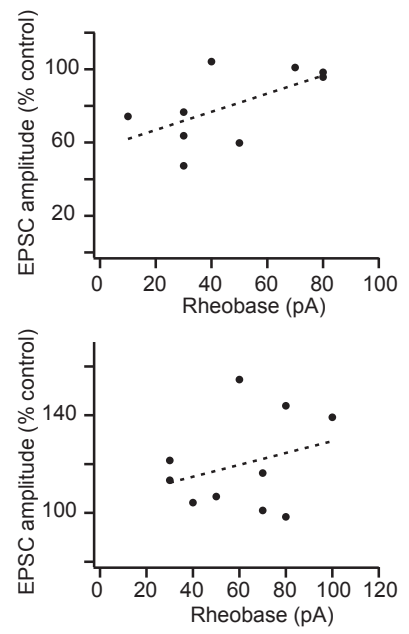


Figure 7: Excitability of cholinergic interneurons is determinant in the orientation of the plasticity induced by post-pre protocols.

A, The correlation between rheobase and plasticity induced by post-pre protocols in cholinergic interneurons revealed that they are significantly correlated ($r= 0.550$, $p<0.05$). This indicated that excitability of cholinergic interneurons was a key component in the induction of either LTP or LTD by post-pre protocols. **B**, When post-pre LTD (upper panel, $r=0.602$) and pre-post LTP (lower panel, $r=0.290$) are considered separately, no significant correlation was found between rheobase and the plasticity induced. These correlations included plasticities induced for $-40 < \Delta t < 0$ ms since this Δt corresponds to the maxima of induction rate and magnitude of both LTP and LTD.

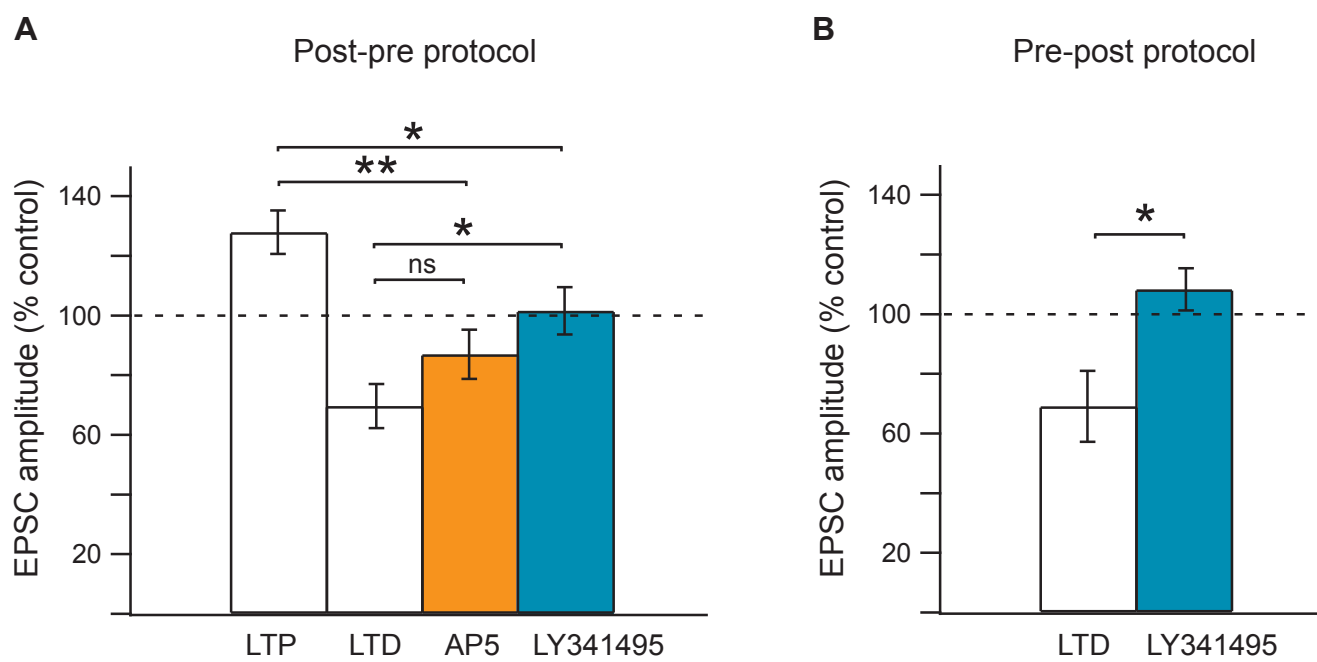
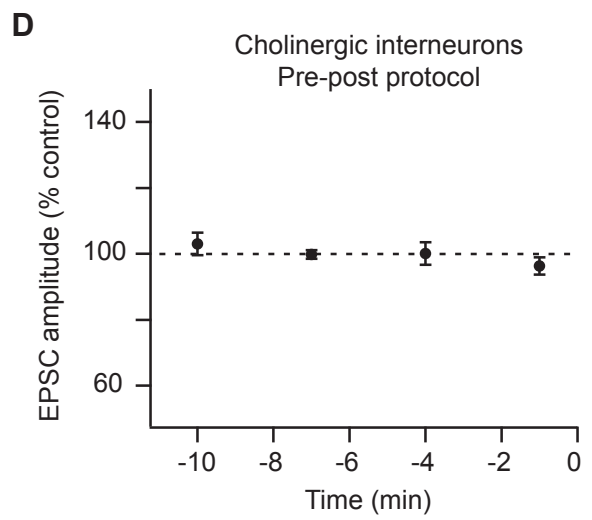
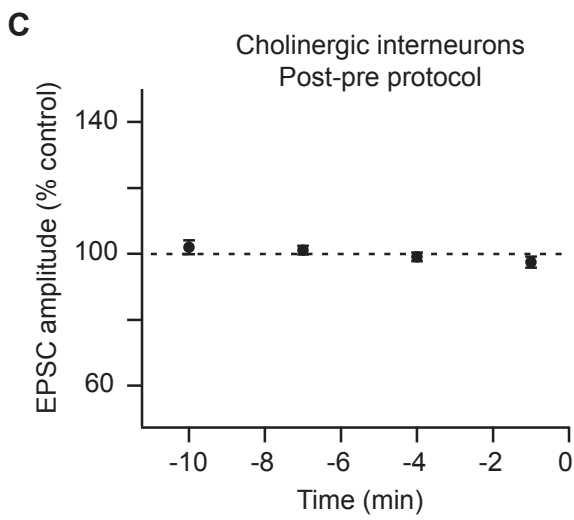
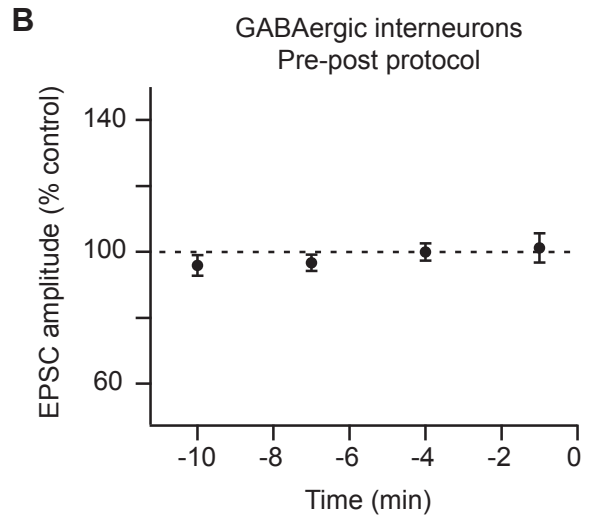
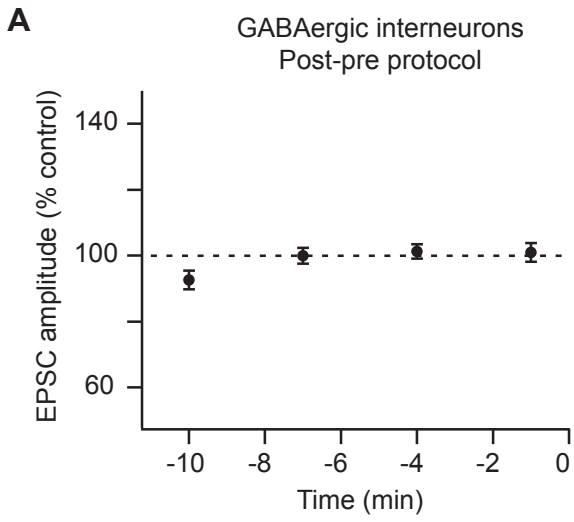
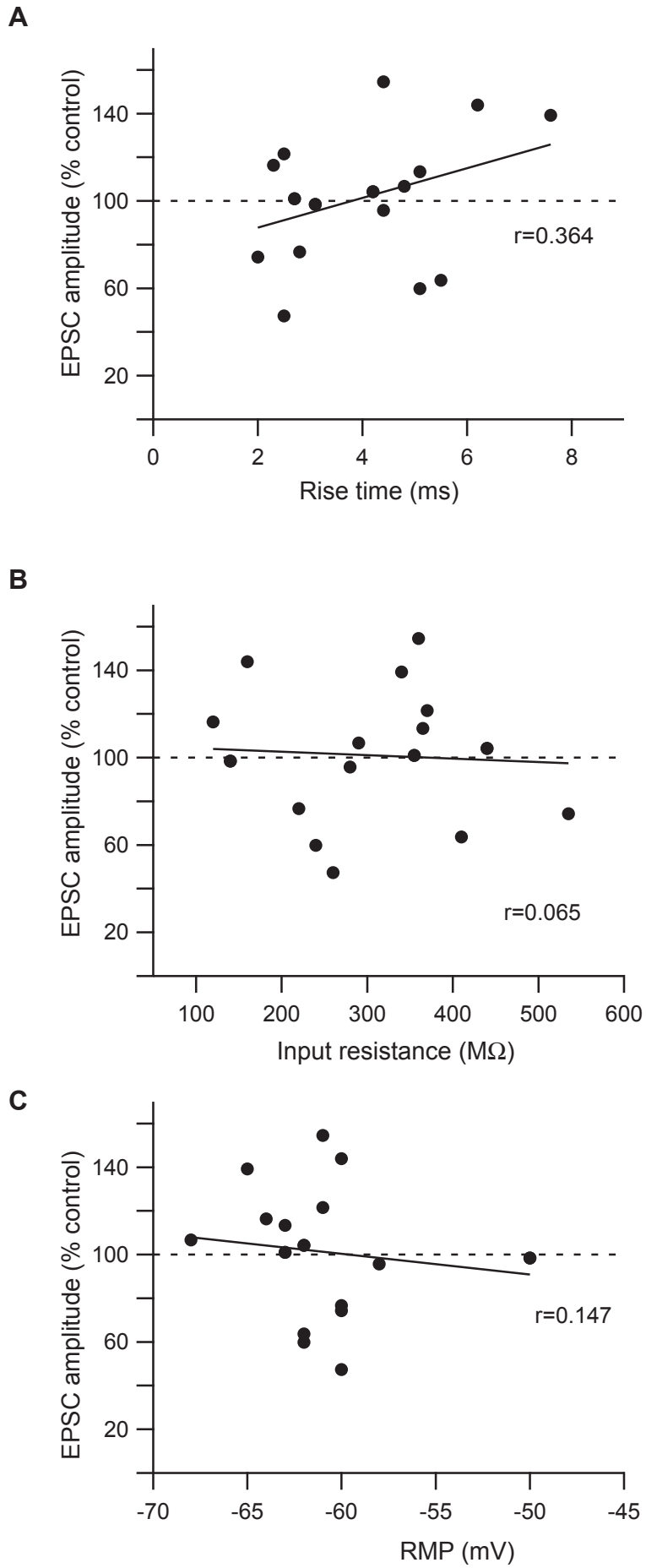


Figure 8: Cholinergic interneurons LTP and LTD are NMDA and metabotropic glutamatergic receptor-activation-dependent, respectively.

A, Long-term synaptic efficacy changes induced by post-pre protocols for $-50 < \Delta t < 0$ ms in control (n=13) (open bars), in AP5 (50 μ M) (n=4) (orange bars) or LY341495 (100 μ M) (n=4) (green bars) treatments. In control, post-pre protocols induced significant LTP ($+27.9 \pm 7.3\%$, n=7) and LTD ($-30.4 \pm 7.4\%$, n=6). In AP5 treatment, LTP was no longer observed while LTD was still induced ($87.0 \pm 8.3\%$, n=4). In LY341495 treatment, no more long-term plasticity was induced ($101.6 \pm 7.9\%$, n=4). For post-pre protocols, LTP was NMDA receptor activation dependent and LTD was metabotropic glutamatergic receptor activation dependent. **B**, Long-term synaptic efficacy changes induced by pre-post protocols for $0 < \Delta t < +60$ ms in control (n=8) and in LY341495 treatment (100 μ M) (n=4). In control, pre-post protocols induced LTD ($-30.9 \pm 11.9\%$, n=8) and in LY341495 treatment, no more LTP was observed but an absence of long-term plasticity ($108.3 \pm 7.1\%$, n=4). For pre-post protocols, LTD was metabotropic glutamatergic receptor-activation-dependent.



Supplemental Figure 1: Averages of normalized EPSC amplitudes recorded in control before STDP protocols for GABAergic interneurons for post-pre protocols (**A**) (n=10) and pre-post protocols (**B**) (n=10), and for cholinergic interneurons for post-pre protocols (**C**) (n=17) and pre-post protocols (**D**) (n=12). Control EPSC amplitudes were recorded for 10 minutes (minus sign indicates time before the cellular conditioning protocol) and displayed no significant variation.



Supplemental Figure 2: The magnitudes of long-term synaptic efficacy changes induced by post-pre protocol on cholinergic interneurons were plotted against EPSC rise time in control (**A**), input resistance (**B**) and RMP (**C**). No significant correlation was found between these parameters and the magnitude of LTP or LTD induced by post-pre protocols (r values are indicated in each graph).

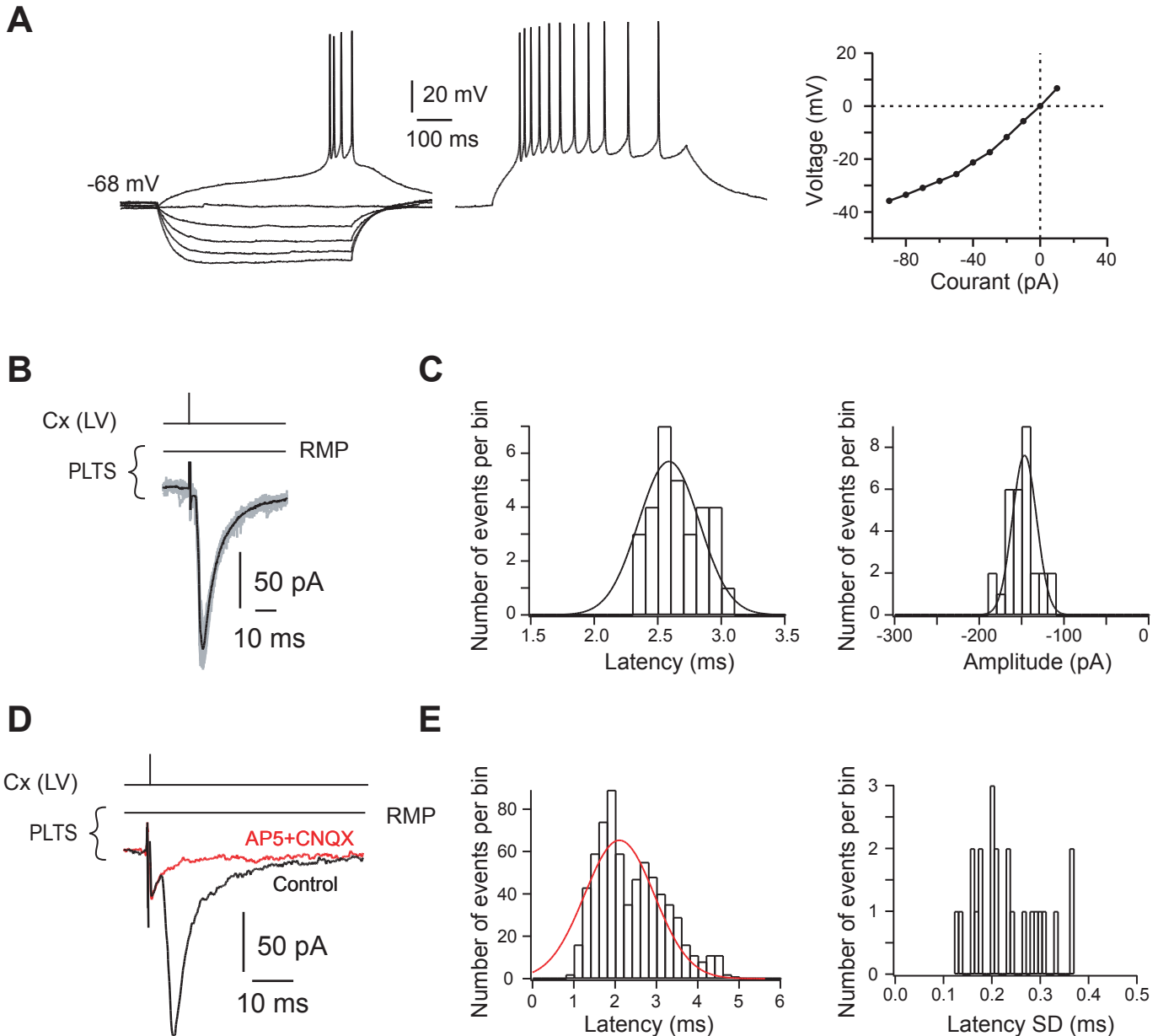


Figure complémentaire 1. Transmission cortico-striatale au niveau des interneurones à NO-synthase.

A: Caractéristiques électrophysiologiques d'un interneurone à NO-synthase. Les traces correspondent aux changements de potentiel induits par des injections de courant (d'une durée de 500 ms) de -80 à +20 pA (à gauche) et en réponse à un courant de +30 pA au-dessus du seuil de déclenchement d'un potentiel d'action (à droite). La courbe courant / voltage est rectifiante (panneau de droite). **B:** EPSCs évoqués par une stimulation de la couche V du cortex. L'EPSC en noir est la moyenne des 15 EPSCs représentés en gris. On peut noter la faible variabilité de l'amplitude des EPSCs en réponse à des stimulations corticales de même intensité. **C:** Distribution des temps de latence de 60 EPSCs enregistrés dans un interneurone à NO-synthase, centrée à 2.6 ms. Distribution de l'amplitude de 60 EPSCs du même interneurone, centrée à une valeur de -147 pA. **D:** La transmission est glutamatergique car totalement inhibée par l'AP5 (50 μ M) et le CNQX (20 μ M). **E:** Distribution des temps de latence pour 23 interneurones à NO-synthase, centrée à 2.1 ms (n=690 EPSCs mesurés dans 23 interneurones à NO-synthase). La distribution des SD des temps de latence des EPSCs (n=23 interneurones à NO-synthase) indique que la transmission entre le cortex et les interneurones à NO-synthase est monosynaptique (la moyenne des SD des temps de latence est de 0.23 ± 0.02 ms).

Résultats complémentaires

1. Transmission cortico-striatale au niveau des interneurones à NO-synthase

Il existe très peu de données en général sur les interneurones à NO-synthase striataux, et en particulier aucune concernant la transmission et la plasticité cortico-striatale à leur niveau. Ces interneurones sont aisément identifiables des autres populations neuronales du striatum grâce à des propriétés membranaires actives et passives spécifiques (Figure complémentaire 1A). Brièvement (le détail est indiqué dans la table 2 de l'article 1), ils présentent la résistance d'entrée la plus élevée des neurones striataux (autour de 550 M Ω) et surtout un profil de décharge très particulier. Les premiers PA sont émis en un doublet caractéristique et un plateau dépolarisé persiste à l'arrêt de la stimulation (Figure complémentaire 1A). Dans un premier temps, nous avons voulu déterminer si les interneurones à NO-synthase recevaient des afférences corticales et explorer une éventuelle transmission entre le cortex et ces interneurones. Nous avons observé qu'une stimulation des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel évoquait des EPSCs dans les interneurones à NO-synthase dans 85% des cas (n=27) (Figure complémentaire 1B). Lorsque la transmission entre le cortex et un interneurone à NO-synthase était observée, chaque stimulation induisait une réponse, indiquant que cette transmission est extrêmement reproductible et efficace. Pour un neurone donné, les temps de latence et les amplitudes des EPSCs évoqués par la stimulation corticale se répartissent selon une distribution gaussienne (Figure complémentaire 1C). Les EPSCs évoqués par la stimulation corticale sont glutamatergiques car totalement inhibés par l'application de CNQX (20 μ M) et d'AP5 (50 μ M) (n=8) (Figure complémentaire 1D). Si l'on considère l'ensemble des interneurones à NO-synthase enregistrés, les temps de latence des EPSCs suivent une distribution Gaussienne centrée à 2.1 ms (n=23). De plus, les SD des temps de latence étaient inférieurs à 1 ms (0.23 ± 0.02 ms, n=23), indiquant que la transmission entre le cortex et les interneurones à NO-synthase est monosynaptique (Figure complémentaire 1E).

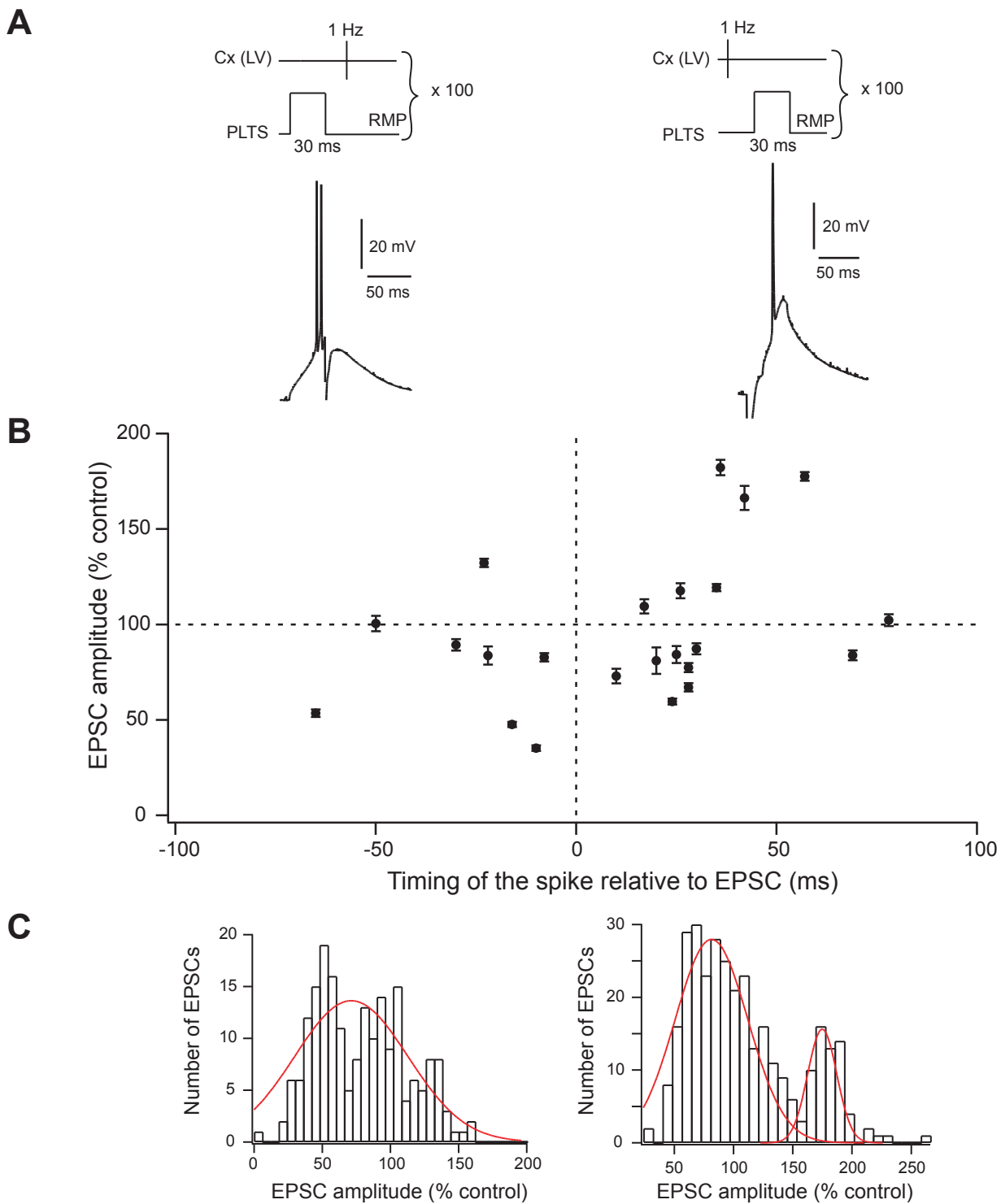


Figure complémentaire 2. STDP au niveau des interneurones à NO-synthase.

A: Représentation schématique des protocoles de STDP et les traces correspondantes enregistrées au niveau de l'interneurone à NO-synthase. Un potentiel d'action (ou un doublet de PA car ces interneurones sont caractérisés par une décharge en doublet) est évoqué juste avant (protocole post-pré) ou juste après (protocoles pré-post) une stimulation corticale. Ce protocole est répété 100 fois à 1 Hz. **B:** Les protocoles de STDP induisent de la plasticité à long-terme (chaque point représente la moyenne \pm SEM des changements de l'amplitude des EPSCs mesurés 60 minutes après le protocole de STDP). Les protocoles post-pré induisent majoritairement de la LTD pour $-65 < \Delta t < 0$ ms ($n=8$) et les protocoles pré-post induisent de la LTD et de la LTP pour $0 < \Delta t < +65$ ms ($n=13$). **C:** La distribution de l'amplitude des EPSCs pour des protocoles post-pré suit une distribution unimodale centrée à 71.3 ± 4.2 % ($n=200$ EPSCs, 8 interneurones à NO-synthase), révélant l'occurrence majoritaire de LTD. Pour les protocoles pré-post, la distribution est bimodale, les deux pics sont centrés à 81.4 ± 2.5 et 174.9 ± 1.0 % ($n=325$ EPSCs, 13 interneurones à NO-synthase), révélant l'occurrence de LTD et de LTP.

2. STDP au niveau des interneurones à NO-synthase

Nous avons ensuite voulu explorer les propriétés plastiques de la transmission entre le cortex et les interneurones à NO-synthase. Pour cela, nous avons utilisé des protocoles de STDP, identiques à ceux utilisés pour les NETM et les interneurones GABAergiques et cholinergiques.

Les protocoles de STDP ont permis d'induire de la plasticité à long-terme efficace et bidirectionnelle au niveau des interneurones à NO-synthase dans 95 % des cas (n=21) pour les intervalles de temps (Δt) compris entre -65 et +65 ms (Figure complémentaire 2B). Les protocoles post-pré (Figure complémentaire 2A) induisent de la LTD dans 75 % des cas (n=8) pour $-65 < \Delta t < 0$ ms (Figure complémentaire 2C). Il est important de noter que parmi les 8 interneurones à NO-synthase testés, seulement un ne développe pas de plasticité. La moyenne de la dépression de l'amplitude des EPSCs induite par les protocoles post-pré (estimée une heure après le protocole de conditionnement cellulaire) était de -21.9 ± 11.9 % (n=8). Cette valeur est significativement différente de la ligne de bas enregistrée en contrôle ($p < 0.01$). Nous n'avons pas encore pu déterminer avec précision à partir de quel Δt aucune plasticité ne peut plus être induite.

Les protocoles pré-post (Figure complémentaire 2A) induisent de la plasticité bidirectionnelle dans 100% des cas (n=13) pour $-60 < \Delta t < 0$ ms. Une LTP est induite dans 46% des cas (n=6) et une LTD dans 54% des cas (n=7) (Figure complémentaire 2C). En moyenne, les valeurs de dépression et de potentialisation de l'amplitude des EPSCs induites par les protocoles pré-post sont -24.4 ± 3.7 % (n=7) et $+45.4 \pm 14.9$ % (n=6) respectivement. Ces valeurs sont significativement différentes de la ligne de base enregistrée en contrôle ($p < 0.01$). Les protocoles post-pré induisent tout de même plus de LTD que de LTP puisque le ratio LTD/LTP est de 1.2. Néanmoins, il faut considérer la dépendance temporelle de l'induction de l'une ou l'autre forme de plasticité. En effet, pour $0 < \Delta t < +30$ ms, la forme majoritaire de plasticité induite est la LTD (ratio LTD/LTP : 7/2) avec une amplitude moyenne de dépression des EPSCs de -24.4 ± 3.4 (n=7), tandis que pour $+30 < \Delta t < +60$ ms, seulement de la LTP est induite ($+61.3 \pm 16.6$, n=4). Il semble donc qu'un Δt faible favorise l'induction d'une LTD et un Δt plus important permettrait l'induction d'une LTP. Pour $\Delta t > +60$ ms, aucune plasticité à long-terme n'est induite (n=2). Il nous reste à déterminer la pharmacologie de la STDP des interneurones à NO-synthase.

En résumé, les interneurones à NO-synthase sont capables de développer une STDP qui présente une orientation semi-classique. En effet, une séquence post-pré induit une LTD et une séquence pré-post induit dans un premier temps (pour $0 < \Delta t < +30$ ms) une LTD puis une LTP (pour $+30 < \Delta t < +60$ ms).

Résumé et discussion

Le point majeur de cette étude est qu'elle met en évidence, d'une part, une transmission efficace du cortex au niveau des différents interneurons striataux et, d'autre part, une STDP spécifique à chaque type neuronal. En effet, nous avons observé des connexions monosynaptiques glutamatergiques entre les cellules pyramidales de la couche V du cortex et les différents interneurons striataux (GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase). Les temps de latence des différentes connexions nous ont permis de déterminer un ordre d'activation des différents neurones suite à une stimulation corticale : d'abord les interneurons GABAergiques, puis les interneurons cholinergiques, les NETM et enfin les interneurons à NO-synthase.

Grâce à des protocoles de STDP, nous avons mis en évidence que les interneurons striataux sont capables de développer de la plasticité à long-terme et, d'autre part, que les STDP induites sont spécifiques à chaque type cellulaire. En effet, les interneurons GABAergiques développent une STDP classique, c'est-à-dire que des protocoles de stimulation post-pré induisent de la LTD et des protocoles pré-post induisent de la LTP. Les interneurons cholinergiques, quant à eux, développent une STDP partiellement inverse : les protocoles post-pré induisent à la fois de la LTP et de la LTD alors que les protocoles pré-post induisent de la LTD. Il est important de noter que l'orientation de la plasticité induite par un protocole post-pré vers une LTP ou une LTD dépend en fait du niveau d'excitabilité des interneurons cholinergiques. Les interneurons à NO-synthase développent quant à eux une STDP semi-classique puisqu'une LTD est induite par des séquences post-pré et des LTD puis LTP par des séquences pré-post (l'induction de LTP ou LTD dépendant du Δt). La spécificité de la STDP se retrouve également au niveau des mécanismes sous-tendant les plasticités dans les deux types d'interneurons : la LTP et la LTD dans les interneurons GABAergiques requièrent toutes les deux l'activation des récepteurs NMDA tandis que, pour les interneurons cholinergiques, la LTP requiert également l'activation des récepteurs NMDA alors que la LTD est dépendante de l'activation des mGluR.

Transmission monosynaptique entre le cortex et les interneurones striataux

Notre observation d'une transmission monosynaptique efficace au niveau des interneurones GABAergiques est cohérente avec des études d'anatomie reportant que les afférences corticales forment de nombreux contacts avec les interneurones GABAergiques (Ramanathan et al., 2002) et des études fonctionnelles *in vivo* indiquent que la transmission cortico-striatale au niveau de ces interneurones est efficace et massive (Parthasarathy et Graybiel, 1994 ; Mallet et al., 2005). En ce qui concerne les interneurones cholinergiques, notre observation d'une transmission efficace est plus surprenante car il n'avait été reporté jusqu'ici qu'une faible innervation corticale sur les interneurones cholinergiques (Wilson et al., 1990 ; Reynolds et Wickens, 2004). Néanmoins, cette différence peut s'expliquer par le fait que nous stimulons le cortex somato-sensoriel alors que les études précédentes avaient étudié l'effet d'une stimulation dans le cortex moteur. Le poids synaptique du cortex somato-sensoriel sur les interneurones cholinergiques est actuellement inconnu *in vivo* et il se pourrait que ce cortex ait une influence plus importante que le cortex moteur sur ces interneurones. Concernant les interneurones à NO-synthase, des évidences anatomiques avaient été apportées concernant l'existence de connexions cortico-striatales (Vuillet et al., 1989). Nous apportons ici la première évidence fonctionnelle d'une transmission entre le cortex somato-sensoriel et les interneurones à NO-synthase. Pour les trois types d'interneurones, la transmission cortico-striatale est monosynaptique et glutamatergique.

Grâce aux temps de latence nous avons pu déterminer une séquence d'activation des différents neurones striataux suite à une stimulation corticale : les interneurones GABAergiques sont les premiers activés, suivent les interneurones cholinergiques, les NETM et enfin les interneurones à NO-synthase. Des études *in vivo* ont également décrit que les interneurones GABAergiques (Mallet et al., 2005) et cholinergiques (Reynolds et Wickens, 2004) déchargeaient avant les NETM suite à une stimulation corticale. Le fait que les interneurones GABAergiques et cholinergiques soient activés avant les NETM les place dans une position idéale pour moduler l'activité des NETM. Ils pourraient par exemple relayer des informations que les NETM ne reçoivent pas directement mais surtout moduler l'excitabilité des NETM avant qu'ils n'intègrent les informations corticales. La fonction de « feed-forward » des interneurones GABAergiques a été décrite par exemple chez le rat GAERS

(genetic model of absence epilepsy rats from strasbourg) (Slaght et al., 2004). Pendant les crises, l'activation préalable des interneurons GABAergiques par des décharges synchrones du cortex entraîne une inhibition puissante des entrées corticales des NETM, les empêchant d'atteindre le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action.

Spécificité cellulaire de la STDP des interneurons striataux

Le rôle du striatum dans les phénomènes d'apprentissage procédural a suscité de nombreuses études sur la plasticité synaptique cortico-striatale (Calabresi et al., 1996 ; Mahon et al., 2004). Néanmoins, malgré le rôle des interneurons dans la régulation du transfert d'informations cortico-striatales, la plasticité synaptique à leur niveau a été très peu explorée. A notre connaissance, la plasticité au niveau des interneurons GABAergiques et à NO-synthase n'a jamais été étudiée. En ce qui concerne les interneurons cholinergiques, deux études *in vitro* ont décrit une LTP induite par des stimulations à haute fréquence du corps calleux (Suzuki et al., 2001 ; Bonsi et al., 2005).

Grâce à des protocoles de STDP, nous avons mis en évidence des phénomènes de plasticité synaptique au niveau des différents interneurons striataux. Ces plasticités sont induites avec une forte occurrence dans les interneurons GABAergiques (95%), cholinergiques (86%) et à NO-synthase (95%). Cette occurrence est similaire à celle observée pour les NETM (90%). Il est important de noter que les STDP sont spécifiques à chaque type cellulaire en terme d'orientation et de fenêtres temporelles pendant lesquelles se développent les plasticités.

Tout d'abord, la fenêtre temporelle dans laquelle les plasticités sont induites est plus étroite pour les NETM (de -30 à +30 ms) que pour les interneurons GABAergiques (de -40 à +60 ms), cholinergiques (de -50 à +60 ms) ou à NO-synthase (de -65 à +65 ms, bien qu'il nous reste à déterminer avec plus de précision les limites temporelles de la STDP des interneurons à NO-synthase).

Une autre spécificité de la STDP pour les différents neurones striataux est illustrée par les orientations des plasticités induites par les protocoles de STDP. En effet, pour les interneurons GABAergiques, la STDP est strictement orientée et des protocoles post-pré induisent de la LTD alors que des protocoles pré-post induisent

de la LTP. Cette orientation est totalement inversée à celle que nous avons observée pour les NETM mais donc conforme à l'orientation classique. Les interneurons cholinergiques développent, quant à eux, une STDP partiellement inversée par rapport à l'orientation classique : des protocoles post-pré induisent de la LTP et de la LTD alors que des protocoles pré-post induisent de la LTD. Le cas des interneurons cholinergiques pourrait être mis en parallèle avec la STDP partiellement inversée observée au niveau des interneurons glycinergiques du noyau cochléaire (Tzounopoulos et al., 2004). Dans ces neurones, si un protocole pré-post induit de la LTD, un protocole post-pré, par contre, n'induit aucune forme de plasticité synaptique. L'induction des deux formes de plasticité par les protocoles post-pré au niveau des interneurons cholinergiques semble être expliquée par des différences du niveau d'excitabilité entre les différents neurones. En effet, nous avons observé une corrélation entre les valeurs de la rhéobase et la plasticité induite. Il semble donc que l'état d'excitabilité d'un interneurone cholinergique soit déterminant dans l'orientation de la plasticité vers une LTP ou une LTD. Les différences d'excitabilité entre les neurones ne peuvent pas être expliquées par des différences dans leurs propriétés membranaires puisqu'il n'a jamais été décrit jusqu'ici différentes sous-populations d'interneurones cholinergiques (Kawaguchi, 1992 ; 1993). Il semble donc plus probable que ce soit les entrées synaptiques des interneurons cholinergiques qui modulent efficacement leur excitabilité. Ces entrées synaptiques sont nombreuses (glutamatergiques, sérotoninergiques, dopaminergiques, GABAergiques ou cholinergiques) et toutes peuvent participer à la modulation de l'activité de ces cellules ; néanmoins, un candidat naturel pourrait être la dopamine. En effet, la dopamine module efficacement l'excitabilité des interneurons cholinergiques (Aosaki et al., 1998 ; Maurice et al., 2004). D'autre part, nous avons observé qu'une déplétion aiguë de dopamine striatale entraîne une augmentation de l'excitabilité des interneurons cholinergiques, majoritairement due à une diminution de leur valeur de rhéobase (voir article 1). En ce qui concerne les interneurons à NO-synthase, nous avons observé une STDP semi-classique puisque des protocoles post-pré induisent de la LTD alors que des protocoles pré-post induisent à la fois de la LTP et de la LTD. Néanmoins, l'induction des deux formes de plasticité par les protocoles pré-post semble dépendre du Δt puisque la LTD est préférentiellement induite pour de faibles Δt alors que l'induction de la LTP se fait pour des Δt plus importants.

Enfin une dernière spécificité cellulaire des STDP des interneurons striataux apparaît au niveau des récepteurs impliqués dans l'induction des plasticités. Pour les interneurons GABAergiques, la LTP et la LTD dépendent toutes deux de l'activation des récepteurs NMDA. La pharmacologie de la STDP des interneurons cholinergiques est différente puisque la LTP est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA alors que la LTD dépend de l'activation des récepteurs mGluR. Pour rappel, concernant la STDP des NETM, la LTP est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA et la LTD des récepteurs CB1. Il nous reste à déterminer les récepteurs impliqués dans la STDP des interneurons à NO-synthase et confirmer s'ils ont également une spécificité au niveau de leur pharmacologie.

Implications fonctionnelles des STDP des interneurons striataux

La spécificité cellulaire de la STDP au niveau des différents types neuronaux du striatum pourrait avoir d'importantes conséquences fonctionnelles.

Les interneurons GABAergiques ont un poids inhibiteur très fort sur les NETM (Koos et Tepper, 1999) et ont donc une grande influence sur leur intégration des informations corticales. De façon intéressante, les interneurons GABAergiques et les NETM développent des STDP avec des orientations strictement opposées. Par exemple, un même protocole post-pré induit une LTP dans les NETM et une LTD dans les interneurons GABAergiques. Ainsi, bien qu'opposées, ces plasticités vont agir dans le même sens pour globalement augmenter ou diminuer la sortie striatale. En effet, si un conditionnement cellulaire induit une LTP dans les NETM, il induira une LTD dans les interneurons GABAergiques, favorisant ainsi une augmentation de la sortie striatale. A l'inverse, un protocole induisant une LTD dans les NETM induira une LTP dans les interneurons GABAergiques, renforçant ainsi la dépression des voies de sortie du striatum. On peut ainsi dire que les STDP au niveau de ces neurones travailleraient en synergie pour augmenter ou diminuer la sortie striatale.

L'effet des interneurons cholinergiques sur la sortie du striatum est relativement plus complexe. En effet, les NETM de la voie directe et indirecte n'expriment pas les mêmes récepteurs muscariniques : ceux de la voie indirecte expriment les récepteurs M1 (excitateurs) alors que ceux de la voie directe expriment à la fois les récepteurs M4 (inhibiteurs) et M1 (Acquas et DiChiara, 2002). La

modulation de l'activité des NETM par les interneurons cholinergiques sera donc opposée sur les deux sous-populations de NETM. Le fait que la STDP des interneurons cholinergiques ne soit pas orientée d'un côté (post-pré) complique également la prédiction de l'influence que pourraient avoir ces interneurons sur les NETM. Néanmoins, si notre hypothèse est exacte, la concentration de dopamine striatale pourrait être déterminante dans l'induction de la LTP ou de la LTD. D'autre part, des études montrent que l'acétylcholine (ou la muscarine) aurait un effet globalement excitateur sur l'ensemble des NETM. En effet, il a été montré que l'activation des récepteurs M1 entraîne une augmentation de l'activité de décharge des NETM (Perez-Rosello et al., 2004) ou induit un EPSCs dans les NETM (Lin et al., 2004). De plus, l'acétylcholine a été décrite comme favorisant la LTP au niveau des NETM (Calabresi et al. 1999b). Si l'on considère donc l'effet des interneurons cholinergiques comme globalement excitateur sur les NETM, une LTP à leur niveau induira une augmentation de l'excitation des NETM et une LTD la diminuera. Ainsi, les deux LTD induites par un protocole pré-post dans les NETM et les interneurons cholinergiques agirait ensemble pour diminuer la sortie striatale. A l'inverse, un protocole post-pré induit majoritairement une LTP au niveau des interneurons cholinergiques et exclusivement une LTP dans les NETM, entraînant ainsi une augmentation de la sortie striatale.

Le rôle des interneurons à NO-synthase est encore mal connu mais il semble qu'ils soient GABAergiques et aient donc un poids inhibiteur important sur les NETM (Tepper et al., 2004). De façon intéressante, l'orientation de la STDP des interneurons à NO-synthase est globalement semblable à celle des interneurons GABAergiques ; à l'exception de la plasticité observée pour des Δt faibles des protocoles pré-post qui induisent majoritairement de la LTD. Néanmoins cette orientation similaire pourrait leur donner un rôle important dans la régulation de la sortie striatale, au même titre que les interneurons GABAergiques. D'autre part, les interneurons à NO-synthase libèrent également du NO qui a été montré comme favorisant l'induction de la LTD au niveau des NETM (Calabresi et al., 1999a). Ainsi, pour un protocole post-pré, les interneurons à NO-synthase libéreront moins de NO (dû à la LTD). Ceci favorisera ainsi la LTP développée par les NETM pour un même protocole de stimulation, participant à l'augmentation de la sortie striatale.

Jusqu'ici la majorité des études concernant la transmission cortico-striatale ne prenait en compte que les connexions entre le cortex et les NETM. Pourtant, chaque

type neuronal du striatum réagit directement aux entrées corticales avec une séquence précise et développe une STDP robuste et spécifique. Ainsi, il semble qu'il faille désormais tenir compte des interneurons striataux en plus des NETM dans la compréhension des circuits cortico-striataux et leur rôle dans l'apprentissage et la mémoire.

**4. Des signaux sous-liminaire induisent de la
plasticité à long-terme au niveau des synapses
cortico-striatales**

***“Subthreshold signals induce long-term plasticity at
corticostriatal synapses”***

***Elodie Fino, Jean-Michel Deniau and Laurent Venance
(soumis)***

&

Résumé et discussion

Subthreshold signals induce long-term plasticity at corticostriatal synapses

Elodie FINO¹, Jean-Michel DENIAU¹ and Laurent VENANCE¹

Running title: Subthreshold-depolarization dependent plasticity

¹Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, INSERM U-667, Collège de France ; Université Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France

Key words : substhreshold depolarization, long-term plasticity, corticostriatal transmission, NMDA receptors, endocannabinoïds.

Corresponding author Dr. L. VENANCE: Dynamique et Physiopathologie des Réseaux Neuronaux, INSERM U-667, Collège de France, 75231 Paris Cedex 05, France

E-mail: laurent.venance@college-de-france.fr

Tel: +331 44 27 12 26, Fax: +331 44 27 12 60

SUMMARY

Action potentials are thought to be determinant for the induction of long-term synaptic plasticity, the cellular basis of learning and memory. However, neuronal activity does not lead systematically to an action potential but also, in many cases, to subthreshold events. This is particularly exemplified in corticostriatal information processing. Indeed, the striatum integrates information from the entire cerebral cortex and, due to the membrane properties of striatal output neurons, cortical inputs do not systematically trigger an action potential but a wide range of postsynaptic depolarizations, which mostly remain subthreshold. We demonstrate, at corticostriatal synapses, that subthreshold signals in quasi-coincidence with presynaptic activity are sufficient to induce long-term synaptic plasticity. Such subthreshold depolarizations are able to induce robust long-term depression (endocannabinoid receptors-activation dependent) as well as long-term potentiation (NMDA receptors-activation dependent). The existence of subthreshold-depolarization dependent plasticity extends considerably the neuron's capabilities to express long-term synaptic efficacy changes.

INTRODUCTION

Learning and memory are thought to involve long-term synaptic efficacy changes (Martin et al., 2000; Martin and Morris, 2002; Lynch, 2004; Malenka and Bear, 2004). In the current conception of activity-dependent plasticity, the action potential constitutes the physiologically pertinent coding event determinant for the induction of long-term synaptic plasticity. The key role of the action potential is exemplified by spike-timing dependent plasticity (STDP), in which the timing between pre- and postsynaptic action potentials rules the induction of long-term synaptic plasticity (Abbott and Nelson, 2000; Bi and Poo, 2001; Sjostrom and Nelson, 2002; Dan and Poo, 2004; 2006). Nevertheless, synaptic transmission does not necessarily lead to the triggering of a postsynaptic action potential. Does that mean that subthreshold signals cannot induce long-term synaptic efficacy changes and are consequently lost for such processes? (Lisman and Spruston, 2005) We have tested this hypothesis at corticostriatal synapses where numerous subthreshold events occur during cerebral cortex activity.

The corticostriatal pathway provides the first step of cortical information processing in the basal ganglia, an ensemble of sub-cortical interconnected nuclei involved in learning of contextual cognitive-motor sequences related to environmental stimuli (Wilson, 1995; Graybiel, 1995; Packard and Knowlton, 2002; Graybiel, 2005; Yin and Knowlton, 2006). Striatum, the main input nucleus of basal ganglia, receives glutamatergic inputs from the whole cerebral cortex. In turn, it relays the integrated cortical information towards the basal ganglia output nuclei through which it operates a selected activation of behavioral effectors. The striatal output neurons (medium-sized spiny neurons, MSNs) represent the main neuronal striatal population and act as detectors and integrators of distributed patterns of cortical activity (Graybiel et al., 1994; Wilson, 1995). Due to their membrane properties (Calabresi et al., 1987; Nisenbaum and Wilson, 1995), MSNs are silent at rest and need strong and correlated inputs to discharge (Calabresi et al., 1987; Nisenbaum and Wilson, 1995). Consequently, cortical inputs do not systematically lead to an action potential but to a wide range of postsynaptic depolarizations, which mostly remain subthreshold (Wilson, 1995; Mahon et al., 2006). Therefore, we have investigated if subthreshold signals could be involved in the induction of long-term corticostriatal synaptic plasticity.

Here, we report that subthreshold depolarizations in MSNs, paired with a quasi-coincident cortical activity, are able to induce long-term synaptic plasticity. This plasticity is bidirectional since LTD as well as LTP can be induced. Both forms of plasticity require the activation of different receptors: LTD is dependent of CB1-receptor activation and LTP is NMDA-receptors activation dependent. Such plasticity underlain by subthreshold depolarizations indicates that action potential is not absolutely necessary to induce long-term synaptic plasticity.

RESULTS

Corticostriatal monosynaptic transmission

We have used rat brain slices in which connections between pyramidal cells of cerebral cortex and MSNs, the striatal output neurons, were preserved (Fino et al., 2005). We have stimulated pyramidal cells from layer V of the somatosensory cortex while recording MSNs in the dorsal striatum by perforated patch-clamp (Figure 1A). MSNs were identified morphologically (medium-sized soma with highly branched spiny dendrites) (Figure 1B) and electrophysiologically: a hyperpolarized resting membrane potential (RMP; -72.4 ± 0.6 mV, $n=72$), an inward rectification of I-V relationship and a long delay to first spike (384 ± 6 ms) (Figure 1C). Stimulations of cortical afferents evoked glutamatergic excitatory postsynaptic currents (EPSCs) (inhibited by CNQX 10 μ M and AP5 50 μ M, $n=5$) in MSNs (Figure 1D) with a success rate of 97 % ($n=72$). Once corticostriatal transmission was established, no failures were observed. Cortically-evoked EPSCs displayed homogeneous latency times centered on 1.8 ms, ($n=36$ MSNs) (Figure 1E). Transmission was monosynaptic since the standard deviations of latencies were inferior to 0.5 ms (the very narrow Gaussian distribution was centered on 0.19 ms, $n=36$ MSNs) (Figure 1F).

Subthreshold-depolarization dependent plasticity (SDDP)

We tested whether postsynaptic subthreshold signals, in quasi-coincidence with corticostriatal presynaptic activity, could induce long-term synaptic efficacy changes in MSNs. A brief-duration (30 ms) subthreshold-depolarization was induced in a single MSN a few milliseconds before (post-pre protocol) or after (pre-post protocol) a cortical afferent stimulation (Figure 2A). The amplitudes of evoked postsynaptic subthreshold-depolarizations (27.9 ± 0.9 mV, $n=36$ MSNs) were in accord with subthreshold membrane potential transitions observed *in vivo* in MSNs (Stern et al., 1998; Mahon et al., 2006). Strikingly, subthreshold-depolarizations protocols were able to induce reliable and robust long-term synaptic plasticity (Figure 2). Such plasticity was bidirectional, since both post-pre and pre-post subthreshold-depolarizations protocols could induce long-term depression (LTD) as well as long-term potentiation (LTP) (Figure 2). Accordingly, we have named these long-term synaptic efficacy changes “subthreshold-depolarization dependent plasticity” (SDDP). Bidirectional plasticities induced by SDDP protocols are illustrated by representative

experiments showing a post-pre LTD, a post-pre LTP, a pre-post LTD and a pre-post LTP (Figure 2B). Strong and significant SDDP occurred at a very high rate (86%, $n=36$) indicating that subthreshold-depolarizations are very effective in inducing long-term synaptic plasticity. For post-pre SDDP protocols, bidirectional long-term plasticities (LTD as well as LTP) occurred with a success rate of 87% for time intervals between pre- and postsynaptic stimulations (Δt) $-110 < \Delta t < 0$ ms ($n=15$) (Figure 2C). The occurrence of both LTD and LTP for $-110 < \Delta t < 0$ ms is illustrated by the bimodal distribution of EPSC amplitudes changes (the two peaks were centered on $65.0 \pm 27.9\%$ and $120.7 \pm 27.9\%$, $n=390$ EPSCs measured from 15 MSNs) (Figure 2D). No long-term synaptic efficacy changes were observed for Δt beyond -110 ms ($n=3$) (Figure 2C), as illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $95.0 \pm 23.5\%$ ($n=78$ EPSCs, 3 MSNs) (Figure 2D). For pre-post SDDP protocols, bidirectional long-term plasticities occurred with a success rate of 93% for $\Delta t < +110$ ms ($n=15$). Bidirectionality of long-term plasticity for $0 < \Delta t < +110$ ms is illustrated by the bimodal distribution of EPSC amplitudes changes (the two peaks were centered on $63.3 \pm 23.1\%$ and $131.7 \pm 42.7\%$, $n=390$ EPSCs, 15 MSNs) (Figure 2D). No long-term plasticity was observed for $\Delta t > +110$ ms ($n=3$) (Figure 2C) as illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitudes changes centered on $95.2 \pm 22.2\%$ ($n=78$ EPSCs, 3 MSNs) (Figure 2D).

Do presynaptic or subthreshold postsynaptic stimulation induce plasticity without pairing?

To determine if the quasi-coincidence between pre- and postsynaptic stimulations was essential for the induction of bidirectional long-term plasticity, we explored the consequences of either presynaptic stimulations alone or postsynaptic subthreshold-depolarizations alone. Presynaptic stimulation alone (Figure 3A) induced LTD in 71% of the cases ($n=7$) and the remaining 29% MSNs displayed an absence of significant long-term plasticity. EPSC amplitude changes displayed a bimodal distribution (the two peaks were centered on $65.5 \pm 10.0\%$ and $97.0 \pm 14.6\%$, $n=220$ EPSCs, 7 MSNs). The averaged magnitude of the long-term plasticity was a depression of $-19.4 \pm 7.2\%$ ($n=7$) (Figure 3C). This is in accordance with a previous observation reporting the occurrence of corticostriatal LTD after a non-Hebbian low-frequency stimulation consisting in 600 presynaptic stimulations at 1 Hz while the MSN was maintained at

its RMP (Fino et al., 2005). The 100 presynaptic stimulations applied here constitute a very short-duration non-Hebbian low-frequency induction protocol, which is nevertheless able to induce corticostriatal LTD. Comparison between the plasticity induced by the pre protocol and SDDP revealed major differences both in term of efficiency and synaptic efficacy changes. With the pre protocol, the failure rate was higher (29% vs 10%), the plasticity was strictly orientated toward a LTD and the evoked depression significantly weaker ($-19.4 \pm 7.4\%$ vs $-34.9 \pm 3.8\%$, $n=5$ and 18 MSNs, $p < 0.05$). Postsynaptic subthreshold-depolarizations alone failed to induce any long-term plasticity (illustrated by the unimodal distribution of EPSC amplitude changes centered on $96.0 \pm 25.3\%$, $n=186$ EPSCs, 6 MSNs) (Figure 3B). The average of long-term synaptic efficacy changes was not significantly different from the baseline ($+2.6 \pm 7.5\%$, $n=6$) (Figure 3C). It should be noted that postsynaptic subthreshold-depolarizations amplitudes evoked during post protocol were not significantly different than those induced for SDDP protocols (28.7 ± 1.2 vs 27.9 ± 0.9 mV, respectively).

Characterization of corticostriatal SDDP

During the time interval $-110 < \Delta t < +110$ ms, for which long-term plasticities were observed, post-pre and pre-post SDDP protocols ($n=30$) induced LTD twice as often (60%) as LTP (30%). Interestingly, depending on the Δt of post-pre and pre-post SDDP protocols, different proportions of LTD and LTP were observed (Figure 4A). LTD/LTP occurrence ratios were 1.6 for post-pre ($n=15$) and 2.5 for pre-post ($n=15$) protocols. Moreover, LTP was induced more frequently at shorter Δt than LTD (Figure 2B). Thus, if we consider the time interval during which LTP occurred ($-50 < \Delta t < +50$ ms), LTD was predominant for pre-post (LTD/LTP occurrence ratio was 1.8, $n=11$) but not for post-pre protocol (LTD/LTP occurrence ratio was 1.0, $n=10$). Importantly, the sequence order of pre- and postsynaptic events had no significant incidence on the magnitude of LTD or LTP (Figure 4B). Considering the post-pre protocol and the pre-post protocols respectively, the magnitudes of depression of EPSC amplitude observed for LTD were $-35.3 \pm 7.1\%$ ($n=8$) and $-34.6 \pm 4.7\%$ ($n=10$) and the magnitudes of potentiation observed for LTP were $+34.8 \pm 11.5\%$ ($n=5$) and $+37.4 \pm 12.4\%$ ($n=4$). These mean values were significantly different from the baseline recorded in control ($p < 0.01$) (see averaged baseline data in Figure S1).

We investigated if occurrences and magnitudes of SDDP could be predicted by parameters related to the induction protocol (evoked subthreshold-depolarization amplitude), synaptic transmission (EPSC rise time, latency and amplitude before stimulation protocol) or neuronal membrane properties (RMP and input resistance). Although a wide range of postsynaptic depolarization amplitudes was evoked (from 18.6 to 42.7 mV), we did not observe any significant correlation between subthreshold-depolarization amplitudes and the magnitude of SDDP-evoked long-term plasticities (Figure 4C). EPSC rise time is related to electrotonic distance, which has been proposed to be a key component for the orientation (LTP vs LTD) of STDP (Sjostrom and Hausser, 2006; Letzkus et al., 2006). Regarding SDDP, however, we did not observe any significant correlation between EPSC rise times and synaptic efficacy changes (Figure 4D). This is in accord with a model of MSN dendrites predicting that the attenuation of corticostriatal EPSPs, generated in the spiny segment of the dendrites, is not tightly related to electrotonic distance (Wilson, 1984). Similarly, no significant correlation was observed between EPSC latency, EPSC amplitude, RMP or input resistance and the occurrence and magnitude of SDDP-evoked plasticities (Figure S2).

SDDP-induced LTD and LTP involve distinct receptors

We then explored which receptors were involved in the induction of SDDP. SDDP pharmacology was investigated for $-30 < \Delta t < +30$ ms, an interval corresponding to the maxima of induction rate and magnitude of both LTD and LTP (Figure 2C). The bimodal distribution of EPSC amplitude changes observed in control became unimodal when AP5 50 μ M (NMDA-receptor antagonist) or AM251 3 μ M (cannabinoid receptor type-1, CB1, antagonist) were applied (Figure 5A). With AP5, the peak was centered on $65.0 \pm 25.8\%$ ($n=208$ EPSCs, 8 MSNs) revealing the occurrence of LTD, while no LTP was observed. With AM251, the peak was centered on $105.0 \pm 27.9\%$ ($n=208$ EPSCs, 8 MSNs) revealing the absence of LTD (Figure 5A) while some LTP could still be induced (Figure 5B). In conclusion, LTD is CB1-receptor-activation dependent and LTP NMDA-receptor-activation dependent. Similar results were obtained when post-pre and pre-post SDDP protocols were considered separately (Figure 5C-D). Therefore, bidirectional long-term plasticities induced by post-pre and pre-post SDDP protocols share the same pharmacological

characteristics. AP5 prevents the induction of LTP whereas AM251 prevents the induction of LTD.

Is MSN firing a critical event for corticostriatal plasticity? Comparison of corticostriatal SDDP and STDP

We have previously characterized STDP at corticostriatal synapses (Fino et al., 2005). We observed that STDP was strictly orientated (Figure 6B): post-pre STDP protocol induced LTP (72%, n=18), while pre-post STDP protocol induced LTD (85%, n=13). This direction of synaptic efficacy changes was reversed compared to that described so far in mammals (Abbott and Nelson, 2000; Dan and Poo, 2004; 2006). The SDDP protocol applied in the present study uses a similar cortical afferent volley but differs from the STDP in the lack of occurrence of postsynaptic AP (Figure 6A). Remarkably, despite the lack of the postsynaptic spike, the SDDP protocol protocols induced long-term synaptic efficacy changes with the same failure rate (10%) than STDP protocol and no significant difference was observed between the average magnitudes of long-term plasticities obtained after SDDP or STDP protocols. However, it should be noted that, even if magnitude averages are not significantly different, post-pre STDP protocols have the capability to induce LTP with a higher magnitude than those induced by SDDP protocols (Figure 6B). In addition, the same receptors are involved in the induction of SDDP and STDP. Indeed we analyzed the receptors involved in the induction of the LTD and LTP induced by STDP protocols. We observed that STDP LTD is CB1-receptor-activation dependent and the STDP LTP NMDA-receptor-activation dependent (Figure S3). Besides these similar features STDP contrast SDDP in two main ways: (i) contrarily to SDDP which elicits non orientated synaptic efficacy changes in STDP, the postsynaptic AP timing determines the occurrence of either LTP or LTD and (ii) STDP was induced within a narrower time window ($-30 < \Delta t < +30$ ms) than SDDP ($-110 < \Delta t < +110$ ms) (Figure 6B). Therefore even though the postsynaptic spike appears determinant for the orientation of the plasticity and increases precision of the temporal window of plasticity induction, postsynaptic subthreshold-depolarization in coincidence with presynaptic activation is able to induce reliable bidirectional long-term plasticity.

DISCUSSION

Striatum, the major input nucleus of the basal ganglia, processes information from the whole cerebral cortex. In striatum, MSNs detect and integrate distributed cortical inputs. Accordingly, due to the specific membrane properties of MSNs that dampen the efficacy of glutamatergic cortical inputs, a strong and correlated cortical activity is required to evoke an action potential in these cells. This confer to the striatum the ability to extract relevant information from the background noise and relay it toward the output nuclei (substantia nigra *pars reticulata* and entopeduncular nucleus) to induce a cognitivo-motor sequence adapted to environmental stimuli. The consequence of such working mode of corticostriatal pathway is that most of cortical activities lead to subthreshold depolarizations in MSNs, as recently reported in awake rats (Mahon et al., 2006). Therefore, considering the major implication of striatum in sensorimotor learning, we have tested if subthreshold signals could be implicated in long-term coding at MSN corticostriatal synapses. Surprisingly, we have observed that subthreshold signals, in quasi-coincidence with presynaptic cortical activity, are sufficient to induce long-term synaptic plasticity. Such SDDP is bidirectional since post-pre as well as pre-post SDDP protocols are able to induce robust LTD and LTP. Both forms of synaptic plasticity are underlain by two different mechanisms since LTD required the activation of the CB1 receptors whereas LTP is NMDA receptor-activation dependent. Comparison of corticostriatal SDDP and STDP indicates that postsynaptic subthreshold-depolarization is sufficient to induce bidirectional long-term plasticity and postsynaptic AP is determinant in the orientation of the plasticity. The postsynaptic back-propagating AP is generally admitted to be the key component of the long-term plasticity as highlighted by STDP. Nevertheless, some elements indicate that the back-propagating AP would not be the only postsynaptic depolarizing event necessary for the induction of long-term synaptic plasticity (Staubli et al., 1996; Golding et al., 2002; Holthoff et al., 2004; Sjostrom et al., 2004). In the hippocampus, a low-frequency stimulation at 1Hz induced LTD whatever the amplitude of post-synaptic depolarization (subthreshold EPSP versus action potential) (Staubli et al., 1996); the amplitude of post-synaptic depolarization only influence the LTD magnitude. In the same structure, a LTP can be induced even with a blockade of the back-propagating AP by applying TTX at the proximal dendrites when associated with dendritic stimulation, sufficient to evoke a dendritic spike, paired with pre-synaptic theta burst (Golding et al., 2002). In addition, a single EPSP evoked in cortical layer V pyramidal neuron induced local dendritic spike

sufficient to induced LTD (Holthoff et al., 2004). In addition, the impact of subthreshold-depolarization on long-term synaptic plasticity has been addressed by studies using various cell conditioning protocols (theta burst (Artola et al., 1990) and STDP (Sjostrom et al., 2004)). Namely, in these studies subthreshold-depolarization corresponded to changes of holding membrane potential for relatively long duration (1 minute (Artola et al., 1990) and 250 ms (Sjostrom et al., 2004)) and induced either LTP (Artola et al., 1990) or LTD (Sjostrom et al., 2004) but not bidirectional plasticity. Indeed, in the cortex, a pairing of a pre-synaptic AP and a post-synaptic subthreshold depolarization induced either LTD (sequence post-pre or coincident activation of post- and presynaptic elements) or no plasticity (sequence pre-post) (Sjostrom et al., 2004). These experiments indicate that a back-propagation of a somatic AP is not absolutely necessary for the induction of long-term synaptic efficacy changes.

Here, we chose to use brief subthreshold-depolarizations (30 ms) to mimic corticostriatal subthreshold summation of EPSPs induced by cortical activity paired with a pre-synaptic cortical stimulation. The induced bidirectional SDDP demonstrates that back-propagating action potential is not absolutely necessary and shows that a somatic subthreshold event back-propagate efficiently to induce long-term plasticity. Surprisingly, corticostriatal SDDP and STDP share the same pharmacology: LTD are mediated by endocannabinoid through CB1-receptors activation and LTP are NMDA-receptors activation-dependent. Such similar pharmacology could indicate that subthreshold events are very efficiently transmitted throughout the dendritic tree in MSNs. Indeed, in coincidence with a presynaptic stimulation, a subthreshold depolarization is able to activate NMDA receptors or to induce a release of endocannabinoids similarly to a back-propagating action potential.

Nevertheless, it remains to determine what orientate the plasticity toward a LTP or a LTD. In pyramidal cells of the cerebral cortex, localization of synapses on the dendritic tree (distal vs. proximal) associated with cable properties of the dendrites (electrotonic distance) have been proposed to be determinant for the orientation (LTP vs. LTD) of STDP induced by the same cellular conditioning protocols (Sjöström and Häusser, 2006; Letzkus et al., 2006). Concerning corticostriatal SDDP, we did not observe any significant correlation between EPSC rise time (which is an abacus of electrotonic distance) and the orientation of long-term synaptic efficacy changes. This dissimilarity could be explained by two characteristics of MSNs: (i) all corticostriatal

afferents are distributed throughout the spiny part of the dendrites (corresponding to the distal arborization, the proximal dendrites being aspiny) (Chang et al., 1982; Smith and Bolam, 1990) and (ii) a model of MSN dendrites predicts that the attenuation of corticostriatal EPSPs, generated in the spiny segment of the dendrites, is not tightly related to electrotonic distance (Wilson, 1984).

Within the corticostriatal network, SDDP and STDP are physiologically relevant for information processing. MSNs, which receive convergent inputs from a large number of cortical cells, have been proposed to act as selective coincidence detectors, since they require highly correlated and strong cortical inputs to fire (Wilson, 1995). This operational mode implies that much of cortical activity leads to subthreshold events that nevertheless induce SDDP and are therefore taken into account by MSNs. SDDP could have multiple consequences for corticostriatal transmission. Thus, change in the corticostriatal transmission efficacy induced by SDDP is expected to shift the threshold of MSN coincidence detection. Indeed, LTP induced by theta burst in the hippocampus has been shown to facilitate the coincidence detection (Xu et al., 2006). In addition, once the corticostriatal transmission reaches the AP threshold, a previous SDDP should induce a temporal shift of the spike timing and consequently modify the occurrence and magnitude of a subsequent STDP. Such impact of SDDP on STDP is reinforced by the fact that STDP is highly temporally restricted and the temporal position of the spike has a determinant weight on the induced long-term plasticity orientation and magnitude. If STDP and SDDP protocols share the same capability to code for bidirectional long-term plasticity, they display, nevertheless, specific properties since STDP is orientated and temporally restricted while SDDP is not orientated and inducible in a larger time window. Therefore, the required conditions for SDDP induction are much less stringent than those for STDP occurrence. In conclusion, SDDP extends considerably the capabilities of neuronal long-term coding, beyond the AP, making the neuron an analogue element.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Electrophysiological recordings

Perforated patch-clamp recordings (amphotericin B, 0.2 mg/ml) of MSNs were performed on horizontal brain slices (330 μm) from Sprague-Dawley rats (postnatal days 15-21). These slices were prepared at the level of the somatosensory cortical area and of the corresponding corticostriatal projection field (Fino et al., 2005) (Figure 1A). Patch-clamp recordings were made as previously described (Venance et al., 2004; Fino et al., 2005). Briefly, borosilicate glass pipettes of 10-15 $\text{M}\Omega$ resistance contained (mM): 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES and 0.3 EGTA (adjusted to pH 7.35 with KOH). The composition of the extracellular solution was (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 25 glucose, 25 NaHCO_3 , 1.25 NaH_2PO_4 , 2 CaCl_2 , 1 MgCl_2 , 10 μM pyruvic acid bubbled with 95% O_2 and 5% CO_2 . All recordings were performed at 32°C using a temperature control system (Biopetechs $\Delta\text{TC}3$, Butler, PA, USA) and slices were continuously superfused at 2-3 ml/min with the extracellular solution. Individual neurons were identified using infrared-differential interference contrast microscopy with CCD camera (Hamamatsu C2400-07; Hamamatsu, Japan). Signals were amplified using an EPC9-2 amplifier (HEKA Elektronik, Lambrecht, Germany). Current-clamp recordings were filtered at 2.5 kHz and sampled at 5 kHz and voltage-clamp recordings were filtered at 5 kHz and sampled at 10 kHz using the program Pulse-8.53 (HEKA Elektronik). Series resistance compensation was set to 75-80% ($13.7 \pm 0.9 \text{ M}\Omega$, $n=72$).

All chemicals were purchased by Sigma (Saint Quentin, France) except 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX), DL-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5) and AM251 (Tocris, Ellisville, MO, USA).

Biocytin filling and histochemistry

Biocytin (Sigma) 5mg/ml was dissolved into the patch-clamp pipette solution and cells were filled during at least 20 min of recording (performed at 32°C).

Subsequently, slices were fixed overnight in 2% paraformaldehyde at 4°C. Biocytin-filled cells were visualized using the avidin-biotin-horseradish peroxidase reaction (ABC Elite peroxidase kit; Vector Laboratories) according to the instructions of the manufacturer.

Stimulation protocols

Electrical stimulations of the cerebral cortex were performed with a bipolar electrode (Phymep, Paris, France) placed in the layer V of the somatosensory cortex (Fino et al., 2005). There was no significant difference in the current intensities of cortical stimulations between each stimulation protocol group (post-pre and pre-post SDDP protocols). This indicates that the orientation of induced synaptic plasticities (LTP vs. LTD) was not related to the stimulation intensity. Currents were adjusted in order to evoke striatal EPSCs ranging from 50 to 200 pA amplitudes. Repetitive control stimuli were applied at 0.1 Hz, a frequency for which neither short- nor long-term synaptic efficacy changes in EPSC amplitudes were induced (Fino et al., 2005). SDDP experiments consisted in pairing presynaptic stimulus and postsynaptic subthreshold-depolarization at defined time interval, which was varied between experiments. Cortical stimulations and evoked subthreshold-depolarizations in MSNs were delivered 100 times at 1 Hz. Neurons were recorded for at least one hour after the stimulation protocol; long-term synaptic efficacy changes were measured around one hour. Input resistance was monitored throughout the experiments and a variation superior to 20% led to the rejection of the experiment. Drugs were applied in the bath, after recording 10 minutes of baseline and 10 minutes before stimulation protocol, and were present continuously until the end of the recording.

Data analysis

Off-line analysis was performed using Igor-Pro (Wavemetrics, Lake Oswego, OR, USA). All results were expressed as mean \pm SEM (except in Figure 6B, in which mean \pm SD were represented) and statistical significance was assessed using the Student's t test, the non-parametric Mann-Whitney test when appropriate or the Pearson test for correlations at the significance level (p) indicated. EPSC mean amplitudes, measured 60 minutes after induction protocol, were the average of 26 evoked EPSCs (each 26 EPSC was normalized to the mean of EPSC amplitudes recorded before induction protocol). Synaptic efficacy changes were classified as either LTP or LTD when the mean of normalized EPSCs amplitudes was significantly different from the control baseline (Figure S1). Histograms represent the distributions

of normalized EPSC amplitude changes; 26 normalized EPSCs were plotted for each cell.

REFERENCES

Abbott, L. F., and Nelson, S. B. (2000). Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci 3 Suppl*, 1178-1183.

Artola, A., Brocher, S., and Singer, W. (1990). Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature 347*, 69-72.

Bi, G., and Poo, M. (2001). Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu Rev Neurosci 24*, 139-166.

Calabresi, P., Misgeld, U., and Dodt, H. U. (1987). Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. *Neuroscience 20*, 293-303.

Chang, H. T., Wilson, C. J., and Kitai, S. T. (1982). A Golgi study of rat neostriatal neurons: light microscopic analysis. *J Comp Neurol 208*, 107-126.

Dan, Y., and Poo, M. M. (2004). Spike timing-dependent plasticity of neural circuits. *Neuron 44*, 23-30.

Dan, Y., and Poo, M. M. (2006). Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev 86*, 1033-1048.

Fino, E., Glowinski, J., and Venance, L. (2005). Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. *J Neurosci 25*, 11279-11287.

Golding, N. L., Staff, N. P., and Spruston, N. (2002). Dendritic spikes as a mechanism for cooperative long-term potentiation. *Nature 418*, 326-331.

Graybiel, A. M. (1995). Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol 5*, 733-741.

Graybiel, A. M. (2005). The basal ganglia: learning new tricks and loving it. *Curr Opin Neurobiol* 15, 638-644.

Graybiel, A. M., Aosaki, T., Flaherty, A. W., and Kimura, M. (1994). The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265, 1826-1831.

Holthoff, K., Kovalchuk, Y., Yuste, R., and Konnerth, A. (2004). Single-shock LTD by local dendritic spikes in pyramidal neurons of mouse visual cortex. *J Physiol* 560, 27-36.

Letzkus, J. J., Kampa, B. M., and Stuart, G. J. (2006). Learning rules for spike timing-dependent plasticity depend on dendritic synapse location. *J Neurosci* 26, 10420-10429.

Lisman, J., and Spruston, N. (2005). Postsynaptic depolarization requirements for LTP and LTD: a critique of spike timing-dependent plasticity. *Nat Neurosci* 8, 839-841.

Lynch, M. A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84, 87-136.

Mahon, S., Vautrelle, N., Pezard, L., Slaght, S. J., Deniau, J. M., Chouvet, G., and Charpier, S. (2006). Distinct patterns of striatal medium spiny neuron activity during the natural sleep-wake cycle. *J Neurosci* 26, 12587-12595.

Malenka, R. C., and Bear, M. F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44, 5-21.

Martin, S. J., Grimwood, P. D., and Morris, R. G. (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23, 649-711.

Martin, S. J., and Morris, R. G. (2002). New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* 12, 609-636.

Nisenbaum, E. S., and Wilson, C. J. (1995). Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J Neurosci* 15, 4449-4463.

Packard, M. G., and Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 25, 563-593.

Sjostrom, P. J., and Hausser, M. (2006). A cooperative switch determines the sign of synaptic plasticity in distal dendrites of neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 51, 227-238.

Sjostrom, P. J., and Nelson, S. B. (2002). Spike timing, calcium signals and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 12, 305-314.

Sjostrom, P. J., Turrigiano, G. G., and Nelson, S. B. (2004). Endocannabinoid-dependent neocortical layer-5 LTD in the absence of postsynaptic spiking. *J Neurophysiol* 92, 3338-3343.

Smith, A. D., and Bolam, J. P. (1990). The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosci* 13, 259-265.

Staubli, U. V., and Ji, Z. X. (1996). The induction of homo- vs. heterosynaptic LTD in area CA1 of hippocampal slices from adult rats. *Brain Res* 714, 169-176.

Stern, E. A., Jaeger, D., and Wilson, C. J. (1998). Membrane potential synchrony of simultaneously recorded striatal spiny neurons in vivo. *Nature* 394, 475-478.

Venance, L., Glowinski, J., and Giaume, C. (2004). Electrical and chemical transmission between striatal GABAergic output neurones in rat brain slices. *J Physiol* 559, 215-230.

Wilson, C. J. (1984). Passive cable properties of dendritic spines and spiny neurons. *J Neurosci* 4, 281-297.

Wilson, C. J. (1995). The contribution of cortical neurons to the firing pattern of striatal spiny neurons. In *Models of information processing in the basal ganglia* (Cambridge, MIT Press), pp. 29-50.

Xu, N. L., Ye, C. Q., Poo, M. M., and Zhang, X. H. (2006). Coincidence detection of synaptic inputs is facilitated at the distal dendrites after long-term potentiation induction. *J Neurosci* 26, 3002-3009.

Yin, H. H., and Knowlton, B. J. (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7, 464-476.

Acknowledgements:

We would like to thank Dr. Boris Barbour, Dr. Philippe Faure, Dr. Clément Léna, Dr. Olivier Manzoni and Dr. Nephi Stella for reading the manuscript and helpful comments.

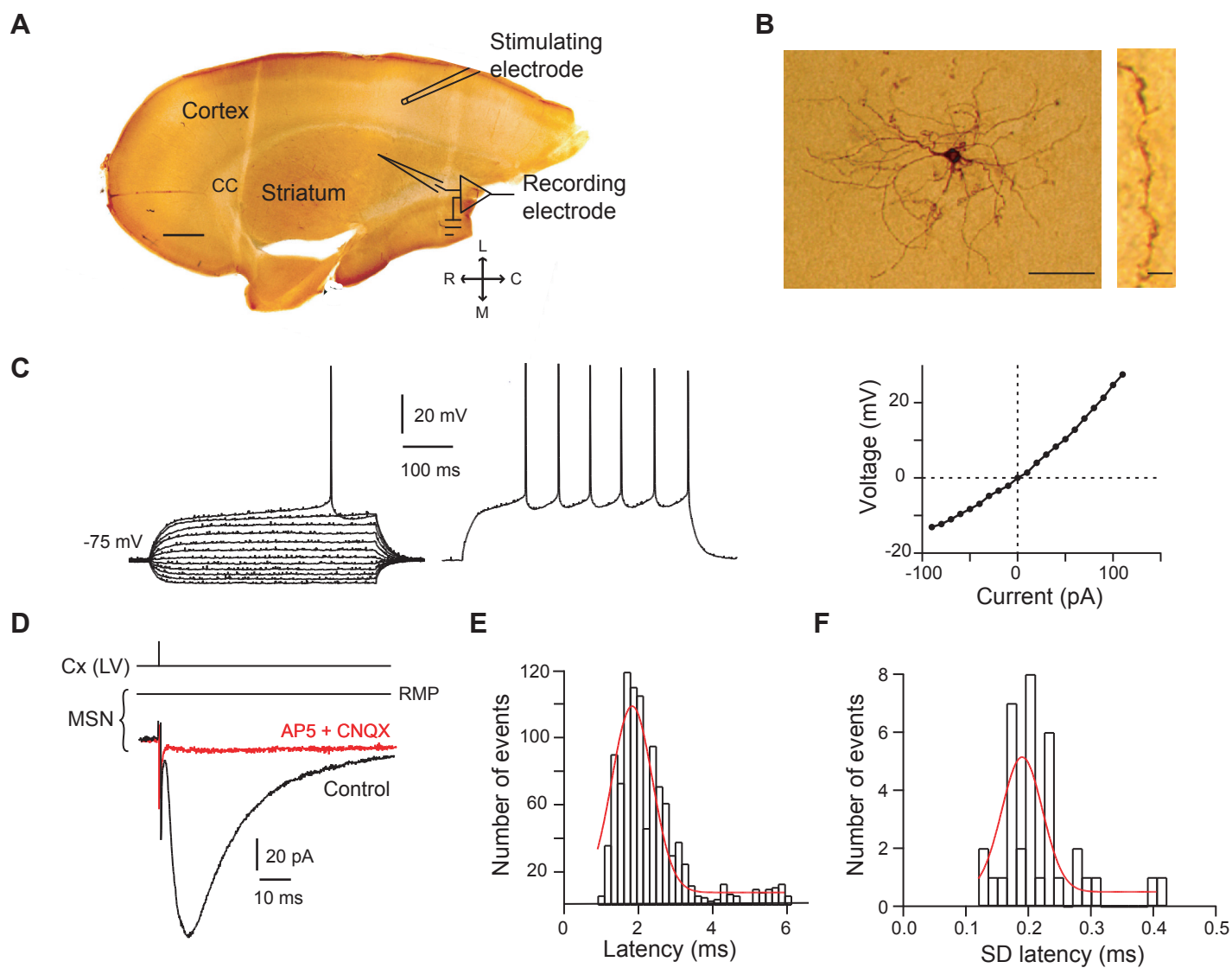


Figure 1: Corticostriatal monosynaptic transmission. **(A)** Microphotographs of the horizontal corticostriatal slice preparation (scale bar, 500 μm). The stimulating electrode was placed in the layer V of the somatosensory cortex and patch-clamp recordings were performed in the dorsal striatum. R, C, L and M: rostral, caudal, lateral and median. **(B)** High magnification of a MSN injected with biocytin and a characteristic spiny dendrite (scale bars, 100 and 5 μm). **(C)** MSNs membrane properties and spiking pattern: a hyperpolarized RMP, an inward rectification (illustrated in the steady-state I-V relationship) and a long depolarizing ramp to the AP threshold leading to a delayed spike discharge. Raw traces show voltage responses to 500 ms current pulses from -90 pA to 110 pA with 20 pA steps and to +40 pA above AP threshold. **(D)** Cortically-evoked MSN EPSCs (averages of 7 traces) in control and with CNQX (10 μM) and AP5 (50 μM). **(E)** Latencies distribution of EPSCs recorded in 36 MSNs was centered on 1.8 ms and well fitted by a Gaussian curve. **(F)** Distribution of latency SD was centered on 0.19 ms and fitted by a Gaussian function. These values of SD latency indicate a monosynaptic corticostriatal transmission because inferior to 0.5 ms.

Cx (LV), cortical layer V. CC: corpus callosum.

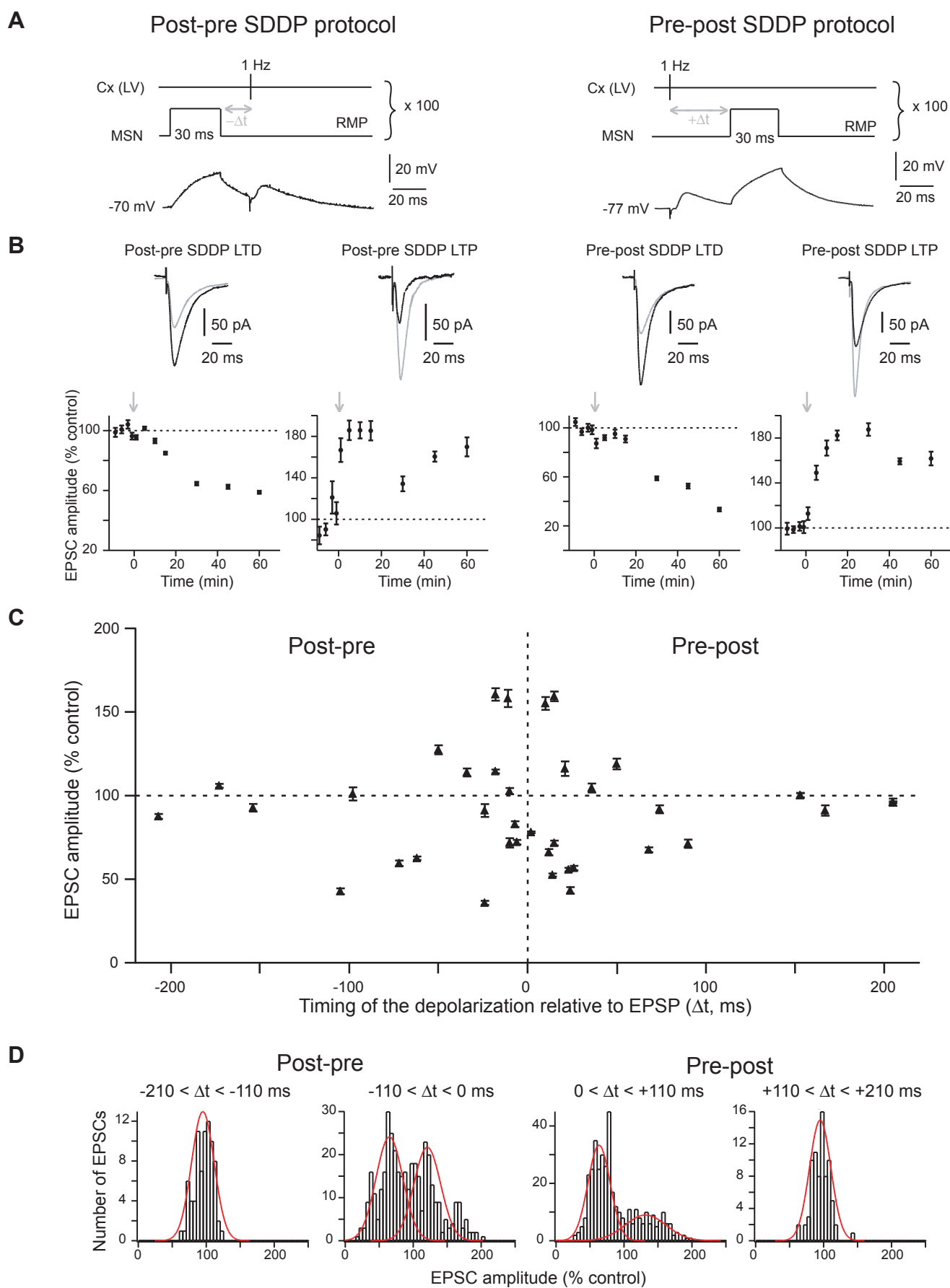


Figure 2: Corticostriatal SDDP. **(A)** SDDP protocols and the corresponding raw traces of the postsynaptic MSN recording. Brief subthreshold-depolarizations were evoked in the MSN just before (post-pre SDDP protocol) or after (pre-post SDDP protocol) cortical stimulation (100 paired stimulations at 1 Hz). **(B)** Representative experiments of SDDP for the four cases observed. Long-term synaptic efficacy changes (illustrated by EPSCs evoked in control, black, and 60 minutes after induction protocol, grey) were $-37.5 \pm 1.4\%$ for post-pre LTD, $+60.5 \pm 4.9\%$ for post-pre LTP, $-47.5 \pm 2.0\%$ for pre-post LTD and $+59.3 \pm 2.7\%$ for pre-post LTP (arrows indicate the time of the cellular conditioning protocols). **(C)** SDDP protocols induce bidirectional long-term synaptic plasticity (each 36 MSN is indicated by black triangle, mean \pm SEM measured 60 minutes after induction protocol). Post-pre protocols induced LTD and LTP for $-110 < \Delta t < 0$ ms ($n=15$). Pre-post protocols induced LTD and LTP for $0 < \Delta t < +110$ ms ($n=15$). No long-term plasticity occurred for Δt beyond ± 110 ms ($n=6$). **(D)** EPSC amplitude changes histograms. Histograms for post-pre and pre-post SDDP protocols for $-210 < \Delta t < -110$ ms and $+110 < \Delta t < +210$ ms, respectively, display a unimodal distribution fitted with one Gaussian function centered on $95.0 \pm 2.7\%$ for $-210 < \Delta t < -110$ ms ($n=78$ EPSCs, 3 MSNs) and $95.2 \pm 2.5\%$ for $+110 < \Delta t < +210$ ms ($n=78$ EPSCs, 3 MSNs). Histograms for post-pre and pre-post protocols from ± 110 to 0 ms displayed a bimodal distribution fitted with a sum of two Gaussian functions, plotted individually, centered on $65.0 \pm 27.9\%$ and $120.7 \pm 27.9\%$ for $-110 < \Delta t < 0$ ms ($n=390$ EPSCs, 15 MSNs) and $63.3 \pm 23.1\%$ and $131.7 \pm 42.7\%$ for $0 < \Delta t < +110$ ms ($n=390$ EPSCs, 15 MSNs).

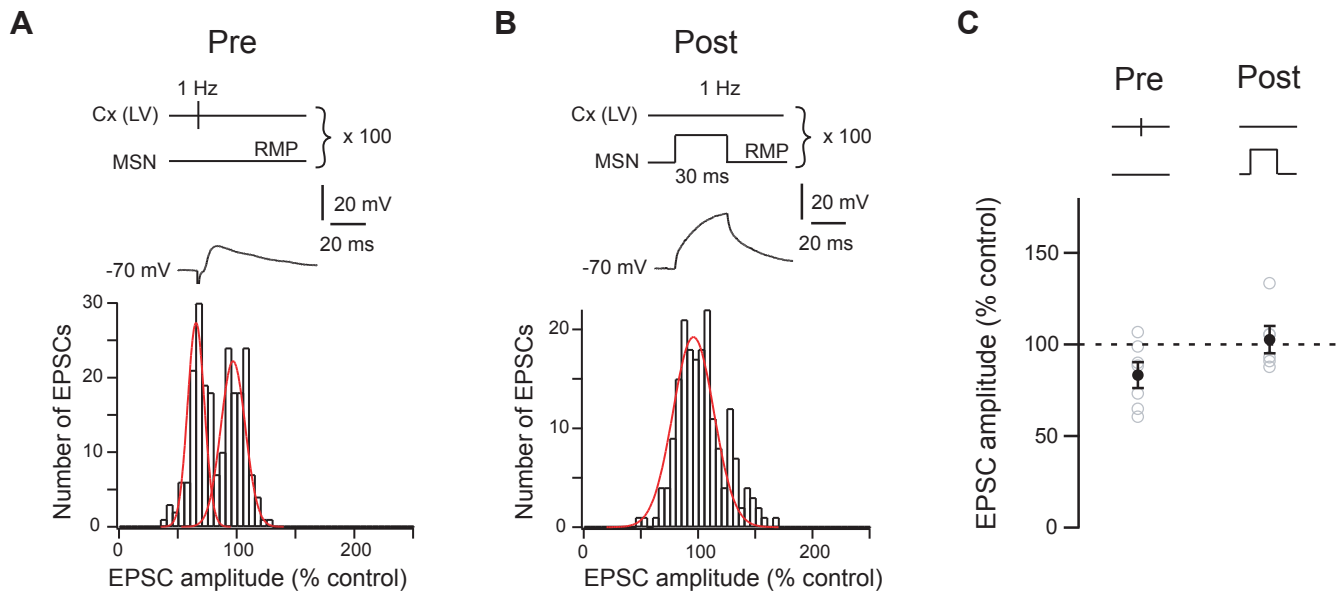


Figure 3: Effects of presynaptic or subthreshold postsynaptic stimulation alone on long-term synaptic efficacy changes. **(A)** Presynaptic stimulation alone (pre protocol). Pre protocol and the corresponding MSN raw traces. The EPSC amplitude histogram for the pre protocol displayed a bimodal distribution fitted with the sum of two Gaussian functions (the two peaks were centered on $65.5 \pm 10.0\%$ and $97.0 \pm 14.6\%$, $n=220$ EPSCs, 7 MSNs). **(B)** Postsynaptic subthreshold-depolarization alone (post protocol). Post protocol and the corresponding MSN raw traces. The EPSC amplitude histogram for the post protocol displayed a unimodal distribution fitted with a Gaussian function centered on $96.0 \pm 25.3\%$ ($n=186$ EPSCs, 6 MSNs). Postsynaptic depolarizations evoked during the post protocol were not significantly different than those induced for SDDP protocols (28.7 ± 1.2 vs 27.9 ± 0.9 mV, respectively). **(C)** Long-term synaptic efficacy changes were illustrated for pre and post protocols: open grey circles represent individual experiments ($n=7$ for pre and $n=6$ for post protocols) and black circles represent averages.

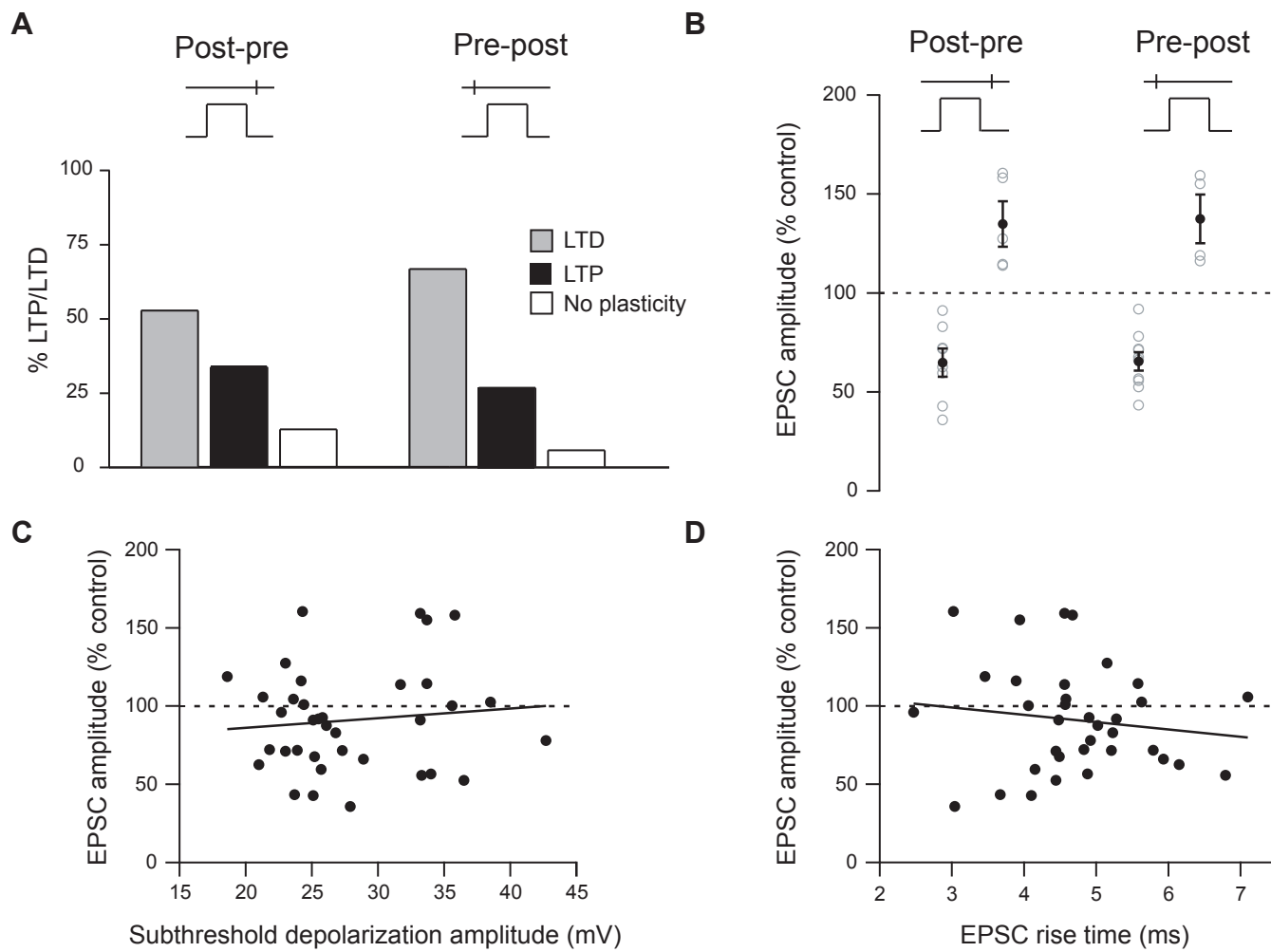


Figure 4: Characterization of SDDP. **(A)** Occurrences of LTD and LTP induced by post-pre and pre-post SDDP protocols. Post-pre protocol (for $-110 < \Delta t < 0$ ms) induced LTD and LTP with success rates of 53% and 34%, respectively, and pre-post protocol (for $0 < \Delta t < +110$ ms) induced LTD (67%) and LTP (27%). **(B)** Magnitudes of long-term synaptic efficacy changes induced by post-pre and pre-post SDDP protocols: $-35.3 \pm 7.1\%$ and $+34.8 \pm 11.5\%$ for post-pre LTD and LTP, and $-34.6 \pm 4.7\%$ and $+37.4 \pm 12.4\%$ for pre-post LTD and LTP. **(C-D)** No significant correlation was found when the magnitudes of long-term plasticity were plotted against amplitude of postsynaptic depolarizations evoked during SDDP protocols ($r=0.278$) (C) or against EPSC rise time ($r=-0.135$) (D).

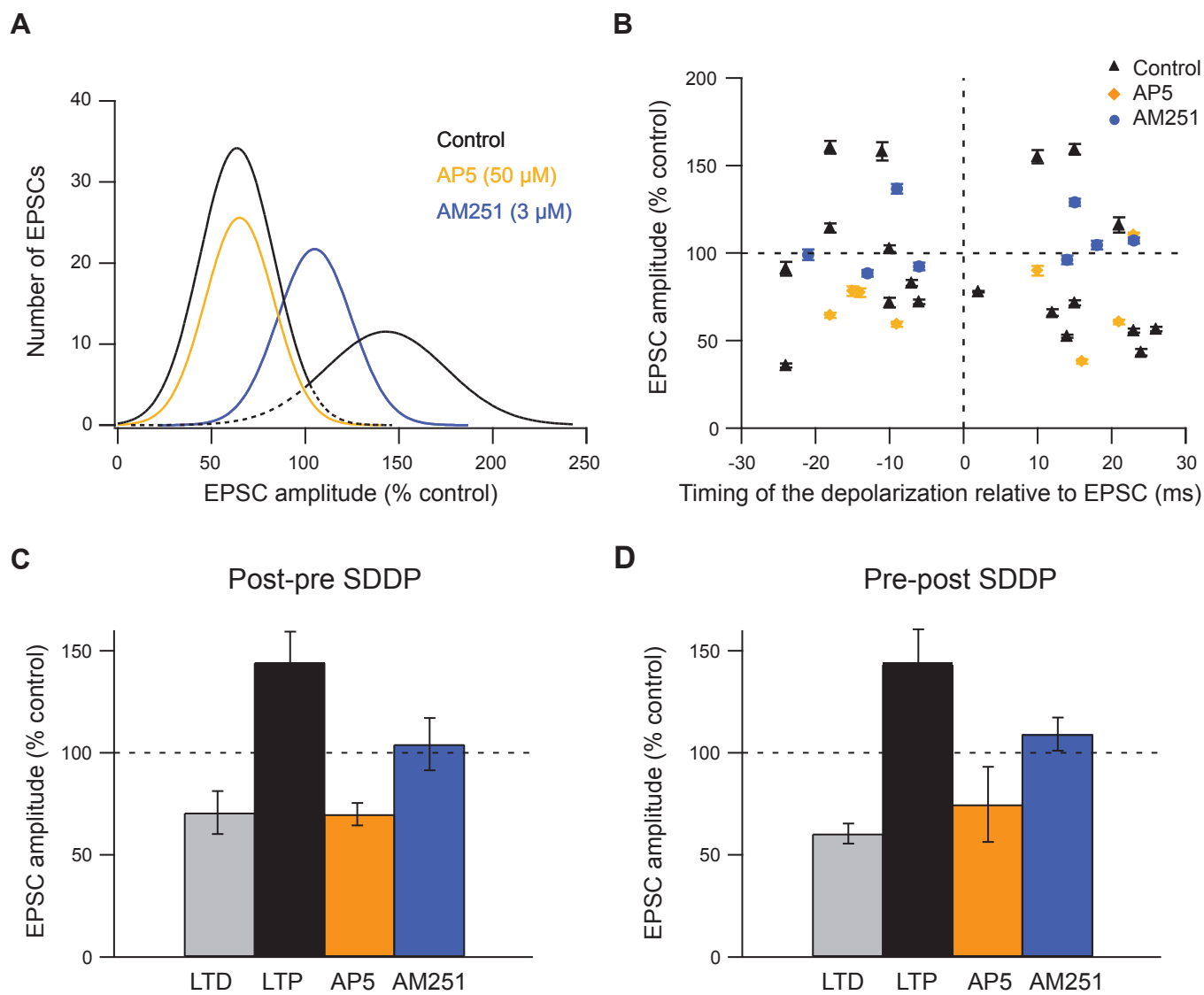


Figure 5: Pharmacology of SDDP. **(A)** Superimposed Gaussian curves after fitting EPSC amplitude histograms obtained in control, or in the presence of AP5 50 μ M or AM251 3 μ M for $-30 < \Delta t < +30$ ms. In control, the two peaks were centered on $65.6 \pm 1.3\%$ and $143.1 \pm 2.0\%$ ($n=494$ EPSCs, 19 MSNs). With AP5, the unimodal distribution fitted with one Gaussian function was centered on $65.0 \pm 1.8\%$ ($n=208$ EPSCs, 8 MSNs). With AM251, the unimodal distribution fitted with one Gaussian function was centered on $105.0 \pm 1.9\%$ ($n=208$ EPSCs, 8 MSNs). **(B)** Synaptic efficacy changes induced by SDDP protocols within $-30 < \Delta t < 0$ ms for post-pre and $0 < \Delta t < +30$ ms for pre-post SDDP protocols were plotted in control ($n=19$), AP5 ($n=8$) and AM251 ($n=8$). Postsynaptic depolarizations evoked during pharmacological experiments were not significantly different than those induced for post-pre and pre-post SDDP protocols (27.4 ± 1.1 mV vs 27.9 ± 0.9 mV, respectively). LTD was CB1-receptor-activation dependent and LTP was NMDA-receptor-activation dependent. **(C-D)** Post-pre (C) and pre-post (D) histograms of long-term synaptic efficacy changes in control (grey and black bars, $n=19$), AP5 ($n=8$) and AM251 ($n=8$) indicate that post-pre and pre-post SDDP shared the same pharmacology: LTD was CB1-receptor-activation dependent and LTP was NMDA-receptor-activation dependent. **(C)** For post-pre protocols ($-30 < \Delta t < 0$ ms), in control, magnitudes of LTD and LTP were $-29.3 \pm 10.6\%$ ($n=5$) and $+44.3 \pm 15\%$ ($n=3$), respectively. With AP5, LTP was no longer observed while LTD could still be induced ($-30 \pm 5.5\%$, $n=4$) (Fig. 5c). Conversely, with AM251, we did not observe significant LTD ($+4.1 \pm 12.8\%$, $n=4$). **(D)** For pre-post protocol ($0 < \Delta t < +30$ ms) similar results were observed. Indeed, in control, magnitudes of LTD and LTP were $-39.5 \pm 4.9\%$ ($n=7$) and $+43.5 \pm 16.8\%$ ($n=3$), respectively. With AP5, LTD was mainly induced ($-25.1 \pm 18.4\%$, $n=4$) whereas, with AM251, we observed either LTP or no plasticity ($+9.2 \pm 8.1\%$, $n=4$).

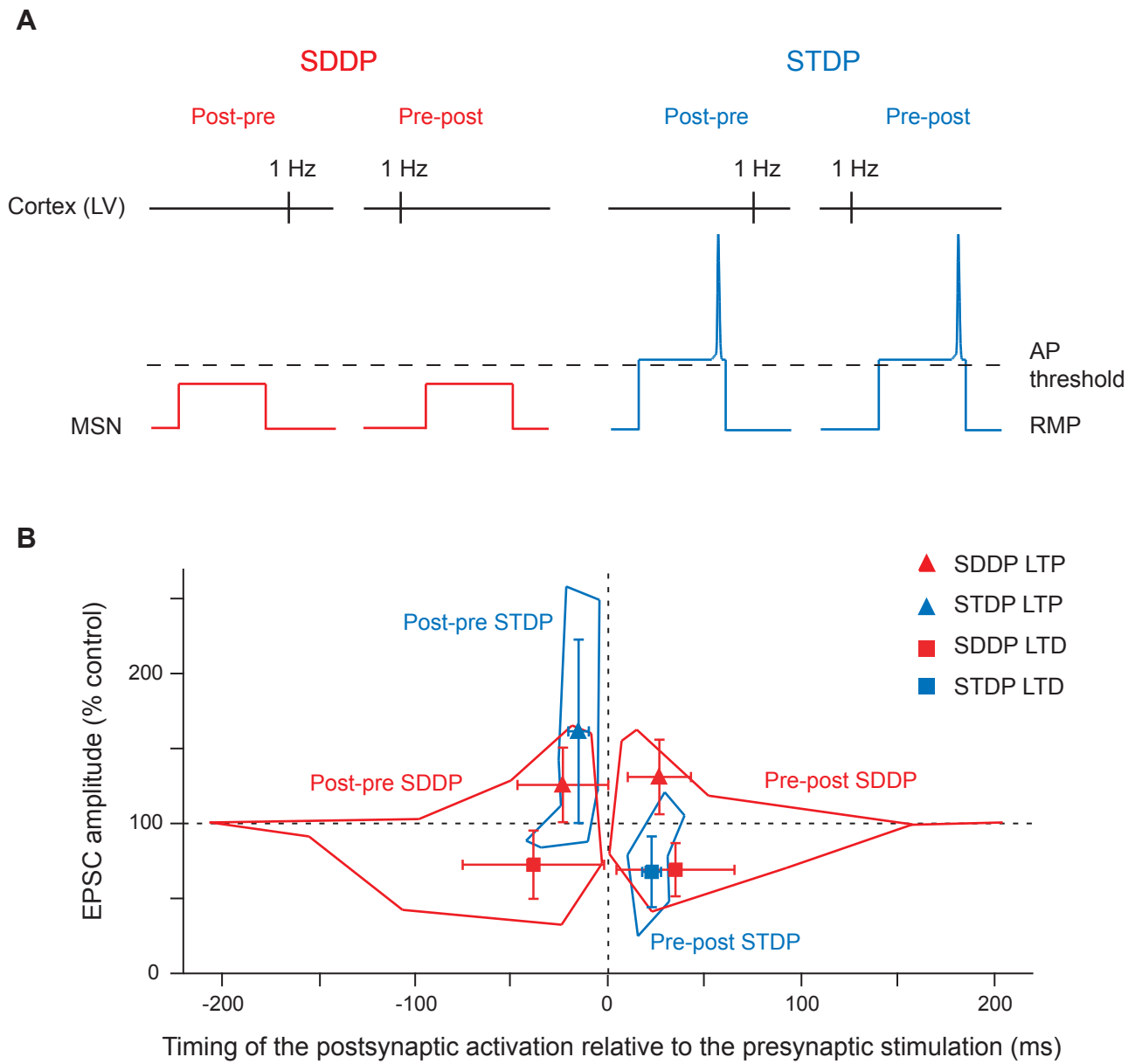


Figure 6: Comparison of the occurrence, orientation, magnitude and temporal extent of SDDP and STDP. **(A)** Schematic representations of post-pre and pre-post SDDP and STDP protocols (the two protocols differ by the presence or not of a postsynaptic AP). **(B)** Long-term synaptic efficacy changes evoked by SDDP and STDP protocols. SDDP protocols were able to induce non-orientated bidirectional long-term plasticities whereas STDP changes were orientated. SDDP changes were inducible in wider time windows than STDP (± 110 vs. ± 30 ms). SDDP LTP were induced in a time window 1.7 fold wider than those of STDP LTP while the time window for SDDP LTD induction was 3.3 fold wider when compared to STDP LTD. Data concerning STDP experiments are taken from a previous study (Fino et al., 2005), with the addition of new experiments performed in perforated patch-clamp ($n=6$). SDDP and STDP were compared using their external envelopes (lines linked the external points) and the averages and standard deviations of Δt and the long-term plasticities.

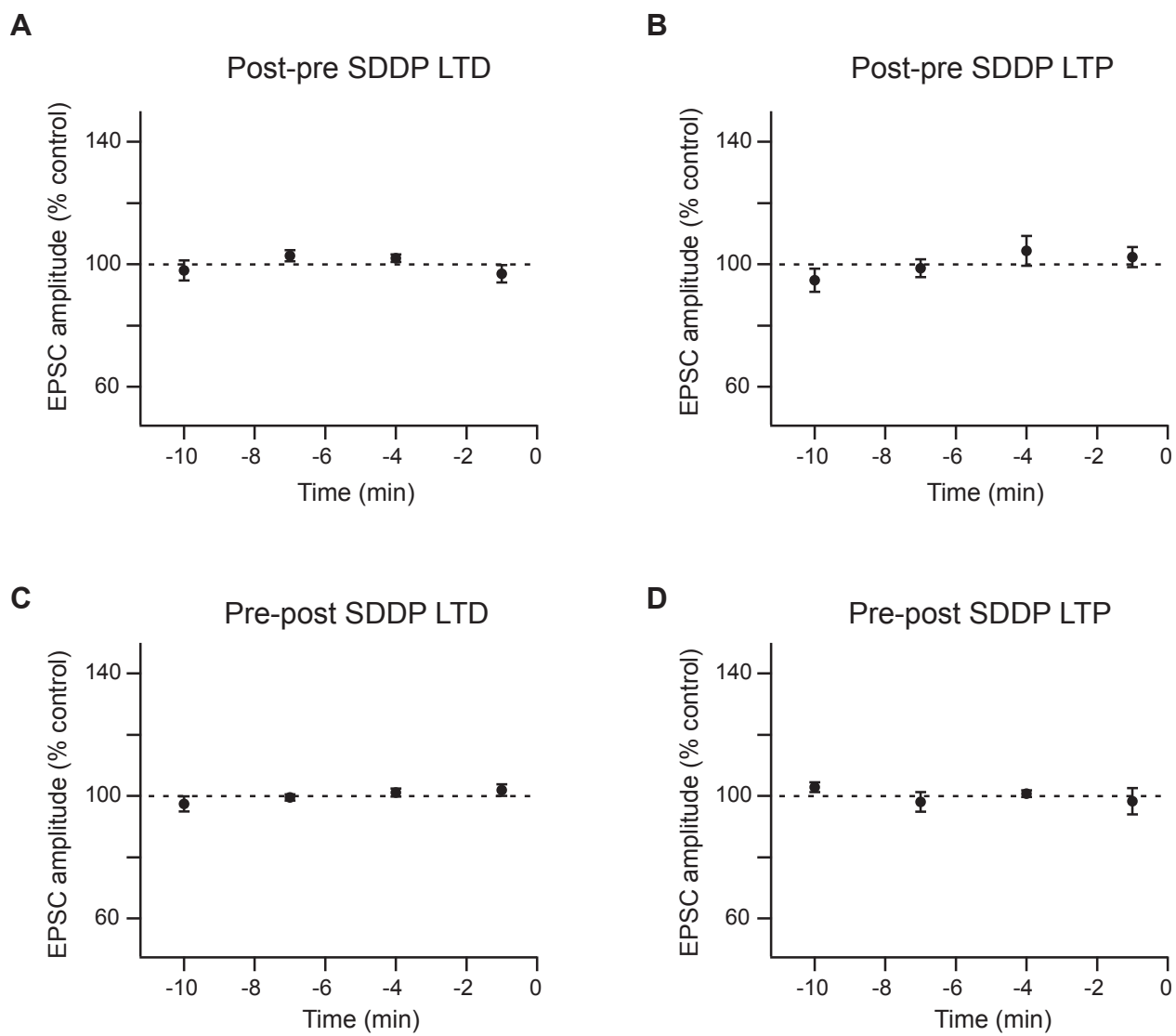


Figure S1: Averages of normalized EPSC amplitudes recorded in control before SDDP protocols inducing post-pre SDDP LTD (n=8) (**A**), post-pre SDDP LTP (n=5) (**B**), pre-post SDDP LTD (n=10) (**C**) and pre-post SDDP LTP (n=4) (**D**). Control EPSCs amplitudes were recorded for 10 minutes (minus sign indicates time before the SDDP protocol) and displayed no significant variations.

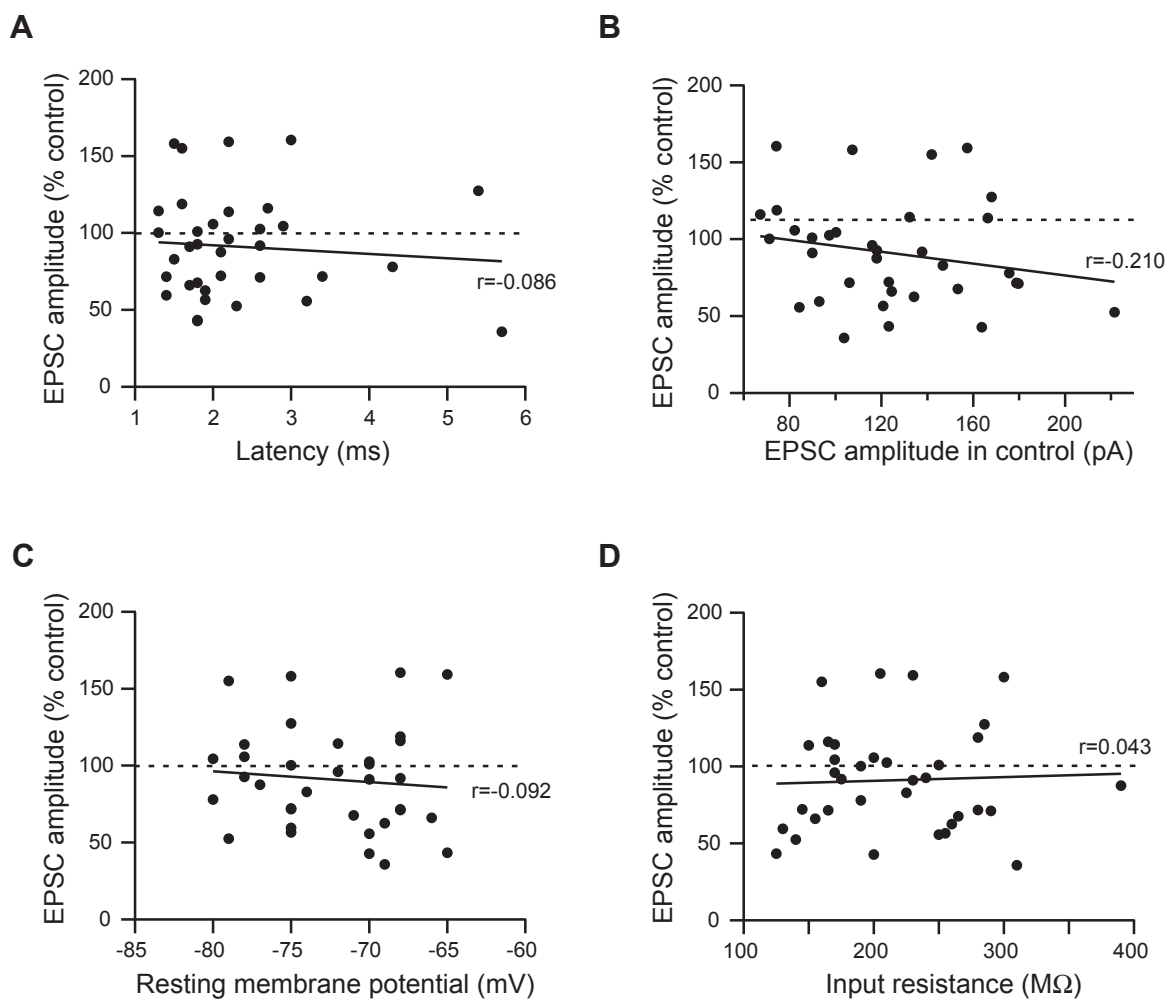


Figure S2: The magnitudes of long-term synaptic efficacy changes were plotted against EPSC latency in control (**A**), EPSC amplitude in control (**B**), RMP (**C**) and input resistance (**D**). No significant correlation was found between these parameters and the magnitude of long-term synaptic efficacy changes induced by SDDP protocols (r values are indicated in each graph).

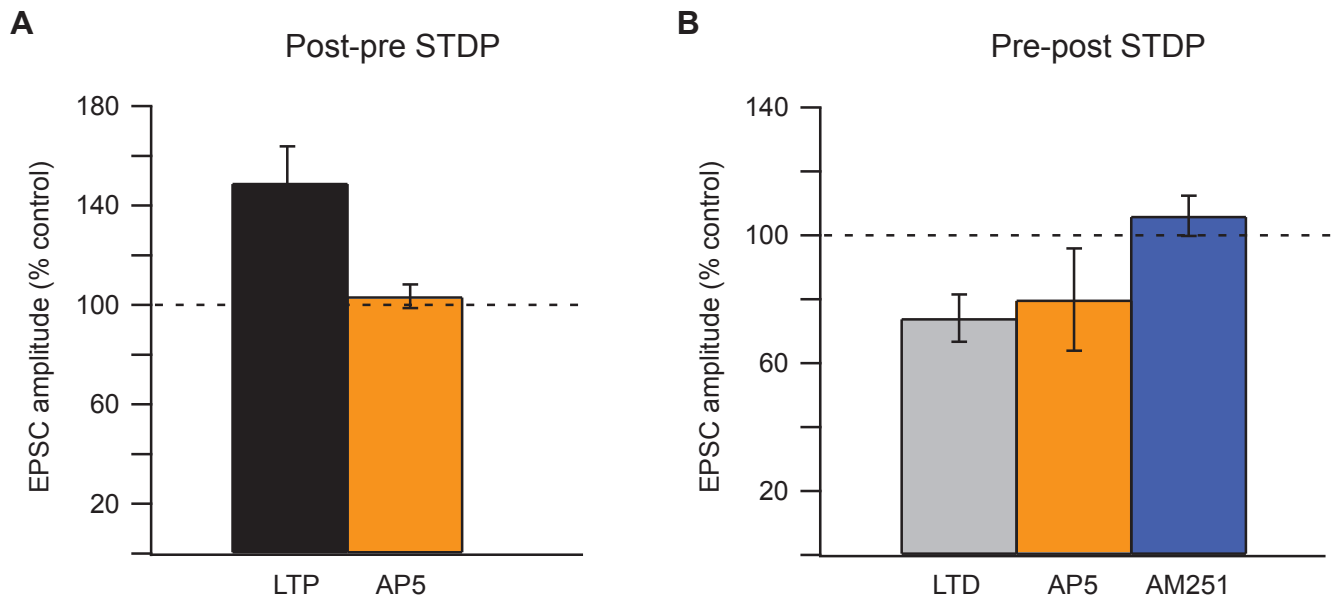


Figure S3: (A) Post-pre STDP histogram of long-term synaptic efficacy changes in control (black bar, n=18) and AP5 50 μ M (orange bar, n=5). In control condition, post-pre STDP protocol induced LTP ($+49.1 \pm 14.6$ %) and with AP5 treatment, no more significant long-term plasticity can be induced ($+3.5 \pm 4.8$ %). (B) Pre-post STDP histogram of long-term synaptic efficacy changes in control (grey bar, n=13), AP5 50 μ M (orange bar, n=5) and AM251 3 μ M (purple bar, n=5). In control condition, post-pre STDP protocol induced LTD (-25.1 ± 7.5 %). AP5 treatment had no significant effect on the induction of LTD (-20.1 ± 16.0 %) whereas with AM251 treatment, no more significant long-term plasticity can be induced ($+6.1 \pm 6.3$ %). Therefore, corticostriatal STDP LTP was NMDA-receptor-activation dependent and STDP LTD was CB1-receptor-activation dependent.

Résumé et discussion

Il est classiquement admis que le PA est déterminant dans l'induction de phénomènes de plasticité synaptique à long-terme. Ce rôle du PA est particulièrement mis en évidence par la STDP dans laquelle le placement du potentiel d'action va déterminer l'induction d'une LTP ou d'une LTD. Néanmoins, l'activité neuronale ne donne pas systématiquement lieu à l'émission d'un PA mais peut entraîner des événements synaptiques qui restent sous le seuil de déclenchement d'un PA. Ceci est particulièrement vrai au niveau des synapses cortico-striatales. En effet, de part les propriétés membranaires des NETM, il faut une activité corticale forte et corrélée pour induire un PA dans un NETM ; ceci implique que la majorité des entrées corticales va donner lieu à des dépolarisations qui vont rester sous-liminales (voir Figure 12 dans les Rappels Bibliographiques). Nous nous sommes donc posés la question suivante : est-ce que des dépolarisations sous-liminales peuvent participer au codage à long-terme ? De façon surprenante, nous avons observé que des signaux sous-liminales, en quasi-coïncidence avec une activité corticale, sont capables d'induire de la plasticité synaptique à long-terme. Cette plasticité est bidirectionnelle car ces signaux sous-liminales induisent à la fois de la LTP et de la LTD. Les deux formes de plasticité ne sont pas sous-tendues par les mêmes mécanismes : la LTP dépend de l'activation des récepteurs NMDA alors que la LTD est dépendante de l'activation des récepteurs CB1.

Le fait que des signaux sous-liminales puissent participer pleinement à la mise en place de plasticité synaptique étend donc les possibilités de codage à long-terme du neurone.

Des signaux sous-liminaires peuvent induire de la plasticité à long-terme aux synapses cortico-striatales

Dans le striatum, les NETM ont pour rôle de détecter et d'intégrer les entrées corticales provenant de l'ensemble du cortex cérébral. Les NETM possèdent des propriétés membranaires particulières (Calabresi et al., 1987 ; Nisenbaum et Wilson, 1995) qui impliquent que l'activité corticale doit être de forte amplitude et corrélée dans le temps pour induire un PA. Ces propriétés permettent aux NETM d'extraire

les informations pertinentes du bruit de fond et de les relayer vers les structures de sortie des GB afin d'induire un comportement adapté. Ce mode de fonctionnement de la voie cortico-striatale implique qu'un grand nombre d'entrées corticales sont insuffisantes pour déclencher des PA et entraînent donc des dépolarisations post-synaptiques qui restent sous-liminales. Cela a récemment été rapporté dans une étude *in vivo* (Mahon et al., 2006). Etant donné le rôle du striatum dans l'apprentissage procédural, nous nous sommes donc demandés si ces signaux sous-liminaux étaient perdus ou s'ils pouvaient être impliqués dans du codage à long-terme. Nous avons choisi d'utiliser des dépolarisations sous-liminales de courte durée (30 ms) pour mimer la sommation des EPSPs induits par l'activité corticale dans les NETM ; ces dépolarisations étant couplées à des stimulations corticales. Nous avons alors observé que des signaux sous-liminaux, en coïncidence avec une activité corticale, sont capables d'induire de la plasticité à long-terme. Nous avons appelé ces phénomènes de plasticité « subthreshold-depolarization dependent plasticity » (SDDP). Les protocoles de SDDP sont efficaces puisqu'une plasticité peut être induite dans 90% des cas. La SDDP est bidirectionnelle : les séquences post-pré et pré-post induisent à la fois de la LTP et de la LTD. D'autre part, les deux formes de plasticité ne mettent pas en jeu les mêmes récepteurs puisque la LTP dépend des récepteurs NMDA alors que la LTD est dépendante de l'activation des récepteurs CB1.

Nécessité du potentiel d'action rétro-propageant dans l'induction de plasticité à long-terme ?

Nous avons pu étudier le rôle du PA post-synaptique en comparant les données obtenues avec les protocoles de STDP (voir article 2) et de SDDP. En effet, ces deux protocoles diffèrent par la présence, ou non, d'un PA post-synaptique. Les protocoles de SDDP induisent de la plasticité bidirectionnelle non orientée alors que les protocoles de STDP induisent des plasticités strictement orientées puisqu'un protocole post-pré induit de la LTP et un protocole pré-post de la LTD. La comparaison de la STDP et la SDDP indique donc que si le PA post-synaptique est indispensable à l'orientation de la plasticité, des dépolarisations post-synaptiques sous-liminales sont suffisantes pour induire de la plasticité à long-terme. De plus, la pharmacologie de la STDP et la SDDP est similaire, indiquant donc que les

dépolarisations sous-limaires sont bien transmises le long de l'arbre dendritique des NETM. En coïncidence avec une activation pré-synaptique, une dépolarisation sous-liminaire est ainsi capable d'activer les récepteurs NMDA ou d'induire une libération d'endocannabinoïdes de la même façon qu'un PA rétro-propageant.

Le PA rétro-propageant est pourtant généralement admis comme étant un élément clé pour l'induction de la plasticité à long-terme, comme par exemple la STDP. Néanmoins, certains éléments de la littérature indiquent que le PA post-synaptique ne serait pas le seul évènement post-synaptique pouvant induire des phénomènes de plasticité à long-terme (Staubli et al., 1996 ; Golding et al., 2002 ; Holthoff et al., 2004 ; Sjostrom et al., 2004). Ainsi, dans l'hippocampe, des LFS (900 stimulations à 1 Hz), induisent une LTD quelle que soit l'amplitude de la dépolarisation post-synaptique (EPSP sous-liminaire ou PA) ; l'amplitude de l'évènement post-synaptique n'influence que l'amplitude de la LTD et pas son occurrence (Staubli et al., 1996). Dans la même structure, une LTP peut être induite par un protocole de stimulation pré-synaptique en « theta burst » même si le PA rétro-propageant est bloqué par une application de TTX au niveau des dendrites proximaux. Cette LTP est induite car le « theta burst » est couplé à une stimulation des dendrites suffisantes pour évoquer un PA dendritique (Golding et al., 2002). Néanmoins, un seul EPSP évoqué au niveau des dendrites d'une cellule pyramidale corticale induit un PA dendritique suffisant pour induire de la LTD (Holthoff et al., 2004). Ces études montrent donc qu'un autre évènement post-synaptique peut se substituer au PA rétro-propageant et devenir la source de dépolarisation post-synaptique nécessaire à l'induction d'une plasticité. D'autre part, l'impact d'une dépolarisation post-synaptique sur l'induction de la plasticité à long-terme a été abordé avec des protocoles expérimentaux différents de ceux que nous avons utilisés (Artola et al., 1990 ; Sjostrom et al., 2004). Dans ces deux études, les dépolarisations sous-limaires correspondent à un changement du potentiel membranaire pendant un temps relativement long d'une minute (Artola et al., 1990) ou de 250 ms (Sjostrom et al. 2004). De plus ces dépolarisations induisaient exclusivement de la LTP (Artola et al., 1990) ou de la LTD (Sjostrom et al., 2004), mais pas de plasticité bidirectionnelle. En effet, dans le cortex, ces protocoles induisent soit de la LTD (par une séquence post-pré ou une activation concomitante des éléments pré- et post-synaptiques) ou aucune plasticité (par une séquence pré-post) (Sjostrom et al., 2004). Il existe donc des indices indiquant que le PA rétro-

propageant ne serait pas absolument nécessaire pour induire de la plasticité synaptique à long-terme. De plus, nos expériences montrent qu'une dépolarisation sous-liminaire rétro-propage efficacement pour pouvoir participer à l'induction de plasticité à long-terme.

Où le(s) facteur(s) impliqués dans l'orientation de la plasticité restent à déterminer

Néanmoins, il nous reste maintenant à déterminer quels facteurs orientent la plasticité vers une LTP ou une LTD suite aux protocoles de SDDP. Dans les cellules pyramidales du cortex, la localisation des synapses sur l'arbre dendritique associée aux propriétés de câble des dendrites (distance électrotonique) ont été proposé comme étant des facteurs déterminants dans l'orientation de la plasticité (LTP vs LTD) induit par les mêmes protocoles de STDP (Sjostrom et Hausser, 2006 ; Letzkus et al., 2006). Pour la SDDP cortico-striatale, nous n'avons observé aucune corrélation entre le temps de montée (« rise time ») des EPSCs (qui est un abaque de la distance électrotonique) et l'orientation de la plasticité. Cette différence entre les cellules corticales et les NETM pourrait être expliquée par deux caractéristiques morpho-fonctionnelles des NETM. Tout d'abord toutes les afférences corticales se distribuent sur l'ensemble de la partie épineuse de l'arbre dendritique (qui correspond à l'arborisation distale puisque la partie proximale n'est pas épineuse) (Chang et al., 1982 ; Smith et Bolam, 1990). Cela implique que l'impact éventuel de la distance électrotonique est masqué par la dispersion homogène des synapses le long de l'arbre dendritique. D'autre part, un modèle mathématique des dendrites des NETM prédit que l'atténuation des EPSPs corticaux, générés dans la partie épineuse des dendrites, ne serait pas corrélée à la distance électrotonique (Wilson, 1984). De plus, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre l'orientation des plasticités et différents facteurs tels que la résistance d'entrée, le potentiel de repos et l'amplitude de la dépolarisation post-synaptique. Ce dernier facteur n'est pas corrélé avec l'orientation des plasticités, ni avec leur amplitude, contrairement aux observations faites pour la LTD dans l'hippocampe (Staubli et al., 1996). Nous n'avons donc pas pu déterminer un facteur clé (parmi ceux que nous avons étudiés) qui nous permettrait de prédire l'orientation des plasticités induites. Néanmoins, d'autres facteurs tels que les entrées synaptiques pourraient être déterminant dans l'orientation de la plasticité induite par des protocoles de SDDP. En effet, l'activité

des NETM est régulée par un grand nombre d'afférences (GABAergiques, cholinergiques, sérotoninergiques, dopaminergiques) dont certaines pourraient être déterminante dans l'orientation de la plasticité. Il reste donc maintenant à étudier en détail l'effet de ces différents neurotransmetteurs sur la SDDP développée par les NETM.

Implications fonctionnelles de la SDDP

Les deux formes de plasticité, STDP et SDDP, sont particulièrement indiquées pour étudier la voie cortico-striatale car proches de la physiologie de cette voie. En effet, les NETM reçoivent des entrées d'un grand nombre de cellules corticales et ont été proposé comme étant des détecteurs de coïncidence car ils ont besoin d'une activité de forte amplitude et corrélée dans le temps pour décharger (Wilson, 1995). Ce mode de fonctionnement implique que la plupart des activités corticales entraînent des activations sous-liminaire des NETM. L'existence d'une SDDP démontre que ces dépolarisations sous-liminaire sont pleinement prises en compte dans du codage à long-terme. La SDDP pourrait jouer un rôle très important dans le transfert des informations cortico-striatales. En effet, une SDDP induite dans un NETM pourrait, par exemple, changer la stringence de sa détection de coïncidence ; cette hypothèse est confortée par une expérience menée dans l'hippocampe indiquant qu'une LTP induite par un theta burst facilite la détection de coïncidence (Xu et al., 2006). De plus, lorsqu'un NETM atteint son seuil de déclenchement d'un PA, une SDDP induite au préalable pourrait entraîner un décalage temporel du potentiel d'action et ainsi influencer l'orientation d'une STDP subséquente. Ceci est renforcé par le fait que la STDP se développe dans une fenêtre temporelle beaucoup plus resserrée (+/- 30 ms) que celle de la SDDP (+/- 100 ms), indiquant que le placement du PA est crucial pour l'occurrence et l'orientation des plasticités induites. Le fait que la SDDP soit induite dans une fenêtre temporelle plus large que celle de la STDP implique qu'elle a donc de plus grandes chances de se produire et d'influencer la transmission et la plasticité cortico-striatale. Cette forme de plasticité étend donc les possibilités qu'a un neurone pour coder des informations à long-terme.

DISCUSSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE

Nous nous attacherons ici à faire ressortir les principaux résultats et décrivons les perspectives qu'ils ouvrent.

Le modèle de tranche cortico-striatale

La mise au point de la tranche cortico-striatale nous a permis d'aborder l'étude de la transmission et la plasticité cortico-striatales d'une façon différente de ce qui avait été fait jusqu'ici. En effet, il a été possible de stimuler spécifiquement les afférences corticales au sein du cortex. Nous avons aussi choisi de garder un milieu extra-cellulaire « normal », sans modifier les concentrations ioniques et sans ajouter d'inhibiteur des transmissions intra-striatales. Ceci nous est apparu important afin d'observer les modalités de transfert des informations cortico-striatales dans les conditions les plus physiologiques possibles, en laissant en quelque sorte agir le système. En effet, comme nous l'avons vérifié, le cortex ne contacte pas seulement les NETM mais aussi les différents interneurons striataux qui vont moduler l'activité des NETM. Nous avons choisi de nous placer dans une situation dans laquelle nous pouvions observer la résultante globale d'une activation corticale au niveau striatal.

Ce modèle expérimental devrait nous permettre ensuite d'étudier la transmission cortico-striatale à des niveaux différents : au niveau cellulaire et au niveau d'une population neuronale. Grâce à des enregistrements en double patch-clamp d'une cellule pyramidale corticale et d'un NETM, il sera possible d'étudier de manière fine la transmission cortico-striatale. Cette étude n'a encore jamais été réalisée et le poids synaptique d'une cellule corticale sur les neurones striataux demeure inconnu. Cela permettra de caractériser les propriétés élémentaires de cette transmission. De plus, grâce à des techniques d'imagerie calcique (sur tranches de cerveaux), que nous venons d'acquérir au laboratoire, il est possible d'avoir accès à l'activité d'une population neuronale. Cette technique devrait nous permettre de visualiser en fonction de l'intensité de stimulation du cortex, quelle est l'étendue du nombre de neurones striataux activés ; en quelque sorte une « unité fonctionnelle cortico-striatale ». En effet, il n'existe aucune donnée à ce propos car les études *in vitro* réalisées jusqu'à présent concernaient une ou deux cellules enregistrées dans le striatum, mais jamais une population neuronale. Il sera ensuite

possible d'analyser les régulations de l'étendue des unités fonctionnelles par différents neuromédiateurs tels que la dopamine, les endocannabinoïdes ou le GABA. Par exemple, en bloquant la transmission GABAergique, nous pourrions confirmer ou infirmer l'hypothèse de focalisation de l'information cortico-striatale par les interneurons GABAergiques.

Efficacité de la transmission cortico-striatale

Le modèle de tranche cortico-striatale nous a permis d'étudier la transmission synaptique entre le cortex et les différents neurones composant le striatum. La transmission cortico-striatale est monosynaptique et glutamatergique pour tous les sous-types de neurones striataux. L'efficacité de la transmission corticale au niveau des NETM et des interneurons GABAergiques est en accord avec des études fonctionnelles *in vivo* (Parthasarathy et Graybiel, 1994 ; Mallet et al., 2005 ; Slaght et al., 2005). L'efficacité de la transmission au niveau des interneurons cholinergiques est plus étonnante car, *in vivo*, il avait été décrit une transmission cortico-striatale faible au niveau des interneurons cholinergiques (Wilson et al., 1990 ; Reynolds et Wickens, 2004). Néanmoins, cette différence peut s'expliquer par le fait que nous stimulons le cortex somato-sensoriel alors que les études précédentes avaient étudié l'effet d'une stimulation dans le cortex moteur. Le poids synaptique du cortex somato-sensoriel sur les interneurons cholinergiques est actuellement inconnu *in vivo* et il se pourrait que ce cortex ait une influence plus importante que le cortex moteur sur ces interneurons. Cette observation semble indiquer qu'il y aurait une spécificité corticale de l'efficacité de la transmission au niveau des interneurons cholinergiques. Nous avons caractérisé ici la transmission et la plasticité entre le cortex somato-sensoriel et les différents types de neurones striataux.

Il serait maintenant intéressant de développer des modèles de tranche similaire qui conservent les afférences cortico-striatales entre le cortex moteur ou le cortex préfrontal et le striatum. Nous avons d'ailleurs pour projet de développer une tranche préfronto-striatale. Les premières injections *in vivo* sont en train d'être faites afin de déterminer le meilleur plan de coupe pour conserver les connexions. Ainsi, il sera possible de comparer les propriétés de transmission et de plasticité entre des cortex fonctionnellement distincts.

Ces différentes préparations de tranches cortico-striatales devraient également permettre de comparer l'étendue des unités fonctionnelles ainsi que leurs

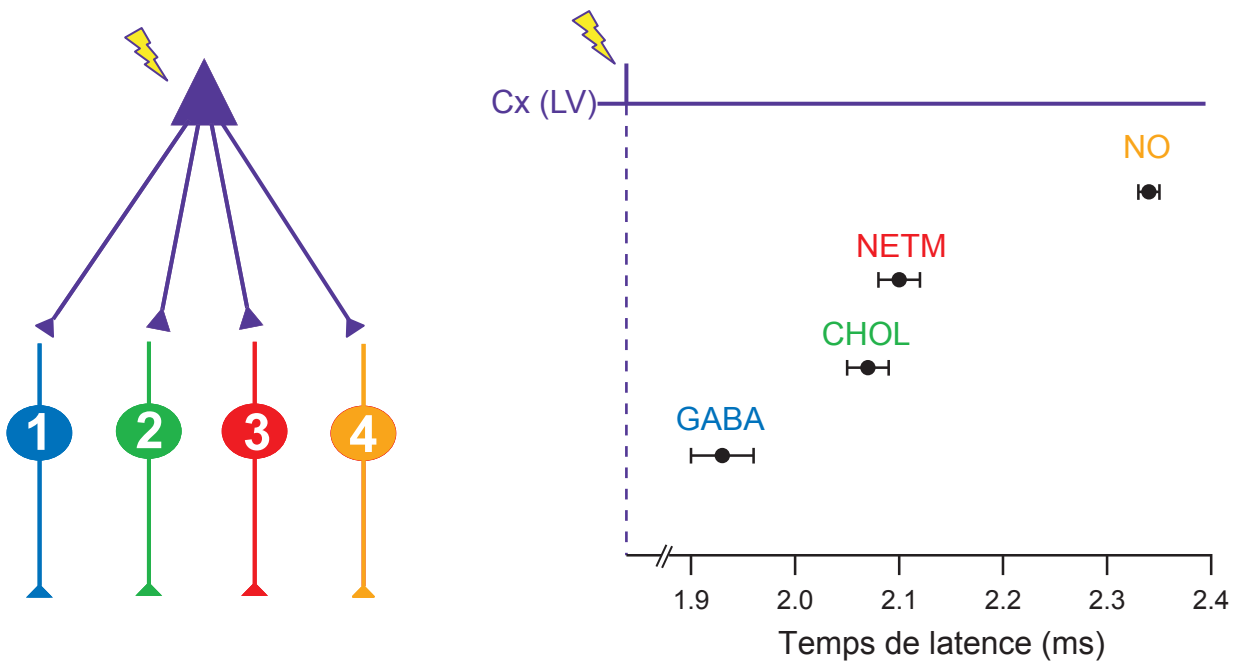


Figure 1. Séquence d'activation des neurones du striatum en réponse à une stimulation du cortex somato-sensoriel.

Suite à une stimulation des cellules pyramidales de la couche V du cortex somato-sensoriel, les temps de latence des EPSCs enregistrés au niveau des différents neurones indiquent que les interneurones GABAergiques sont activés en premier (1.93 ± 0.03 ms), puis les interneurones cholinergiques (2.07 ± 0.02 ms), les NETM (2.1 ± 0.02 ms) et enfin les interneurones à NO-synthase (2.34 ± 0.01 ms).

régulations lors de la mise en jeu de différents cortex grâce aux techniques d'imagerie calcique associées à l'électrophysiologie.

Séquence d'activation des neurones striataux suite à une activation corticale

En se basant sur les temps de latence, nous avons pu déterminer une séquence d'activation des neurones striataux en réponse à une activation du cortex somato-sensoriel (Figure 1). Cette séquence indique que les interneurons GABAergiques et cholinergiques sont activés avant les NETM, puis les interneurons à NO-synthase. Le fait que les interneurons GABAergiques et cholinergiques soient activés avant les NETM les place dans une position idéale pour moduler l'activité des NETM et donc influencer leur intégration des informations corticales. D'autre part, ils pourraient également relayer des informations que les NETM ne reçoivent pas directement. L'activation plus tardive des interneurons à NO-synthase implique que leur influence serait moins directe mais elle pourrait être médiée par une libération de NO dont l'action serait plus diffuse et influencerait l'excitabilité des NETM.

Les préparations de tranches cortico-striatales dans différents cortex devraient également permettre de déterminer si la séquence d'activation est la même pour toutes les afférences corticales ou s'il existe des différences entre les projections cortico-striatales émanant de cortex fonctionnellement distincts.

Plasticité bidirectionnelle au niveau des NETM

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 6 des Rappels Bibliographiques (Plasticité à long-terme des synapses cortico-striatales), les études précédentes sur la plasticité cortico-striatale rapportaient l'induction de l'une ou l'autre forme de plasticité mais jamais la coexistence des deux dans les mêmes conditions expérimentales, quel que soit le protocole de stimulation utilisé. La LTD était la forme prépondérante *in vitro* et la LTP avait été observée *in vivo*. Néanmoins, les phénomènes d'apprentissage et de mémoire nécessitent une constante adaptation de l'efficacité synaptique pour intégrer, traiter et relayer en permanence les informations corticales pertinentes. L'existence exclusive de l'une ou l'autre forme de plasticité entraînerait une saturation des synapses. Notre observation de l'occurrence des deux formes de plasticité synaptique à long-terme au niveau des synapses cortico-striatales, dépendant uniquement du protocole expérimental utilisé, réconcilie la plasticité cortico-striatale avec les règles générales observées dans les autres

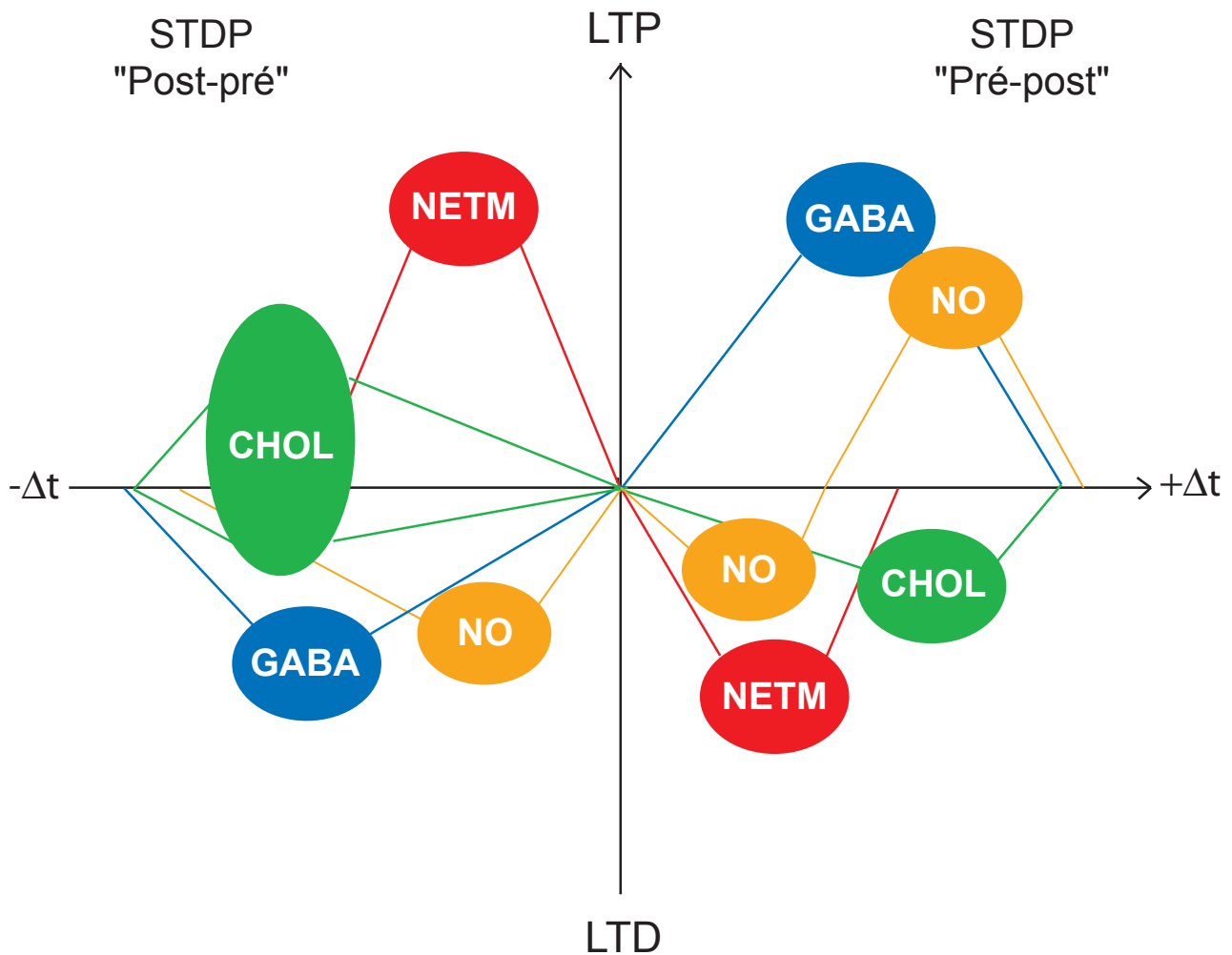


Figure 2. Orientation des STDP induites dans les différents neurones du striatum.

Des séquences d'activation post-pré induisent de la LTP dans les NETM ainsi que dans la majorité des interneurones cholinergiques. A l'inverse, les interneurones GABAergiques et à NO-synthase développent de la LTD. Des séquences pré-post induisent de la LTD au niveau des NETM et des interneurones cholinergiques tandis que les interneurones GABAergiques et à NO-synthase développent de la LTP (exceptés pour des Δt courts des interneurones à NO-synthase pour lesquels ils développent préférentiellement de la LTD).

structures du système nerveux central. En effet, dans la majorité des structures cérébrales, il avait été observé que les deux formes de plasticité pouvaient se développer au niveau des mêmes synapses. De plus, cette coexistence est indispensable à l'homéostasie du système. Nous avons pu observer grâce à des séquences de LTP-LTD ou LTD-LTP que le développement des deux formes de plasticité au niveau du même NETM permet de ramener les synapses à un niveau de base (peut-être « naïf »...). Cette homéostasie permet à la voie cortico-striatale de pouvoir être en permanence réceptive aux nouvelles entrées corticales et de relayer des informations pour induire un comportement adapté aux stimuli environnementaux.

Spécificité cellulaire de la STDP au niveau des synapses cortico-striatales

L'étude de la plasticité cortico-striatale au niveau des différents types neuronaux striataux nous a permis de mettre en évidence que l'orientation et la pharmacologie de la STDP sont spécifiques à chaque type cellulaire.

Une spécificité cellulaire de la STDP avait également été observée dans le noyau cochléaire où les cellules principales et les interneurons glycinergiques ne développent pas les mêmes STDP (Tzounopoulos et al., 2004). De même dans le cortex, il a été décrit une STDP atypique au niveau des neurones « spiny stellate » de la couche 4 (Egger et al., 1999) alors que les cellules pyramidales corticales développent une STDP classique.

Au niveau des synapses cortico-striatales, pour une séquence post-pré, les NETM développent de la LTP, les interneurons GABAergiques et à NO-synthase de la LTD, tandis que les interneurons cholinergiques peuvent développer les deux formes de plasticité, avec tout de même une majorité de LTP (Figure 2). A l'inverse, pour des séquences pré-post, les NETM et les interneurons cholinergiques développent de la LTD, alors que une LTP est observée au niveau des interneurons GABAergiques. Les interneurons à NO-synthase, quant à eux, développent de la LTD pour des Δt courts et de la LTP pour des Δt plus longs (Figure 2). Cette spécificité cellulaire de la STDP dans le striatum pourrait avoir un rôle fonctionnel important : ces différentes STDP agissent en synergie sur l'efficacité de la sortie striatale. Nous pouvons par exemple proposer un modèle simplifié des effets de chaque type neuronal dans le striatum et l'influence des différentes formes de STDP sur la sortie striatale (Figure 3). Le cortex contacte chaque type neuronal avec une

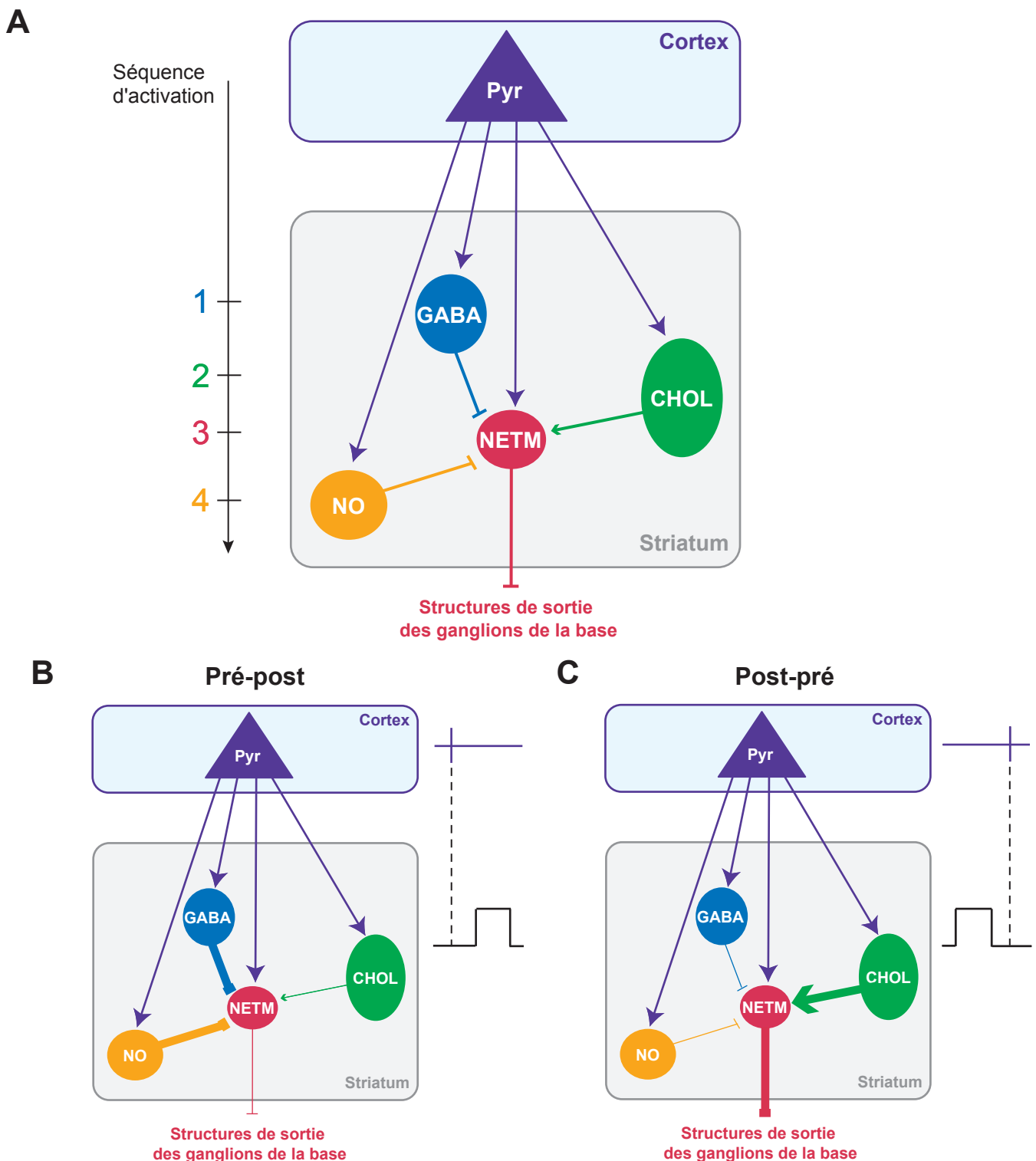


Figure 3. Modèle des interactions entre les STDP développées par les différents neurones du striatum

A: Représentation des interactions synaptiques entre le cortex et les neurones striataux et entre les interneurons striataux et les NETM. A gauche est représentée une échelle de temps indiquant la séquence d'activation des différents neurones suite à l'activation corticale. **B-C:** Modèles des interactions entre les STDP induites au niveau des neurones striataux en réponse à une séquence pré-post ou une séquence post-pré. **B:** Une séquence pré-post induit une LTD au niveau des NETM et va donc diminuer la sortie striatale. Cette diminution de la transmission est accentuée par la potentialisation des inhibitions des interneurons GABAergiques et à NO-synthase sur les NETM. **C:** A l'inverse, une séquence post-pré en potentialisant l'activité des NETM et celle des interneurons cholinergiques, associé à une diminution du poids inhibiteur des interneurons GABAergiques et à NO-synthase, augmentera la sortie striatale. L'ensemble des STDP agissent donc en synergie pour soit favoriser soit diminuer la sortie striatale.

séquence précise. Concernant les interactions locales, les interneurons striataux influencent l'activité des NETM : les interneurons GABAergiques ont un poids inhibiteur très important, les interneurons cholinergiques seraient globalement excitateurs et les interneurons à NO-synthase inhibiteurs. Lors d'une séquence pré-post, la diminution de l'efficacité synaptique de la sortie des NETM serait accentuée par le renforcement du poids inhibiteur des interneurons GABAergiques et des interneurons à NO-synthase dans une moindre mesure. De plus, l'effet excitateur des interneurons cholinergiques sur les NETM serait diminué. L'ensemble des changements d'efficacité synaptique induits au niveau des différents neurones du striatum aurait un effet synergique et permettrait de diminuer la sortie striatale. A l'inverse, pour une séquence post-pré, la transmission des informations cortico-striatales au niveau des NETM est potentialisée, et ceci serait accentuée par la diminution de l'inhibition des interneurons GABAergiques et à NO-synthase et l'augmentation du poids excitateur des interneurons cholinergiques. Tout concorderait donc pour augmenter l'efficacité de la sortie striatale vers les structures de sortie des GB. Ce modèle de travail est bien sûr quelque peu simplifié car les interneurons cholinergiques peuvent exercer un effet excitateur mais aussi inhibiteur sur les NETM en fonction de leur appartenance à la voie directe ou indirecte. Néanmoins, après une activation globale des récepteurs muscariniques par l'application de muscarine, il a été observé un effet net excitateur au niveau des NETM, médié par les récepteurs M1 (Lin et al., 2004). C'est pour cette raison que nous avons considéré l'effet des interneurons cholinergiques comme excitateur dans notre modèle de travail. De plus, deux éléments supplémentaires complexifient également le modèle : la plasticité bidirectionnelle des interneurons cholinergiques suite à une séquence post-pré et celle des interneurons à NO-synthase suite à une séquence pré-post. Ces résultats soulignent donc l'importance de prendre en compte l'hétérogénéité des populations neuronales du striatum dans la compréhension des phénomènes d'intégration et de traitement des informations corticales au niveau du striatum et leur relais vers les structures de sortie des GB.

Pour confirmer cette interprétation et pousser plus loin les prédictions, nous avons l'intention de développer un modèle plus complet en collaboration avec des modélisateurs pour tenter de tenir compte de manière plus fine, non seulement des effets globaux des plasticités mais aussi des propriétés élémentaires des différents neurones striataux. Il serait également possible de tester ces hypothèses par des

expériences d'électrophysiologie en multiple patch-clamp dans lesquelles un NETM et un ou plusieurs interneurons seraient enregistrés en même temps ; nous allons disposer au laboratoire d'un poste équipé en quadruple patch-clamp. Des protocoles identiques de STDP seraient appliqués à l'ensemble des neurones et l'on pourrait observer le poids des plasticités des interneurons sur celle des NETM et donc leurs influences sur la sortie striatale.

Plasticité à long-terme sous-tendue par des signaux sous-liminaire (SDDP)

Le mode de fonctionnement de la voie cortico-striatale nous a amené à étudier l'impact de dépolarisations sous-liminaire sur l'efficacité synaptique des synapses cortico-striatales. En effet, les NETM ont des propriétés membranaires particulières qui font que l'activité corticale doit être de forte amplitude et corrélée dans le temps pour pouvoir induire un PA (Calabresi et al., 1987 ; Nisenbaum et Wilson, 1995). Ce mode de fonctionnement implique donc que la majorité des entrées corticales donnent lieu des dépolarisations qui restent sous-liminaire. Etant donné la prépondérance de ces événements, il nous a semblé important de déterminer si ces signaux sous-liminaire pouvaient avoir un rôle fonctionnel dans les changements d'efficacité synaptique à long-terme. Contrairement à ce qui était attendu, étant donné le dogme de l'indispensable PA dans la mise en place des plasticités synaptiques, nous avons observé que des signaux sous-liminaire, en coïncidence avec une activité corticale, pouvaient induire des changements d'efficacité synaptiques à long-terme ; une forme de plasticité que nous avons appelé SDDP. L'occurrence de la SDDP montre qu'un signal sous-liminaire peut efficacement rétro-propager dans l'arbre dendritique et participer à l'induction de plasticité synaptique. La pharmacologie identique de la SDDP et la STDP indique qu'une dépolarisation sous-liminaire (en conjonction avec une stimulation corticale) peut entraîner, au même titre qu'un PA, l'activation des récepteurs NMDA ou la libération d'endocannabinoïdes. Néanmoins, la stricte orientation de la STDP comparée à la non-orientation de la SDDP montre que si le PA n'est pas indispensable à l'induction de la plasticité, il reste nécessaire à son orientation. Il est probable que cette différence soit due à l'efficacité de rétro-propagation d'un PA par rapport à celle d'une dépolarisation sous-liminaire. En effet, le PA doit être plus efficacement et plus rapidement transmis le long de l'arbre dendritique, permettant ainsi une rencontre temporellement précise entre le PA et la stimulation pré-synaptique. La rétro-

propagation d'une dépolarisation sous-liminaire devrait être moins efficace et donc moins précise dans le temps dans sa coïncidence avec la stimulation pré-synaptique. Ces explications restent hypothétiques et il faudrait comparer les modalités de rétro-propagation d'un PA par rapport à une dépolarisation sous-liminaire en faisant du patch-clamp dendritique.

Il nous reste à déterminer quel(s) facteur(s) pourraient orienter la plasticité induite par les protocoles de SDDP vers une LTP ou une LTD puisque les facteurs que nous avons analysés, il est vrai un par un, ne se sont pas révélés déterminants. Les propriétés membranaires des NETM sont régulées par un grand nombre d'afférences intra-striatales (GABAergiques et cholinergiques) et extra-striatales (sérotoninergiques, dopaminergiques). Ces afférences régulent l'excitabilité des NETM et, comme nous l'avons vu pour les interneurons cholinergiques, il semble que le niveau d'excitabilité soit un facteur important dans la mise en place de l'une ou l'autre forme de plasticité. Il faudra donc étudier l'impact de ces différents systèmes en les bloquant pharmacologiquement pour déterminer lesquels peuvent avoir une influence sur l'orientation de la plasticité.

La SDDP aurait un rôle fonctionnel important au niveau de synapses cortico-striatales. En effet, de nombreuses activités corticales donnent lieu à des dépolarisations qui restent sous-liminaires. L'existence de la SDDP montre que ces dépolarisations ne sont pas perdues mais participent activement au codage à long-terme. En augmentant ou diminuant l'efficacité de la voie cortico-striatale, la SDDP pourrait donc favoriser ou prévenir l'émission d'un PA en réponse à une activation corticale. La SDDP pourrait également avoir une influence sur le moment auquel le PA sera émis. Etant donné l'importance de la fenêtre temporelle entre un PA et une activation corticale mise en évidence par la STDP, une SDDP préalable aurait donc un poids déterminant sur les changements d'efficacité synaptique à long-terme sous-tendus par un PA.

Pour se rapprocher de conditions plus physiologiques, des expériences de STDP ou SDDP seraient très intéressantes à réaliser avec un modèle récemment publié (Smeal et al., 2007) d'une tranche conservant à la fois les projections cortico-striatales et thalamo-striatales. Ainsi, puisqu'il a été montré qu'une même région striatale peut recevoir des afférences corticales et thalamiques (Cheatwood et al., 2005), il serait possible de tester les effets d'une coïncidence entre les activités thalamique et corticale sur l'efficacité synaptique de ces voies. Les protocoles

consisteront donc à séquentiellement stimuler afférences corticales et thalamiques, sans avoir besoin d'injecter de courant au niveau du soma des neurones du striatum.

La régulation dopaminergique de la plasticité cortico-striatale

Les effets de la régulation dopaminergique sur le transfert des informations cortico-striatales restent un point central qu'il reste toujours à clarifier. Une prochaine étape sera donc d'étudier l'effet de la dopamine sur les différentes formes de plasticité que nous avons observées, et ce, au niveau de l'ensemble des neurones striataux. L'étude des effets d'une déplétion de dopamine sur les propriétés membranaires des neurones striataux constitue une étape préliminaire qui nous a permis de mettre en évidence les changements d'excitabilité des neurones induits par l'absence de dopamine. D'après les résultats que nous avons obtenus à propos de la STDP des interneurons cholinergiques, il semble que le niveau d'excitabilité des neurones puisse jouer un rôle déterminant dans l'orientation des plasticités induites.

Il sera donc intéressant d'explorer les effets de la dopamine sur des formes de plasticité telles que la STDP ou la SDDP. Avec la SDDP en particulier, il serait possible de tester si la concentration en dopamine est déterminante dans l'orientation de la plasticité. Concernant la STDP, une étude récente a développé un modèle mathématique sur l'effet que pourrait avoir la concentration en dopamine sur la STDP et ce, à partir de nos données expérimentales. Ce modèle émet l'hypothèse que la STDP inverse que nous avons observé au niveau des NETM serait due à une faible concentration de dopamine dans nos tranches de cerveaux (Thivierge et al., 2007). Or, cette hypothèse est en contradiction avec les dosages de dopamine que nous avons effectués dans nos tranches montrant des taux conséquents de dopamine. Ceci illustre une fois de plus toute la complexité du rôle de la dopamine dans le transfert des informations cortico-striatales et donc la nécessité de mesurer exactement les taux de dopamine au cours des expériences. Ainsi il sera possible de corréler les plasticités observées avec une quantité de dopamine donnée. Pour cela, la technique de voltamétrie est parfaitement adaptée à nos expériences d'électrophysiologie sur tranches de cerveau (Robinson et al., 2003). Cette technique permet de mesurer précisément les taux de dopamine dans l'environnement immédiat du neurone enregistré. Nous venons d'acquérir l'appareillage de voltamétrie au laboratoire. Elle nous permettra également d'avoir accès

simultanément aux concentrations d'autres neuromodulateurs tels que la sérotonine dont l'effet sur l'activité cortico-striatale est peu exploré. Ces expériences seront réalisées en induisant des hypo- ou hyper-dopaminergie massives, mais également dans des concentrations physiologiques de dopamine correspondant à une activité tonique ou phasique des neurones dopaminergiques de la SNc. Nous avons vu plus haut le projet de développement d'une tranche cortico-striatale au niveau de différents cortex ; nous voudrions, de plus, dans une même tranche conserver les afférences dopaminergiques le plus loin possible vers la SNc (lorsqu'elles sont encore groupées) et pouvoir ainsi les stimuler de façon à mimer une activité tonique ou phasique des neurones nigro-striataux. Ceci nous permettra de déterminer avec précision, grâce à la voltamétrie, les taux de dopamine induits par les différentes formes d'activité, et évaluer l'effet de la dopamine dans des concentrations qui restent physiologiques et non plus uniquement pathologiques. De plus, il sera nécessaire d'identifier précisément les récepteurs dopaminergiques impliqués dans la régulation de la plasticité cortico-striatale et différencier ainsi les effets sur les voies directes et indirectes de sortie du striatum. Ceci est maintenant possible grâce à l'existence de souris dont les récepteurs D1 ou D2 sont étiquetés par la « green fluorescent protein ».

Une tentative pour se rapprocher de stimuli plus naturels...

Pour se rapprocher d'une réalité plus physiologique de l'activité du réseau cortico-striatal, des expériences de « dynamic clamp » pourraient être très intéressantes à développer. Cette technique permettrait de s'éloigner de protocoles de conditionnement cellulaire quelque peu caricaturaux et d'étudier les effets d'activités physiologiques du réseau cortico-striatal sur l'efficacité de la transmission et la plasticité synaptiques. Pour cela, il s'agirait d'injecter dans les neurones striataux des patrons d'activités corticales enregistrés *in vivo* dans différents états d'éveil ou d'activité des rats et d'observer l'effet de ces activités sur l'efficacité et la plasticité de la voie cortico-striatale.

Plasticité cortico-striatale et apprentissage

Enfin, le but ultime sera de réussir à faire un parallèle entre les évènements synaptiques que nous avons observé et le comportement, c'est-à-dire corrélérer la plasticité synaptique observée au niveau de la voie cortico-striatale avec

l'apprentissage procédural sous-tendu par le striatum. Pour cela, il faudrait développer des expériences d'électrophysiologie *in vivo* chez des rats en train d'effectuer différentes tâches impliquant un apprentissage. Il faudrait développer des enregistrements de patch-clamp *in vivo* (Lee et al., 2006) des différents types neuronaux et enregistrer l'efficacité de la transmission cortico-striatale et ses changements d'efficacité à court ou à long-terme et voir s'ils sont corrélés ou non aux phénomènes d'apprentissage.

L'étude de la plasticité cortico-striatale que nous avons abordé ici ouvre donc des perspectives prometteuses qui permettront, nous l'espérons, d'aller plus loin dans la compréhension du fonctionnement et de la régulation de cette voie d'entrée des GB.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Acquas E, Di Chiara G (2002) Dopamine-Acetylcholine interactions. In: Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 154, Chapter 15, pp. 85-115, Springer-Verlag.

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

Akaike A, Ohno Y, Sasa M, Takaori S (1987) Excitatory and inhibitory effects of dopamine on neuronal activity of the caudate nucleus neurons in vitro. *Brain Res* 418:262-272.

Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266-271.

Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9:357-381.

Alonso A, de Curtis M, Llinas R (1990) Postsynaptic Hebbian and non-Hebbian long-term potentiation of synaptic efficacy in the entorhinal cortex in slices and in the isolated adult guinea pig brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:9280-9284.

Anderson ME, Yoshida M (1980) Axonal branching patterns and location of nigrothalamic and nigrocollicular neurons in the cat. *J Neurophysiol* 43:883-895.

Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M (1994) Effect of the nigrostriatal dopamine system on acquired neural responses in the striatum of behaving monkeys. *Science* 265:412-415.

Aosaki T, Kimura M, Graybiel AM (1995) Temporal and spatial characteristics of tonically active neurons of the primate's striatum. *J Neurophysiol* 73:1234-1252.

Aosaki T, Kiuchi K, Kawaguchi Y (1998) Dopamine D1-like receptor activation excites rat striatal large aspiny neurons in vitro. *J Neurosci* 18:5180-5190.

Aosaki T, Tsubokawa H, Ishida A, Watanabe K, Graybiel AM, Kimura M (1994) Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *J Neurosci* 14:3969-3984.

Apicella P (2002) Tonically active neurons in the primate striatum and their role in the processing of information about motivationally relevant events. *Eur J Neurosci* 16:2017-2026.

Apicella P, Legallet E, Trouche E (1997) Responses of tonically discharging neurons in the monkey striatum to primary rewards delivered during different behavioral states. *Exp Brain Res* 116:456-466.

Arluison M, de la Manche IS (1980) High-resolution radioautographic study of the serotonin innervation of the rat corpus striatum after intraventricular administration of [³H]5-hydroxytryptamine. *Neuroscience* 5:229-240.

Artola A, Brocher S, Singer W (1990) Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature* 347:69-72.

Aston-Jones, G (2002) Locus Coeruleus. In: Adelman, Smith, (Eds), Encyclopedia of Neuroscience. 3rd ed. Elsevier Science, New York.

B

Bamford NS, Robinson S, Palmiter RD, Joyce JA, Moore C, Meshul CK (2004) Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. *J Neurosci* 24:9541-9552.

Bamford NS, Zhang H, Schmitz Y, Wu NP, Cepeda C, Levine MS, Schmauss C, Zakharenko SS, Zablow L, Sulzer D (2004) Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals. *Neuron* 42:653-663.

Bao JX, Kandel ER, Hawkins RD (1998) Involvement of presynaptic and postsynaptic mechanisms in a cellular analog of classical conditioning at *Aplysia* sensory-motor neuron synapses in isolated cell culture. *J Neurosci* 18:458-466.

Baranyi A, Feher O (1981) Synaptic facilitation requires paired activation of convergent pathways in the neocortex. *Nature* 290:413-415.

Barnes CA, McNaughton BL (1985) An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behav Neurosci* 99:1040-1048.

Barnes TD, Kubota Y, Hu D, Jin DZ, Graybiel AM (2005) Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature* 437:1158-1161.

Barry PH, Lynch JW (1991) Liquid junction potentials and small cell effects in patch-clamp analysis. *J Membr Biol* 121:101-117.

Beckstead RM (1984) A projection to the striatum from the medial subdivision of the posterior group of the thalamus in the cat. *Brain Res* 300:351-356.

Bell CC, Han VZ, Sugawara Y, Grant K (1997) Synaptic plasticity in a cerebellum-like structure depends on temporal order. *Nature* 387:278-281.

Bender VA, Bender KJ, Brasier DJ, Feldman DE (2006) Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *J Neurosci* 26:4166-4177.

Bennett BD, Bolam JP (1994) Synaptic input and output of parvalbumin-immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat. *Neuroscience* 62:707-719.

Bentivoglio M, van der Kooy D, 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.

Berendse HW, Groenewegen HJ (1990) Organization of the thalamostriatal projections in the rat, with special emphasis on the ventral striatum. *J Comp Neurol* 299:187-228.

Besson MJ, Cheramy A, Feltz P, Glowinski J (1969) Release of newly synthesized dopamine from dopamine-containing terminals in the striatum of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 62:741-748.

Bi GQ, Poo MM (1998) Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci* 18:10464-10472.

Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW (1982) Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2:32-48.

Blandini F, Nappi G, Tassorelli C, Martignoni E (2000) Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 62:63-88.

Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.

Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.

Boettiger CA, Doupe AJ (2001) Developmentally restricted synaptic plasticity in a songbird nucleus required for song learning. *Neuron* 31:809-818.

Bolam JP, Wainer BH, Smith AD (1984) Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neuroscience* 12:711-718.

Bonsi P, De Persis C, Calabresi P, Bernardi G, Pisani A (2004) Coordinate high-frequency pattern of stimulation and calcium levels control the induction of LTP in striatal cholinergic interneurons. *Learn Mem* 11:755-760.

Borrell-Pages M, Zala D, Humbert S, Saudou F (2006) Huntington's disease: from huntingtin function and dysfunction to therapeutic strategies. *Cell Mol Life Sci* 63:2642-2660.

Bracci E, Centonze D, Bernardi G, Calabresi P (2002) Dopamine excites fast-spiking interneurons in the striatum. *J Neurophysiol* 87:2190-2194.

Brun VH, Ytterbo K, Morris RG, Moser MB, Moser EI (2001) Retrograde amnesia for spatial memory induced by NMDA receptor-mediated long-term potentiation. *J Neurosci* 21:356-362.

C

Calabresi P, Misgeld U, Dodt HU (1987) Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. *Neuroscience* 20:293-303.

Calabresi P, Centonze D, Bernardi G (2000) Electrophysiology of dopamine in normal and denervated striatal neurons. *Trends Neurosci* 23:S57-63.

Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992) Long-term Potentiation in the Striatum is Unmasked by Removing the Voltage-dependent Magnesium Block of NMDA Receptor Channels. *Eur J Neurosci* 4:929-935.

Calabresi P, Maj R, Mercuri NB, Bernardi G (1992) Coactivation of D1 and D2 dopamine receptors is required for long-term synaptic depression in the striatum. *Neurosci Lett* 142:95-99.

- Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1996) The corticostriatal projection: from synaptic plasticity to dysfunctions of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 19:19-24.
- Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Bernardi G (1999) Activation of M1-like muscarinic receptors is required for the induction of corticostriatal LTP. *Neuropharmacology* 38:323-326.
- Calabresi P, Picconi B, Tozzi A, Di Filippo M (2007) Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 30:211-219.
- Calabresi P, Maj R, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992) Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci* 12:4224-4233.
- Calabresi P, Saiardi A, Pisani A, Baik JH, Centonze D, Mercuri NB, Bernardi G, Borrelli E (1997) Abnormal synaptic plasticity in the striatum of mice lacking dopamine D2 receptors. *J Neurosci* 17:4536-4544.
- Calabresi P, Gubellini P, Centonze D, Sancesario G, Morello M, Giorgi M, Pisani A, Bernardi G (1999) A critical role of the nitric oxide/cGMP pathway in corticostriatal long-term depression. *J Neurosci* 19:2489-2499.
- Calabresi P, Gubellini P, Centonze D, Picconi B, Bernardi G, Chergui K, Svenningsson P, Fienberg AA, Greengard P (2000) Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein 32 kDa controls both striatal long-term depression and long-term potentiation, opposing forms of synaptic plasticity. *J Neurosci* 20:8443-8451.
- Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, 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.
- Carr GD, White NM (1984) The relationship between stereotypy and memory improvement produced by amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 82:203-209.
- Centonze D, Gubellini P, Bernardi G, Calabresi P (1999) Permissive role of interneurons in corticostriatal synaptic plasticity. *Brain Res Brain Res Rev* 31:1-5.
- Centonze D, Gubellini P, Pisani A, Bernardi G, Calabresi P (2003) Dopamine, acetylcholine and nitric oxide systems interact to induce corticostriatal synaptic plasticity. *Rev Neurosci* 14:207-216.
- Centonze D, Gubellini P, Picconi B, Calabresi P, Giacomini P, Bernardi G (1999) Unilateral dopamine denervation blocks corticostriatal LTP. *J Neurophysiol* 82:3575-3579.
- Centonze D, Grande C, Usiello A, Gubellini P, Erbs E, Martin AB, Pisani A, Tognazzi N, Bernardi G, Moratalla R, Borrelli E, Calabresi P (2003) Receptor subtypes involved in the presynaptic and postsynaptic actions of dopamine on striatal interneurons. *J Neurosci* 23:6245-6254.
- Chang HT, Wilson CJ, Kitai ST (1982) A Golgi study of rat neostriatal neurons: light microscopic analysis. *J Comp Neurol* 208:107-126.
- Chapman PF, White GL, Jones MW, Cooper-Blacketer D, Marshall VJ, Irizarry M, Younkin L, Good MA, Bliss TV, Hyman BT, Younkin SG, Hsiao KK (1999) Impaired synaptic plasticity and learning in aged amyloid precursor protein transgenic mice. *Nat Neurosci* 2:271-276.

Charpier S, Deniau JM (1997) In vivo activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:7036-7040.

Charpier S, Mahon S, Deniau JM (1999) In vivo induction of striatal long-term potentiation by low-frequency stimulation of the cerebral cortex. *Neuroscience* 91:1209-1222.

Cheatwood JL, Corwin JV, Reep RL (2005) Overlap and interdigitation of cortical and thalamic afferents to dorsocentral striatum in the rat. *Brain Res* 1036:90-100.

Chevalier G, Deniau JM (1990) Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. *Trends Neurosci* 13:277-280.

Chozick BS (1983) The behavioral effects of lesions of the corpus striatum: a review. *Int J Neurosci* 19:143-159.

Couey JJ, Meredith RM, Spijker S, Poorthuis RB, Smit AB, Brussaard AB, Mansvelder HD (2007) Distributed network actions by nicotine increase the threshold for spike-timing-dependent plasticity in prefrontal cortex. *Neuron* 54:73-87.

Cowan RL, Wilson CJ (1994) Spontaneous firing patterns and axonal projections of single corticostriatal neurons in the rat medial agranular cortex. *J Neurophysiol* 71:17-32.

Cragg SJ (2006) Meaningful silences: how dopamine listens to the ACh pause. *Trends Neurosci* 29:125-131.

Czubayko U, Plenz D (2002) Fast synaptic transmission between striatal spiny projection neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:15764-15769.

D

Dan Y, Poo MM (2004) Spike timing-dependent plasticity of neural circuits. *Neuron* 44:23-30.

Dan Y, Poo MM (2006) Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* 86:1033-1048.

Danysz W, Zajaczkowski W, Parsons CG (1995) Modulation of learning processes by ionotropic glutamate receptor ligands. *Behav Pharmacol* 6:455-474.

Day M, Wang Z, Ding J, An X, Ingham CA, Shering AF, Wokosin D, Ilijic E, Sun Z, Sampson AR, Mugnaini E, Deutch AY, Sesack SR, Arbuthnott GW, Surmeier DJ (2006) Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nat Neurosci* 9:251-259.

Debanne D, Gahwiler BH, Thompson SM (1994) Asynchronous pre- and postsynaptic activity induces associative long-term depression in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:1148-1152.

Debanne D, Gahwiler BH, Thompson SM (1998) Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *J Physiol* 507 (Pt 1):237-247.

Degos B, Deniau JM, Thierry AM, Glowinski J, Pezard L, Maurice N (2005) Neuroleptic-induced catalepsy: electrophysiological mechanisms of functional recovery induced by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 25:7687-7696.

Deniau JM, Chevalier G (1992) The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: distribution of projection neurons. *Neuroscience* 46:361-377.

Deniau JM, Thierry AM (1997) Anatomical segregation of information processing in the rat substantia nigra pars reticulata. *Adv Neurol* 74:83-96.

Deniau JM, Menetrey A, 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* 73:761-781.

Desban M, Kemel ML, Glowinski J, Gauchy C (1993) Spatial organization of patch and matrix compartments in the rat striatum. *Neuroscience* 57:661-671.

Divac I (1972) Neostriatum and functions of prefrontal cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 32:461-477.

Donoghue JP, Herkenham M (1986) Neostriatal projections from individual cortical fields conform to histochemically distinct striatal compartments in the rat. *Brain Res* 365:397-403.

Dos Santos Villar F, Walsh JP (1999) Modulation of long-term synaptic plasticity at excitatory striatal synapses. *Neuroscience* 90:1031-1041.

Doyere V, Laroche S (1992) Linear relationship between the maintenance of hippocampal long-term potentiation and retention of an associative memory. *Hippocampus* 2:39-48.

Dube L, Smith AD, Bolam JP (1988) Identification of synaptic terminals of thalamic or cortical origin in contact with distinct medium-size spiny neurons in the rat neostriatum. *J Comp Neurol* 267:455-471.

Dudek SM, Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4363-4367.

E-F

Egger V, Feldmeyer D, Sakmann B (1999) Coincidence detection and changes of synaptic efficacy in spiny stellate neurons in rat barrel cortex. *Nat Neurosci* 2:1098-1105.

Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N (2005) Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci* 25:2771-2780.

Feldman DE (2000) Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron* 27:45-56.

Flaherty AW, Graybiel AM (1991) Corticostriatal transformations in the primate somatosensory system. Projections from physiologically mapped body-part representations. *J Neurophysiol* 66:1249-1263.

Flaherty AW, Graybiel AM (1993) Two input systems for body representations in the primate striatal matrix: experimental evidence in the squirrel monkey. *J Neurosci* 13:1120-1137.

Flaherty AW, Graybiel AM (1994) Input-output organization of the sensorimotor striatum in the squirrel monkey. *J Neurosci* 14:599-610.

Freund TF, Powell JF, Smith AD (1984) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience* 13:1189-1215.

Freund TF, Katona I, Piomelli D (2003) Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 83:1017-1066.

Froemke RC, Dan Y (2002) Spike-timing-dependent synaptic modification induced by natural spike trains. *Nature* 416:433-438.

Froemke RC, Poo MM, Dan Y (2005) Spike-timing-dependent synaptic plasticity depends on dendritic location. *Nature* 434:221-225.

Fu YX, Djupsund K, Gao H, Hayden B, Shen K, Dan Y (2002) Temporal specificity in the cortical plasticity of visual space representation. *Science* 296:1999-2003.

G

Gerfen CR (1985) The neostriatal mosaic. I. Compartmental organization of projections from the striatum to the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol* 236:454-476.

Gerfen CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci* 15:133-139.

Gimenez-Amaya JM, Graybiel AM (1990) Compartmental origins of the striatopallidal projection in the primate. *Neuroscience* 34:111-126.

Gimenez-Amaya JM, de las Heras S, Erro E, Mengual E, Lanciego JL (2000) Considerations on the thalamostriatal system with some functional implications. *Histol Histopathol* 15:1285-1292.

Goldberg J, Holthoff K, Yuste R (2002) A problem with Hebb and local spikes. *Trends Neurosci* 25:433-435.

Golding NL, Staff NP, Spruston N (2002) Dendritic spikes as a mechanism for cooperative long-term potentiation. *Nature* 418:326-331.

Goldman PS, Nauta WJ (1977) An intricately patterned prefronto-caudate projection in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 72:369-386.

Graveland GA, Williams RS, DiFiglia M (1985) A Golgi study of the human neostriatum: neurons and afferent fibers. *J Comp Neurol* 234:317-333.

Graybiel AM (1978) Organization of the nigrotectal connection: an experimental tracer study in the cat. *Brain Res* 143:339-348.

Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:244-254.

Graybiel AM (1995) The basal ganglia. *Trends Neurosci* 18:60-62.

Graybiel AM (1995) Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 5:733-741.

Graybiel AM (2005) The basal ganglia: learning new tricks and loving it. *Curr Opin Neurobiol* 15:638-644.

Graybiel AM, Ragsdale CW, Jr. (1978) Histochemically distinct compartments in the striatum of human, monkeys, and cat demonstrated by acetylthiocholinesterase staining. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75:5723-5726.

Graybiel AM, Aosaki T, Flaherty AW, Kimura M (1994) The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265:1826-1831.

Green EJ, Greenough WT (1986) Altered synaptic transmission in dentate gyrus of rats reared in complex environments: evidence from hippocampal slices maintained in vitro. *J Neurophysiol* 55:739-750.

Groenewegen HJ, Berendse HW (1994) Anatomical relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat. In: *Motor and Cognitive Functions of the Prefrontal Cortex*, pp. 51-77. Springer-Verlag, Berlin.

Groppetti A, Algeri S, Cattabeni F, Di Giulio AM, Galli CL, Ponzio F, Spano PF (1977) Changes in specific activity of dopamine metabolites as evidence of a multiple compartmentation of dopamine in striatal neurons. *J Neurochem* 28:193-197.

Gustafsson B, Wigstrom H, Abraham WC, Huang YY (1987) Long-term potentiation in the hippocampus using depolarizing current pulses as the conditioning stimulus to single volley synaptic potentials. *J Neurosci* 7:774-780.

H

Haas JS, Nowotny T, Abarbanel HD (2006) Spike-timing-dependent plasticity of inhibitory synapses in the entorhinal cortex. *J Neurophysiol* 96:3305-3313.

Haber SN, Kim KS, Maily P, Calzavara R (2006) Reward-related cortical inputs define a large striatal region in primates that interface with associative cortical connections, providing a substrate for incentive-based learning. *J Neurosci* 26:8368-8376.

Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch* 391:85-100.

Hanley JJ, Bolam JP (1997) Synaptology of the nigrostriatal projection in relation to the compartmental organization of the neostriatum in the rat. *Neuroscience* 81:353-370.

Hassani OK, Francois C, Yelnik J, Feger J (1997) Evidence for a dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res* 749:88-94.

Hausser M, Spruston N, Stuart GJ (2000) Diversity and dynamics of dendritic signaling. *Science* 290:739-744.

Hawkins RD, Son H, Arancio O (1998) Nitric oxide as a retrograde messenger during long-term potentiation in hippocampus. *Prog Brain Res* 118:155-172.

Hersch SM, Gutekunst CA, Rees HD, Heilman CJ, Levey AI (1994) Distribution of m1-m4 muscarinic receptor proteins in the rat striatum: light and electron microscopic immunocytochemistry using subtype-specific antibodies. *J Neurosci* 14:3351-3363.

Holthoff K, Kovalchuk Y, Yuste R, Konnerth A (2004) Single-shock LTD by local dendritic spikes in pyramidal neurons of mouse visual cortex. *J Physiol* 560:27-36.

Hornykiewicz O, Kish SJ (1987) Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 45:19-34.

I-J

Ito M, Sakurai M, Tongroach P (1982) Climbing fibre induced depression of both mossy fibre responsiveness and glutamate sensitivity of cerebellar Purkinje cells. *J Physiol* 324:113-134.

Izquierdo I, Schroder N, Netto CA, Medina JH (1999) Novelty causes time-dependent retrograde amnesia for one-trial avoidance in rats through NMDA receptor- and CaMKII-dependent mechanisms in the hippocampus. *Eur J Neurosci* 11:3323-3328.

Izzo PN, Graybiel AM, Bolam JP (1987) Characterization of substance P- and [Met]enkephalin-immunoreactive neurons in the caudate nucleus of cat and ferret by a single section Golgi procedure. *Neuroscience* 20:577-587.

Jog MS, Kubota Y, Connolly CI, Hillegaart V, Graybiel AM (1999) Building neural representations of habits. *Science* 286:1745-1749.

K

Karmarkar UR, Buonomano DV (2002) A model of spike-timing dependent plasticity: one or two coincidence detectors? *J Neurophysiol* 88:507-513.

Kawaguchi Y (1992) Large aspiny cells in the matrix of the rat neostriatum in vitro: physiological identification, relation to the compartments and excitatory postsynaptic currents. *J Neurophysiol* 67:1669-1682.

Kawaguchi Y (1993) Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J Neurosci* 13:4908-4923.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Emson PC (1989) Intracellular recording of identified neostriatal patch and matrix spiny cells in a slice preparation preserving cortical inputs. *J Neurophysiol* 62:1052-1068.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Emson PC (1990) Projection subtypes of rat neostriatal matrix cells revealed by intracellular injection of biocytin. *J Neurosci* 10:3421-3438.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995) Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18:527-535.

Kebabian JW, Calne DB (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277:93-96.

Kelley AE, Domesick VB, Nauta WJ (1982) The amygdalostratial projection in the rat--an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience* 7:615-630.

- Kelso SR, Ganong AH, Brown TH (1986) Hebbian synapses in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:5326-5330.
- Kerr JN, Wickens JR (2001) Dopamine D-1/D-5 receptor activation is required for long-term potentiation in the rat neostriatum in vitro. *J Neurophysiol* 85:117-124.
- Kincaid AE, Zheng T, Wilson CJ (1998) Connectivity and convergence of single corticostriatal axons. *J Neurosci* 18:4722-4731.
- Kita T, Kita H, Kitai ST (1984) Passive electrical membrane properties of rat neostriatal neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res* 300:129-139.
- Kita H, Kosaka T, Heizmann CW (1990) Parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat neostriatum: a light and electron microscopic study. *Brain Res* 536:1-15.
- Kitabatake Y, Hikida T, Watanabe D, Pastan I, Nakanishi S (2003) Impairment of reward-related learning by cholinergic cell ablation in the striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:7965-7970.
- Kiyatkin EA, Rebec GV (1999) Striatal neuronal activity and responsiveness to dopamine and glutamate after selective blockade of D1 and D2 dopamine receptors in freely moving rats. *J Neurosci* 19:3594-3609.
- Kobayashi K, Poo MM (2004) Spike train timing-dependent associative modification of hippocampal CA3 recurrent synapses by mossy fibers. *Neuron* 41:445-454.
- Koester HJ, Sakmann B (1998) Calcium dynamics in single spines during coincident pre- and postsynaptic activity depend on relative timing of back-propagating action potentials and subthreshold excitatory postsynaptic potentials. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9596-9601.
- Kolb B (1977) Studies on the caudate-putamen and the dorsomedial thalamic nucleus of the rat: implications for mammalian frontal-lobe functions. *Physiol Behav* 18:237-244.
- Koos T, Tepper JM (1999) Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat Neurosci* 2:467-472.
- Koos T, Tepper JM (2002) Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. *J Neurosci* 22:529-535.
- Koos T, Tepper JM, Wilson CJ (2004) Comparison of IPSCs evoked by spiny and fast-spiking neurons in the neostriatum. *J Neurosci* 24:7916-7922.
- Kreitzer AC, Malenka RC (2005) Dopamine modulation of state-dependent endocannabinoid release and long-term depression in the striatum. *J Neurosci* 25:10537-10545.
- Kreitzer AC, Malenka RC (2007) Endocannabinoid-mediated rescue of striatal LTD and motor deficits in Parkinson's disease models. *Nature* 445:643-647.
- Kubota Y, 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.

L

- Lapper SR, Bolam JP (1992) Input from the frontal cortex and the parafascicular nucleus to cholinergic interneurons in the dorsal striatum of the rat. *Neuroscience* 51:533-545.
- Laroche S, Doyere V, Bloch V (1989) Linear relation between the magnitude of long-term potentiation in the dentate gyrus and associative learning in the rat. A demonstration using commissural inhibition and local infusion of an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Neuroscience* 28:375-386.
- Lavoie B, Parent A (1990) Immunohistochemical study of the serotonergic innervation of the basal ganglia in the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 299:1-16.
- Lavoie B, Parent A (1994) Pedunculo-pontine nucleus in the squirrel monkey: projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *J Comp Neurol* 344:210-231.
- Lavoie B, Parent A (1994) Pedunculo-pontine nucleus in the squirrel monkey: cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *J Comp Neurol* 344:232-241.
- Lee AK, Manns ID, Sakmann B, Brecht M (2006) Whole-cell recordings in freely moving rats. *Neuron* 51:399-407.
- Letzkus JJ, Kampa BM, Stuart GJ (2006) Learning rules for spike timing-dependent plasticity depend on dendritic synapse location. *J Neurosci* 26:10420-10429.
- Levesque M, Parent A (1998) Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prefrontal cortex in the rat. *Cereb Cortex* 8:602-613.
- Levy WB, Steward O (1983) Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* 8:791-797.
- Li CY, Lu JT, Wu CP, Duan SM, Poo MM (2004) Bidirectional modification of presynaptic neuronal excitability accompanying spike timing-dependent synaptic plasticity. *Neuron* 41:257-268.
- Lin YW, Min MY, Chiu TH, Yang HW (2003) Enhancement of associative long-term potentiation by activation of beta-adrenergic receptors at CA1 synapses in rat hippocampal slices. *J Neurosci* 23:4173-4181.
- Lin JY, Chung KK, de Castro D, Funk GD, Lipski J (2004) Effects of muscarinic acetylcholine receptor activation on membrane currents and intracellular messengers in medium spiny neurones of the rat striatum. *Eur J Neurosci* 20:1219-1230.
- Linden DJ, Connor JA (1995) Long-term synaptic depression. *Annu Rev Neurosci* 18:319-357.
- Lindvall O, Bjorklund A (1979) Dopaminergic innervation of the globus pallidus by collaterals from the nigrostriatal pathway. *Brain Res* 172:169-173.
- Lisman J, Spruston N (2005) Postsynaptic depolarization requirements for LTP and LTD: a critique of spike timing-dependent plasticity. *Nat Neurosci* 8:839-841.

Lovinger DM, Tyler EC, Merritt A (1993) Short- and long-term synaptic depression in rat neostriatum. *J Neurophysiol* 70:1937-1949.

Lorenzi CA, Baldi E, Bucherelli C, Tassoni G (1995) Time-dependent deficits of rat memory consolidations induced by tetrodotoxin injections into the caudate-putamen, nucleus accumbens, and globus pallidus. *Neurobiol. Learn. Mem.* 63:87-93

Lynch MA (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84:87-136.

M

Magee JC, Johnston D (1997) A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science* 275:209-213.

Mahon S, Deniau JM, Charpier S (2001) Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an in vivo study under different anesthetics. *Cereb Cortex* 11:360-373.

Mahon S, Deniau JM, Charpier S (2004) Corticostriatal plasticity: life after the depression. *Trends Neurosci* 27:460-467.

Mahon S, Casassus G, Mulle C, Charpier S (2003) Spike-dependent intrinsic plasticity increases firing probability in rat striatal neurons in vivo. *J Physiol* 550:947-959.

Mahon S, Vautrelle N, Pezard L, Slaght SJ, Deniau JM, Chouvet G, Charpier S (2006) Distinct patterns of striatal medium spiny neuron activity during the natural sleep-wake cycle. *J Neurosci* 26:12587-12595.

Malenka RC, Kocsis JD (1988) Presynaptic actions of carbachol and adenosine on corticostriatal synaptic transmission studied in vitro. *J Neurosci* 8:3750-3756.

Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285:1870-1874.

Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.

Mallet N, Le Moine C, Charpier S, Gonon F (2005) Feedforward inhibition of projection neurons by fast-spiking GABA interneurons in the rat striatum in vivo. *J Neurosci* 25:3857-3869.

Markram H, Lubke J, Frotscher M, Sakmann B (1997) Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science* 275:213-215.

Martin SJ, Morris RG (2002) New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* 12:609-636.

Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.

Maurice N, Deniau JM, Glowinski J, Thierry AM (1998) Relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat: physiology of the corticosubthalamic circuits. *J Neurosci* 18:9539-9546.

Maurice N, Mercer J, Chan CS, Hernandez-Lopez S, Held J, Tkatch T, Surmeier DJ (2004) D2 dopamine receptor-mediated modulation of voltage-dependent Na⁺ channels reduces autonomous activity in striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 24:10289-10301.

McDonald RJ, White NM (1993) A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. *Behav Neurosci* 107:3-22.

McDonald RJ, White NM (1994) Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav Neural Biol* 61:260-270.

McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29:503-537.

Migliore M, Shepherd GM (2002) Emerging rules for the distributions of active dendritic conductances. *Nat Rev Neurosci* 3:362-370.

Miller RM (1981) *Meaning and purpose in the intact brain*. Oxford: Clarendon Press

Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319:774-776.

Moser EI, Moser MB, Andersen P (1994) Potentiation of dentate synapses initiated by exploratory learning in rats: dissociation from brain temperature, motor activity, and arousal. *Learn Mem* 1:55-73.

Murphy GG, Glanzman DL (1997) Mediation of classical conditioning in *Aplysia californica* by long-term potentiation of sensorimotor synapses. *Science* 278:467-471.

N

Nambu A, Tokuno H, Takada M (2002) Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci Res* 43:111-117.

Nevian T, Sakmann B (2004) Single spine Ca²⁺ signals evoked by coincident EPSPs and backpropagating action potentials in spiny stellate cells of layer 4 in the juvenile rat somatosensory barrel cortex. *J Neurosci* 24:1689-1699.

Nevian T, Sakmann B (2006) Spine Ca²⁺ signaling in spike-timing-dependent plasticity. *J Neurosci* 26:11001-11013.

Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC (2000) Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 23:185-215.

Nisenbaum ES, Wilson CJ (1995) Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J Neurosci* 15:4449-4463.

Nisenbaum ES, Berger TW, Grace AA (1992) Presynaptic modulation by GABAB receptors of glutamatergic excitation and GABAergic inhibition of neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 67:477-481.

Nisenbaum ES, Xu ZC, Wilson CJ (1994) Contribution of a slowly inactivating potassium current to the transition to firing of neostriatal spiny projection neurons. *J Neurophysiol* 71:1174-1189.

Nisenbaum ES, Stricker EM, Zigmond MJ, Berger TW (1986) Long-term effects of dopamine-depleting brain lesions on spontaneous activity of type II striatal neurons: relation to behavioral recovery. *Brain Res* 398:221-230.

Nishioku T, Shimazoe T, Yamamoto Y, Nakanishi H, Watanabe S (1999) Expression of long-term potentiation of the striatum in methamphetamine-sensitized rats. *Neurosci Lett* 268:81-84.

Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408:584-588.

Normann C, Peckys D, Schulze CH, Walden J, Jonas P, Bischofberger J (2000) Associative long-term depression in the hippocampus is dependent on postsynaptic N-type Ca²⁺ channels. *J Neurosci* 20:8290-8297.

O

Oberg RG, Divac I (1979) « Cognitive » functions of the neostriatum. In: *The neostriatum*, ed. I Divac, RGE Oberg, pp. 291-313. New York: Pergamon.

Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Rodriguez M, Lanciego JL, Artieda J, Gonzalo N, Olanow CW (2000) Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 23:S8-19.

O'Donnell P, Grace AA (1997) Cortical afferents modulate striatal gap junction permeability via nitric oxide. *Neuroscience* 76:1-5.

Oertel WH, Mugnaini E (1984) Immunocytochemical studies of GABAergic neurons in rat basal ganglia and their relations to other neuronal systems. *Neurosci Lett* 47:233-238.

P-Q

Packard MG, White NM (1991) Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by posttraining intracerebral injection of dopamine agonists. *Behav Neurosci* 105:295-306.

Packard MG, McGaugh JL (1992) Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: further evidence for multiple memory systems. *Behav Neurosci* 106:439-446.

Packard MG, McGaugh JL (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 65:65-72.

Packard MG, Teather LA (1997) Double dissociation of hippocampal and dorsal-striatal memory systems by posttraining intracerebral injections of 2-amino-5-phosphonopentanoic acid. *Behav Neurosci* 111:543-551.

Packard MG, Teather LA (1998) Amygdala modulation of multiple memory systems: hippocampus and caudate-putamen. *Neurobiol Learn Mem* 69:163-203.

Packard MG, Knowlton BJ (2002) Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 25:563-593.

Packard MG, Intorini-Collison I, McGaugh JL (1996) Stria terminalis lesions attenuate memory enhancement produced by intracaudate nucleus injections of oxotremorine. *Neurobiol Learn Mem* 65:278-282.

Packard MG, Vecchioli SF, Schroeder JP, Gasbarri A (2001) Task-dependent role for dorsal striatum metabotropic glutamate receptors in memory. *Learn Mem* 8:96-103.

Pakhotin P, Bracci E (2007) Cholinergic interneurons control the excitatory input to the striatum. *J Neurosci* 27:391-400.

Pang Z, Ling GY, Gajendiran M, Xu ZC (2001) Enhanced excitatory synaptic transmission in spiny neurons of rat striatum after unilateral dopamine denervation. *Neurosci Lett* 308:201-205.

Parent A (1986) *Comparative Neurobiology of the Basal Ganglia*. New York: Wiley.

Parent A, Hazrati LN (1995) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Brain Res Rev* 20:128-154.

Parent A, Hazrati LN (1995) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev* 20:91-127.

Park MR, Lighthall JW, Kitai ST (1980) Recurrent inhibition in the rat neostriatum. *Brain Res* 194:359-369.

Parthasarathy HB, Graybiel AM (1997) Cortically driven immediate-early gene expression reflects modular influence of sensorimotor cortex on identified striatal neurons in the squirrel monkey. *J Neurosci* 17:2477-2491.

Partridge JG, Tang KC, Lovinger DM (2000) Regional and postnatal heterogeneity of activity-dependent long-term changes in synaptic efficacy in the dorsal striatum. *J Neurophysiol* 84:1422-1429.

Percheron G, Yelnik J, François C (1984) The primate striato-pallido-nigral system. An integrative system for cortical information. In: *Basal Ganglia: Structure and Function*, pp. 87-105, Plenum Press, New York.

Perez-Rosello T, Figueroa A, Salgado H, Vilchis C, Tecuapetla F, Guzman JN, Galarraga E, Vargas J (2005) Cholinergic control of firing pattern and neurotransmission in rat neostriatal projection neurons: role of CaV2.1 and CaV2.2 Ca²⁺ channels. *J Neurophysiol* 93:2507-2519.

Pisa M, Cyr J (1990) Regionally selective roles of the rat's striatum in modality-specific discrimination learning and forelimb reaching. *Behav Brain Res* 37:281-292.

Pisani A, Bonsi P, Centonze D, Calabresi P, Bernardi G (2000) Activation of D2-like dopamine receptors reduces synaptic inputs to striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 20:RC69.

Plenz D (2003) When inhibition goes incognito: feedback interaction between spiny projection neurons in striatal function. *Trends Neurosci* 26:436-443.

Prado-Alcala RA, Signoret L, Figueroa M (1981) Time-dependent retention deficits induced by post-training injections of atropine into the caudate nucleus. *Pharmacol Biochem Behav* 15:633-636.

Preston RJ, Bishop GA, Kitai ST (1980) Medium spiny neuron projection from the rat striatum: an intracellular horseradish peroxidase study. *Brain Res* 183:253-263.

Quik M, Chen L, Parameswaran N, Xie X, Langston JW, McCallum SE (2006) Chronic oral nicotine normalizes dopaminergic function and synaptic plasticity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned primates. *J Neurosci* 26:4681-4689.

R

Ragsdale CW, Jr., Graybiel AM (1990) A simple ordering of neocortical areas established by the compartmental organization of their striatal projections. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:6196-6199.

Rajakumar N, Elisevich K, Flumerfelt BA (1994) The pallidostriatal projection in the rat: a recurrent inhibitory loop? *Brain Res* 651:332-336.

Ramanathan S, Hanley JJ, Deniau JM, Bolam JP (2002) Synaptic convergence of motor and somatosensory cortical afferents onto GABAergic interneurons in the rat striatum. *J Neurosci* 22:8158-8169.

Ravel S, Legallet E, Apicella P (1999) Tonically active neurons in the monkey striatum do not preferentially respond to appetitive stimuli. *Exp Brain Res* 128:531-534.

Reyes A (2001) Influence of dendritic conductances on the input-output properties of neurons. *Annu Rev Neurosci* 24:653-675.

Reynolds JN, Wickens JR (2000) Substantia nigra dopamine regulates synaptic plasticity and membrane potential fluctuations in the rat neostriatum, in vivo. *Neuroscience* 99:199-203.

Reynolds JN, Wickens JR (2002) Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses. *Neural Netw* 15:507-521.

Reynolds JN, Wickens JR (2004) The corticostriatal input to giant aspiny interneurons in the rat: a candidate pathway for synchronising the response to reward-related cues. *Brain Res* 1011:115-128.

Reynolds JN, Hyland BI, Wickens JR (2001) A cellular mechanism of reward-related learning. *Nature* 413:67-70.

Ribak CE, Vaughn JE, Roberts E (1979) The GABA neurons and their axon terminals in rat corpus striatum as demonstrated by GAD immunocytochemistry. *J Comp Neurol* 187:261-283.

Robinson DL, Venton BJ, Heien ML, Wightman RM (2003) Detecting subsecond dopamine release with fast-scan cyclic voltammetry in vivo. *Clin Chem* 49:1763-1773.

Ronesi J, Lovinger DM (2005) Induction of striatal long-term synaptic depression by moderate frequency activation of cortical afferents in rat. *J Physiol* 562:245-256.

Rosvold HE (1972) The frontal lobe system: cortical-subcortical interrelationships. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 32:439-460.

Rosvold, HE (1968) The prefrontal cortex and caudate nucleus: a system for effecting correction in response mechanisms. In *Mind as Tissue*, ed. C Rupp, pp 21-38. New York: Harper Row

Rymar VV, Sasseville R, Luk KC, Sadikot AF (2004) Neurogenesis and stereological morphometry of calretinin-immunoreactive GABAergic interneurons of the neostriatum. *J Comp Neurol* 469:325-339.

S

Sadikot AF, Parent A, Smith Y, Bolam JP (1992) Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: a light and electron microscopic study of the thalamostriatal projection in relation to striatal heterogeneity. *J Comp Neurol* 320:228-242.

Salado-Castillo R, Diaz del Guante MA, Alvarado R, Quirarte GL, Prado-Alcala RA (1996) Effects of regional GABAergic blockade of the striatum on memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem* 66:102-108.

Sammut S, Dec A, Mitchell D, Linardakis J, Ortiguera M, West AR (2006) Phasic dopaminergic transmission increases NO efflux in the rat dorsal striatum via a neuronal NOS and a dopamine D(1/5) receptor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacology* 31:493-505.

Saudargiene A, Porr B, Worgotter F (2005) Synaptic modifications depend on synapse location and activity: a biophysical model of STDP. *Biosystems* 79:3-10.

Schuett S, Bonhoeffer T, Hubener M (2001) Pairing-induced changes of orientation maps in cat visual cortex. *Neuron* 32:325-337.

Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275:1593-1599.

Sealfon SC, Olanow CW (2000) Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends Neurosci* 23:S34-40.

Shinkman PG, Swain RA, Thompson RF (1996) Classical conditioning with electrical stimulation of cerebellum as both conditioned and unconditioned stimulus. *Behav Neurosci* 110:914-921.

Sjostrom PJ, Hausser M (2006) A cooperative switch determines the sign of synaptic plasticity in distal dendrites of neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 51:227-238.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2001) Rate, timing, and cooperativity jointly determine cortical synaptic plasticity. *Neuron* 32:1149-1164.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2003) Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 39:641-654.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Endocannabinoid-dependent neocortical layer-5 LTD in the absence of postsynaptic spiking. *J Neurophysiol* 92:3338-3343.

Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2007) Multiple forms of long-term plasticity at unitary neocortical layer 5 synapses. *Neuropharmacology* 52:176-184.

Slaght SJ, Paz T, Chavez M, Deniau JM, Mahon S, Charpier S (2004) On the activity of the corticostriatal networks during spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *J Neurosci* 24:6816-6825.

Smeal RM, Gaspar RC, Keefe KA, Wilcox KS (2007) A rat brain slice preparation for characterizing both thalamostriatal and corticostriatal afferents. *J Neurosci Methods* 159:224-235.

Smith Y, Parent A (1986) Neuropeptide Y-immunoreactive neurons in the striatum of cat and monkey: morphological characteristics, intrinsic organization and co-localization with somatostatin. *Brain Res* 372:241-252.

Smith AD, Bolam JP (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosci* 13:259-265.

Smith Y, 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, Hazrati LN, Parent A (1990) Efferent projections of the subthalamic nucleus in the squirrel monkey as studied by the PHA-L anterograde tracing method. *J Comp Neurol* 294:306-323.

Smith R, Musleh W, Akopian G, Buckwalter G, Walsh JP (2001) Regional differences in the expression of corticostriatal synaptic plasticity. *Neuroscience* 106:95-101.

Somogyi P, Bolam JP, Smith AD (1981) Monosynaptic cortical input and local axon collaterals of identified striatonigral neurons. A light and electron microscopic study using the Golgi-peroxidase transport-degeneration procedure. *J Comp Neurol* 195:567-584.

Staines WA, Atmadja S, Fibiger HC (1981) Demonstration of a pallidostriatal pathway by retrograde transport of HRP-labeled lectin. *Brain Res* 206:446-450.

Staubli UV, Ji ZX (1996) The induction of homo- vs. heterosynaptic LTD in area CA1 of hippocampal slices from adult rats. *Brain Res* 714:169-176.

Stefan K, Kunesch E, Benecke R, Cohen LG, Classen J (2002) Mechanisms of enhancement of human motor cortex excitability induced by interventional paired associative stimulation. *J Physiol* 543:699-708.

Stern EA, Jaeger D, Wilson CJ (1998) Membrane potential synchrony of simultaneously recorded striatal spiny neurons in vivo. *Nature* 394:475-478.

Sugimoto T, Hattori T (1983) Confirmation of thalamosubthalamic projections by electron microscopic autoradiography. *Brain Res* 267:335-339.

Surmeier DJ, Song WJ, Yan Z (1996) Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 16:6579-6591.

Surmeier DJ, Reiner A, Levine MS, Ariano MA (1993) Are neostriatal dopamine receptors colocalized? *Trends Neurosci* 16:299-305.

Surmeier DJ, Eberwine J, Wilson CJ, Cao Y, Stefani A, Kitai ST (1992) Dopamine receptor subtypes colocalize in rat striatonigral neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:10178-10182.

Suzuki T, Miura M, Nishimura K, Aosaki T (2001) Dopamine-dependent synaptic plasticity in the striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 21:6492-6501.

T

Talwar SK, Gerstein GL (2001) Reorganization in awake rat auditory cortex by local microstimulation and its effect on frequency-discrimination behavior. *J Neurophysiol* 86:1555-1572.

Tang K, Low MJ, Grandy DK, Lovinger DM (2001) Dopamine-dependent synaptic plasticity in striatum during in vivo development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:1255-1260.

Tang C, Pawlak AP, Prokopenko V, West MO (2007) Changes in activity of the striatum during formation of a motor habit. *Eur J Neurosci* 25:1212-1227.

Tepper JM, Bolam JP (2004) Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr Opin Neurobiol* 14:685-692.

Tepper JM, Koos T, Wilson CJ (2004) GABAergic microcircuits in the neostriatum. *Trends Neurosci* 27:662-669.

Thivierge JP, Rivest F, Monchi O (2007) Spiking neurons, dopamine, and plasticity: timing is everything, but concentration also matters. *Synapse* 61:375-390.

Tseng KY, Kasanetz F, Kargieman L, Riquelme LA, Murer MG (2001) Cortical slow oscillatory activity is reflected in the membrane potential and spike trains of striatal neurons in rats with chronic nigrostriatal lesions. *J Neurosci* 21:6430-6439.

Twery MJ, Thompson LA, Walters JR (1993) Electrophysiological characterization of rat striatal neurons in vitro following a unilateral lesion of dopamine cells. *Synapse* 13:322-332.

Tzounopoulos T, Kim Y, Oertel D, Trussell LO (2004) Cell-specific, spike timing-dependent plasticities in the dorsal cochlear nucleus. *Nat Neurosci* 7:719-725.

Tzounopoulos T, Rubio ME, Keen JE, Trussell LO (2007) Coactivation of pre- and postsynaptic signaling mechanisms determines cell-specific spike-timing-dependent plasticity. *Neuron* 54:291-301.

U-V

Urban NN, Barrionuevo G (1996) Induction of hebbian and non-hebbian mossy fiber long-term potentiation by distinct patterns of high-frequency stimulation. *J Neurosci* 16:4293-4299.

Van Der Kooy D, Hattori T (1980) Single subthalamic nucleus neurons project to both the globus pallidus and substantia nigra in rat. *J Comp Neurol* 192:751-768.

Venance L, Glowinski J (2003) Heterogeneity of spike frequency adaptation among medium spiny neurones from the rat striatum. *Neuroscience* 122:77-92.

Venance L, Glowinski J, Giaume C (2004) Electrical and chemical transmission between striatal GABAergic output neurones in rat brain slices. *J Physiol* 559:215-230.

Vetter P, Roth A, Hausser M (2001) Propagation of action potentials in dendrites depends on dendritic morphology. *J Neurophysiol* 85:926-937.

Viaud MD, White NM (1989) Dissociation of visual and olfactory conditioning in the neostriatum of rats. *Behav Brain Res* 32:31-42.

Vincent SR, Staines WA, Fibiger HC (1983) Histochemical demonstration of separate populations of somatostatin and cholinergic neurons in the rat striatum. *Neurosci Lett* 35:111-114.

Vuillet J, Kerkerian-Le Goff L, Kachidian P, Dusticier G, Bosler O, Nieoullon A (1990) Striatal NPY-Containing Neurons Receive GABAergic Afferents and may also Contain GABA: An Electron Microscopic Study in the Rat. *Eur J Neurosci* 2:672-681.

Vuillet J, Kerkerian L, Kachidian P, Bosler O, 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

Walsh JP (1993) Depression of excitatory synaptic input in rat striatal neurons. *Brain Res* 608:123-128.

Walsh JP, Dunia R (1993) Synaptic activation of N-methyl-D-aspartate receptors induces short-term potentiation at excitatory synapses in the striatum of the rat. *Neuroscience* 57:241-248.

Wang HX, Gerkin RC, Nauen DW, Bi GQ (2005) Coactivation and timing-dependent integration of synaptic potentiation and depression. *Nat Neurosci* 8:187-193.

Wang Z, Kai L, Day M, Ronesi J, Yin HH, Ding J, Tkatch T, Lovinger DM, Surmeier DJ (2006) Dopaminergic control of corticostriatal long-term synaptic depression in medium spiny neurons is mediated by cholinergic interneurons. *Neuron* 50:443-452.

Wang SS, Denk W, Hausser M (2000) Coincidence detection in single dendritic spines mediated by calcium release. *Nat Neurosci* 3:1266-1273.

Wang HG, Lu FM, Jin I, Udo H, Kandel ER, de Vente J, Walter U, Lohmann SM, Hawkins RD, Antonova I (2005) Presynaptic and postsynaptic roles of NO, cGK, and RhoA in long-lasting potentiation and aggregation of synaptic proteins. *Neuron* 45:389-403.

Watanabe S, Aono Y, Fusa K, Takada K, Saigusa T, Koshikawa N, Cools AR (2005) Contribution of vesicular and cytosolic dopamine to the increased striatal dopamine efflux elicited by intra-striatal injection of dexamphetamine. *Neuroscience* 136:251-257.

Waters J, Schaefer A, Sakmann B (2005) Backpropagating action potentials in neurones: measurement, mechanisms and potential functions. *Prog Biophys Mol Biol* 87:145-170.

West AR, Grace AA (2002) Opposite influences of endogenous dopamine D1 and D2 receptor activation on activity states and electrophysiological properties of striatal neurons: studies combining in vivo intracellular recordings and reverse microdialysis. *J Neurosci* 22:294-304.

West AR, Grace AA (2004) The nitric oxide-guanylyl cyclase signaling pathway modulates membrane activity States and electrophysiological properties of striatal medium spiny neurons recorded in vivo. *J Neurosci* 24:1924-1935.

Wickens JR (1993) A theory of the striatum. Leeds: Pergamon press

Wickens JR, Begg AJ, Arbuthnott GW (1996) Dopamine reverses the depression of rat corticostriatal synapses which normally follows high-frequency stimulation of cortex in vitro. *Neuroscience* 70:1-5.

Wilson CJ (1984) Passive cable properties of dendritic spines and spiny neurons. *J Neurosci* 4:281-297.

Wilson CJ (1993) The generation of natural firing patterns in neostriatal neurons. *Prog Brain Res* 99:277-297.

Wilson CJ (1995) The contribution of cortical neurons to the firing pattern of striatal spiny neurons. In: *Models of information processing in the basal ganglia*, Houk Edition, pp 29-50. Cambridge: MIT Press.

Wilson CJ, Groves PM (1980) Fine structure and synaptic connections of the common spiny neuron of the rat neostriatum: a study employing intracellular inject of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 194:599-615.

Wilson CJ, Groves PM (1981) Spontaneous firing patterns of identified spiny neurons in the rat neostriatum. *Brain Res* 220:67-80.

Wilson CJ, Kawaguchi Y (1996) The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J Neurosci* 16:2397-2410.

Wilson CJ, Chang HT, Kitai ST (1990) Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci* 10:508-519.

Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, Kunesch E, Stefan K, Cohen LG, Benecke R, Classen J (2003) A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex. *J Neurophysiol* 89:2339-2345.

Wu Y, Richard S, Parent A (2000) The organization of the striatal output system: a single-cell juxtacellular labeling study in the rat. *Neurosci Res* 38:49-62.

X

Xu L, Anwyl R, Rowan MJ (1998) Spatial exploration induces a persistent reversal of long-term potentiation in rat hippocampus. *Nature* 394:891-894.

Xu NL, Ye CQ, Poo MM, Zhang XH (2006) Coincidence detection of synaptic inputs is facilitated at the distal dendrites after long-term potentiation induction. *J Neurosci* 26:3002-3009.

Y

Yan Z, Surmeier DJ (1996) Muscarinic (m2/m4) receptors reduce N- and P-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a fast, membrane-delimited, G-protein pathway. *J Neurosci* 16:2592-2604.

Yao H, Dan Y (2001) Stimulus timing-dependent plasticity in cortical processing of orientation. *Neuron* 32:315-323.

Yeterian EH, Van Hoesen GW (1978) Cortico-striate projections in the rhesus monkey: the organization of certain cortico-caudate connections. *Brain Res* 139:43-63.

Yin HH, Knowlton BJ (2004) Contributions of striatal subregions to place and response learning. *Learn Mem* 11:459-463.

Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7:464-476.

Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW (2004) Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *Eur J Neurosci* 19:181-189.

Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22:513-523.

Z

Zhang LI, Tao HW, Holt CE, Harris WA, Poo M (1998) A critical window for cooperation and competition among developing retinotectal synapses. *Nature* 395:37-44.

Zucker RS, Regehr WG (2002) Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355-405.

RESUME

Les ganglions de la base, un ensemble de structures sous-corticales, sont impliqués dans les processus de planification et d'apprentissage du mouvement. La principale structure d'entrée des ganglions de la base est le striatum, dont le rôle est de sélectionner et d'intégrer les informations provenant de différentes aires corticales et ainsi construire et transmettre une réponse adaptée aux structures de sortie. Malgré son rôle déterminant dans les processus d'apprentissage sensori-moteur, la nature des plasticités synaptiques au niveau de la voie cortico-striatale n'était pas clairement déterminée.

Nous avons dans un premier temps caractérisé les propriétés électrophysiologiques des différents neurones du striatum (les neurones de sortie et les interneurons GABAergiques, cholinergiques et à NO-synthase) dans des conditions normales, et lors d'une déplétion de dopamine striatale. Nous avons observé que la déplétion de dopamine entraîne des modifications de l'excitabilité des neurones striataux : l'excitabilité des neurones de sortie et des interneurons cholinergiques est augmentée tandis que celle des interneurons GABAergiques et à NO-synthase est diminuée.

Nous avons ensuite développé un modèle de tranche de cerveau de rat dans laquelle les afférences cortico-striatales sont conservées intactes. Nous avons ainsi pu stimuler spécifiquement les fibres glutamatergiques dans le cortex et enregistrer la réponse induite dans les neurones du striatum. Grâce à ce modèle, nous avons mis en évidence que les phénomènes de plasticité synaptique sont dépendants de la fréquence d'activation du cortex : une stimulation à haute fréquence du cortex induit de la LTP tandis qu'une stimulation à basse fréquence induit de la LTD dans les neurones de sortie du striatum (NETM). De plus, nous avons mis en évidence une homéostasie puissante qui permet de ramener les synapses cortico-striatales à un niveau de base.

Nous avons ensuite observé que, outre les NETM, le cortex contacte également les interneurons striataux, avec une séquence d'activation particulière : (1) les interneurons GABAergiques, (2) les interneurons cholinergiques, (3) les NETM et enfin (4) les interneurons à NO-synthase. De plus, il existe une spécificité cellulaire de la « spike-timing dependent plasticity » (STDP) dans le striatum. Les NETM développent une STDP avec une orientation inverse à celle observée dans d'autres structures cérébrales des mammifères. Les interneurons GABAergiques et les interneurons à NO-synthase développent une STDP classique. Les interneurons cholinergiques quant à eux développent une STDP partiellement inverse. Les récepteurs impliqués dans la STDP au niveau de chaque type neuronal sont également différents. Ces différentes STDP agiraient en synergie pour favoriser ou diminuer la sortie striatale.

Enfin, nous avons mis en évidence que des signaux sous-liminaires, au niveau des NETM, en coïncidence avec une activité corticale, sont capables d'induire des phénomènes de plasticité synaptique à long-terme. Cette plasticité est bidirectionnelle car ces signaux sous-liminaires induisent à la fois de la LTP et de la LTD. Cette forme de plasticité étend considérablement les possibilités de codage à long-terme des NETM.