

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR des sciences fondamentales et appliquées
Laboratoire de neurosciences expérimentales et cliniques - LNEC (Poitiers)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

École doctorale : Biologie-santé - Bio-santé (Limoges)
Secteur de recherche : Neurosciences

Présentée par :
Clément Vitrac

Contrôle dopaminergique de la motricité au niveau cortical et striatal

Directeur(s) de Thèse :
Afsaneh Gaillard, Marianne Benoit-Marand

Soutenue le 24 septembre 2014 devant le jury

Jury :

| | | |
|------------|--------------------------------|--|
| Président | Mohamed Jaber | Professeur des Universités, Université de Poitiers |
| Rapporteur | Sylvie Chalon | Directeur de recherche INSERM, Université de Tours |
| Rapporteur | Jérôme Baufreton | Chargé de recherche CNRS, Université de Bordeaux |
| Membre | Afsaneh Gaillard | Professeur des Universités, Université de Poitiers |
| Membre | Marianne Benoit-Marand | Maître de conférences, Université de Poitiers |
| Membre | Pierre-Olivier Fernagut | Chargé de recherche CNRS, Université de Bordeaux |

Pour citer cette thèse :

Clément Vitrac. *Contrôle dopaminergique de la motricité au niveau cortical et striatal* [En ligne]. Thèse Neurosciences. Poitiers : Université de Poitiers, 2014. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

THESE

pour l'obtention du Grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS
(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Biosanté n°524
Secteur de Recherche : Neurosciences

Présentée par :

Clément VITRAC

Contrôle dopaminergique de la motricité au niveau cortical et striatal

Directeurs de Thèse : Dr. Marianne Benoit-Marand
Pr. Afsaneh Gaillard

Soutenue le 24 septembre 2014

devant la Commission d'Examen

JURY

Dr. Jérôme BAUFRETON (Université de Bordeaux)

Rapporteur

Dr. Sylvie CHALON (Université de Tours)

Rapporteur

Dr. Pierre-Olivier FERNAGUT (Université de Bordeaux)

Examineur

Dr. Marianne BENOIT-MARAND (Université de Poitiers)

Directrice de thèse

Pr. Afsaneh GAILLARD (Université de Poitiers)

Co-directrice de thèse

Pr. Mohamed JABER (Université de Poitiers)

Examineur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le docteur Jérôme Baufreton et le docteur Sylvie Chalon d'avoir accepté d'évaluer mon travail en tant que rapporteur. Je remercie également le docteur Pierre-Olivier Fernagut d'avoir accepté d'être examinateur dans mon jury.

Mes remerciements vont également au professeur Mohamed Jaber pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour avoir su conserver un climat convivial et propice au travail au sein du LNEC.

Merci également au professeur Afsaneh Gaillard pour son accueil au sein de son équipe et pour avoir accepté de co-encadrer ma thèse. Je tiens également à la remercier pour sa disponibilité, sa gentillesse et le partage de son expérience au cours de ses trois années.

Bien évidemment, j'adresse mes remerciements et toute ma gratitude au docteur Marianne Benoit-Marand. Au delà des quelques lignes formelles que tout doctorant doit à son encadrant de thèse, je voudrais particulièrement la remercier pour m'avoir enseigné avec patience ses techniques et son savoir-faire ainsi que ses précieux conseils qui m'ont permis d'arriver au terme de la thèse. J'aimerais exprimer ici toute ma reconnaissance quant à son engagement et au nombre d'heures qu'elle m'a accordé, tant sur son temps professionnel que personnel. Marianne, sachez que travailler et apprendre sous votre direction ont été un réel plaisir. Votre rigueur et vos qualités didactiques et scientifiques sont et resteront une source d'inspiration pour moi.

J'adresse également tous mes remerciements au docteur Pierre-Olivier Fernagut et au docteur Isabelle Frappé pour leur expertise et leur aide à

l'aboutissement des analyses anatomiques incluses dans le premier projet de ma thèse.

Merci également au docteur Laetitia Prestoz pour m'avoir initié aux techniques d'hybridation *in situ* pendant quelques semaines. D'une manière générale, je voudrais remercier l'ensemble des enseignants-chercheurs et chercheurs du LNEC quelsoit leur titre ou leur grade pour leur disponibilité et leurs réponses éclairées. Merci aussi à Françoise Couturier pour l'impression de ce rapport.

Merci à l'ensemble des doctorants passés, présents et futurs Joëlle, Sophie, Marine, Céline, Nissrine, Audrey, Joanna, Sandie et Mejda, aux post-doctorants Tristan et Bhaskar, ainsi qu'aux ingénieurs et techniciens Seb, Maureen, Virginie, Marie-Laure et Emilie pour tous les bons moments passés ensemble.

Merci à ma famille et aux amis de m'avoir soutenu. Je profite de ces quelques lignes pour adresser plus particulièrement ma reconnaissance et mes remerciements à mon père et ma mère qui ont fait en sorte de nous offrir, à mon frère, ma soeur et moi, toutes les conditions nécessaires à l'accomplissement de nos projets.

Il ne peut y avoir aucun remerciement sans citer Aurore, la personne qui a vécu avec moi tous les instants de ces trois années si spéciales et qui a su m'écouter, me rassurer et me motiver dans les moments de doutes et sans citer Léa qui m'apaise et me fait rire tous les jours.

A Aurore et Léa,
Mon équilibre et ma fierté

Résumé

Le cortex moteur primaire et le striatum permettent la planification et la sélection de mouvements. La dopamine régule l'activité des neurones dans ces deux structures. La perte des neurones à dopamine projetant de la substance noire compacte vers le striatum est à l'origine de troubles moteurs observés dans la maladie de Parkinson.

Nous avons caractérisé le contrôle par la dopamine des neurones du cortex moteur primaire chez la souris et avons démontré que les fibres dopaminergiques innervent préférentiellement la représentation des membres antérieurs dans les couches corticales profondes. Nous avons montré que la dopamine module localement l'activité électrophysiologique des neurones cortico-striataux via les récepteurs D2. Ces résultats montrent que la dopamine peut exercer un contrôle direct sur la motricité au niveau des neurones du cortex moteur primaire.

Nous avons par la suite déterminé le potentiel des thérapies cellulaires dans un modèle animal de la maladie de Parkinson. Les approches actuelles privilégient la greffe ectopique de neurones à dopamine dans la région cible, le striatum. Nous avons choisi une approche alternative consistant à pratiquer la greffe au niveau de la région lésée, la substance noire compacte. Nous avons montré chez la souris que la lésion des neurones dopaminergiques altère les propriétés électrophysiologiques des neurones du striatum et que la greffe homotopique de neurones entraîne une meilleure récupération de ces caractéristiques électrophysiologiques que la greffe ectopique dans le striatum.

Ces résultats ouvrent des perspectives d'étude des effets de la greffe homotopique sur l'activité des autres structures contrôlant la motricité.

Abstract

Primary motor cortex and striatum are involved in movement planification and selection. Dopamine regulates the neuronal activity of these two structures. The motor impairments observed in Parkinson's disease originates from the loss of dopamine neurons projecting from the substantia nigra pars compacta to the striatum.

We characterized the dopaminergic control of the neurons of primary motor cortex in mice and we demonstrated that dopaminergic fibers preferentially innervate the forelimb representation map in the deep cortical layers. Furthermore, we demonstrated that dopamine locally modulates the electrophysiological activity of the cortico-striatal neurons through D2 receptors. These results show that dopamine can directly control motor function by influencing neuronal activity in primary motor cortex. Thereafter, we determined the potential of cell replacement therapies in an animal model of Parkinson's disease. In most studies, the transplanted dopamine neurons have been placed within the striatum. We have chosen an alternative approach by grafting neurons into the lesioned nucleus, substantia nigra. We showed in mice that the lesion of dopaminergic neurons impaired the electrophysiological properties of the striatal neurons. Whereas these properties are not fully restored with an intra-

striatal transplant, all the electrophysiological characteristics are recovered with an intra-nigral graft.

This result opens new perspectives to study the homotopic graft effects on the activity of the other structures controlling motor function.

REMERCIEMENTS

LISTE DES ABREVIATIONS

INDEX DES FIGURES

AVANT-PROPOS

| | |
|---|------------|
| 1. INTRODUCTION | 1 |
| 1.1. Organisation anatomo-fonctionnelle du cortex moteur primaire et du striatum au sein du réseau moteur..... | 1 |
| 1.1.1. Le cortex moteur primaire | 4 |
| 1.1.2. Les ganglions de la base | 26 |
| 1.2. La dopamine..... | 54 |
| 1.2.1. Transmission dopaminergique..... | 54 |
| 1.2.2. Libération et recapture de la dopamine | 59 |
| 1.2.3. Récepteurs dopaminergiques | 64 |
| 1.2.4. Innervation dopaminergique des circuits moteurs..... | 74 |
| 1.3. Contrôle dopaminergique de la motricité | 77 |
| 1.3.1. Contrôle dopaminergique du cortex moteur primaire | 77 |
| 1.3.2. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité de M1 par l'activation des récepteurs D2 | 81 |
| 1.3.3. Contrôle dopaminergique de l'activité striatale | 82 |
| 1.3.4. Conséquences d'une dénervation dopaminergique | 96 |
| 1.3.5. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle murin de la maladie de Parkinson | 110 |
| 2. CHOIX DES TECHNIQUES | 112 |
| 2.1. Procédures électrophysiologiques | 112 |
| 2.2. Injections pharmacologiques d'agonistes ou d'antagonistes | 115 |
| 2.3. Analyse stéréologique de l'innervation dopaminergique..... | 116 |
| 3. MATERIEL ET METHODES..... | 120 |
| 3.1. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité de M1 par l'activation des récepteurs D2..... | 120 |
| 3.1.1. Animaux | 120 |
| 3.1.2. Procédures électrophysiologiques | 120 |
| 3.1.3. Procédures anatomiques | 124 |
| 3.1.4. Analyses statistiques | 127 |
| 3.2. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson | 127 |
| 3.2.1. Animaux | 128 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 3.2.2. | Procédures électrophysiologiques | 129 |
| 3.2.3. | Analyses statistiques | 131 |
| 4. | RESULTATS..... | 133 |
| 4.1. | PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité du cortex moteur primaire par l'activation des récepteurs D2..... | 133 |
| 4.2. | PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson | 147 |
| 5. | DISCUSSION | 160 |
| | CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES..... | 185 |
| | BIBLIOGRAPHIE | |

Liste des abréviations

6-OHDA: 6-hydroxydopamine

AADC: *Aromatic Amino acid decarboxylase*, DOPA décarboxylase

ACSF: *Alternative cerebrospinal fluid*, Liquide céphalorachidien de synthèse

AMPA: acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique

AMPC: Adénosine monophosphate cyclique

ATV: Aire tegmentale ventrale

Ccor: Cortico-cortical

CFL: *Caudal Forelimb area*, aire corticale caudale de représentation des membres antérieurs

Cg: Cortex cingulaire

COMT: Catéchol-O-méthyl transférase

CStr: Corticostriatal

Cth: Corticothalamique

DAB: 3-3'-diaminobenzidine

DAT: Transporteur à la dopamine

DBH: Dopamine β hydroxylase

DLT: Dépression à long terme

DOPAC: Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique

DOPAL: 3,4-dihydroxyphénylacétaldéhyde

DOPET: 3,4-dihydroxyphényléthanol

GABA: Acide γ amino butyrique

GFP: *Green Fluorescent Protein*, protéine fluorescente verte

GPe: Globus pallidus externe

GPi: Globus pallidus interne

HL: *Hindlimb area*, aire corticale de représentation des membres postérieurs

HPLC: *High performance liquid chromatography*, Chromatographie liquide haute performance

HVA: *Homovanillic acid*, acide homovanillique

i.p.: Intrapéritonéal

IT: Intratélencéphalique

JLT: *Jaw, lips and tongue area*, aire corticale de représentation des joues, des lèvres et de la langue

L-DOPA: L-3,4-dihydroxyphénylalanine

M1: Cortex moteur primaire

MAO: monoamine oxydase

mGluR: récepteur métabotrope au glutamate

MPTP: 1-méthyl-4-phényl 1,2,3,6-tétrahydropyridine

NAT: Neurone à activité tonique

NEM: Neurones épineux de taille moyenne

NMDA: Acide N-méthyl D-aspartique

NOS: *Nitric Oxide Synthase*, oxyde nitrique synthase

NPY: Neuropeptide Y

NST: Noyau sous-thalamique

PBS: *Phosphate Buffer Saline*, Tampon phosphate

PFA: Paraformaldéhyde

PKA: Protéine kinase A

PKC: Protéine kinase C

PLC: Phospholipase C

PLT: Potentialisation à long terme

PT: *Pyramidal tract*, du tractus pyramidal

RFL: *Rostral forelimb area*, aire corticale rostrale de représentation des membres antérieurs

SFA: neurone à faible seuil d'activation

TH: Tyrosine hydroxylase

V-FEF: Aire corticale de représentation des yeux et des paupières

VMAT-2: *Vesicular monoamine transporter 2*, transporteur vésiculaire des monoamines 2

Index des figures

| | |
|---|-----|
| <u>Figure 1</u> : Structure du système nerveux impliquées dans la motricité | 3 |
| <u>Figure 2</u> : Connectivité des couches corticales de M1 | 6 |
| <u>Figure 3</u> : Représentation topographiques des mouvements dans M1 | 9 |
| <u>Figure 4</u> : Contrôle des neurones pyramidaux par les interneurons inhibiteurs | 15 |
| <u>Figure 5</u> : Représentation schématique des microcircuits corticaux excitateurs et inhibiteurs de M1 | 25 |
| <u>Figure 6</u> : Localisation des ganglions de la base chez le rongeur | 27 |
| <u>Figure 7</u> : Connectivité des structures des ganglions de la base | 29 |
| <u>Figure 8</u> : Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques d'un NEM | 37 |
| <u>Figure 9</u> : Contrôle des NEM par les interneurons inhibiteurs | 49 |
| <u>Figure 10</u> : Noyaux dopaminergiques cérébraux. | 56 |
| <u>Figure 11</u> : Cascades de signalisation déclenchées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D1 | 68 |
| <u>Figure 12</u> : Cascades de signalisation déclenchées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D2 | 72 |
| <u>Figure 13</u> : Modulation dopaminergique de la réponse des NEM à l'excitation glutamatergique | 85 |
| <u>Figure 14</u> : Représentation schématique de la quantification stéréologique par des sphères virtuelles | 118 |
| <u>Figure 15</u> : Distribution des fibres dopaminergiques dans M1 | 134 |
| <u>Figure 16</u> : Caractéristiques électrophysiologiques des neurones de M1 | 136 |
| <u>Figure 17</u> : Schéma explicatif de la technique de stimulation antidromique | 138 |
| <u>Figure 18</u> : Caractéristiques électrophysiologiques des neurones pyramidaux identifiés électrophysiologiquement | 140 |
| <u>Figure 19</u> : Modulation de l'activité neuronale de M1 par les récepteurs D2 | 142 |
| <u>Figure 20</u> : Injection intracorticale de quinpirole ou d'ACSF | 145 |
| <u>Figure 21</u> : Caractérisation anatomique et électrophysiologique des NEM | 148 |
| <u>Figure 22</u> : Distinction des familles neuronales du striatum | 150 |
| <u>Figure 23</u> : Modification de l'activité de décharge des NEM | 152 |
| <u>Figure 24</u> : Modification de l'excitabilité des NEM. | 155 |
| <u>Figure 25</u> : Caractéristiques de réponse des NEM au courant 50%. | 158 |

Avant-propos

La planification, l'initiation et l'exécution du mouvement dépendent, entre autres, de l'étroite communication qui se met en place entre le cortex moteur et les ganglions de la base. Les neurones épineux de taille moyenne de la structure d'entrée des ganglions de la base, le striatum, sont contactés par les neurones pyramidaux du cortex moteur primaire qui contactent également les neurones de la moelle épinière. Par ailleurs, le cortex moteur primaire est sous le contrôle du striatum par l'intermédiaire des autres structures des ganglions de la base. L'activité neuronale du striatum est étroitement régulée par une innervation dopaminergique dense provenant de la substance noire compacte. La dopamine a donc un rôle crucial dans le contrôle de l'acte moteur.

Durant ma thèse, je me suis intéressé au contrôle dopaminergique de l'activité du cortex moteur primaire en condition physiologique et au contrôle dopaminergique de l'activité du striatum dans un modèle de la maladie de Parkinson. La première partie de ce manuscrit présente donc l'anatomie et la structure des réseaux neuronaux au sein du cortex moteur primaire et du striatum ainsi que les connections anatomiques et fonctionnelles entre les différents acteurs de ces réseaux neuronaux. Puis, après un rappel sur le métabolisme de la dopamine, une révision de l'état des connaissances concernant le rôle de la dopamine dans le contrôle de l'activité du cortex moteur primaire et du striatum est présentée.

Mes travaux de thèse concernant le contrôle dopaminergique du cortex moteur primaire en condition physiologique ont conduit à la publication d'un article dans un journal à comité de lecture (Frontiers in Neural Circuits). Par ailleurs, ces travaux ont également été présentés lors du 9ème forum européen des sociétés des

Neurosciences (FENS) qui s'est déroulé du 4 au 9 juillet 2014 sous forme de présentation affichée. Les travaux préliminaires conduits lors de l'étude du contrôle dopaminergique de l'activité du striatum en condition physiopathologique ont également fait l'objet d'une présentation affichée lors du 9ème forum de la FENS.

1. Introduction

La motricité est assurée par un ensemble de structures cérébrales connectées en réseaux corticaux et sous-corticaux qui permettent la planification des différents paramètres du mouvement. La dopamine joue un rôle majeur dans la modulation de la motricité de par son innervation dense dans de nombreuses structures des réseaux moteurs. Néanmoins, il subsiste encore de nombreuses questions quant à l'action de la dopamine sur l'activité des neurones impliqués dans la motricité. Lors de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'action de la dopamine sur les neurones de projection dans deux structures majeures des réseaux moteurs corticaux et sous-corticaux: le cortex moteur primaire qui contacte la moelle épinière et le striatum, structure d'entrée des ganglions de la base dont le rôle est de filtrer les informations corticales.

1.1. Organisation anatomo-fonctionnelle du cortex moteur primaire et du striatum au sein du réseau moteur

Le système moteur est constitué de divers éléments cérébraux, spinaux ainsi que des muscles effecteurs (Fig. 1 A). Le cortex moteur est divisé en trois structures aux rôles différents. Le cortex prémoteur code des informations relatives à l'intention de l'action, alors que le cortex moteur primaire (M1) et le cortex moteur secondaire permettent la génération de plans moteurs. L'ensemble de ces informations est transmise aux structures des ganglions de la base (Fig. 1 A et B) dont la structure d'entrée est le striatum. Le rôle des ganglions de la base est de sélectionner et d'activer les plans moteurs efficaces pour réaliser l'acte moteur ainsi que d'inhiber les plans moteurs aberrants ou inefficaces. L'activité des ganglions de la base est

contrôlée par la dopamine provenant de la substance noire compacte. Ces informations remontent à M1 par l'intermédiaire du thalamus. Les neurones de M1 transmettent ensuite le plan moteur sélectionné à la moelle épinière (Fig. 1 A et B) qui permet enfin la contraction des muscles effecteurs. Durant la réalisation du mouvement, le contrôle postural, l'équilibre et des réajustements des plans moteurs sont réalisés par des voies motrices impliquant le cervelet (Fig. 1 A).

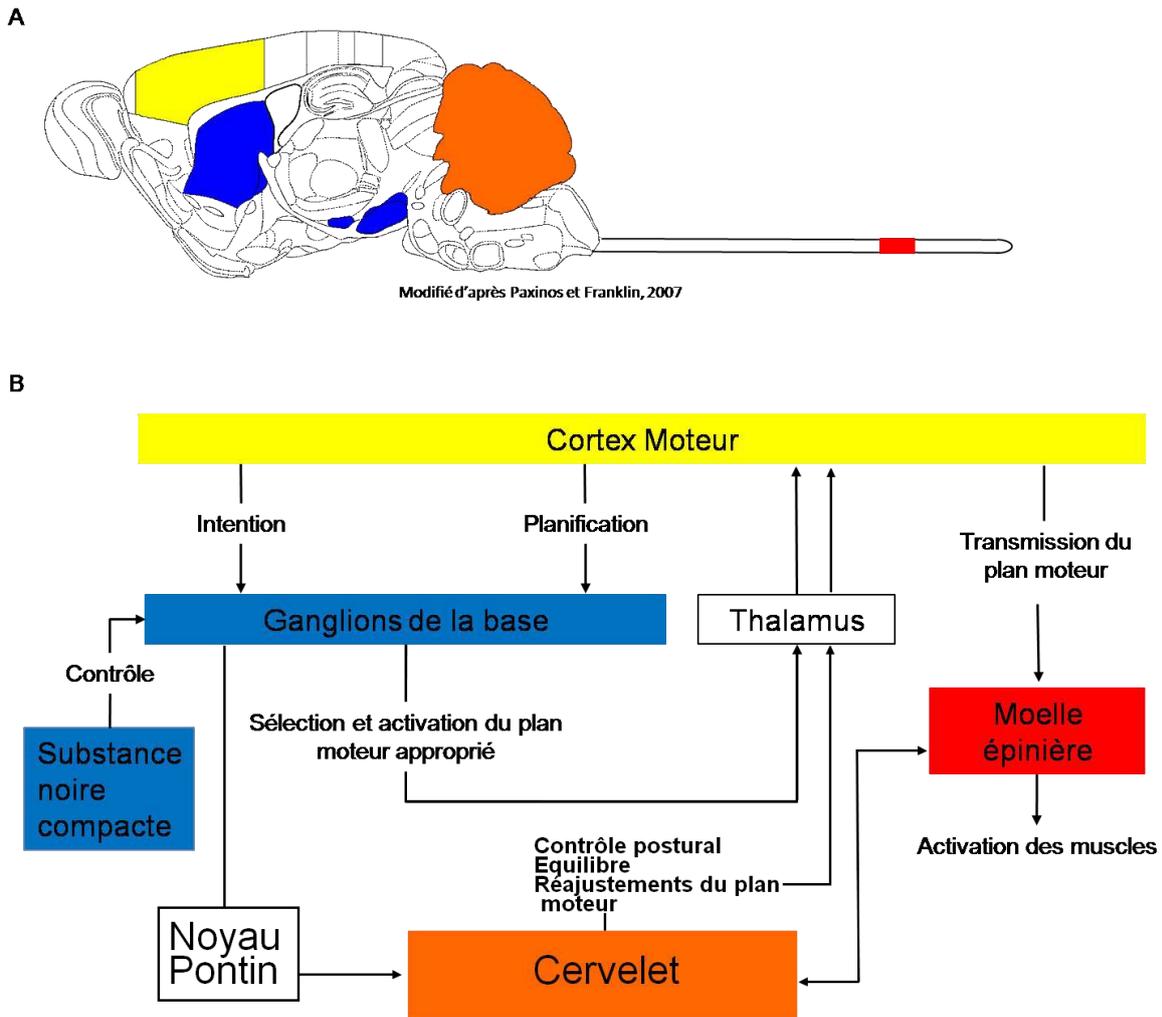


Figure 1: Structures du système nerveux impliquées dans la motricité (A) et leurs rôles dans la génération d'un acte moteur (B). Le cortex moteur est indiqué en jaune, les ganglions de la base en bleu, la section locomotrice de la moelle épinière en rouge, le cervelet en orange et la substance noire compacte en vert.

1.1.1. Le cortex moteur primaire

1.1.1.1. Organisation anatomique

- *Organisation laminaire du cortex cérébral*

Le cortex cérébral possède une organisation laminaire en 6 couches numérotées de I à VI à partir de la surface du cerveau. Ces six couches neuronales sont distinctes et d'épaisseur différente (Lev and White, 1997). Chacune de ces couches est composée de neurones qui émettent des afférences vers des cibles spécifiques et reçoivent des efférences spécifiques (Fig. 2). La couche I est dite à densité cellulaire faible. Elle contient surtout les dendrites des neurones corticaux des couches inférieures et reçoit des afférences des neurones thalamiques qui relaient les informations provenant des ganglions de la base (Kuramoto et al., 2009). Les prolongements contenus dans cette structure sont orientés horizontalement.

La couche II, aussi appelée couche granulaire externe est souvent associée dans la littérature à la couche III, couche pyramidale externe, à cause de la démarcation ténue entre ces deux couches. Les auteurs se réfèrent alors à la couche II/III. Les neurones contenus dans cette couche émettent des dendrites dans la couche I (Petreanu et al., 2009) grâce auxquelles ils reçoivent des excitations thalamiques (Hooks et al., 2013), et projettent des axones vers les neurones cortico-spinaux de la couche V (Cho et al., 2004; Schubert et al., 2006) et vers le cortex controlatéral (Molyneaux et al., 2007) ainsi que dans le striatum ipsilatéral et controlatéral (Reiner et al., 2003).

Avec 109 μm en moyenne chez la souris, la couche IV ou couche granulaire interne est la couche la moins épaisse de M1. Une partie des neurones étendent leurs dendrites uniquement dans la couche IV alors qu'une autre partie émet une

dendrite apicale dont l'arborisation se situe dans la partie supérieure et moyenne de la couche II/III (Lubke et al., 2000). Les neurones de la couche IV forment des connections entre eux (Cowan and Stricker, 2004) mais projettent également les collatérales de leurs axones dans toutes les couches corticales, notamment la couche II/III (Lubke et al., 2000). La couche IV reçoit également des afférences du thalamus qui véhiculent les informations du cervelet (Kuramoto et al., 2009).

La couche V ou couche pyramidale interne est la couche la plus épaisse de M1. Elle est classiquement subdivisée en deux parties: une partie supérieure couche Va et une partie inférieure appelée couche Vb. Les neurones de la couche V étendent leurs dendrites dans la couche I et quelques embranchements dans la couche Va et la partie inférieure de la couche IV (Schubert et al., 2006;Petreanu et al., 2009). En plus d'une arborisation axonale locale (Schubert et al., 2006), les neurones de la couche V contactent le striatum ou le tractus pyramidal (Reiner et al., 2003) ainsi que la couche VI (Potjans and Diesmann, 2012).

La couche VI est également appelée couche polymorphe. Cette couche reçoit des afférences thalamiques et d'autres régions corticales (Zhang and Deschenes, 1997, 1998). Elle projette vers le thalamus (Zhang and Deschenes, 1997, 1998) ainsi que dans d'autres régions corticales. Zhang et Deschenes (1997; 1998) montrent que les neurones cortico-thalamiques émettent des dendrites dans la couche VI ainsi que dans la couche IV. Les ramifications dendritiques des neurones cortico-corticaux sont de différents types. Elles s'étendent soit localement dans la couche VI soit peuvent atteindre les couches III, IV et VI (Zhang and Deschenes, 1997).

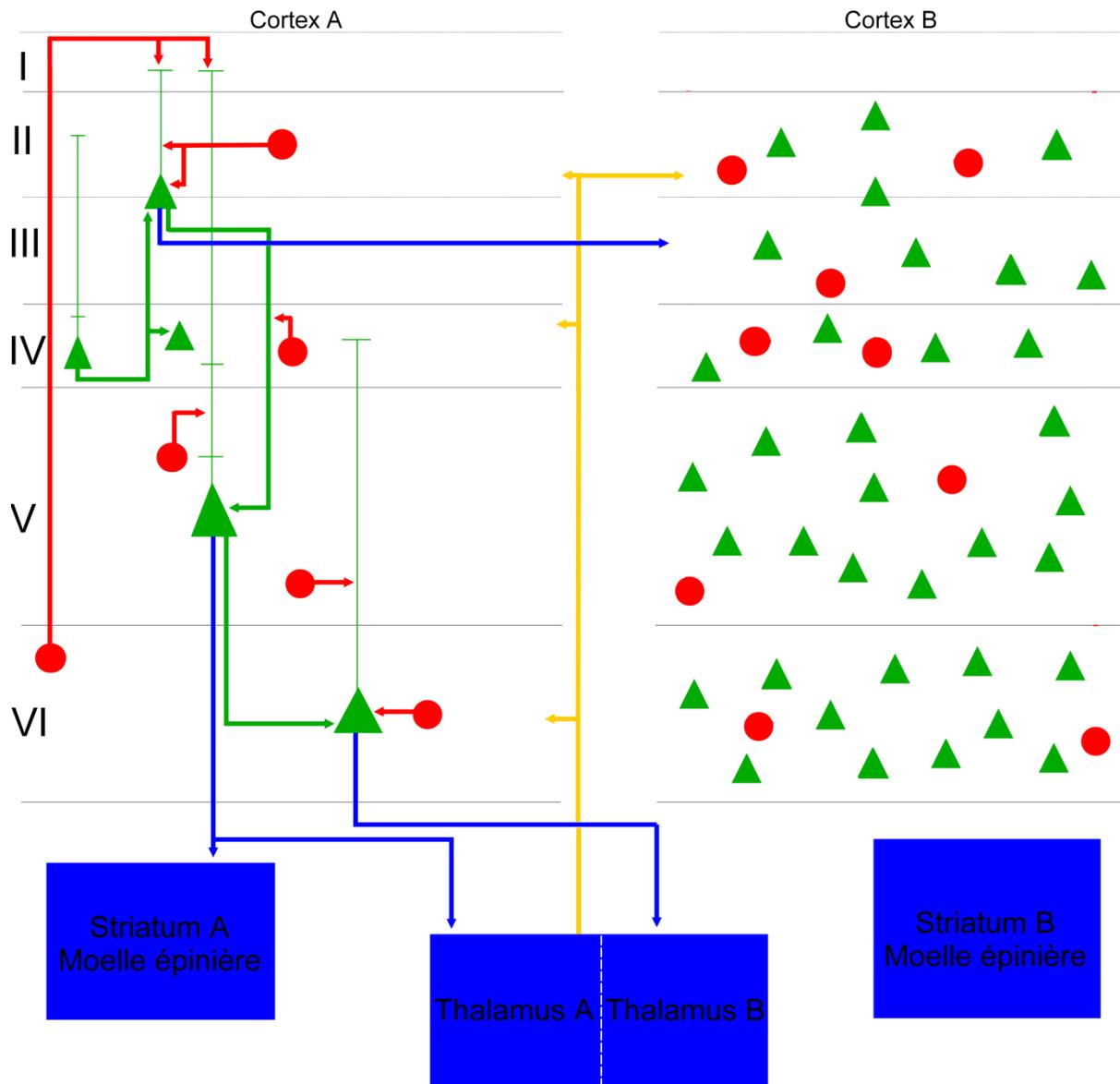


Figure 2: Connectivité des couches corticales de M1. Le numéro des couches est indiqué en chiffres romains. Les connexions intralaminaires et interlaminaires ainsi que les connexions avec les autres structures corticales et sous-corticales sont représentées pour le cortex A. Les neurones excitateurs sont représentés par un triangle vert et les neurones inhibiteurs par un rond rouge. Les flèches vertes et les flèches rouges représentent respectivement les contrôles excitateurs et inhibiteurs entre les neurones de M1. Les flèches bleues représentent les efférences vers les autres structures et les flèches jaunes représentent les afférences. Le cortex B représente les proportions de neurones excitateurs et inhibiteurs au sein de M1.

Représentation des mouvements et des membres dans le cortex moteur primaire

Une des particularités du cortex moteur est qu'il contient une représentation organisée des mouvements du corps. Selon Rothwell (2009), les premières descriptions de cette organisation topographique ont été données dans les années 1870 par Fritsch et Hitzig ainsi que par David Fourier. Ces auteurs ont découvert qu'ils pouvaient induire des mouvements chez le chien par des stimulations électriques du cortex moteur, et ce de manière précise. Plus tard, dans les années 1980, Neafsey et al. (1986) ont défini une cartographie détaillée de M1 chez le rat ainsi que les seuils d'activation des mouvements grâce à des micro-stimulations corticales. Ils définissent alors une nomenclature reprise par d'autres études et décrivent cinq zones représentant des parties différentes du corps de l'animal: RFL (*rostral forelimb area*), CFL (*caudal forelimb area*), HL (*Hindlimb area*), V-FEF (*vibrissae and eyelid area*), JLT (*Jaw, lips and tongue*) (Fig. 3 A). La RFL et la CFL sont une représentation des membres antérieurs alors que la zone HL représente les membres postérieurs. La RFL est une zone corticale rostrale qui contrôle les mouvements des parties distales des membres antérieurs et la CFL est une partie plus caudale qui contrôle les mouvements proximaux. De plus, la CFL est activée pour des seuils de stimulation légèrement plus élevés que pour la RFL. Enfin, V-FEF contrôle les mouvements des vibrisses, des yeux et des paupières et JLT la mâchoire, les lèvres et la langue. Une représentation topographique des membres a également été démontré chez la souris (Tennant et al., 2011), chez le primate (Nudo et al., 1996) ainsi que chez l'humain (Feindel, 1982). De manière intéressante, il a été également montré que les projections des diverses aires de représentation présentent des projections topographiques dans le striatum (Ebrahimi et al., 1992). En effet, les zones qui contrôlent les mouvements des membres HL, CFL et RFL

projetent dans le quart dorso-latéral du striatum alors que V-FEF projette vers le quart dorso-médian et JLT projette vers le quart ventro-latéral (Fig. 3B). De plus, il a récemment été montré que les projections spinales sont également topographiquement organisées (Oswald et al. 2013). Il s'avère que les représentations caudales de M1 projettent vers les régions lombaires de la moelle épinière alors que la zone représentant les membres antérieurs projettent vers les régions cervicales de la moelle épinière.

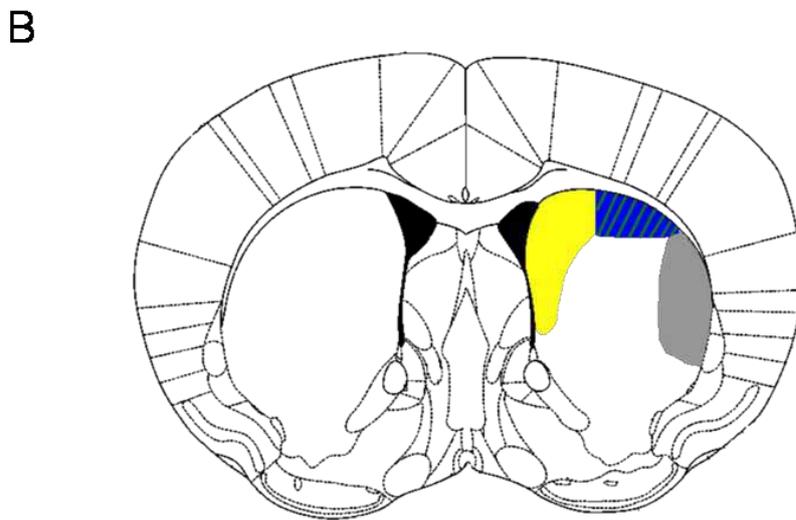
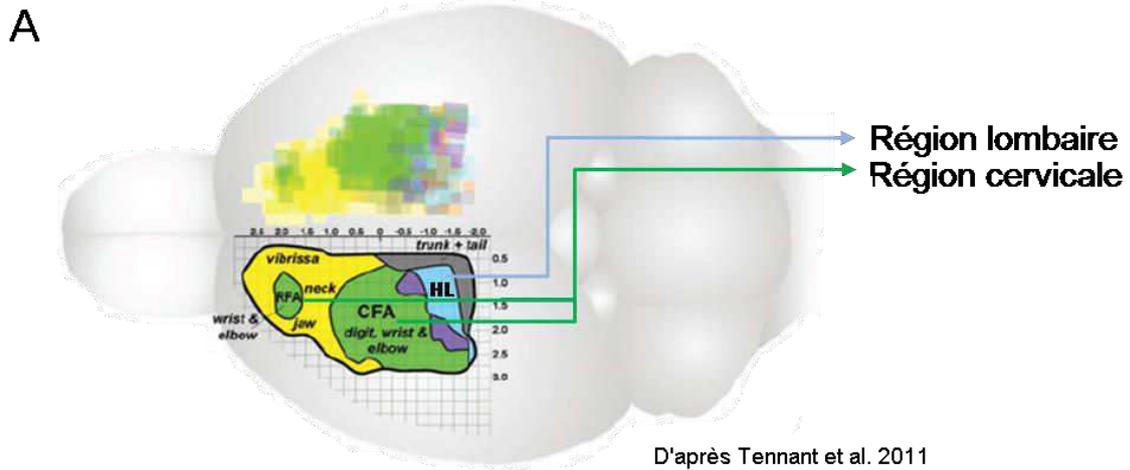


Figure 3: Représentation topographique des mouvements dans M1 d'après des expériences de microstimulation corticale (A) et topographie des projections de M1 dans la moelle épinière (A) et dans le striatum (B). Les différents membres sont regroupés en code couleur. Dans l'hémisphère gauche, les zones vertes représentent les zones de représentation des membres antérieurs, la zone bleu clair représente les membres postérieurs, la zone jaune représente les mouvements de la tête et la zone grise représente le tronc et la queue. Les codes couleurs sont conservés pour (B). CFA: Aire caudale des membres antérieurs, RFA: Aire rostrale des membres antérieurs, HL: aire des membres postérieurs

Plusieurs études ont démontré que l'organisation de M1 n'est pas figée au cours de la vie des mammifères mais subit des modifications plastiques selon l'expérience. En effet, des singes entraînés à une tâche qui requiert une forte implication des doigts voient la représentation corticale des doigts s'étendre au détriment de la représentation corticale du poignet. A l'inverse, lorsque les singes sont entraînés pour une tâche qui demande l'utilisation de l'avant-bras, la représentation corticale de l'avant-bras se développe au détriment de la représentation corticale des doigts (Nudo et al., 1996). Les auteurs de cette étude indiquent également que la mise en place de cette plasticité est progressive et temporaire. La réorganisation plastique temporaire de M1 après l'apprentissage d'une nouvelle tâche existe aussi chez le rongeur (Kleim et al., 1998; Molina-Luna et al., 2008) et chez l'Homme (Pascual-Leone et al., 1995).

La réorganisation topographique de M1 induite par l'expérience est liée à des changements cellulaires et moléculaires au sein même des circuits corticaux. Ainsi, des études neuro-anatomiques dans la couche II/III de rats entraînés à une tâche acrobatique ont montré une augmentation du nombre de synapses ainsi qu'une augmentation de la synthèse de la protéine Fos dans les neurones durant la phase d'apprentissage (Kleim et al., 1996). L'augmentation de la synthèse de Fos indique une activation neuronale (Pour revue: Kovacs, 2008), suggérant que les modifications des cartes corticales passent par l'activation répétée des neurones lors des entraînements. De plus, des études électrophysiologiques *in vitro* révèlent que l'entraînement cause un renforcement des connections synaptiques horizontales entre les neurones de la couche II/III de M1 (Riout-Pedotti et al., 1998), confirmant les résultats obtenus par Kleim et al. (1996) quant à la synaptogénèse. Une synaptogénèse accrue après un entraînement a également été démontré dans la

couche V de M1 (Kleim et al., 2002). Cette augmentation du nombre de synapse pourrait être causée par une augmentation de la transcription de gènes précoces, comme le suggèrent l'augmentation rapide de la transcription de l'ARN messager de la protéine Arc et de la synthèse de la protéine Fos dans M1 après l'apprentissage de nouvelles tâches motrices (Hosp et al., 2013). Cette protéine codée à partir d'un gène précoce permet la transcription de protéines qui influencent le cytosquelette ou le trafic des récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate (AMPA) au glutamate. L'ensemble de ces résultats démontrent donc que la modulation de l'étendue de la représentation corticale des membres par l'expérience est induite par des changements moléculaires et synaptiques entre les neurones de M1.

1.1.1.2. Organisation cellulaire

Les neurones corticaux peuvent être classés en deux familles sur la base du neurotransmetteur qu'ils utilisent. La majorité des neurones corticaux sont des neurones excitateurs qui utilisent le glutamate comme neurotransmetteur. Ils constituent 80% des neurones corticaux et sont soit des neurones de projection soit des neurones des circuits locaux. Les 20% de neurones restant sont des interneurones inhibiteurs qui utilisent l'acide γ amino-butyrique (GABA) comme neurotransmetteur. Ils constituent des réseaux locaux qui inhibent les neurones de projection. Ces neurones présentent des caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques permettant de les identifier et sont interconnectés en réseaux complexes qui permettent une transmission optimale des informations vers les structures cibles, notamment le striatum et la moelle épinière.

- *Les interneurones*

Les neurones GABAergiques corticaux présentent une grande diversité morphologique, chimique (Pour revues: Contreras, 2004;Markram et al., 2004) et électrophysiologique (Connors and Gutnick, 1990;Kawaguchi and Kubota, 1997;Contreras, 2004). D'un point de vue électrophysiologique, les interneurones GABAergiques dans le cortex sont subdivisés en trois classes. Tout d'abord, les neurones à décharge rapide possèdent une résistance plus faible que les autres groupes et sont capables d'émettre des épisodes longs et répétitifs de courts potentiels d'action. Ensuite, les neurones à décharge en bouffées qui émettent soit des bouffées de potentiels d'action, soit des potentiels d'action isolés lors de sursaut de dépolarisation, constituent une seconde classe. Enfin, les interneurones à décharge retardée montrent une lente rampe de dépolarisation proche du seuil d'activation et constituent une troisième classe. Ils innervent les neurones glutamatergiques du cortex en formant des circuits locaux inhibiteurs en ciblant sélectivement le soma, les dendrites ou l'axone du neurone (Fig. 4 A).

Grâce à des enregistrements intracellulaires *in vitro*, Connors et Gutnick (1990) ont pu définir une première classe d'interneurones à décharge rapide (Fig. 4 A et B) caractérisés par un potentiel d'action très court, généralement inférieur à 0,5 ms, causé par une repolarisation très rapide. De plus, chaque potentiel d'action est interrompu par une courte et profonde post-hyperpolarisation membranaire. Mais, la caractéristique principale de ces neurones est leur capacité à soutenir une activité régulière sans adaptation à une fréquence pouvant dépasser 500 Hz pendant plusieurs centaines de millisecondes lors d'une forte stimulation. Ces interneurones à décharge rapide se retrouvent dans les couches II à VI et incluent au moins deux classes morphologiques d'interneurones: les neurones en panier dont les axones

s'étendent parallèlement dans leur couche d'origine et forment des contacts synaptiques principalement avec le soma et les dendrites proximales des neurones glutamatergiques, et les neurones chandeliers qui possèdent une arborisation dendritique multipolaire et des boutons terminaux organisés verticalement qui forment des contacts axo-axoniques avec les neurones glutamatergiques (Pour revue: Contreras, 2004).

In vitro, Kawaguchi et Kubota (1997) définissent également une famille d'interneurones à décharge en bouffées (Fig. 4 A et B) qui émet des bouffées de deux ou trois potentiels d'action lors de sauts de dépolarisation à partir d'un potentiel de membrane hyperpolarisé. Ces interneurones ont une résistance plus importante que les interneurones à décharge rapide. Anatomiquement, ils sont retrouvés dans les couches II à VI et correspondent à trois classes d'interneurones: les cellules de Martinotti des couches V et VI dont l'axone émet des collatérales verticales jusque dans les couches supérieures pour innover l'arborisation dendritique des neurones pyramidaux; les cellules en double bouquet également dans les couches V et VI, caractérisées par une arborisation dendritique double orientée verticalement et dont l'axone vertical contacte les dendrites proximales et distales des neurones pyramidaux; enfin, les neurones bipolaires qui possèdent une dendrite principale à chaque pôle de leur soma fusiforme et dont l'axone innervent les dendrites des neurones pyramidaux.

Ces mêmes auteurs définissent également des interneurones à décharge retardée (Fig. 4 A et B) ainsi que des interneurones possédant un patron de décharge régulier. Les neurones à décharge retardée montrent de lentes rampes de dépolarisation se développant à proximité du seuil d'activation et les neurones à

patron de décharge régulier répondent à une stimulation avec un saut de dépolarisation contenant un unique potentiel d'action.

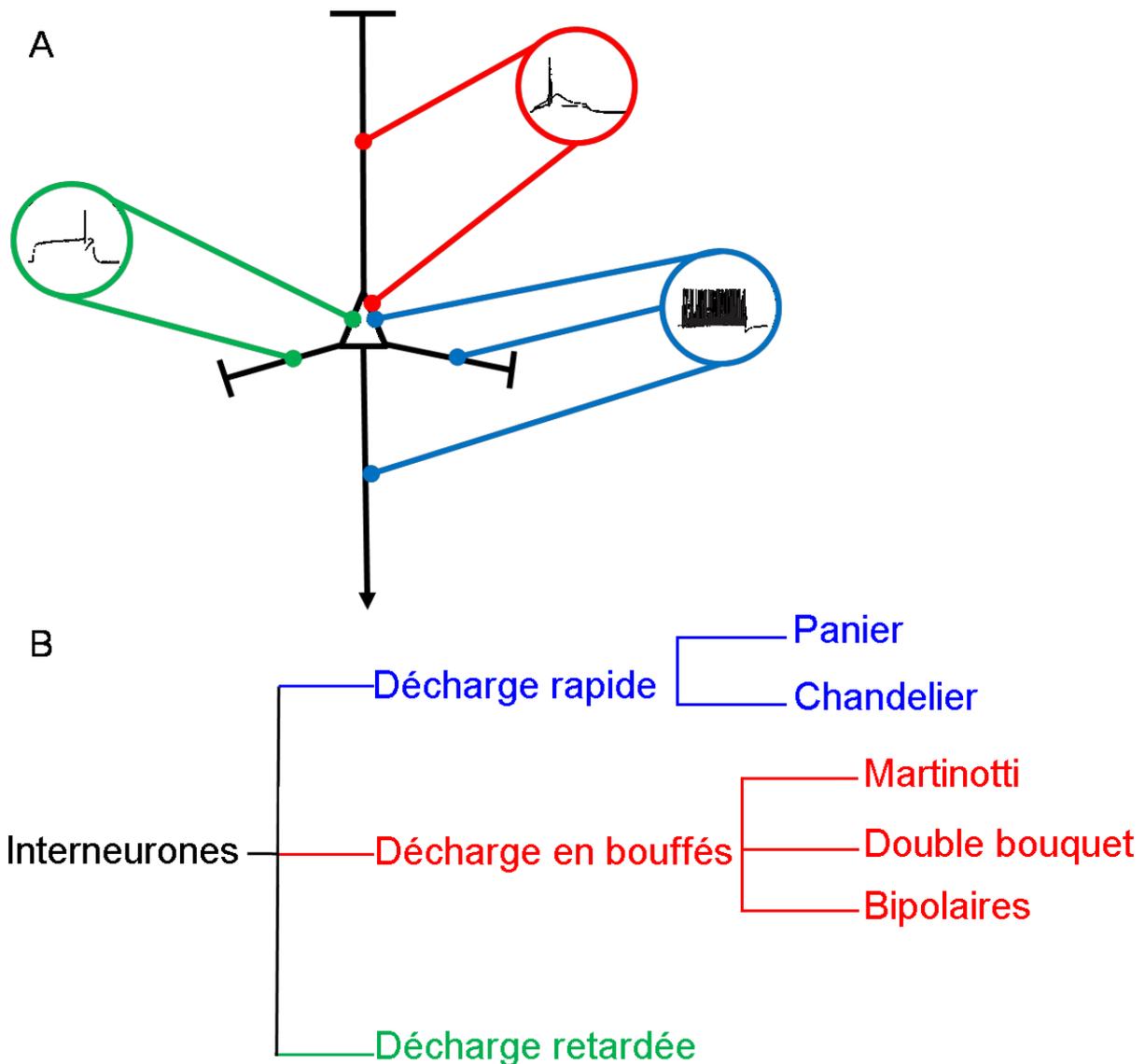


Figure 4: Contrôle des neurones pyramidaux par les interneurones inhibiteurs (A) et classement électrophysiologiques des interneurones corticaux (B). Le triangle représente le corps cellulaire d'un neurone pyramidal, les segments qui se terminent par une barre perpendiculaire représentent les dendrites et la flèche représente l'axone. Les cercles de couleurs représentent les différentes familles d'interneurones inhibiteurs selon leurs caractéristiques électrophysiologiques. Les neurones à décharge rapide sont représentés en bleu, les neurones à décharge en bouffés en rouge et les neurones à décharge retardée en vert. A l'intérieur de chaque cercle se trouve la réponse typique de la cellule à un courant dépolarisant.

- *Les neurones glutamatergiques*

Les neurones glutamatergiques corticaux sont des neurones épineux distribués dans les couches II à VI (DeFelipe and Farinas, 1992). Ils sont composés d'interneurones présentant une arborisation dendritique de forme étoilée dans la couche IV et de neurones pyramidaux dans les couches II à VI. Les neurones étoilés reçoivent des afférences thalamiques (Kuramoto et al., 2009) et émettent des prolongements locaux qui peuvent atteindre les couches II/III. Les neurones pyramidaux constituent la majeure partie des neurones corticaux et sont morphologiquement homogènes (DeFelipe and Farinas, 1992). Leur corps cellulaire de forme pyramidale ou ovoïde donne naissance en son pôle supérieur à une dendrite apicale qui contacte la plupart du temps la couche I. Ils émettent de plus une arborisation dendritique dense et horizontale à la base du soma. L'axone est dirigé vers le corps calleux et émet des collatérales dans l'aire corticale d'origine.

Les neurones pyramidaux peuvent soit projeter leur axone localement, soit projeter leur axone dans des cibles plus lointaines, et sont alors appelés neurones de projection. Ils forment deux grandes classes anatomiques selon leur cible. Les neurones de projection corticofugaux contactent la moelle épinière ou le thalamus alors que les neurones de projection commissuraux contactent d'autres aires corticales ou le striatum (Oswald et al., 2013). Les neurones qui contactent la moelle épinière contactent aussi le striatum (Reiner et al., 2003;Lei et al., 2004) et sont référencés comme des neurones du tractus pyramidal (PT). En outre, les neurones corticostriataux contactent le striatum ipsilatéral et controlatéral (Reiner et al., 2003;Lei et al., 2004) et sont référencés comme des neurones intra-télencéphaliques (IT). Par la suite nous choisirons cette dénomination.

Les neurones glutamatergiques peuvent aussi être subdivisés en deux classes électrophysiologiques: des neurones avec un patron de décharge régulier qui représentent la majorité des neurones pyramidaux enregistrés *in vivo* (Connors and Gutnick, 1990; Dégénétais et al., 2002) et des neurones avec un patron de décharge en bouffées intrinsèques (Connors and Gutnick, 1990; Degenetais et al., 2002). *In vivo*, l'ensemble de ces neurones possède un potentiel membranaire de repos aux alentours de -70 mV (Degenetais et al., 2002).

➤ Les neurones corticocorticaux

Les neurones cortico-corticaux (Ccor) se situent surtout dans les couches II/III mais occupent également la partie supérieure de la couche V (Oswald et al., 2013) et la couche VI (Zhang and Deschenes, 1997). Ils contactent des aires corticales du même hémisphère ou de l'hémisphère controlatéral (Veinante and Deschenes, 2003; Oswald et al., 2013) et possèdent un soma d'environ 16 μm chez la souris (Oswald et al., 2013) donnant naissance à une dendrite apicale qui s'étend jusqu'à la couche I lorsque leur soma est situé dans la couche V (Hattox and Nelson, 2007). Les neurones Ccor de la couche VI présentent une plus grande diversité (Zhang and Deschenes, 1997) mais la grande majorité possède une dendrite apicale qui ne s'étend que jusqu'à la couche IV. Les autres neurones pyramidaux Ccor de la couche VI sont des neurones pyramidaux atypiques inversés qui envoient leurs dendrites vers le corps calleux ou bien des neurones pyramidaux dont la dendrite apicale est parallèle à la surface du cortex (DeFelipe and Farinas, 1992).

Les neurones Ccor présentent des caractéristiques de neurones à décharge régulière (Connors and Gutnick, 1990; Degenetais et al., 2002; Hattox and Nelson, 2007; Oswald et al., 2013). Ils émettent un potentiel d'action long dû à une

repolarisation lente (Connors and Gutnick, 1990). De plus, lorsque l'injection de courant permet d'attendre le seuil d'initiation du potentiel d'action, ces neurones n'émettent qu'un seul potentiel d'action. Au fur et à mesure que l'intensité du courant de stimulation est augmentée, le premier intervalle interspike décroît (Connors and Gutnick, 1990). Les neurones à décharge régulière présentent une forte adaptation de la fréquence de décharge qui a permis à Dégénétais et al. (2002) de diviser ce groupe en deux sous-groupes en fonction de la vitesse d'adaptation du neurone. Ils décrivent alors des neurones à décharge régulière à adaptation lente et des neurones à décharge régulière à adaptation rapide en précisant que près de 90% des neurones à décharge régulière ont une adaptation lente. Dégénétais et al. (2002) observent également parfois une faible décharge spontanée de potentiels d'action isolés aux alentours d'1 Hz des neurones à décharge régulière à adaptation lente, soit une forte adaptation de fréquence et un potentiel d'action long causé par une repolarisation lente (Degenetais et al., 2002;Oswald et al., 2013). Le seuil d'activation de ces neurones est également plus élevé que les autres neurones de projection (Degenetais et al., 2002;Hattox and Nelson, 2007;Oswald et al., 2013).

➤ Les neurones corticothalamiques

Les neurones corticothalamiques (CTh) projettent vers le thalamus ipsilatéral (Oswald et al., 2013). Ils se situent majoritairement dans la couche VI mais se retrouvent aussi dans la couche Va (Zhang and Deschenes, 1997;Hattox and Nelson, 2007;Oswald et al., 2013). Dans la couche V du cortex moteur de souris, ces neurones possèdent un corps cellulaire de 18,5 μm de moyenne qui donnent naissance à une dendrite primaire épaisse dont l'arborisation dendritique très ramifiée se situe dans la couche I ainsi que des dendrites basales qui forment de nombreux embranchements (Oswald et al., 2013). De plus, la dendrite basale

bifurque en 2 à 4 dendrites primaires, chacune produisant une arborisation dendritique dans la couche I (Hattox and Nelson, 2007). La morphologie dendritique des neurones CTh de la couche VI ressemble à celles des neurones CTh de la couche V; néanmoins, le corps cellulaire est petit et la dendrite apicale atteint seulement les couches intermédiaires du cortex (Zhang and Deschenes, 1997).

Les analyses électrophysiologiques de ces neurones indiquent un profil de décharge en bouffées intrinsèques (Dégénétais et al., 2002; Hattox and Nelson, 2007; Oswald et al., 2013). Ces neurones sont caractérisés par leur tendance à émettre des bouffées de potentiels d'action (Connors and Gutnick, 1990) lorsque leur potentiel de membrane atteint le seuil d'activation. Les bouffées sont constituées de 3 à 5 potentiels d'action d'amplitude décroissante et de durée croissante, dans lesquelles la fréquence est d'environ 80 Hz (Dégénétais et al., 2002). Des bouffées de potentiels d'action peuvent également être émises en réponse à de faibles intensités de stimulations en plus de potentiels d'action isolés. Cependant, lors de très fortes intensités de stimulation, les bouffées disparaissent et l'activité des neurones à bouffées intrinsèques ressemble à celle des neurones à décharge rapide. Les neurones à bouffées intrinsèques présentent également un seuil d'activation et une rhéobase identique aux neurones à décharge rapide mais leur résistance est plus faible (Dégénétais et al., 2002). Les auteurs précisent également que tous les neurones à bouffées intrinsèques possèdent une activité spontanée plus élevée que celle des neurones à décharge régulière d'environ 3 Hz. Les potentiels d'action sont alors suivis d'une post-dépolarisation et parfois d'une post-hyperpolarisation rapide. De plus, leur résistance est faible et leur seuil d'activation est plus hyperpolarisé que pour les neurones CCor. Cependant, certaines études ne

détektent qu'une activité spontanée faible (Oswald et al., 2013) voire nulle (Hattox and Nelson, 2007).

➤ Les neurones corticostriataux

Les neurones corticostriataux (CStr) de M1 contactent le striatum dorsolatéral. Ils sont répartis majoritairement dans toute la couche V (Hattox and Nelson, 2007; Oswald et al., 2013) mais on les retrouve également dans les couches III et VI (Reiner et al., 2003). Comme tous les autres neurones de la couche V, ils étendent leur dendrite apicale jusque dans la couche I dans laquelle elle étend une arborisation (Hattox and Nelson, 2007). Les caractéristiques du corps cellulaire des neurones CStr chez la souris ne diffèrent pas des neurones Ccor si ce n'est que leur forme est plus allongée (Oswald et al. 2013). Sur la base de leurs projections, ils peuvent être classés en deux types: les neurones IT et les neurones PT (Reiner et al., 2003). Alors que les neurones PT projettent vers le tractus pyramidal en émettant un axone collatéral dans le striatum ipsilatéral seulement, les neurones IT contactent le striatum ipsi- et controlatéral sans jamais sortir du télencéphale. Ces neurones peuvent être distingués morphologiquement et leur répartition au sein des couches corticales est différente. En effet, Reiner et al. (2003) indiquent que les corps cellulaires des neurones PT, plus gros de 5 à 7 μm que les corps cellulaires des neurones IT chez le rat, se situent à 80% dans la partie inférieure de la couche V et à 20% dans la couche VI alors que les neurones IT ont une répartition plus vaste. Ils se retrouvent en effet à 40% dans la couche Va, à 20% dans la couche Vb, à 35% dans la couche II. Les 15% restant se situent dans la couche VI.

D'après Hattox et Nelson (2007) et Oswald et al. (2013), les neurones IT possèdent des caractéristiques électrophysiologiques semblables à ceux des

neurones à décharge régulière à adaptation rapide avec l'émission de potentiels d'action longs dus à une lente repolarisation, une forte résistance aux excitations ainsi qu'un seuil d'activation haut et une forte adaptation. Quant aux neurones PT, ils semblent plutôt présenter des caractéristiques de neurones à décharge régulière à adaptation lente avec un potentiel d'action court et une forte régularité de décharge. Le seuil d'activation des neurones PT est bas et il ne présente pas d'adaptation de fréquence (Dégénétais et al., 2002; Hattox and Nelson, 2007; Oswald et al., 2013). Des études ont aussi montré des différences électrophysiologiques entre neurones PT et neurones IT *in vivo* (Turner and DeLong, 2000; Ballion et al., 2008). En effet, les neurones PT possèdent une vitesse de conduction jusqu'à 4,6 fois supérieure à celle des neurones IT ainsi qu'une fréquence de décharge plus élevée.

| Famille | Couche occupée | Taille du soma | Projection | Type électrophysiologique |
|---------|----------------|--|---|--|
| Ccor | II/III, V, VI | Moyen | Cortex ipsi- et contralatéral | Décharge régulière |
| Cth | Va, VI | Gros dans la couche V Petit dans la couche VI | Thalamus ipsilatéral | Bouffées intrinsèques |
| IT | II, V, VI | Petit | Striatum ipsi- et contralatéral | Décharge régulière à adaptation rapide |
| PT | Vb, VI | Gros | Striatum ipsilatéral et tractus pyramidal | Décharge régulière à adaptation lente |

Tableau 1: Comparaison des différentes familles de neurones pyramidaux de M1 sur le plan neuro-anatomique et fonctionnel

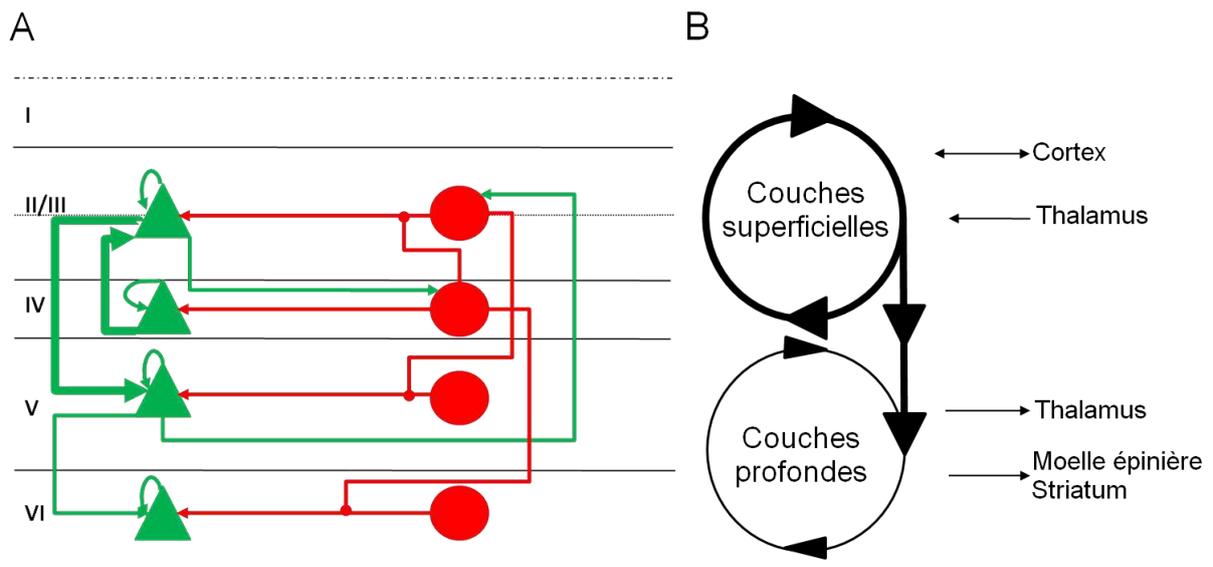
1.1.1.3. Circuits locaux corticaux

Lors de cette thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'activité des neurones de projection de M1. Comme nous l'avons vu précédemment, ces neurones permettent le transfert des informations vers des cibles corticales et sous-corticales. Toutefois, les neurones de projection n'agissent pas seuls mais dans un réseau de neurones inhibiteurs et excitateurs interconnectés de manière hautement spécifique et organisés en groupes fonctionnels (Hira et al., 2013). De récentes études combinant des données biologiques à des modèles informatiques ont pu mettre en évidence un circuit local cortical mettant en jeu les neurones excitateurs et inhibiteurs et ont permis l'estimation de la force des afférences (Weiler et al., 2008; Potjans and Diesmann, 2012) en calculant la part de l'excitation corticale globale que représente chaque voie du circuit. Les cascades d'activation et d'inhibition inter-laminaires et intra-laminaires ont été décrites par Potjans et Diesmann (2012) et se déroulent selon un modèle descendant (Weiler et al., 2008). Dans ce modèle, l'information reçue du thalamus par la couche IV est relayée par les neurones excitateurs jusqu'à la couche III qui contacte directement les neurones de projection de la couche V (Potjans and Diesmann, 2012). Weiler et al. (2008) ont suggéré que cette innervation de la couche V est non-spécifique et que les neurones excitateurs de la couche II/III excitent les neurones IT aussi bien que les neurones PT. Cette hypothèse est toutefois contredite par les travaux d'Anderson et al. (2010) qui montrent que les neurones de la couche II/III pourraient cibler spécifiquement les neurones présents dans la couche Va, majoritairement de type IT. L'information transmise est ensuite relayée hors de M1 et jusqu'aux neurones de projection de la couche VI (Potjans and Diesmann, 2012) qui pourront contacter le thalamus. Les données de Weiler et al. (2008) complètent ce modèle en fournissant des

informations sur la puissance des connections. Ils montrent que deux voies se distinguent particulièrement: la première est la voie excitatrice descendante de la couche II/III vers la couche V qui compte pour environ un tiers de l'excitation globale corticale et la deuxième est la voie excitatrice qui relie la couche IV à la couche II/III. Dans le même temps, un circuit inhibiteur ascendant est engagé afin, selon Weiler et al. (2008), de contrôler l'excitation et éviter une activité épileptiforme de M1. Ainsi, les neurones excitateurs de la couche II/III contactent les neurones GABAergiques de la couche IV et les neurones glutamatergiques de la couche V exciteront les neurones inhibiteurs de la couche II/III (Potjans and Diesmann, 2012) (Fig. 5 A). L'ensemble de ces expériences ont permis de mettre en évidence un fonctionnement en deux boucles locales (Weiler et al., 2008) impliquant les couches superficielles d'une part dans un circuit amplificateur de l'information et les couches profondes d'autre part dans un circuit de transmission des informations (Fig. 5 B).

Il est intéressant de noter que les neurones excitateurs forment également des connections récurrentes au sein d'une même couche (Potjans and Diesmann, 2012). Notamment, il a récemment été démontré qu'il existe une connectivité importante entre les neurones IT d'une part et les neurones PT d'autre part (Kiritani et al., 2012). Cette étude montre alors que ces connections récurrentes s'effectuent au sein d'une même classe de neurones ou entre un neurone IT et un neurone PT. Les connections récurrentes les plus courantes dans ces microcircuits IT-PT sont des connections entre neurones IT ou entre un neurone IT présynaptique et un neurone PT postsynaptique. A l'inverse, les connections entre un neurone PT présynaptique et un neurone IT postsynaptique sont rares (Kiritani et al., 2012). D'un point de vue fonctionnel, les neurones IT pourraient alors être activés avant les neurones PT. Ces résultats complètent l'étude conduite précédemment par Turner et DeLong (2010)

chez le primate dans laquelle ils démontrent qu'une part importante des neurones IT déchargent avant l'initiation du mouvement. Grâce à cela, Kiritani et al. (2012) suggèrent que ces neurones sont impliqués plutôt dans la phase de préparation du mouvement alors que les neurones PT sont impliqués plutôt dans l'exécution du mouvement.



D'après Potjans et Diesmann, 2012 et Weiler et al., 2008

Figure 5: Représentation schématique des microcircuits corticaux excitateurs (vert) et inhibiteurs (rouge) de M1 (A) et représentation qualitative en 2 boucles intracorticales (B). (A) Les triangles verts et les ronds rouges représentent respectivement les neurones pyramidaux excitateurs et les interneurons inhibiteurs de M1. Les flèches vertes et les flèches rouges représentent le sens de l'excitation et de l'inhibition, respectivement. Les voies excitatrices majeures sont représentées en gras. (B) Les excitations intracorticales forment une boucle superficielle (cercle gras) qui possède une grande puissance synaptique et une boucle profonde de plus faible poids (cercle fin). Dans M1, des connections corticocorticales réciproques et thalamocorticales se forment dans les couches superficielles et des connections corticospinales, corticothalamiques et corticostriatales se forment à partir des couches profondes.

1.1.2. Les ganglions de la base

Les ganglions de la base sont un groupe de noyaux sous-corticaux possédant un rôle dans diverses fonctions (motivation, émotion, apprentissage) dont la fonction motrice. La division dorsale des ganglions de la base (Fig. 6 A et B) est constituée du striatum (ou noyau caudé-putamen chez le primate), du globus pallidus (ou globus pallidus externe chez le primate, GPe), du noyau entopédonculaire (ou globus pallidus interne chez le primate, GPi), du noyau sous-thalamique (NST) et de la substance noire. Cette dernière est divisée en deux noyaux, la substance noire compacte (SNc) en position dorsale, qui contient les neurones dopaminergiques permettant de filtrer le transfert de l'information dans les ganglions de la base, et la substance noire réticulée (SNr) en position ventrale. La division ventrale des ganglions de la base (noyau accumbens et aire tegmentale ventrale) est associée aux fonctions limbiques et ne sera donc pas traitée dans cette thèse. Pour plus de clarté, les abréviations GPi et GPe feront référence aux deux segments du globus pallidus quelque soit l'espèce.

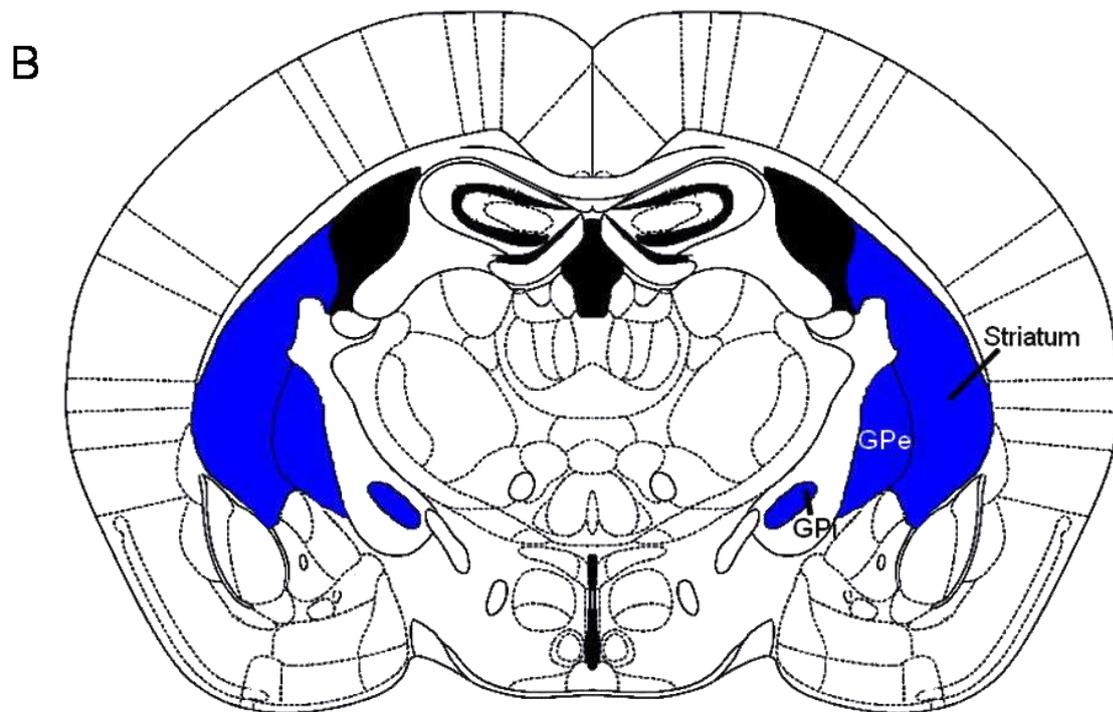
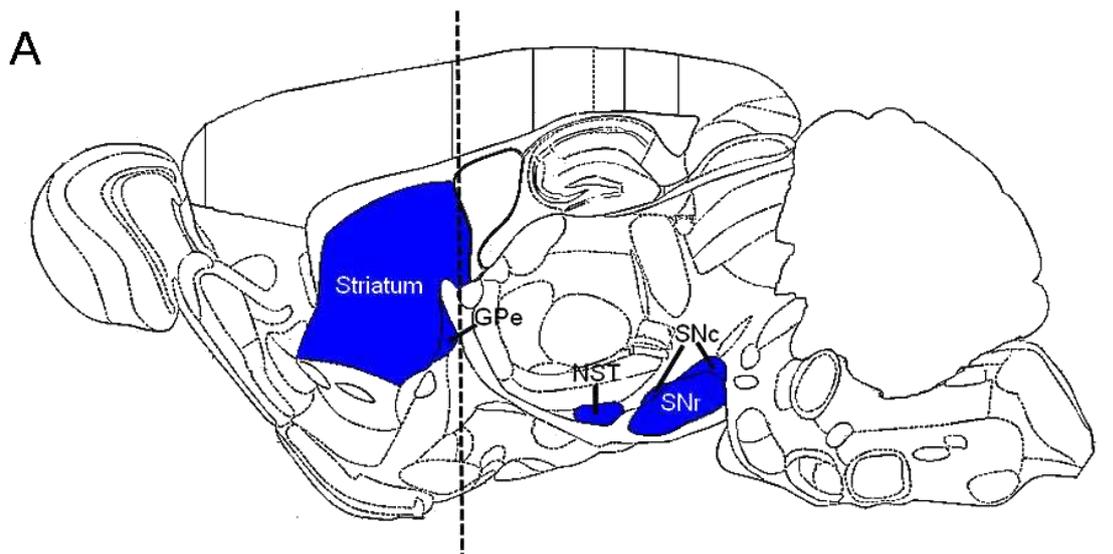


Figure 6: Localisation des ganglions de la base chez le rongeur. Les structures composant les ganglions de la base sont représentées en bleu sur un schéma de coupe sagittale (A) et coronale (B) de souris. Le trait en pointillés vertical sur (A) représente le niveau de la coupe coronale schématisée en (B). GPe: globus pallidus externe, GPi: globus pallidus interne, NST: noyau sous-thalamique, SNr: substance noire réticulée, SNc: Substance noire compacte

Les structures composant les ganglions de la base sont majoritairement composées de neurones GABAergiques. De plus, environ 90% de ces neurones sont des neurones de projection. Ainsi, excepté le NST dont les neurones de projection sont glutamatergiques et la SNc dont les neurones de projection sont dopaminergiques, le striatum, les deux segments pallidaux et la SNr sont composés de neurones de projection GABAergiques.

La majeure partie des afférences des ganglions de la base provient du cortex cérébral et du thalamus. Il est d'ailleurs suggéré que la totalité du cortex cérébral puisse envoyer des projections dans les ganglions de la base avec une organisation bien structurée (Ebrahimi et al., 1992; Kincaid and Wilson, 1996). Le premier modèle du fonctionnement des ganglions de la base a été développé par Alexander (Alexander et al., 1986; Alexander and Crutcher, 1990). Ce modèle, bien qu'ayant évolué depuis, est toujours utilisé de nos jours pour comprendre les interactions entre les différentes structures des ganglions de la base. Dans ce réseau, le striatum est la structure d'entrée. Il reçoit les afférences glutamatergiques du cortex ipsilatéral et controlatéral ainsi que du thalamus (Fig. 7). L'autre source importante des afférences du striatum provient de la SNc, noyau dopaminergique qui exerce un contrôle sur le traitement des informations sortant du striatum. Ces informations sont transmises par deux voies de sortie appelées voie directe et voie indirecte qui contactent respectivement le complexe formé d'une part par la SNr et le GPi, et d'autre part le GPe (Fig. 7). Le GPe contacte ensuite le NST qui innerve le complexe SNr/GPi. Ce complexe projette vers le thalamus qui, lui-même, contacte le cortex moteur (Fig. 7). Les travaux réalisés dans le cadre de ma thèse nous ont amené à nous intéresser plus particulièrement au striatum. Par conséquent, une partie plus approfondie sera accordée à cette structure.

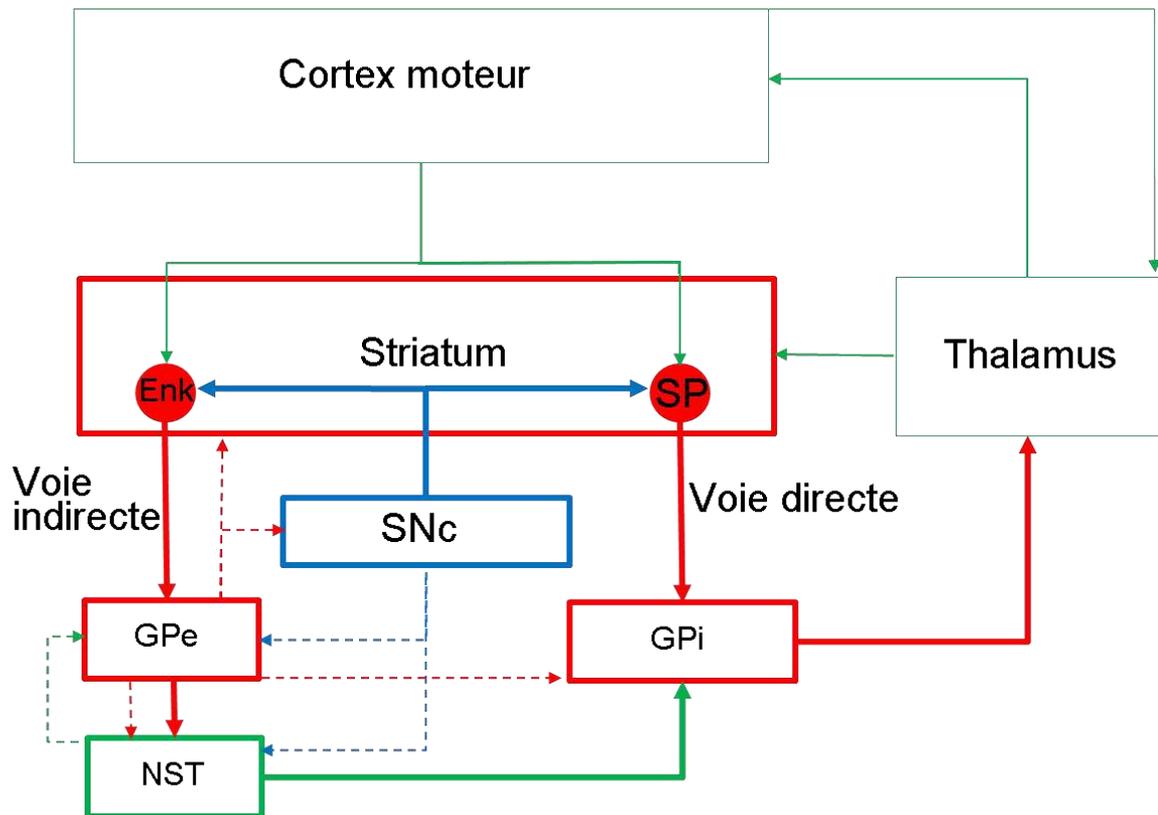


Figure 7: Connectivité des structures des ganglions de la base. Les ganglions de la base sont représentés avec un cadre gras. Les structures représentées avec un cadre fin fournissent des afférences aux ganglions de la base. Les différents neurotransmetteurs mis en jeu sont représentés selon le code couleur suivant: les structures et afférences glutamatergiques en vert, GABAergiques en rouge et dopaminergiques en bleu. Les cercles rouges dans le striatum représentent les NEM de la voie directe qui expriment la substance P (SP) et les NEM de la voie indirecte qui expriment l'enképhaline (Enk). Les flèches pleines en gras représentent les voies classiques des ganglions de la base. Les flèches en pointillés représentent les voies annexes des ganglions de la base. Les flèches pleines fines représentent les afférences corticales et thalamiques des ganglions de la base.

1.1.2.1. Le striatum

Le striatum est constitué d'un seul noyau chez les rongeurs mais il est séparé par la capsule interne en noyau caudé et noyau putamen chez les primates. Il reçoit des afférences glutamatergiques de nombreuses aires corticales dont le cortex moteur dans sa partie dorsolatérale ainsi que du thalamus. Il reçoit, de plus, des afférences GABAergiques en provenance du GPe auquel il renvoie des efférences GABAergiques. Enfin, il contacte les noyaux de sortie des ganglions de la base par des neurones GABAergiques. Le striatum est composé majoritairement de neurones de projection épineux de taille moyenne (NEM) et de plusieurs types d'interneurones qui régulent l'activité des NEM. Les NEM constituent 95% de la population totale du striatum et sont séparés en deux voies de sortie: une voie directe et une voie indirecte. Les interneurones sont de 2 types: ils peuvent être GABAergiques ou acétylcholinergiques. Les interneurones GABAergiques peuvent exprimer différents peptides selon leur phénotype et composent 3 à 4% des neurones du striatum alors que les interneurones cholinergiques constituent seulement 1 à 2% des neurones striataux.

- *Compartimentation du striatum*

Le striatum est organisé en compartiments appelés "patches" (ou striosomes) et matrice. Le compartiment striosomal du striatum dorsal forme une structure labyrinthique et interconnectée entourée de la matrice striatale (Graybiel and Ragsdale, 1978;Gerfen, 1984;pour revue récente sur les compartiments striataux: Crittenden and Graybiel, 2011). Ces 2 compartiments diffèrent par leur patron d'expression protéique et par leurs afférences. En effet, il a pu être montré que les patches du striatum sont riches en substance P et en enképhaline et que la matrice est, quant à elle, riche en acétylcholinestérase et en calbindine (Holt et al., 1997).

Les afférences principales de la matrice proviennent de régions sensorimotrices et associatives alors que les striosomes reçoivent leurs afférences de structures limbiques (Jimenez-Castellanos and Graybiel, 1987). De plus, Kincaid et Wilson (1996) ont montré que les neurones de la matrice reçoivent leurs afférences des couches III à Va du cortex et projettent vers la SNr et le GPi alors que les neurones des striosomes reçoivent leurs afférences de couches plus profondes et contactent les deux segments du globus pallidus et la SNr. La plupart des contacts locaux de ces NEM se font avec d'autres NEM du même compartiment ou bien avec des interneurones situés à la bordure du compartiment (Fujiyama et al., 2011).

Le rôle fonctionnel de la compartimentation du striatum est mal compris. Il est néanmoins suggéré que les striosomes exercent des influences limbiques sur le traitement des informations associatives et sensorimotrices reçues par les neurones de la matrice environnante (Pour revue: Crittenden and Graybiel, 2011).

- *Organisation cellulaire du striatum*

- Les neurones de projection du striatum

Les NEM sont des neurones GABAergiques qui présentent des dendrites épineuses (Fig. 8 A) et un soma d'environ 15 μm de diamètre chez le rat (Kawaguchi, 1993). Leur axone émet des collatérales locales qui s'étendent à proximité du corps cellulaire et qui s'étend hors du striatum (Kawaguchi, 1993). Ils composent les 2 voies de sortie du striatum dans lesquelles ils sont répartis en proportion égale. Ces deux voies tirent leur nom de la projection axonale des NEM qui les composent. Ainsi, la voie directe ou striato-nigrale est composée de NEM contactant la SNr et le GPi, structures de sortie du striatum, alors que la voie indirecte ou striato-pallidale est composée de NEM contactant le GPe. Cette dernière voie est dite indirecte car

les NEM agissent sur les structures de sortie de manière polysynaptique. Les neurones de ces 2 voies expriment des protéines différentes (Le Moine and Bloch, 1995;Lobo et al., 2006). En effet, les neurones constituant la voie directe expriment notamment la substance P, la dynorphine ainsi que le récepteur muscarinique M4 et le récepteur dopaminergique D1 alors que les neurones qui constituent la voie indirecte expriment les enképhalines, le récepteur adénosinergique A2A ainsi que le récepteur dopaminergique D2.

D'un point de vue électrophysiologique, les neurones de la voie directe et les neurones de la voie indirecte partagent un certain nombre de points communs. Les caractéristiques membranaires des NEM sont semblables *in vivo* et *in vitro*: leur potentiel de membrane est très hyperpolarisé aux alentours de -80 à -95 mV (Fig. 8 B) (Wilson and Kawaguchi, 1996;Mahon et al., 2001;Tseng et al., 2001;Venance and Glowinski, 2003;Mahon et al., 2006;Ade et al., 2008;Cepeda et al., 2008) quelque soit l'état de vigilance de l'animal (Mahon et al., 2006) et possèdent une faible résistance (Mahon et al., 2001; Venance and Glowinski, 2003; Mahon et al., 2006; Ade et al., 2008; Cepeda et al., 2008) ainsi qu'une courte constante de temps (Mahon et al., 2006; Cepeda et al., 2008). De plus, les NEM répondent à un courant dépolarisant par une rampe de dépolarisation lente suivie d'un potentiel d'action longuement retardé (Fig. 8 C) (Nisenbaum and Wilson, 1995;Mahon et al., 2006). Parmi les différentes familles neuronales du striatum, les NEM émettent des potentiels d'action d'une durée intermédiaire plus longue que la durée des potentiels d'actions des interneurones GABAergiques et plus courte que la durée des potentiels d'action émis par les interneurones cholinergiques (Fig. 8 D) (Wilson et al., 1990;Kawaguchi, 1993;Mallet et al., 2005;Sharott et al., 2009). *In vivo*, les NEM répondent préférentiellement à des stimulations corticales à basse fréquence, autour

de 20 Hz (Schulz et al., 2011). La latence de réponse des NEM est déterminée par des conductances potassiques. Au repos, les canaux potassiques à rectification entrante (KIR) contribuent à la maintenance du potentiel de membrane hyperpolarisé en réponse à de faibles modifications du potentiel de membrane (Nisenbaum and Wilson, 1995). Lors de la dépolarisation membranaire, les KIR sont inactivés et des courants potassiques de type A à inactivation rapide (Kv4.2) et lente (Kv1.2) ainsi que des canaux potassiques à conductance persistante (Kv7) sont activés. Ensemble, ces canaux provoquent une dépolarisation lente et un délai non seulement dans l'émission du premier potentiel d'action (Nisenbaum and Wilson, 1995; Shen et al., 2004; Shen et al., 2005) mais également dans l'émission des suivants en créant une post-hyperpolarisation après chaque potentiel d'action (Shen et al., 2004). Il a été suggéré, de plus, que ces courants de type A limitent la dépolarisation membranaire lors d'une excitation (Nisenbaum and Wilson, 1995; Wilson and Kawaguchi, 1996; Shen et al., 2005).

Chez l'animal anesthésié, les NEM sont caractérisés par un potentiel de membrane fluctuant d'un état quiescent très hyperpolarisé nommé état bas à un état proche du seuil d'activation nommé état haut au cours duquel le neurone pourra émettre des potentiels d'action (Wilson and Kawaguchi, 1996; Tseng et al., 2001; Mahon et al., 2006). L'état haut est une augmentation transitoire et rapide (Wilson and Kawaguchi, 1996) du potentiel de membrane qui peut durer de quelques centaines de millisecondes à plusieurs secondes (Mahon et al., 2006) causé par une excitation importante et synchrone (Wilson and Kawaguchi, 1996; Blackwell et al., 2003) provenant à la fois des afférences corticales et thalamiques mais également des interneurons locaux GABAergiques (Wilson and Kawaguchi, 1996, Blackwell et al., 2003) qui permet de dépolariser suffisamment la membrane pour que se

désactive le courant I_{KIR} . Sans cette convergence de signaux, la fluctuation membranaire est impossible et les neurones restent à un état bas (Wilson and Kawaguchi, 1996). De plus, l'état haut se maintient le temps que se maintient l'excitation (Wilson and Kawaguchi, 1996). Une fois que l'excitation synaptique est trop faible, les différentes conductances potassiques permettent l'hyperpolarisation membranaire (Wilson and Kawaguchi, 1996). Ces résultats suggèrent que la fluctuation membranaire observée pour les NEM est le reflet des ondes d'activation des neurones corticaux. Ceci est confirmé par plusieurs études qui ont comparé l'activité des NEM avec l'activité unitaire des neurones corticaux (Mahon et al., 2001) ou bien l'activité d'ensembles neuronaux du cortex (Tseng et al., 2001; Mallet et al., 2005; Mahon et al., 2006; Mallet et al., 2006). Néanmoins, Mahon et al. (2006) démontrent que le caractère oscillant du potentiel membranaire est induit par l'anesthésie et ne se retrouve pas chez l'animal éveillé à cause de la désynchronisation des événements dépolarisants corticaux. En effet, à l'état éveillé les NEM montrent de petites fluctuations du potentiel de membrane irrégulières interrompues par des événements dépolarisants pouvant conduire à une décharge aléatoire.

Récemment, plusieurs groupes ont pu démontrer des différences dans les caractéristiques des neurones de la voie directe et des neurones de la voie indirecte. Tout d'abord, des enregistrements de l'activité unitaire de neurones chez le rat anesthésié ont permis de démontrer que les neurones striato-nigraux, identifiés par une stimulation antidromique de la SNr, présentaient une fréquence de décharge 3 fois moins importante (Fig. 8 E) que les NEM striato-pallidiaux (Mallet et al., 2005). De plus, le seuil de réponse à la stimulation corticale est plus élevé pour les neurones striato-nigraux (Fig. 8 F). Gertler et al. (2008) ont montré *in vitro* que le

potentiel membranaire de repos des neurones exprimant le récepteur D1 est plus hyperpolarisé que celui des neurones exprimant le récepteur D2 et que ces derniers sont plus excitables que les neurones de la voie directe. De plus, lorsqu'ils sont fortement stimulés, les neurones de la voie directe répondent plus longtemps que les neurones striato-pallidaux (Flores-Barrera et al., 2010) mais avec une fréquence plus basse (Kreitzer and Malenka, 2007; Flores-Barrera et al., 2010). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces phénomènes. Tout d'abord, il existe une différence dans les courants potassiques. En effet, Mermelstein et al. (1998) ont démontré que les neurones qui expriment l'enképhaline possèdent un canal KIR qui s'inactive plus rapidement que celui des neurones qui expriment la substance P. De plus, plusieurs études ont démontré que le neurone présynaptique d'une synapse corticostriatale engageant un NEM striato-pallidal décharge plus fréquemment, ce qui se traduit par une fréquence plus élevée d'événements postsynaptiques excitateurs (Kreitzer and Malenka, 2007; Cepeda et al., 2008). Kreitzer et Malenka (2007) montrent également que les neurones striato-pallidaux présentent un ratio NMDA/AMPA plus élevé que les neurones striato-nigraux, suggérant que les NEM striato-pallidaux répondent plus facilement aux excitations corticales à l'état dépolarisé. Enfin, Gertler et al. (2008) montrent que les récepteurs muscariniques M1 jouent un rôle dans cette différence d'excitabilité, bien qu'ils ne suffisent pas à en rendre compte. En effet, ces récepteurs modulent négativement les canaux KIR des NEM striatopallidaux mais ont peu d'effets sur les canaux KIR des NEM striatonigraux (Shen et al., 2007). Gertler et al. (2008) suggèrent de plus que l'arborisation dendritique jouerait un rôle important dans la différence d'excitabilité des NEM. Ils montrent en effet que la surface dendritique des NEM de la voie directe est plus importante que la surface dendritique des NEM de la voie indirecte. De fait,

les dépolarisations membranaires des neurones de la voie directe seraient plus facilement atténuées.

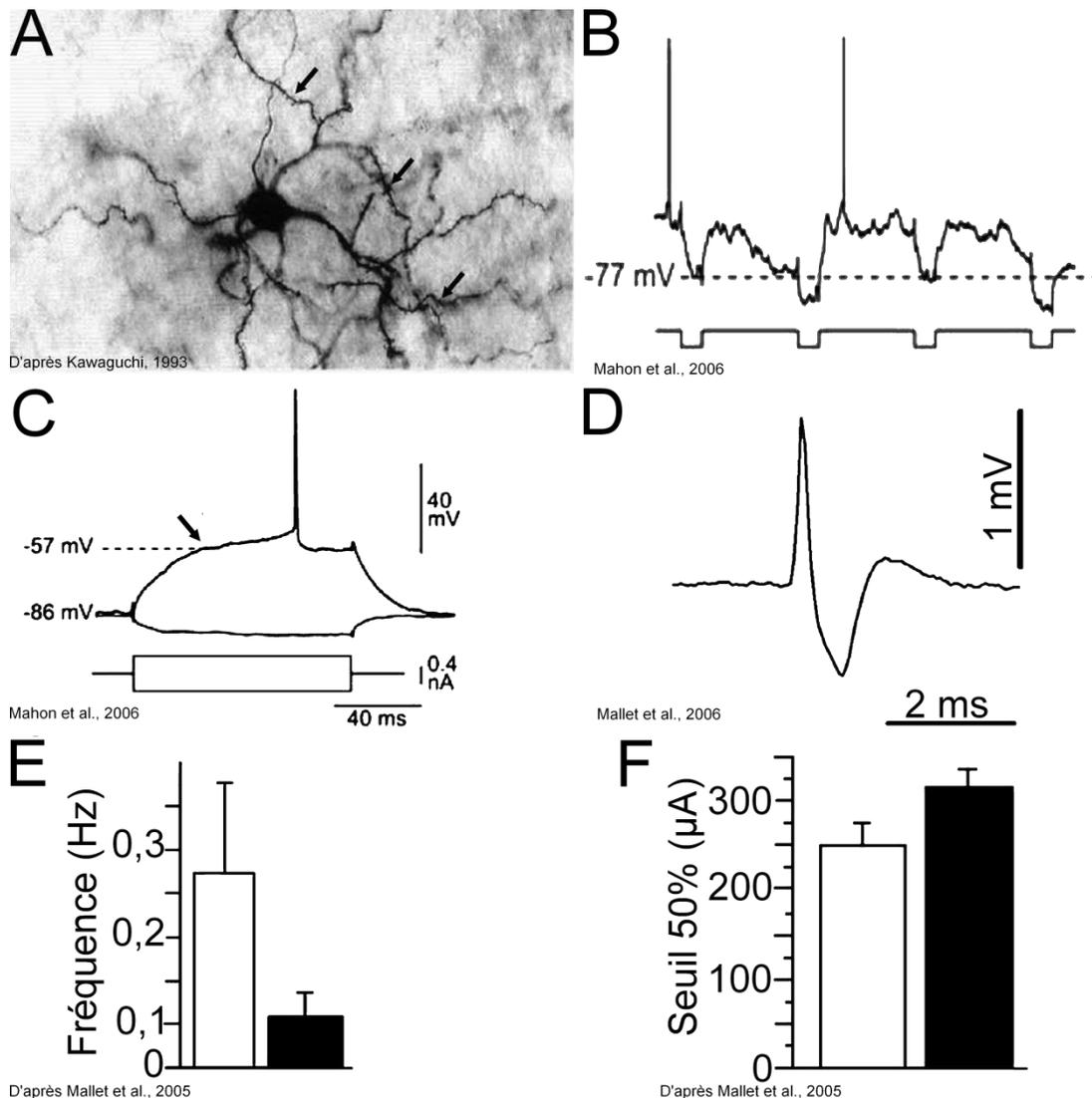


Figure 8: Caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques d'un NEM. (A) Morphologie d'un NEM. Les flèches indiquent les dendrites épineuses du neurone. (B) Fluctuations du potentiel de membrane lors de l'enregistrement intracellulaire d'un NEM chez l'animal anesthésié. Les fluctuations suivent l'activation corticale (pulses carrés). Les NEM n'émettent un potentiel d'action qu'à l'état haut. La ligne pointillée représente le potentiel membranaire de repos du neurone hyperpolarisé. (C) Réponse d'un NEM à un courant dépolarisant ou hyperpolarisant obtenue lors d'un enregistrement intracellulaire *in vivo*. Une lente rampe de dépolarisation est observable entre l'état de repos (-86 mV) et le seuil de déclenchement du potentiel d'action (-57 mV). La flèche indique le délai de l'émission du potentiel d'action. (D) Potentiel d'action moyen obtenu lors de l'enregistrement extracellulaire d'un NEM *in vivo*. (E, F) Différence de fréquence de décharge (E) et d'excitabilité (F) d'un neurone striato-pallidal (blanc) et d'un neurone striato-nigral (noir).

Tout comme dans le cortex, l'activité des neurones de projection du striatum est régulée par des circuits locaux inhibiteurs. Dans le striatum, il existe 4 sous-types d'interneurones GABAergiques.

➤ Les interneurones à décharge rapide

La population la plus importante exprime la parvalbumine et est appelée interneurone à décharge rapide à cause de leur fréquence de décharge élevée. Par ailleurs, des analyses anatomiques ont démontré que ces interneurones peuvent exprimer les récepteurs dopaminergiques D5 (Centonze et al., 2003a) et les récepteurs dopaminergiques D2 (Fisher et al., 1994;Delle Donne et al., 1997). Koos et Tepper (1999) ont démontré que ces interneurones sont caractérisés *in vitro* par un potentiel d'action très court, une fréquence de décharge très importante, soutenue et sans adaptation ainsi que des épisodes de décharge en bouffées et un potentiel de membrane oscillant. L'oscillation membranaire observée chez ces interneurones est très proche de la fluctuation membranaire des NEM et est également corrélée à l'activité corticale (Schulz et al., 2011). Ils possèdent un soma de taille comprise entre 10 et 25 μm chez le rat et des dendrites non épineuses qui se ramifient à proximité du corps cellulaire (Sharott et al., 2012) et inhibent la réponse des NEM à une stimulation corticale (Mallet et al., 2005) de façon hautement sélective (Szydlowski et al., 2013). Cette inhibition des NEM par les interneurones à décharge rapide est possible grâce à leur réponse précoce à la stimulation corticale et leur plus grande excitabilité (Mallet et al., 2005). Par ailleurs, Mallet et al. (2005) démontrent qu'une désynchronisation de l'excitation corticale promeut la réponse des interneurones à décharge rapide. De plus, il est intéressant de noter que les interneurones à décharge rapide répondent à la fois à des fréquences de stimulations corticales plus élevées que les NEM, supérieures à 40 Hz (Schulz et al.,

2011) et pour des fréquences plus basses, à environ 10 Hz (Sharott et al., 2012). Ces études suggèrent alors que ces interneurons bloquent la décharge des NEM lors de décharges désynchronisées ou à une fréquence inadéquate des neurones corticaux. La force de l'inhibition exercée par les interneurons à décharge rapide pourrait s'expliquer par la présence d'un plus grand nombre de sites de libération de ceux-ci par rapport au NEM (Koos et al., 2004). Les auteurs estiment qu'un interneuron à décharge rapide peut inhiber de 135 à 541 NEM grâce aux récepteurs GABA_A et qu'un NEM donné reçoit les afférences de 4 à 27 interneurons à décharge rapide (Koos and Tepper, 1999). De plus, ces interneurons sont connectés entre eux par des synapses électriques et par des synapses GABAergiques (Koos and Tepper, 1999). De cette manière, une activation synchrone d'interneurons à décharge rapide peut avoir des effets très étendus. À l'état basal, Ade et al. (2008) montrent que les interneurons à décharge rapide exercent une inhibition tonique plus forte sur les NEM de la voie indirecte que sur les NEM de la voie directe. Ceci ne serait pas dû à une innervation préférentielle des neurones de la voie indirecte par ces interneurons (Planert et al., 2010) mais à une sensibilité accrue de ces NEM au GABA (Ade et al., 2008).

➤ Les interneurons à seuil d'activation faible

La deuxième catégorie d'interneurons GABAergiques expriment l'oxyde nitrique synthase (NOS), la calrétinine et le neuropeptide Y (NPY) ainsi que les récepteurs dopaminergiques D2 (Fisher et al., 1994; Delle Donne et al., 1997). Ils sont classifiés électrophysiologiquement sous le nom d'interneurons à seuil d'activation faible (SFA). Ces interneurons présentent un soma de 9 à 25 µm de diamètre chez le rongeur (Kawaguchi, 1993; Tepper et al., 2010; Sharott et al., 2012)

et leurs dendrites s'étendent en longues lignes droites sur un périmètre de 600 μm de diamètre autour du soma et présentent peu d'embranchements (Kawaguchi, 1993;Tepper et al., 2010;Sharott et al., 2012). Enfin, l'axone de ces neurones s'étend aussi de manière rectiligne sur une distance d'environ 1000 μm chez le rat et présentent des collatérales (Kawaguchi, 1993), fournissant ainsi l'innervation la plus étendue parmi les interneurones striataux. Il est également intéressant de noter que Kawaguchi (1993) et Tepper et al. (2010) rapportent l'existence d'interneurones SFA qui semblent posséder 2 processus axonaux. Les cibles majeures des neurones SFA sont, sans surprise, les NEM qu'ils contactent principalement sur les parties distales des dendrites ainsi que sur les épines dendritiques, mais jamais sur le soma (Kubota and Kawaguchi, 2000).

Les caractéristiques électrophysiologiques de cette classe d'interneurones sont aisément différenciables des caractéristiques des interneurones à décharge rapide et des NEM. En 1993, Kawaguchi indique grâce à des enregistrements intracellulaires *in vitro* chez le rat juvénile que ces interneurones présentent des potentiels d'action plus longs que les interneurones à décharge rapide ainsi qu'une résistance supérieure à 600 M Ω . Il s'avère de plus que le potentiel de repos est plus dépolarisé que chez les interneurones à décharge rapide. Les caractéristiques les plus remarquables de ces neurones sont les potentiels d'action calciques évoqués seulement lorsque le potentiel de membrane est inférieur à -60 mV. Ces potentiels d'action ne cessent que lorsque l'hyperpolarisation membranaire est terminée. Ces caractéristiques électrophysiologiques ont ensuite été retrouvées dans des études chez le rat adulte et la souris *in vitro* (Centonze et al., 2002;Centonze et al., 2003a;Tepper et al., 2010). Malgré une caractérisation électrophysiologique et anatomique précise, l'action de ces interneurones sur l'activité des NEM n'est

toujours pas élucidée. L'étude de Sharott et al. (2012) a permis de révéler que certains interneurones SFA répondent à une stimulation corticale avec une latence courte comprise entre 5 et 15 ms alors que d'autres répondent à une stimulation identique avec une latence longue supérieure à 20 ms. Ces résultats apportent alors une information importante sur la séquence temporelle de la réponse de ces interneurones et suggèrent que la réponse aux afférences corticales peut être monosynaptique ou polysynaptique. Gittis et al. (2010) montrent, *in vitro*, que ces interneurones n'évoquent que des potentiels inhibiteurs GABAergiques faibles et rares. Selon certains auteurs (Pour revues: Tepper et al., 2010; Gittis and Kreitzer, 2012), il serait possible que ces neurones soient plutôt des libérateurs de neuropeptides tels que la somatostatine, le NPY ou l'oxyde nitrique.

➤ Les interneurones exprimant la TH

Un troisième groupe d'interneurones striataux GABAergiques existent dans le striatum. Bien que décrit depuis longtemps (Dubach et al., 1987; Jaber et al., 1999), ces neurones n'ont été caractérisés que récemment (Ibanez-Sandoval et al., 2010), peut-être à cause de leur faible nombre dans le striatum. En effet, Ibanez-Sandoval et al. (2010) estiment le nombre de ces interneurones à moins de 3000 par striatum de rat. Les analyses immunohistochimiques ont montré que ces interneurones expriment la TH (Dubach et al., 1987; Jaber et al., 1999; Tande et al., 2006; Ibanez-Sandoval et al., 2010) et le DAT mais pas la DBH (Tande et al., 2006), suggérant qu'ils sont de nature dopaminergique. Ce sont des neurones qui possèdent un corps cellulaire mesurant 11,4 μm en moyenne chez la souris, rond ou oval en général, bien qu'environ 25% des cas présentent un corps cellulaire de forme pyramidale (Ibanez-Sandoval et al., 2010). Comme les autres interneurones striataux, ce sont des neurones non épineux (Ibanez-Sandoval et al., 2010). L'axone prend naissance

au niveau du soma ou d'une dendrite proximale et émet des embranchements presque immédiatement pour former un dense plexus de collatérales qui occupe un volume au moins égal à celui occupé par les dendrites (Ibanez-Sandoval et al., 2010).

L'étude de leurs caractéristiques électrophysiologiques a révélé l'existence de 4 types d'interneurones TH⁺ (Ibanez-Sandoval et al., 2010). Les neurones de type I constituent la famille la plus importante des quatre types. Ibanez-Sandoval et al. (2010) estiment que plus de 60% des interneurones TH⁺ présentent les caractéristiques du type I. Ces interneurones présentent une résistance extrêmement élevée et une lente et faible rectification entrante en réponse à un courant hyperpolarisant. Le potentiel de membrane est le moins hyperpolarisé de tous les types d'interneurones TH⁺. De manière intéressante, environ 10% de ces interneurones présentent une activité spontanée et une fluctuation membranaire similaire à la fluctuation membranaire des NEM. Les potentiels d'action émis par ces interneurones sont les plus longs parmi les 4 types d'interneurones TH⁺. Enfin, ces interneurones sont incapables de soutenir une décharge en potentiels d'action pour des courants de dépolarisation moyens. Ils montrent également une forte adaptation de fréquence. Les interneurones TH⁺ de type II constituent 13% des interneurones TH⁺. Ils possèdent une résistance plus faible que les neurones de type I et un potentiel d'action bref. Avec les neurones de type I, ce sont les seuls interneurones TH⁺ qui peuvent décharger spontanément. Les interneurones TH⁺ de type III constituent 6% des interneurones TH⁺. Ils possèdent le potentiel de membrane le plus hyperpolarisé et la résistance la moins importante. Les interneurones TH⁺ de type IV comptent pour 21% des interneurones TH⁺. Ils possèdent une résistance similaire aux interneurones de type II.

Ces interneurones sont contactés par les neurones corticaux et sont également, le plus souvent, postsynaptiques à des NEM (Ibanez-Sandoval et al., 2010). Lorsqu'ils sont présynaptiques aux NEM, ils entraînent des potentiels synaptiques inhibiteurs caractéristiques des récepteurs GABA_A (Ibanez-Sandoval et al., 2010).

Les différentes caractérisations réalisées à ce jour ne permettent donc pas de déterminer si ces interneurones sont dopaminergiques ou GABAergiques. En effet, les données biochimiques suggèrent une nature dopaminergique de ces neurones (Dubach et al., 1987;Tande et al., 2006;Ibanez-Sandoval et al., 2010) alors que les données électrophysiologiques suggèrent une nature GABAergique (Ibanez-Sandoval et al., 2010).

➤ Les interneurones NPY-NGF

En 2011, Ibanez-Sandoval et al. ont démontré l'existence, chez la souris, d'une population d'interneurones exprimant le NPY qui possède des caractéristiques électrophysiologiques, neurochimiques et morphologiques différentes des SFA, les interneurones NPY-NGF. Comme les autres interneurones GABAergiques striataux, ils expriment les récepteurs dopaminergiques D2 (Fisher et al., 1994;Delle Donne et al., 1997). Ces interneurones présentent une arborisation dendritique et axonale locale compacte avec des embranchements denses et n'expriment ni la somatostatine ni le NOS. Physiologiquement, ils présentent une résistance significativement plus faible que les SFA ainsi qu'un potentiel de membrane hyperpolarisé. Leur décharge est régulière et sans accommodation en réponse à l'injection d'un courant dépolarisant. Le nombre de cellules NPY-NGF dans le striatum est plus bas comparativement aux interneurones à décharge rapide; cependant, les courants inhibiteurs post-synaptiques évoqués dans les NEM par ces

interneurones sont distincts et durent longtemps. Leur cinétique est environ 15 fois plus longue que ceux des interneurones à décharge rapide. Il est intéressant de noter que les interneurones NPY-NGF sont activés par l'acétylcholine provenant des interneurones cholinergiques présents dans le striatum, suggérant que ces interneurones sont un relais du système de contrôle cholinergique des voies de sortie du striatum.

➤ Les interneurones cholinergiques

La dernière catégorie de neurones régulateurs des NEM est celle des interneurones cholinergiques. Même s'ils ne représentent qu'1 à 3% du nombre total de neurones striataux, ils sont la seule source cholinergique de cette structure. Ils possèdent un soma polygonal ou fusiforme de diamètre compris entre 20 μm et 60 μm chez le rat avec 2 à 5 dendrites primaires non épineuses (Kawaguchi, 1992, 1993;Inokawa et al., 2010) très ramifiées et qui présentent une extension importante (Bennett and Wilson, 1999) et tortueuse (Kawaguchi, 1993). Ces interneurones expriment les récepteurs dopaminergiques D5 (Centonze et al., 2003a) et D2 (Le Moine et al., 1990;Fisher et al., 1994). Les interneurones cholinergiques possèdent également des dendrites secondaires qui traversent les compartiments striataux et forment de fines branches dans les striosomes (Kawaguchi, 1992). Les axones de ces interneurones présentent une arborisation dense (Kawaguchi, 1993) et diffusent dans la matrice striatale mais rarement dans les striosomes (Kawaguchi, 1992). Ces interneurones contactent les neurones de projection des 2 voies de sortie (Salin et al., 2009).

Les interneurones cholinergiques ont un patron de décharge spontané tonique *in vitro* (Bennett and Wilson, 1999) et *in vivo* (Wilson et al., 1990;Inokawa et al., 2010), ce qui leur a valu leur nom de neurones à activité tonique (NAT). Chez le rat

anesthésié, les NAT présentent une activité spontanée régulière ou irrégulière tonique de 3 à 10 Hz (Wilson et al., 1990;Inokawa et al., 2010) en émettant de longs potentiels d'action (Wilson et al., 1990;Inokawa et al., 2010). Chaque potentiel d'action est suivi d'une longue période d'hyperpolarisation d'une centaine de millisecondes (Wilson et al., 1990; Kawaguchi, 1993). Les potentiels d'action spontanés sont générés à partir de faibles potentiels dépolarisants spontanés de 0,5 à 5 mV d'amplitude, irréguliers et bien souvent sous le seuil d'activation. Toutefois, des potentiels dépolarisants plus importants résultant de la sommation de potentiels plus petits peuvent apparaître. De plus, ces auteurs montrent que le potentiel membranaire de repos de - 60 mV est maintenu à un niveau proche du seuil d'activation (Wilson et al., 1990; Kawaguchi, 1993), ce qui permet aux potentiels postsynaptiques dépolarisants de fréquemment déclencher les potentiels d'action. La résistance de ces neurones est plus importante que pour les NEM, allant de 60 à 105 MΩ *in vivo* (Wilson et al., 1990) à plus de 400 MΩ *in vitro* (Kawaguchi, 1993). L'activité de décharge des NAT est générée de façon endogène. En effet, le blocage pharmacologique des récepteurs AMPA, NMDA et GABA_A ne produit aucun effet sur la fréquence ou le patron de décharge des neurones cholinergiques, (Bennett and Wilson, 1999). De plus, alors qu'Aosaki et al. (1998) montrent qu'une excitation des NAT est possible grâce à l'activation des récepteurs dopaminergiques D1 et que Calabresi et al. (1998) montrent la présence de faibles potentiels postsynaptiques inhibiteurs liés au récepteur muscarinique M2, Bennett et al. (1999) ont pu montrer qu'aucune modification de l'activité de ces neurones n'est visible après blocage des récepteurs dopaminergiques D1 ou D2 ou des récepteurs muscariniques M2. Enfin, aucune modification de l'activité des NAT n'est non plus observé lors du blocage des influx synaptiques GABAergiques ou glutamatergiques (Bennett et al., 1999). Bien

qu'en nombre très faible dans le striatum, ces interneurons possèdent un rôle crucial dans la régulation de l'activité du striatum en ciblant notamment les interneurons à décharge rapide (Koos and Tepper, 2002) ainsi qu'en diminuant la réponse des NEM et des interneurons NAT aux afférences corticales par un mécanisme présynaptique impliquant les récepteurs muscariniques M2 et M3 (Pakhotin and Bracci, 2007). Il a également été suggéré que les interneurons NAT augmentent l'excitabilité des NEM en bloquant les canaux potassiques (Shen et al., 2005; Shen et al., 2007).

- *Circuits locaux striataux*

Durant cette thèse, nos travaux ont été réalisés sur les NEM du striatum. Toutefois, comme les neurones de projection corticaux, ceux-ci reçoivent des afférences en provenance des interneurons locaux ou des NEM voisins qui permettent le contrôle de l'activité des neurones de projection (Fig. 9). Les NEM peuvent contacter d'autres NEM par des projections collatérales sur les épines dendritiques (Koos et al., 2004). Les connections ainsi créées ne sont pas aléatoires et sont unidirectionnelles (Taverna et al., 2008). En effet, dans près de 80% des cas, ce sont les NEM striato-pallidaux qui contactent les NEM striato-nigraux. De plus, les couplages entre NEM de la même voie sont faibles (environ 35%) (Taverna et al., 2008). Une étude réalisée *in vitro* suggère que la puissance unitaire exercée par un NEM sur un autre NEM est faible et ne permet que d'atténuer l'excitation dendritique (Koos et al., 2004) bien que l'inhibition produite par un NEM striatopallidal soit plus importante que l'inhibition produite par un NEM striatonigral (Taverna et al., 2008). Cependant, il s'avère qu'une décharge synchronisée d'une centaine de NEM peut provoquer une inhibition latérale substantielle (Chuhma et al., 2011) assez importante pour créer des ensembles cellulaires distincts dans les circuits striataux

(Humphries et al., 2009). La source principale d'inhibition des NEM provient des interneurones à décharge rapide. Ces interneurones produisent des projections unilatérales (Koos and Tepper, 1999; Planert et al., 2010; Chuhma et al., 2011) denses et fortes (Koos and Tepper, 1999) sur le soma des NEM (Koos et al., 2004) dans un rayon de 300 μm chez le rat. Leur couplage électrotonique leur permet de décharger de façon synchronisée. Il a récemment été montré que l'inhibition des NEM par les interneurones GABAergiques est constituée d'une composante rapide et d'une composante lente par l'intermédiaire des récepteurs GABA_A (English et al., 2012). English et al. (2012) ont montré que les interneurones NPY-NGF sont à l'origine de la composante lente. Les résultats laissent donc penser que ces deux types d'interneurones permettent de bloquer la décharge des neurones de projection lorsque les afférences excitatrices sur les NEM sont trop faibles ou non synchronisées. L'activité des NEM est également influencée par les neurones cholinergiques soit de manière directe, soit de manière indirecte. En effet, en activant les récepteurs muscariniques M1, l'acétylcholine entraîne le blocage des canaux potassiques des NEM (Shen et al., 2005; Shen et al., 2007), augmentant ainsi l'excitabilité postsynaptique des neurones de projection. Parallèlement, il a été démontré un rôle régulateur dual des interneurones à décharge rapide par les interneurones NAT (Koos and Tepper, 2002). D'une part, ces interneurones activent les interneurones à décharge rapide par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques M2 et M3 mais d'autre part, ils peuvent également diminuer la force synaptique que possèdent les interneurones à décharge rapide sur les NEM par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques M1 et M4 présynaptiques. Parallèlement, les interneurones NAT activent également les interneurones NPY-NGF par l'intermédiaire des récepteurs nicotiniques (English et al., 2012). Enfin, les

interneurones NAT ont également la capacité de réduire la probabilité de libération de glutamate au niveau de la synapse corticostriatale en activant les récepteurs M2 et M3 présynaptiques. Les interneurones cholinergiques reçoivent, par ailleurs, un contrôle inhibiteur de la part des interneurones GABAergiques.

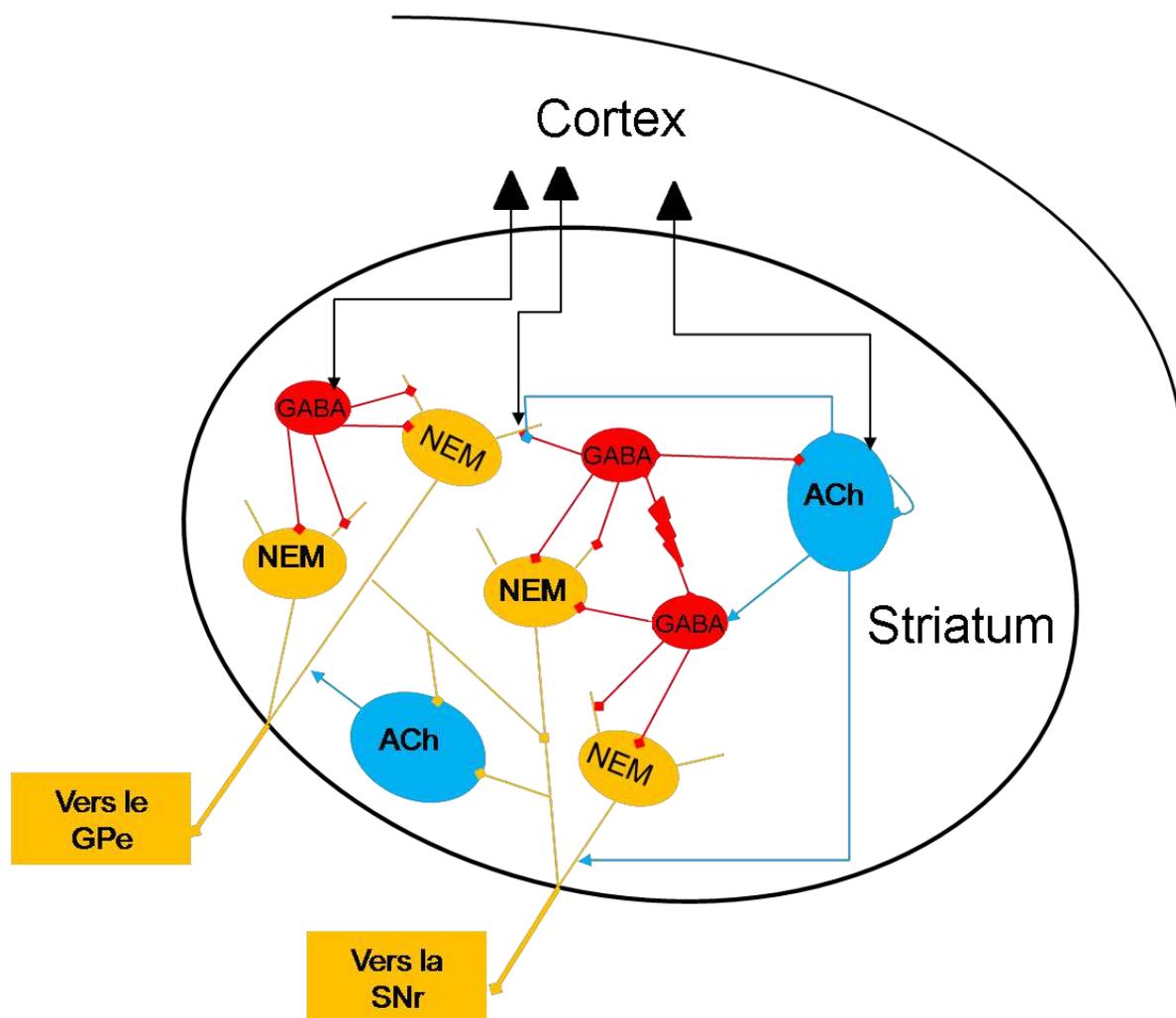


Figure 9: Contrôle des NEM par les interneurons inhibiteurs. Les NEM (jaune) des deux voies de sortie du striatum sont contactés de manière égale par les interneurons striataux GABAergiques (rouge) et cholinergiques (bleu) ainsi que par les neurones de projection corticaux (triangles noirs). Les inhibitions sont représentées par des segments à extrémité carrée et les excitations par des flèches. Les interneurons GABAergiques sont interconnectés par des couplages électrotoniques, schématisés par un éclair rouge.

A l'échelle des ensembles neuronaux, il a pu être démontré que l'excitation glutamatergique des circuits striataux se traduit par l'activation d'ensembles neuronaux distincts (Carrillo-Reid et al., 2008) qui permettent l'élaboration de mouvements coordonnés et complexes. Cependant, pour que ceux-ci s'effectuent correctement, les informations transmises aux structures de sortie des ganglions de la base par les NEM doivent être extrêmement contrôlées. Ainsi, il a été récemment suggéré que la synchronisation de décharge de groupes d'interneurones GABAergiques permet de maintenir une décharge équilibrée des neurones de la voie directe et des neurones de la voie indirecte (Damodaran et al., 2014) notamment par une inhibition plus importante des neurones de la voie indirecte (Ade et al., 2008). D'autre part, la synchronisation de décharge des neurones striataux est augmentée par l'action des interneurones cholinergiques qui permettent, par ce biais, la création de séquence d'activation complexes d'ensembles neuronaux (Carrillo-Reid et al., 2009).

1.1.2.2. Les structures de la voie directe

Les NEM constituant la voie directe inhibent les neurones des structures de sortie des ganglions de la base, le GPi et la SNr. Ceci résulte en la levée d'inhibition du thalamus qui excitera les neurones corticaux, et par conséquent, en l'initiation du mouvement.

- *Le globus pallidus interne*

L'équivalent du GPi chez les rongeurs est le noyau entopédonculaire. Il a été suggéré que le GPi constitue le relais moteur du complexe des noyaux de sortie GPi/SNr (Joel and Weiner, 1994). Il reçoit des afférences du GPe et du NST ainsi que du striatum mais également une innervation diffuse en provenance de la SNc

(Parent et al., 1990;Nambu, 2007). Le GPi est une structure de sortie des ganglions de la base qui permet le transfert des informations vers le thalamus. (Fig. 7).

- *La substance noire réticulée*

La SNr forme, avec le GPi, les structures de sortie du striatum. Elle est constituée presque exclusivement de neurones de projection (Mailly et al., 2001) organisés topographiquement de manière à conserver les séparations fonctionnelles des projections corticostriatales (Deniau et al., 1996). Ces neurones reçoivent une innervation GABAergique majeure du striatum (Pour revue: Bolam et al., 2000) ainsi que des afférences additionnelles provenant du GPe (Bevan et al., 1998). De plus, des études ont pu démontrer une afférence glutamatergique provenant de neurones du NST qui convergent vers des neurones de la SNr également innervés par des neurones striato-nigraux et pallido-nigraux (Pour revue: Deniau et al., 2007). Enfin, il existerait également un contrôle dopaminergique de la SNr exercé par les dendrites des neurones dopaminergiques de la SNc (Pour revue: Rommelfanger and Wichmann, 2010) (Fig. 7).

1.1.2.3. Les structures de la voie indirecte

Les NEM de la voie indirecte du striatum contactent les neurones du GPe qui contactent le NST. Quant au NST, il contacte les structures de sorties des ganglions de la base. Lorsque les NEM striatopallidaux sont activés, le GPe n'inhibe plus le NST qui active les neurones du GPi et de la SNr. Ceci résulte en l'inhibition du mouvement.

- *Le globus pallidus externe*

Chez le rongeur, le GPe est un noyau positionné de façon caudale et médiane au striatum et séparé en territoires fonctionnels (Kawaguchi et al., 1990; Kita and Kita, 2001) que l'on retrouve également chez l'Homme (Karachi et al., 2002). Des données anatomiques et électrophysiologiques suggèrent un rôle important du GPe dans le contrôle des ganglions de la base. En effet, les connections réciproques du GPe avec les différentes structures des ganglions de la base (Bevan et al., 1998; Smith et al., 1998; Mallet et al., 2012) lui confère la capacité de moduler la façon dont les ganglions de la base reçoivent, transmettent et traitent les informations. Tous les neurones de projection striataux contactent le GPe (Kawaguchi et al., 1990; Wu et al., 2000) qui, en retour, innerve toutes les familles neuronales du striatum (Bevan et al., 1998; Mallet et al., 2012). Ces neurones pallido-striataux contactent également les deux segments de la substance noire (Bevan et al., 1998). De plus, des connections bidirectionnelles avec sa cible principale, le NST, ont été mises en évidence (Kita and Kitai, 1994; Sato et al., 2000; Kita, 2007). Enfin, il est aussi intéressant de noter que les neurones du GPe peuvent contacter les neurones du GPi cibles du striatum (Bolam et al., 1993), suggérant une place prépondérante du GPe dans le contrôle des informations de sortie des ganglions de la base (Fig. 7).

- *Le noyau sous-thalamique*

Le NST est une structure importante dans le contrôle des ganglions de la base, également organisée de façon topographique (Mallet et al., 2007). La plupart des neurones subthalamiques sont des neurones de projection glutamatergiques qui contactent le GPe (Kita and Kitai, 1994; Shink et al., 1996; Sato et al., 2000; Kita, 2007) ainsi que le complexe SNr/GPi. En innervant les structures de sortie des

ganglions de la base, le NST possède un rôle important dans le contrôle des informations de sortie des ganglions de la base. Le NST reçoit des afférences du GPe (Smith et al., 1990;Shink et al., 1996), du GPi et du thalamus. De plus, des études ont montré que le cortex moteur contacte directement le NST pour former une voie hyperdirecte des ganglions de la base (Pour revue: Nambu et al., 2002). Enfin, il existe une innervation dopaminergique du NST (Francois et al., 2000) impliquée dans la régulation de la réponse subthalamique aux informations corticales (Magill et al., 2001) (Fig. 7).

1.2. La dopamine

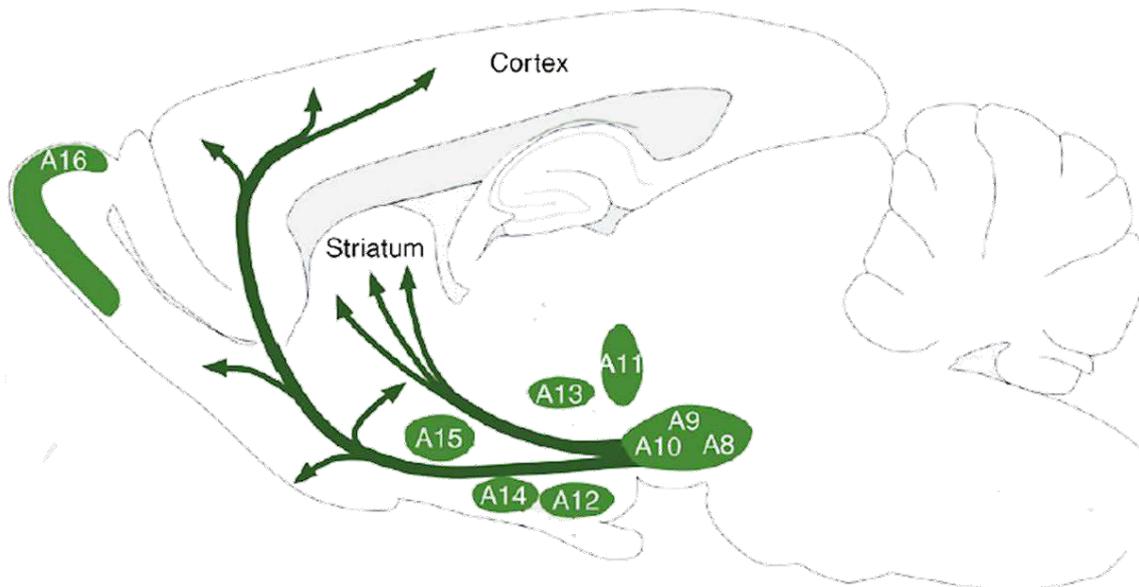
La dopamine est une monoamine issue de la tyrosine. De formule brute $C_8H_{11}NO_2$, elle possède un poids moléculaire de 153,17 g/mol et est la catécholamine majeure du système nerveux central. Bien que synthétisée pour la première fois en 1910 par G. Barger et J. Ewens, elle est peu étudiée jusqu'à la fin des années 1950 car supposée n'être qu'un précurseur de la noradrénaline. En effet, ce n'est qu'en 1957 qu'elle est découverte par A. Carlsson et N.A. Hillarp en tant que neurotransmetteur naturellement présent dans le cerveau (Carlsson, 2001; Iversen and Iversen, 2007). Ces auteurs montrent alors qu'une injection de réserpine occasionnant une déplétion dopaminergique et induisant la perte de la motricité d'un animal pouvait être rétablie par l'injection de 3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA). Ces résultats suggèrent alors aux auteurs un rôle de la dopamine dans la motricité et son implication dans la maladie de Parkinson (Carlsson et al., 1957).

1.2.1. Transmission dopaminergique

1.2.1.1. Les voies dopaminergiques

L'avènement des techniques d'histochimie dans les années 1960-1970 a permis de décrire différents noyaux comprenant les corps cellulaires des neurones dopaminergiques ainsi que les voies empruntées par les axones dopaminergiques pour rejoindre les structures cibles. Les noyaux dopaminergiques sont contenus dans 9 noyaux chez les mammifères nommés de A8 à A16 et répartis entre le mésencéphale et le bulbe olfactif (Dahlstrom and Fuxe, 1964) (Fig. 10). Dans le système nerveux central, la dopamine provient principalement des noyaux A8, A9 et A10 du mésencéphale (Pour revue: Joel and Weiner, 2000; Smith and Kieval,

2000; Bjorklund and Dunnett, 2007). Les neurones du groupe A10 constituent l'aire tegmentale ventrale (ATV) et sont situés dans la partie la plus ventromédiale du mésencéphale. Les neurones du groupe A9 constituent la SNc et s'étendent latéralement à l'ATV. Enfin, les neurones A8 constituent l'aire rétro-rubrale et forment une extension latérale et dorsale de la SNc. Cette division anatomique des noyaux dopaminergiques est censée refléter la ségrégation de leurs efférences majoritaires. Il est ainsi souvent considéré de manière heuristique que la SNc contacte le striatum dorsal par la voie nigrostriatale et que l'ATV contacte les aires limbiques et corticales par la voie mésocorticolimbique (Fig. 10). En réalité, la voie mésocorticolimbique est également constituée d'une petite partie de neurone de la SNc dorsale et la voie nigrostriée est constituée par une petite part des neurones de la partie ventrale de l'ATV. Quant aux neurones de l'aire rétro-rubrale, ils innervent tout le striatum.



Modifié d'après Bjorklund et al., 2007

Figure 10: Noyaux dopaminergiques cérébraux. Les voies nigrostriatale et mésocorticolimbique sont représentées par les flèches vertes. Les noyaux dopaminergiques sont indiqués en vert.

1.2.1.2. Synthèse de la dopamine

La dopamine est synthétisée à partir de la tyrosine ingérée lors de la prise alimentaire. Elle est en effet abondamment retrouvée dans les protéines et pénètre dans les neurones par un transport actif. La tyrosine peut également être produite dans le foie à partir de la phénylalanine ingérée grâce à la phénylalanine hydroxylase ou bien dans les neurones dopaminergiques grâce à la TH. La dopamine est produite en 2 étapes enzymatiques cytosoliques. Tout d'abord, la TH assure la première étape en transformant la tyrosine en dihydroxyphénylalanine (DOPA). La TH est également l'enzyme limitante dans la biosynthèse de la dopamine mais également dans la biosynthèse de toutes les catécholamines car son activité est moins importante que l'activité des autres enzymes de la voie de production des catécholamines (Nagatsu et al., 1964). C'est donc l'activité de cette enzyme qui limite la production de DOPA. Dans un second temps, la DOPA est transformée en dopamine par une opération de décarboxylation réalisée par *l'aromatic amino-acid decarboxylase* ou DOPA décarboxylase (AADC) (Pour revue: Meiser et al., 2013).

La deuxième étape de la biosynthèse de la dopamine est assurée par l'AADC qui convertit la DOPA formée dans la cellule et la L-DOPA périphérique en dopamine (Pour revue: Meiser et al., 2013). Dans le cerveau humain, l'AADC est retrouvée majoritairement dans le striatum (Lloyd and Hornykiewicz, 1972) pour la majorité dans les fibres dopaminergiques mais également dans les fibres sérotoninergiques ainsi que dans les neurones striataux et la glie (Pour revue: Carlsson et al., 2007). L'activité de cette enzyme dans le striatum de rongeur est régulée par les récepteurs dopaminergiques D1 et D2. Il a, en effet, été démontré une augmentation de l'activité striatale d'AADC après l'administration d'antagonistes de ces récepteurs (Cho et al.,

1997). L'activité est également régulée par les niveaux de dopamine (Pour revue: Meiser et al., 2013).

1.2.1.3. Internalisation de la dopamine

L'internalisation rapide de la dopamine cytoplasmique est importante dans le neurone, ceci permet d'éviter une toxicité induite par l'oxydation de la dopamine elle-même (Pour revue: Miyazaki and Asanuma, 2008). Une diminution d'expression de VMAT-2 occasionne une augmentation du taux cytosolique de dopamine (Vergo et al., 2007) montrant qu'une fois produite, la dopamine est captée et stockée dans des vésicules synaptiques par le VMAT-2. La concentration de dopamine dans ces vésicules est environ 10 000 fois plus forte que le taux cytoplasmique de dopamine (Pour revue: Parsons, 2000). L'internalisation se fait par un transport actif de la dopamine contre son gradient de concentration grâce à l'échange de deux protons intra-vésiculaires contre une molécule de dopamine (Pour revue: Parsons, 2000). Le stockage de la dopamine dans les vésicules est important pour la libération du neurotransmetteur dans la synapse. Ainsi, après une surexpression de VMAT-2 dans les cellules PC12, la libération basale de dopamine est augmentée alors qu'une diminution de l'expression de VMAT-2 entraîne une diminution de la libération de dopamine (Vergo et al., 2007). De plus, dans un modèle de souris knockout pour le gène de VMAT-2, aucune libération de dopamine n'est détectable dans les tranches de cerveau (Wang et al., 1997).

1.2.2. Libération et recapture de la dopamine

1.2.2.1. Le neurone dopaminergique

Les neurones dopaminergiques de la SNc, de l'ATV et de l'aire rétro-rubrale présentent des différences morphologiques et dans les protéines qu'ils expriment (Gale and Li, 2008;Fu et al., 2012). Chez la souris, les neurones de la SNc sont des neurones d'environ 20 μm alors que les neurones de l'ATV sont plus petits, mesurant moins de 15 μm . De plus, alors que le soma est rond et symétrique pour les neurones dopaminergiques de l'ATV, les neurones de la SNc présentent un corps cellulaire plus angulaire et de forme allongée (Fu et al., 2012). Des analyses immunohistochimiques récentes ont révélé que les neurones de la SNc expriment des taux plus intenses du canal potassique à rectification entrante lié aux protéines G (GIRK2) que les neurones de l'ATV et n'exprimaient pas du tout la calbindine, contrairement aux neurones de l'ATV (Gale and Li, 2008;Fu et al., 2012). Dans l'aire rétro-rubrale, Gale et Li (2008) retrouvent des neurones qui expriment la calbindine et la TH ainsi que des neurones qui expriment GIRK2 mais pas la calbindine, suggérant que des neurones de type SNc et ATV coexistent dans l'aire rétro-rubrale. Les neurones dopaminergiques sont activés par le glutamate (Grace and Bunney, 1984a;Jaffe et al., 1998;Floresco et al., 2003) ou l'acétylcholine (Floresco et al., 2003).

Les neurones dopaminergiques présentent deux types de décharge *in vivo*: tonique ou phasique (Grace and Bunney, 1984a, 1984b;Floresco et al., 2003). La décharge tonique est une décharge irrégulière de faible fréquence, en moyenne 4,5 Hz (Floresco et al., 2003) alors que la décharge phasique correspond à de courtes périodes de décharge en bouffées d'environ 300 ms (Floresco et al., 2003) contenant

la plupart du temps 2 ou 3 potentiels d'actions (Grace and Bunney, 1984b). Le passage des neurones dopaminergiques d'un mode de décharge tonique à un mode de décharge phasique est causé par une augmentation intracellulaire de calcium (Grace and Bunney, 1984b). Il a pu être montré que ces deux modes de décharge ont des conséquences différentes sur la libération de la dopamine extracellulaire. En effet, alors que la décharge tonique de dopamine permet le maintien d'un niveau basal de dopamine dans le milieu extracellulaire (Floresco et al., 2003), les bouffées permettent une accumulation de dopamine dans le milieu extracellulaire (Chergui et al., 1994; Benoit-Marand et al., 2000).

1.2.2.2. Libération de dopamine

Les neurones dopaminergiques ont pour caractéristique de libérer de la dopamine non seulement au niveau de leurs terminaisons axonales mais également tout le long de l'axone qui comporte de nombreuses varicosités et au niveau somatodendritique. Chen et al. (2001; 2011) ont démontré qu'une augmentation de la concentration extracellulaire de calcium entraîne une augmentation de la libération de dopamine dans le striatum et dans la SNc lors d'une stimulation. De plus, l'implication d'événements électriques dans la libération de dopamine a été mise en évidence au niveau du soma *in vitro* (Jaffe et al., 1998) et *in vivo* (Dugast et al., 1994) ainsi qu'au niveau de l'axone (Phillips and Stamford, 2000) suggérant alors que l'émission de potentiels d'action est essentielle à la libération extracellulaire de dopamine. *In vivo*, la stimulation électrique du faisceau médian du télencéphale, constitué par les neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée et mésocorticolimbique entraîne une augmentation du taux extracellulaire de dopamine dans le striatum (Buda et al., 1981; Gonon, 1997).

Les données recueillies sur la distribution des sites de libération de la dopamine indiquent que la transmission dopaminergique n'est pas restreinte à la simple synapse (Pour revue: Rice and Cragg, 2008). Premièrement, Descarries et al. (1996) suggèrent que 60% à 70% des sites de libération de la dopamine sont asynaptiques. De plus, l'unique mécanisme de recapture de la dopamine qui se met en place grâce au DAT ne peut se réaliser qu'au niveau du neurone dopaminergique. En effet, le DAT est spécifiquement exprimé par les neurones dopaminergiques (Ciliax et al., 1995) permettant ainsi une diffusion de la dopamine dans les trois dimensions hors du site de libération. De plus, de récentes études suggèrent que le DAT est capable de libérer de la dopamine et pourrait augmenter l'excitabilité de la membrane des neurones dopaminergiques (Pour revue: Gowrishankar et al., 2013). Enfin, la localisation des récepteurs dopaminergiques dans le striatum est majoritairement extrasynaptique (Pour revue: Rice and Cragg, 2008), tout comme le DAT (Nirenberg et al., 1996).

1.2.2.3. Régulation du taux extracellulaire de dopamine

La libération de dopamine est autorégulée. En effet, la dopamine libérée active un autorécepteur de type D2 présynaptique qui inhibe sa propre libération. Le signal dopaminergique est aussi arrêté grâce au DAT qui recapture la dopamine extracellulaire pour la transférer dans le cytoplasme du neurone où elle sera recyclée. Lors d'une forte activité des neurones dopaminergiques, l'autorécepteur D2 est capable de recruter et d'augmenter l'activité du DAT pour une meilleure efficacité.

Les neurones dopaminergiques possèdent des autorécepteurs présynaptiques D2. Il a pu être observé *in vivo* que les souris qui ne possèdent pas de récepteurs D2 ou qui ont reçu une injection systémique d'halopéridol pour bloquer l'activité de ce récepteur montrent une augmentation importante de la libération dopaminergique au

cours des bouffées (Benoit-Marand et al., 2001) alors que l'application de quinpirole pour stimuler les récepteurs D2 diminue la libération de dopamine (Rouge-Pont et al., 2002). De plus, il a été démontré par des enregistrements de l'activité électrique spontanée des neurones dopaminergiques *in vitro* qu'une stimulation électrique de ces neurones occasionne une pause d'environ 1 seconde de l'activité de décharge. Par ailleurs, cette pause disparaît après l'inhibition des récepteurs D2 (Beckstead et al., 2004). Cette autoinhibition est présente 80 à 100 ms après le début de la libération de dopamine (Benoit-Marand et al., 2000; Beckstead et al., 2004) et dure encore lorsque la dopamine a été éliminée (Benoit-Marand et al., 2000), suggérant que ce n'est pas la présence extracellulaire de dopamine qui influence la durée de l'inhibition mais bien des cascades de signalisation sous-jacentes à la stimulation des autorécepteurs.

Parallèlement à l'autoinhibition exercée par l'autorécepteur D2, la dopamine extracellulaire est capturée par le DAT pour être réintégrée dans le cytoplasme du neurone dopaminergique où elle sera de nouveau internalisée dans des vésicules. Cette protéine membranaire permet l'élimination rapide de la dopamine extracellulaire et empêche l'accumulation de dopamine lors de la décharge tonique de dopamine. En effet, des analyses électrochimiques ont révélé que l'absence de DAT chez la souris augmente le temps d'élimination de la dopamine d'un facteur supérieur à 2 (Benoit-Marand et al., 2000). Ainsi, alors que la dopamine est éliminée entre chaque pulse lors d'une décharge tonique chez la souris contrôle, elle s'accumule à un taux similaire à celui observé dans le cas d'une décharge phasique chez la souris déficiente pour le DAT (Benoit-Marand et al., 2000). De par sa fonction de recapture de la dopamine, le DAT joue un rôle important dans le recyclage de la

dopamine et le remplissage du stock cytoplasmique de dopamine dans les neurones dopaminergiques (Benoit-Marand et al., 2000).

Il est intéressant de noter que l'autorécepteur D2 et le DAT interagissent pour réguler le niveau de dopamine extracellulaire. En effet, une interaction directe protéine-protéine entre ces deux protéines entraînant une augmentation de la recapture de dopamine par le DAT a été démontré (Lee et al., 2007). La modulation du DAT par les autorécepteurs D2 a aussi été démontrée *in vivo* lors de décharges phasiques des neurones dopaminergiques uniquement (Benoit-Marand et al., 2011). La libération tonique de dopamine, même si elle est suffisante pour activer l'autorécepteur D2, n'est pas suffisante pour que le récepteur D2 influence l'activité du DAT. Mais, lors d'une décharge phasique, l'activation des autorécepteurs D2 est suffisamment forte pour influencer l'activité du DAT (Benoit-Marand et al., 2011).

1.2.2.4. Catabolisme de la dopamine

Dans les neurones, la dopamine recaptée est ensuite internalisée à nouveau dans les vésicules synaptiques. L'excès de dopamine cytosolique est alors dégradée par les monoamines oxydases (MAO) A et B (Pour revue: Meiser et al., 2013). Cette étape de désamination oxydative produit du peroxyde d'hydrogène et du 3,4-dihydroxyphénylacétaldéhyde (DOPAL). Celui-ci est inactivé par une réduction en alcool par l'alcool déshydrogénase, le 3,4-dihydroxyphényléthanol (DOPET) ou par une nouvelle oxydation en acide carboxylique, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) par l'aldéhyde déshydrogénase. Dans les cellules gliales, la dopamine est dégradé par les MAO et la catécholamine-o-méthyl transférase (COMT) dépendante du magnésium (Pour revue: Meiser et al., 2013) (Fig. 11). Cette enzyme conduit à la formation de l'acide homovanillique (HVA), un des principaux produits de dégradation de la dopamine. La COMT peut également agir directement sur la dopamine pour

créer la 3-méthoxytyramine. Ce produit sera ensuite pris en charge par les MAO pour être transformé en 3-méthoxy-4-hydroxyacétaldéhyde puis en HVA par l'aldéhyde déshydrogénase.

1.2.3. Récepteurs dopaminergiques

Les actions physiologiques de la dopamine s'exercent par l'intermédiaire de récepteurs appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Ces récepteurs sont divisés en deux familles: la famille des récepteurs D1 et la famille des récepteurs D2. Cette classification a été proposée à propos d'arguments biochimiques basés sur la différence de modulation de l'adénylate cyclase (Spano et al., 1978) et la conséquence sur la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) (Kebabian and Calne, 1979). Au début des années 1990, le clonage des gènes des récepteurs dopaminergiques ont mis en évidence l'existence de plusieurs sous-types de récepteurs dopaminergiques (Pour revue: Jaber et al., 1996) numérotés de D1 à D5.

La famille des récepteurs D1, constituée des récepteurs D1 et D5, et la famille des récepteurs D2, constituée des récepteurs D2, D3 et D4, présentent des différences dans la composition de leurs gènes (Pour revue: D'Souza, 2010). En effet, alors que les récepteurs de type D1 possèdent une structure génétique sans intron dans leur séquence codante, les récepteurs de type D2 possèdent entre 3 et 6 introns selon le sous-type de récepteur. Cette caractéristique permet des épissages alternatifs conduisant à la production de variants au sein d'un sous-type de récepteur. Par ailleurs, les membres d'une même famille de récepteurs possèdent un fort niveau d'homologie dans leurs domaines transmembranaires et possèdent des propriétés pharmacologiques distinctes. En effet, il est communément accepté que la

famille des récepteurs D1 active les protéines $G_{\alpha/olf}$ et stimule la production d'AMPc par l'adénylate cyclase alors que la famille des récepteurs D2 est couplée aux protéines $G_{\alpha/o}$ et inhibe l'adénylate cyclase. De plus, les récepteurs de la famille D1 sont des récepteurs majoritairement postsynaptiques mais on peut également les retrouver en tant qu'hétérorécepteurs présynaptiques au niveau des terminaisons axonales de neurones non dopaminergiques. Les récepteurs de la famille D2 peuvent être présynaptiques et postsynaptiques.

1.2.3.1. Les récepteurs dopaminergiques de la famille D1

- *Distribution des récepteurs D1 dans le cerveau*

Les récepteurs dopaminergiques présentent une distribution très étendue dans l'ensemble du cerveau mais à chaque récepteur correspond un patron de distribution unique. L'établissement de la distribution des récepteurs dopaminergiques au sein du cerveau des rongeurs et des primates humains ou non humains a été réalisé grâce à des expériences d'hybridation *in situ* (Weiner et al., 1991), d'analyse de fixation d'agonistes et d'antagonistes spécifiques (Camps et al., 1990) ou d'histochimie (Levey et al., 1993; Khan et al., 2000; Kliem et al., 2009). L'ensemble de ces techniques donne des résultats similaires concernant la distribution. Ainsi, Levey et al. (1993) montrent chez le rat, le singe et l'humain que le récepteur D1 est très fortement présent dans le striatum, où il est exprimé par les NEM striato-nigraux (Kawaguchi et al., 1990; Lobo et al., 2006), et dans les autres ganglions de la base même si l'expression diffère au sein de chaque structure. En effet, le récepteur D1 est plus présent dans la SNr et dans le GPi que dans le GPe. Dans les bulbes olfactifs, le récepteur D1 est présent dans les couches granulaires internes et plexiformes internes. Le cortex cérébral et l'hippocampe possèdent peu

de récepteurs D1 comparativement aux ganglions de la base. Toutefois, des expériences d'autoradiographie des récepteurs ou d'hybridation *in situ* chez le rat font état de la présence des récepteurs D1 préférentiellement dans la couche VI (Camps et al., 1990;Weiner et al., 1991;Gaspar et al., 1995) mais plus généralement dans toutes les couches corticales (Camps et al., 1990;Weiner et al., 1991;Gaspar et al., 1995). Plus précisément, l'expression de l'ARN messager du récepteur D1 par les neurones pyramidaux corticaux et les interneurones a été démontré dans le cortex préfrontal de rat (Santana et al., 2009). Levey et al. (1993) montrent également l'expression du récepteur D1 dans l'amygdale basolatérale. Enfin, ils décrivent la présence du récepteur D1 dans le cervelet. Les résultats chez le rongeur et chez l'humain sont similaires (Pour revue: Hurley and Jenner, 2006) à la différence près que le récepteur D1 est retrouvé dans la couche II et la couche V/VI du cortex cérébral humain (Hurd et al., 2001).

Les études concernant la distribution du récepteur D5 sont assez rares et souvent limitées à quelques régions. Le récepteur D5 semble toutefois avoir une distribution plus restreinte que le récepteur D1. Les études réalisées se limitent à l'utilisation d'anticorps spécifiques ou à des techniques d'hybridation *in situ* car les ligands hautement spécifiques de ce récepteur n'existent pas. Dans le striatum dorsal, de faibles niveaux de récepteurs D5 ont été révélés alors qu'une présence importante de ce récepteur dans le striatum ventral a pu être mise en évidence (Khan et al., 2000). Les récepteurs D5 sont alors retrouvés sur les NEM et les interneurones du striatum (Khan et al., 2000;Cenonze et al., 2003a). Khan et al. (2000) décrivent également une distribution du récepteur D5 spécifiquement dans les couches V et VI du cortex frontal où ce récepteur est exprimé par les neurones pyramidaux ainsi que quelques neurones non pyramidaux. En outre, le récepteur D5

est également exprimé dans le globus pallidus et l'hippocampe humain et de rongeur ainsi que dans la SNc, le thalamus, l'hypothalamus et le cervelet (Khan et al., 2000).

- *Transduction du signal suite à l'activation des récepteurs D1*

Les récepteurs de la famille D1 activent les protéines $G_{\alpha_{s/olf}}$ et G_{α_q} (Pour revues: Jaber et al., 1996;Missale et al., 1998;Neve et al., 2004;Beaulieu and Gainetdinov, 2011). La voie de signalisation principale (Fig. 11) enclenchée par l'activation de ces récepteurs passe par une augmentation du taux d'AMPc intracellulaire après activation de l'adénylate cyclase (Kebabian et al., 1972) et est engagée par l'intermédiaire de la protéine $G_{\alpha_{olf}}$ (Sidhu, 1998). L'AMPc ainsi formé activera la protéine kinase A (PKA) dont le rôle est de phosphoryler de nombreuses protéines impliqués dans la transduction du signal ou dans l'expression de gènes précoces dont la phosphoprotéine régulée par la dopamine et l'AMPc (DARPP-32) et la protéine ERK 1/2 impliquée dans l'activité motrice et la plasticité synaptique (Pour revue: Neve et al., 2004). Le récepteur D1 peut également être couplé avec la protéine G_{α_q} et aura comme conséquence l'activation de la phospholipase C (PLC) (Fig. 11) (Mahan et al., 1990). La PLC hydrolyse le phosphatidylinositol en inositol-1,2,4-triphosphate (IP3) qui permet l'augmentation de calcium dans la cellule à partir des stocks intracellulaires et active aussi la PKC. L'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium permet de même l'activation de la PKC et de facteurs de transcriptions importants dans la plasticité synaptique.

La PKA et la PKC ciblent également des canaux ioniques importants pour le fonctionnement des neurones (Fig. 11). Il a été démontré, en effet, que le récepteur dopaminergique D1 agit sur les canaux calciques de type L, N et Q (Surmeier et al., 1995;Hernandez-Lopez et al., 1997;Young and Yang, 2004), les canaux sodiques (Surmeier et al., 1992;Carr et al., 2003) ainsi que les canaux potassiques (Podda et

al., 2010) et GABAergiques (Flores-Hernandez et al., 2000) par l'intermédiaire de la PKA et de la PKC.

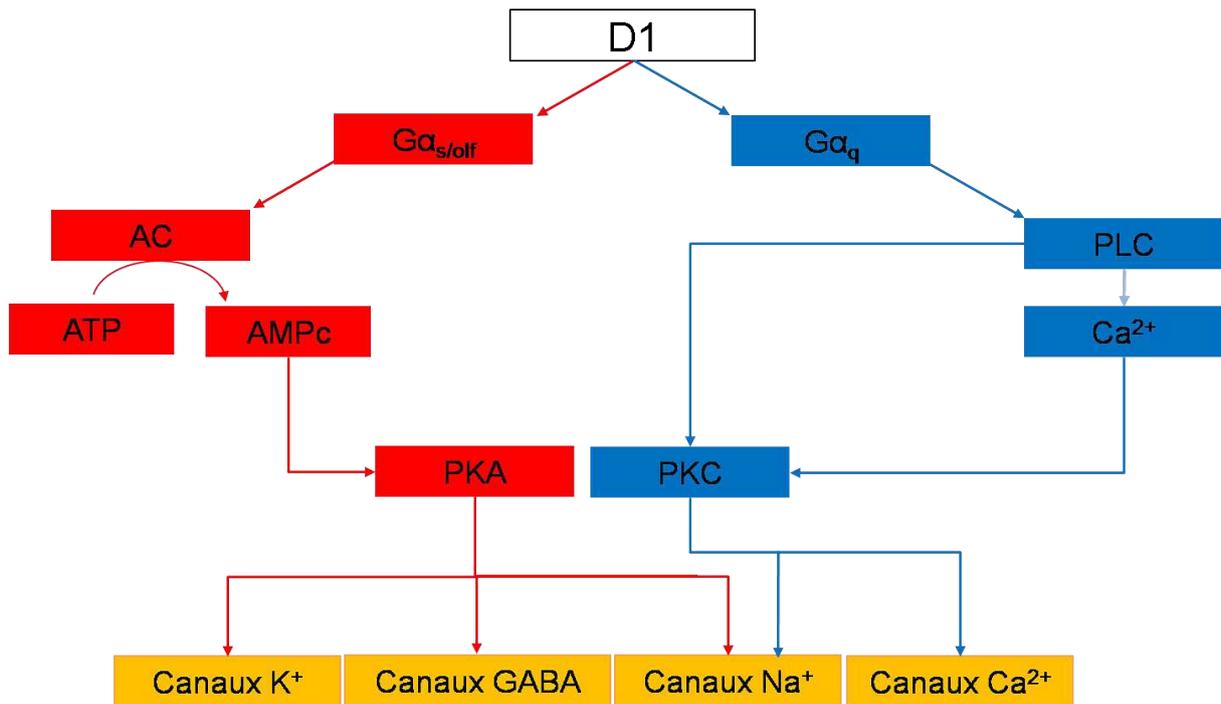


Figure 11: Cascades de signalisation déclenchées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D1. La voie de signalisation de l'AMPc impliquant la protéine $G_{\alpha s/olf}$ (rouge) est la voie majoritairement activée par le récepteur D1. Une seconde voie passant par l'activation de la PLC et la PKC (bleu) peut également être activée. AMPc: adénosine monophosphate cyclique, PKA: protéine kinase A, PKC: protéine kinase C, PLC: phospholipase C

1.2.3.2. La famille des récepteurs D2

- *Distribution des récepteurs D2 dans le cerveau*

La distribution des récepteurs de la famille D2 dans le cerveau est très similaire à celle du récepteur D1. Cependant, la densité des récepteurs est plus faible que pour les récepteurs D1. Sans surprise, le taux d'expression le plus important des récepteurs D2 se trouve dans le striatum où il est exprimé par les NEM striatopallidaux mais également par les neurones présynaptiques corticaux et thalamiques ainsi que les interneurones GABAergiques (Fisher et al., 1994) et cholinergiques (Le Moine et al., 1990). Dans le cortex, le récepteur D2 a une localisation plus restreinte que le récepteur D1. En effet, seuls les neurones de la couche V expriment le récepteur D2 (Camps et al., 1990;Weiner et al., 1991;Gaspar et al., 1995) qu'ils soient des neurones de projection (Gaspar et al., 1995;Santana et al., 2009) ou bien des interneurones GABAergiques (Santana et al., 2009).

Le récepteur D3 est exprimé à une plus faible densité que le récepteur D2 (Sokoloff et al., 1990;Levesque et al., 1992). Les taux les plus importants de récepteurs D3 se trouvent dans les îlots de Calleja chez l'Homme mais pas chez le rongeur (Landwehrmeyer et al., 1993a;b), le noyau accumbens et les tubercules olfactifs alors que le striatum contient très peu de récepteurs D3 (Landwehrmeyer et al., 1993b a). Dans les aires extrastriales du cerveau humain, le récepteur D3 est faiblement exprimé dans le globus pallidus, le thalamus, l'hypothalamus, l'amygdale, la substance noire et l'ATV (Gurevich and Joyce, 1999). Dans le cerveau de rat, en plus des régions mentionnées précédemment, le récepteur D3 a été détecté dans le cervelet et dans l'hippocampe grâce à des expériences d'analyses de ligands (Levesque et al., 1992).

La distribution du récepteur D4 ressemble à la distribution du récepteur D1 en ce sens que l'expression la plus élevée a été retrouvée dans le cortex et les autres régions extrastriales. Cependant, de très faibles niveaux d'expression ont été retrouvés dans le striatum (Primus et al., 1997). Les densités les plus importantes de liaisons à des agonistes ont été décrites dans le septum et le thalamus alors que les densités les plus faibles sont décrites dans le cortex frontal et enthorinal, l'hypothalamus et l'hippocampe. Primus et al. (1997) n'ont pas pu mettre en évidence les récepteurs D4 dans le striatum, le cervelet ou le noyau accumbens. Ces résultats sont en accord avec l'analyse de ligands, ce qui suggère le peu de présence du récepteur dans ces régions (Seeman et al., 1993; Murray et al., 1995).

- *Cascade de signalisation suite à l'activation des récepteurs de la famille*

- D2*

Les récepteurs de la famille D2 sont majoritairement couplés à la protéine $G\alpha_{i/o}$ (Pour revues: Jaber et al., 1996; Missale et al., 1998; Neve et al., 2004; Beaulieu and Gainetdinov, 2011). L'activation de cette sous-unité des protéines G inhibe l'adénylate cyclase responsable de l'activation de la PKA (Fig. 12). De même que les récepteurs D1, les récepteurs de la famille D2 modulent également le taux de calcium intracellulaire par une voie indépendante de l'AMPc et de la PKA liée à l'action de la sous-unité $\beta\gamma$ des protéines G (Fig. 12) (Hernandez-Lopez et al., 2000). Cette sous-unité, une fois séparée de la sous-unité α , a la capacité d'activer la PLC (Hernandez-Lopez et al., 2000) et d'augmenter la concentration de calcium intracellulaire ainsi que d'activer la PKC, suggérant alors que l'activation du récepteur D2 puisse agir en synergie avec le récepteur D1. Par ailleurs, la sous-unité $\beta\gamma$ est également capable de réguler directement les canaux potassiques couplés aux protéines G ainsi que les canaux calciques de type L et N et les récepteurs GABA.

De plus, la production d'IP3 par l'activation de la PLC permet une régulation des facteurs de transcriptions tels que DARPP-32 indépendante de la voie de l'AMPC.

Grâce à ces deux cascades de signalisation, le récepteur D2 module l'activité des canaux sodiques (Maurice et al., 2004), calciques (Hernandez-Lopez et al., 2000; Higley and Sabatini, 2010), potassiques (Perez et al., 2006) et GABAergiques (Pour revue: Neve et al., 2004) (Fig. 12).

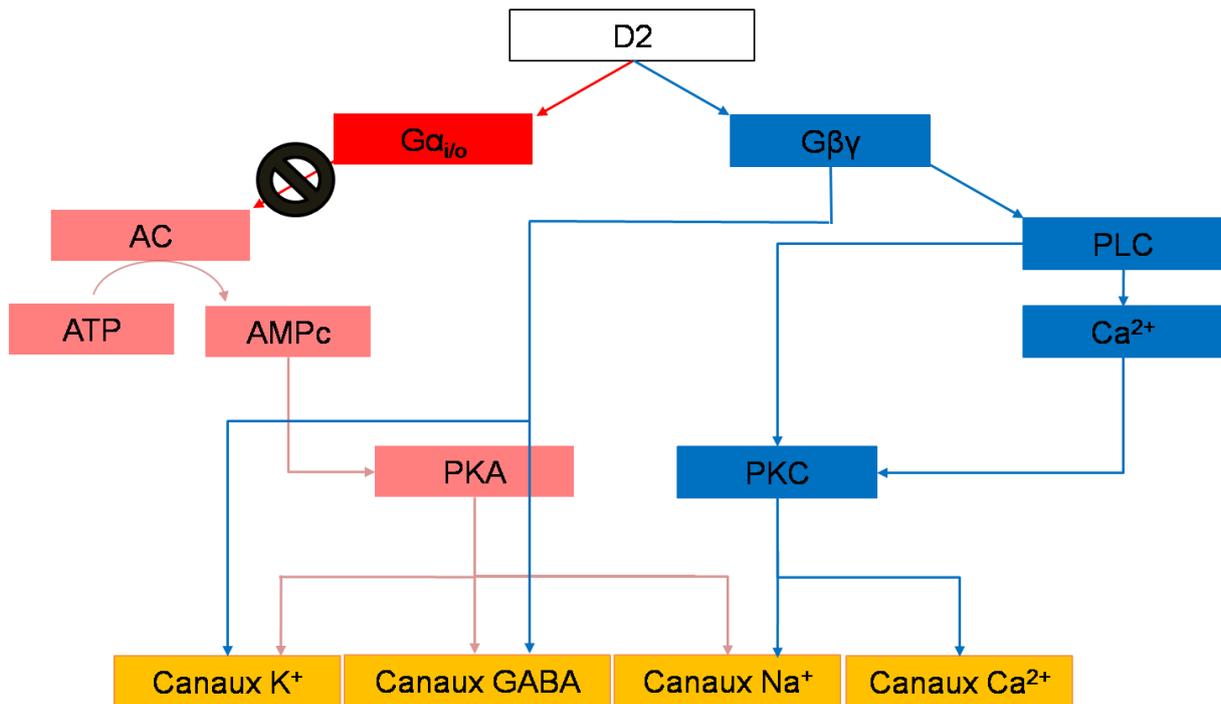


Figure 12: Cascades de signalisation déclenchées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D2. La voie de signalisation de l'AMPc est inhibée (représenté en rose) par l'activation de la sous-unité $\alpha_{i/o}$ de la protéine G, bloquant ainsi l'action de la PKA. La libération de la sous-unité $\beta\gamma$ active la PLC et la PKC. Cette sous-unité peut également directement influencer les canaux potassiques et les canaux GABA. AMPc; adénosine monophosphate cyclique, PKA: protéine kinase A, PKC: protéine kinase C, PLC: phospholipase C

1.2.4. Innervation dopaminergique des circuits moteurs

1.2.4.1. Innervation dopaminergique de M1

Dans M1, quelques études rapportent des données anatomiques suggérant une innervation dopaminergique. La présence de fibres dopaminergiques en faible densité dans la couche VI de tout le cortex dorsofrontal du rat, y compris le cortex moteur, est connue depuis plus de 25 ans (Descarries et al., 1987). La suggestion d'une innervation dopaminergique des couches de projection de M1 chez l'Homme est apportée quelques années plus tard par Gaspar et al. (1991) grâce à la comparaison des fibres positivement marquées pour la TH spécifique des neurones catécholaminergiques et des fibres positives pour la dopamine β hydroxylase (DBH) spécifique des neurones adrénérgiques. Au cours des mêmes années, plusieurs groupes différents montrent par des techniques d'hybridation *in situ* ou par l'application d'agonistes ou antagonistes spécifiques la présence des récepteurs à la dopamine dans tout le cortex cérébral de nombreuses espèces dont les rongeurs (Camps et al., 1990; Mansour et al., 1990; Weiner et al., 1991; Gaspar et al., 1995). Tous les résultats obtenus alors montrent l'occupation des couches profondes par les récepteurs dopaminergiques. Il a également été observé chez le rat que les neurones dopaminergiques qui innervent M1 proviennent d'un groupe de neurones du mésencéphale situé à l'intersection entre la SNc et l'ATV (Hosp et al., 2011). Des mesures de chromatographie liquide à haute performance (HLPC) ont montré des taux de dopamine dans le cortex moteur 50 fois moins importants que dans le striatum (Godefroy et al., 1991). Toutefois, malgré ces faibles taux, la dopamine est susceptible d'agir dans le cortex moteur. En effet, le faible taux de DAT détecté dans le cortex (Sesack et al., 1998a) pourrait permettre une recapture plus lente et donc

une diffusion plus longue de la dopamine. D'un point de vue fonctionnel, l'innervation dopaminergique module la représentation des membres dans M1 (Hosp et al., 2009; Plowman et al., 2011) ainsi que l'activité générale de M1 (Huda et al., 2001; Awenowicz and Porter, 2002; Parr-Brownlie and Hyland, 2005) et le contrôle des mouvements fins chez l'Homme (Fellows and Noth, 2004) et le rongeur (Plowman et al., 2011). Enfin, la dopamine semble jouer un rôle crucial dans l'apprentissage de nouveaux actes moteurs et dans la plasticité synaptique (Molina-Luna et al., 2009).

1.2.4.2. Innervation dopaminergique du striatum

La SNc fournit au striatum dorsolatéral une dense innervation dopaminergique qui s'étend indépendamment du compartiment striatal (Matsuda et al., 2009). De plus, les axones dopaminergiques s'étendent massivement dans la structure. En effet, Matsuda et al. (2009) ont déterminé qu'un seul neurone dopaminergique innerve jusqu'à près de 6% des neurones striataux, soit environ 75 000 neurones chez le rat. Chaque neurone striatal peut recevoir l'innervation de 95 à 195 neurones dopaminergiques de la SNc (Matsuda et al., 2009). De plus, tous les types de neurones striataux expriment les récepteurs dopaminergiques de la famille D1 ou de la famille D2. En effet, si la ségrégation des neurones de projection selon l'expression du récepteur D1 ou D2 a été bien caractérisée (Kawaguchi et al., 1990; Le Moine and Bloch, 1995; Lobo et al., 2006), la présence des récepteurs dopaminergiques D2 et D5 sur les interneurones GABAergiques et cholinergiques striataux a pu également être mise en évidence (Le Moine et al., 1990; Centonze et al., 2003a). D'un point de vue fonctionnel, la dopamine permet la modulation de l'intégration des informations corticales au niveau du striatum en modulant la transition entre l'état haut et l'état bas mais également en influençant l'activité des

interneurones. De plus, la dopamine joue un rôle prépondérant dans la plasticité synaptique dans le striatum (Pour revue: Surmeier et al., 2007).

1.3. Contrôle dopaminergique de la motricité

1.3.1. Contrôle dopaminergique du cortex moteur primaire

Les données directes concernant les effets de la dopamine sur l'activité des neurones de M1 sont rares et conflictuelles. Une série d'expériences réalisées chez le rat anesthésié (Awenowicz and Porter, 2002) et chez le chat anesthésié (Huda et al., 2001) a consisté en l'étude de l'effet de l'application iontophorétique de dopamine à forte concentration ou d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs dopaminergiques de la famille D1 ou D2 sur l'activité des neurones de M1 lors d'enregistrements extracellulaires. Les résultats obtenus ont révélé un effet globalement dépresseur de l'activité spontanée et de l'excitation glutamatergique des neurones de M1 nécessitant une activation synergique des deux familles de récepteurs dopaminergiques. En revanche, le blocage des récepteurs D2 par une injection systémique d'un antagoniste de ces récepteurs, l'halopéridol, induit une bradykinésie ainsi qu'une diminution significative de l'activité basale des neurones de M1 sans altérer leur patron de décharge (Parr-Brownlie and Hyland, 2005). De plus, le blocage des récepteurs D2 par une injection intracorticale de raclopride entraîne une diminution de la représentation corticale de la partie distale des membres antérieurs chez le rat (Brown et al., 2009; Hosp et al., 2009) ainsi qu'une augmentation du seuil de déclenchement et de la latence des mouvements évoqués par des stimulations corticales (Hosp et al., 2009). Par ailleurs, un blocage des récepteurs D1 ne modifie pas la cartographie de M1 (Hosp et al., 2009). Chez le rat ayant subi une injection unilatérale de 6-OHDA, la représentation des membres antérieurs distaux dans M1 est également significativement réduite et les habiletés motrices des membres antérieurs est altérée (Plowman et al., 2011). De plus, une

déafférentation dopaminergique spécifique de M1 altère les capacités d'apprentissage moteur chez le rat mais pas l'exécution des mouvements déjà appris (Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011), ceci étant associé à une perte du renforcement synaptique de M1 (Molina-Luna et al., 2009). Dans ces conditions, l'apprentissage moteur est rétabli après l'injection d'un agoniste D1 ou d'un agoniste D2 dans M1 (Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011). L'ensemble de ces études suggèrent donc que la dopamine joue un rôle important dans la modulation de l'activité des neurones de projections de M1, notamment dans la plasticité. Par ailleurs, alors que les différentes études s'accordent sur l'implication du récepteur D2, il semble que le récepteur D1 n'agisse pas sur l'activité des neurones de projection de M1. Néanmoins, l'action précise de la dopamine reste à déterminer.

Des pistes de réponses peuvent être suggérées en considérant les études réalisées dans d'autres structures corticales pour lesquelles l'innervation dopaminergique est bien définie. Des études électrophysiologiques *in vitro* montrent, dans le cortex préfrontal de rongeur, qu'une concentration de dopamine en dessous de 20 μ M augmente les courants NMDA dans les neurones pyramidaux de la couche V (Zheng et al., 1999) et possède un effet biphasique sur les courants postsynaptiques GABAergiques inhibiteurs (Trantham-Davidson et al., 2004). En effet, la dopamine entraîne une diminution transitoire de l'amplitude des courants inhibiteurs enregistrés dans les neurones pyramidaux suivis immédiatement par une augmentation persistante de l'amplitude de ces courants inhibiteurs (Trantham-Davidson et al., 2004). Ces résultats suggèrent donc que la dopamine peut moduler les neurones de projection ainsi que les interneurones du cortex. Néanmoins, les effets modulateurs de la dopamine sur l'activité corticale apparaissent complexes. Ainsi, l'application d'antagonistes et d'agonistes des récepteurs dopaminergiques a

révélé que l'activation du récepteur D1 est responsable de l'augmentation des courants NMDA (Zheng et al., 1999) et de l'augmentation persistante des courants inhibiteurs (Trantham-Davidson et al., 2004). De plus, l'effet inhibiteur observé lors de la première phase de la modulation bimodale des courants inhibiteurs postsynaptiques est causée par l'activation des récepteurs D2 (Trantham-Davidson et al., 2004). A une concentration de dopamine en dessous de 100 nM, il a été suggéré que la dopamine peut augmenter l'amplitude des courants GABAergiques par l'intermédiaire des récepteurs D1 (Trantham-Davidson et al., 2004). Par ailleurs, à de fortes concentrations de dopamine comprises entre 50 et 100 μ M, une diminution des courants NMDA par l'activation des récepteurs D2 est observée (Zheng et al., 1999). Il est alors intéressant de noter que le récepteur D1 pourrait augmenter l'excitabilité et la fréquence de décharge des interneurons à décharge rapide du cortex préfrontal chez le rat *in vitro* (Gorelova et al., 2002). A l'inverse, des analyses de microdialyse *in vivo* suggèrent que l'activation du récepteur D2, mais pas du récepteur D1, augmente le taux de GABA extracellulaire dans le cortex préfrontal (Grobin and Deutch, 1998) suggérant alors un rôle du récepteur D2 seulement dans l'activation des interneurons corticaux. En effet, lors d'études électrophysiologiques *in vitro*, il a été démontré que le récepteur D2 active les interneurons GABAergiques (Tseng and O'Donnell, 2004). L'application de quinpirole réduit l'amplitude des courants excitateurs postsynaptiques mesurés sur les neurones pyramidaux des couches profondes ainsi que leur excitabilité par le recrutement de courants générés par les récepteurs GABA_A (Tseng and O'Donnell, 2007).

Plus récemment, il a été démontré que l'activité des neurones pyramidaux pouvait être régulée directement par les récepteurs D1 et les récepteurs D2. En effet,

lorsque le neurone pyramidal de la couche V du cortex préfrontal *in vitro* est en train de décharger, l'application iontophorétique de brefs pulses de dopamine à de faibles intensités de courant pour mimer la libération phasique de dopamine indique un effet bimodal de la dopamine sur l'activité des neurones enregistrés dès les premières secondes d'application et ce seulement sur une courte période de temps (Moore et al., 2011). Les récepteurs D1 répondent à la libération phasique de dopamine sur une durée de 0,5 seconde par un blocage de l'émission de potentiels d'action des neurones pyramidaux en inhibant les canaux calciques localement (Zhou and Antic, 2012) par une interaction directe avec les canaux calcique de type N (Kisilevsky et al., 2008). Par la suite, la diffusion et l'élimination diminuant la concentration de dopamine, l'activation des récepteurs D2 augmente l'activité des neurones pyramidaux pendant environ 40 secondes. L'effet activateur du récepteur D2 est retrouvé par Gee et al. (2012) qui précise que lors d'une activation glutamatergique d'un groupe de neurones pyramidaux de projection, l'activation du récepteur D2 provoque une dépolarisation prolongée qui dure plusieurs secondes après l'excitation du neurone. Cette excitation passe par l'activation de conductances calciques de type L et par l'activation des récepteurs NMDA. Cette dépolarisation induite par le récepteur D2 est alors suffisante pour induire l'émission de potentiels d'action. Thurley et al. (2008) montrent, quant à eux, une augmentation transitoire de l'activité des neurones pyramidaux du cortex préfrontal par l'activation du récepteur D1. De même, Tseng et O'Donnell (2004) indiquent une facilitation des courants NMDA par le récepteur D1. Ces changements seraient dépendants de l'activation de la PKA et de la mobilisation du calcium intracellulaire. Toutefois, aucune modification de la membrane des neurones pyramidaux associée à l'activation du récepteur D1 n'a pu être mise en évidence dans cette étude.

L'ensemble de ces résultats suggèrent d'une part que la dopamine a un rôle complexe dans la régulation de l'activité corticale, pouvant moduler à la fois les neurones de projection et les interneurons corticaux par des mécanismes différents. D'autre part, ces études soulignent la difficulté d'étudier cette régulation tant les réponses observées semblent dépendantes de la concentration de dopamine utilisée. Il a en effet été démontré que la réponse du récepteur D1 était différente sur l'activité des neurones du cortex préfrontal selon la concentration de dopamine (Vijayraghavan et al., 2007). Ainsi, une trop faible dose, tout comme une trop forte dose de dopamine, entraînent une diminution de l'activité des neurones par l'intermédiaire des récepteurs D1 alors qu'une dose intermédiaire permet l'activation des neurones corticaux. Ces résultats mettent alors en évidence une réponse en U inversé du contrôle dopaminergique des neurones corticaux. Néanmoins, les études les plus récentes tendent à démontrer un effet facilitateur des récepteurs D2 et un effet inhibiteur des récepteurs D1 sur l'activité des neurones pyramidaux. Il apparaît toutefois important de pouvoir réexaminer l'ensemble de ces résultats à la lumière de méthodologies plus physiologiques. En outre, les données concernant la modulation dopaminergique des neurones de projection corticaux sont très souvent réalisées dans le cortex préfrontal de par sa très forte innervation dopaminergique. Néanmoins, malgré l'organisation commune des aires corticales, seule des suggestions peuvent être émises sur la base de ses études quant à la fonctionnalité de l'innervation dopaminergique de M1.

1.3.2. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité de M1 par l'activation des récepteurs D2

Malgré les données anatomiques suggérant la présence de fibres dopaminergiques mésencéphaliques innervant M1 et les données suggérant une

modulation dopaminergique du fonctionnement de M1, il n'existe que peu de données sur l'innervation dopaminergique de M1. En effet, les fibres dopaminergiques n'ont jamais été mises directement en évidence et la distribution des fibres au sein de M1 n'a jamais été décrite. Par ailleurs, il n'existe que très peu d'études qui se sont intéressées à la modulation directe de l'activité des neurones de M1. Au vu des rares études sur la modulation du fonctionnement de M1 par la dopamine, la caractérisation de l'innervation dopaminergique et son rôle direct dans M1 constitueraient une étape importante dans la compréhension du contrôle dopaminergique dans l'exécution de mouvements fins et dans l'apprentissage moteur.

Le but de ce projet était d'évaluer la distribution de l'innervation dopaminergique au sein de M1 chez la souris ainsi que son rôle sur l'activité des neurones de projection de M1. Pour ce faire, nous avons tout d'abord mesuré la densité de l'innervation dopaminergique de M1 chez la souris révélée par un marquage du DAT, en utilisant une technique stéréologique non biaisée. Comme les études précédentes convergent toutes vers l'implication du récepteur D2 dans la régulation de l'activité de M1, nous avons testé la régulation directe de l'activité des neurones pyramidaux de M1 par les récepteurs D2. Pour cela, nous avons réalisé des enregistrements juxtacellulaires de neurones en modulant pharmacologiquement les récepteurs D2.

1.3.3. Contrôle dopaminergique de l'activité striatale

La place cruciale occupée par le striatum dans le transfert des données corticales aux structures de sortie des ganglions de la base et son intense innervation dopaminergique en ont fait le sujet de nombreuses études destinées à

décrypter les rôles de la dopamine dans le contrôle de l'activité des neurones. A un niveau cellulaire, la dopamine module l'activité de toutes les familles de neurones du striatum, permettant ainsi une filtration efficace des informations corticales par le biais d'une modulation forte et complexe de l'activité du striatum.

1.3.3.1. Régulation du potentiel de membrane des NEM par les récepteurs D1 et D2

Nous avons vu précédemment que la membrane des NEM fluctue entre un état bas hyperpolarisé pendant lequel les neurones sont silencieux et un état haut dépolarisé pendant lequel les neurones émettent des potentiels d'action. En 2002, West et Grace ont démontré par des enregistrements intracellulaires *in vivo* que la dopamine influence l'activité des NEM de façons opposées selon que l'on considère les NEM exprimant le récepteur D1 ou les NEM exprimant le récepteur D2 (West and Grace, 2002). En bloquant l'activité du récepteur D1 par une infusion locale de SCH 23390, ils observent une diminution de la valeur maximum de dépolarisation membranaire pendant l'état "haut" ainsi qu'une diminution du temps passé par le neurone à des potentiels de membrane dépolarisés. Par conséquent, l'activité de décharge et l'excitabilité des neurones enregistrés s'en trouvent réduits. West et Grace (2002) montrent de plus que le blocage des récepteurs D1 empêche la dépolarisation des neurones à l'état bas en réponse à un courant dépolarisant suggérant alors une modulation positive de l'excitabilité par l'activation des récepteurs D1. A l'inverse, le blocage des récepteurs D2 par une infusion locale d'étiopride entraîne une augmentation globale du potentiel de membrane à l'état bas ou haut (West and Grace, 2002). En conséquence, l'excitabilité du neurone s'en trouve augmentée et une faible stimulation peut conduire à une décharge de potentiels d'action. De plus, l'amplitude maximale des potentiels postsynaptiques

excitateurs enregistrés sur les neurones exprimant le récepteur D2 en réponse à une stimulation corticale est significativement augmentée. Ces résultats suggèrent donc que l'activation du récepteur D1 résulte en un effet facilitateur de l'excitabilité des neurones qui expriment ce récepteur ainsi qu'au maintien des potentiels de membrane dépolarisés caractérisant l'état haut alors que le récepteur D2 a pour rôle le maintien des neurones à un état hyperpolarisé et le blocage des réponses synaptiques aux influx corticaux. Ces résultats ont été confirmés par une étude récente *in vitro* (Planert et al., 2013).

Les effets excitateurs ou inhibiteurs de la dopamine sur l'excitabilité des NEM sont dus à la modulation des différentes conductances ioniques par l'activation des récepteurs dopaminergiques (Fig. 13). Il s'avère en effet que le récepteur D1 exerce ses effets excitateurs en stimulant les canaux calciques de type L par l'intermédiaire de la PKA (Surmeier et al., 1995; Hernandez-Lopez et al., 1997) et en inhibant les canaux calciques de type N et P (Surmeier et al., 1995) responsables de l'activation de courants potassiques ralentissant la fréquence de décharge (Vilchis et al., 2000). Il a aussi été montré que l'activation du récepteur D1 peut entraîner le blocage de conductances potassiques (Nisenbaum et al., 1998). Néanmoins, si ces trois modulations ioniques vont dans le sens d'un contrôle positif du potentiel de membrane et de la réponse des NEM striato-nigraux par les récepteurs D1, il apparaît également que l'activation du récepteur D1 conduit à une réduction de l'activité des canaux sodiques (Surmeier et al., 1992). Il a été démontré plus tard dans d'autres structures que la phosphorylation des canaux sodiques par les protéines kinases conduit ces canaux à entrer dans un état d'inactivation lente qui rend impossible le recrutement du canal (Carr et al., 2003) permettant alors de limiter la décharge du neurone (Jung et al., 1997). Le temps de récupération peut être limité

par une hyperpolarisation membranaire (Jung et al., 1997). Ce phénomène suggère que le blocage des courants sodiques par le récepteur D1 pourrait jouer un rôle de contrôle de la réponse des NEM striato-nigraux à un potentiel postsynaptique dépolarisant induit par la stimulation corticale.

A l'inverse des récepteurs D1, les récepteurs D2 diminuent les réponses des NEM au glutamate en inhibant les courants dépolarisants des canaux calciques de type L par la mobilisation du stock intracellulaire de calcium (Hernandez-Lopez et al., 2000) ainsi que les courants calciques générés par les canaux calciques de type R (Higley and Sabatini, 2010). Les courants sodiques sont également diminués (Surmeier et al., 1992;Perez et al., 2006) conduisant à la réduction de la décharge en potentiels d'action (Perez et al., 2006). Le récepteur D2 active aussi les courants potassiques hyperpolarisants de type A (Perez et al., 2006) permettant de bloquer la dépolarisation membranaire (Nisenbaum and Wilson, 1995). Toutefois, Perez et al. (2006) suggèrent aussi que le récepteur D2 réduit l'activation des canaux KIR lorsque le potentiel de membrane atteint -80 mV permettant alors de freiner l'hyperpolarisation membranaire. En outre, Planert et al. (2013) montrent une modulation des potentiels d'action par l'activation des récepteurs dopaminergiques D2. Ainsi, l'application de dopamine sur des tranches de cerveau de souris entraîne une diminution de l'amplitude et un allongement de la durée des potentiels d'action des neurones de la voie indirecte.

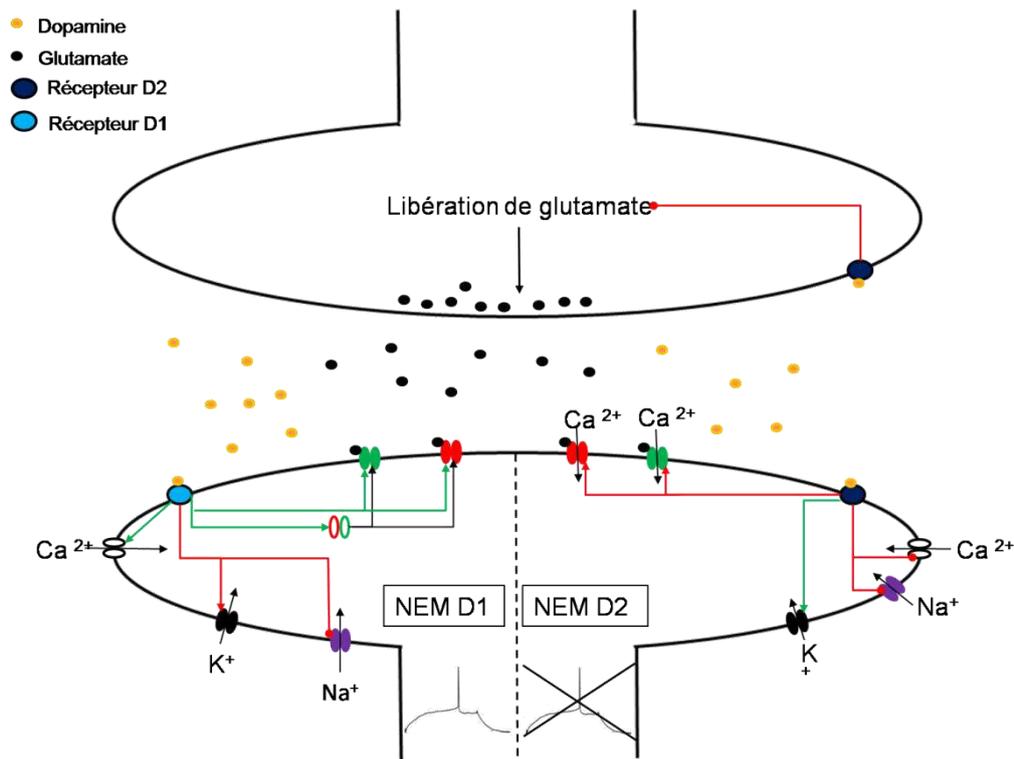


Figure 13: Modulation dopaminergique de la réponse des NEM à l'excitation glutamatergique. Lors d'une libération de glutamate, l'activation du récepteur D1 (à gauche) favorise la réponse du NEM en facilitant l'ouverture des canaux calciques de type L (blanc) et AMPA (vert) et NMDA (rouge) et en bloquant l'ouverture des canaux potassiques (noir). De plus, elle favorise l'inactivation lente des canaux sodiques (violet) pour éviter l'emballement de la réponse. L'activation du récepteur D1 favorise également l'adressage à la membrane des récepteurs AMPA et NMDA. En revanche, l'activation du récepteur D2 (à droite) bloque la réponse des NEM en inhibant l'entrée calcique et sodique et en favorisant l'entrée de potassium dans la cellule. L'activation du récepteur D2 inhibe également la libération de glutamate par une action présynaptique.

1.3.3.2. Modulation dopaminergique du traitement de l'information corticale par les NEM

La dopamine régule la synapse corticostriatale à deux niveaux. En effet, l'activation des récepteurs D1 augmente la fréquence des courants postsynaptiques excitateurs spontanés dans les neurones striato-nigraux alors que les récepteurs D2 inhibent la fréquence de ces courants (Andre et al., 2010), suggérant alors une modulation différente de la probabilité de décharge des neurones glutamatergiques présynaptiques.

Il a également été montré que l'activation des récepteurs D1 module positivement l'activité des récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA. En effet, grâce à l'application de dopamine ou de SKF 81297 sur des tranches de cerveau de souris, Snyder et al. (2000) constatent une phosphorylation importante des récepteurs AMPA sur un résidu conduisant à l'augmentation de la conductance de ce canal (Roche et al., 1996). Ces résultats sont retrouvés *in vivo* par une injection de cocaïne ou de méthamphétamine qui augmente les taux de dopamine extracellulaire (Snyder et al., 2000). Plus récemment, il a été montré dans des co-cultures de neurones de striatum ventral avec des neurones corticaux que la stimulation du récepteur D1 augmente l'adressage à la membrane des récepteurs AMPA par l'intermédiaire de la phosphorylation du récepteur AMPA par la PKA (Sun et al., 2008). De plus, l'activation des récepteurs D1 augmente également les courants postsynaptiques excitateurs générés par les récepteurs AMPA dans les neurones striato-nigraux dissociés (Andre et al., 2010). De même, le trafic, la localisation et l'activité des récepteurs NMDA sont modulés par l'activation des récepteurs D1. En effet, l'activation des récepteurs D1 de NEM en culture par du SKF 82958 entraîne

une augmentation de l'adressage et de l'inclusion des récepteurs NMDA à la membrane des neurones grâce à la phosphorylation des sous-unités des récepteurs NMDA (Hallett et al., 2006), ainsi que les courants générés par les récepteurs NMDA (Andre et al., 2010). Même si la phosphorylation des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA par les kinases recrutées par le récepteur D1 permet la modulation de leur activité, l'augmentation des courants observés pourrait être indirecte. En effet, lors d'enregistrements électrophysiologiques *in vitro* réalisées après une dialyse du cytoplasme avec des ions césium pour bloquer les flux calciques, l'activation des récepteurs D1 n'a aucun effet sur l'activité des récepteurs AMPA et NMDA (Nicola and Malenka, 1998). De plus, le blocage des canaux calciques de type L atténue la réponse des récepteurs NMDA à la dopamine (Liu et al., 2004), suggérant alors que les effets dopaminergiques peuvent se réaliser, du moins en partie, par l'intermédiaire de l'activation des canaux calciques de type L. Enfin, il a été démontré que l'activation des récepteurs D1 des neurones striato-nigraux participe à favoriser la probabilité de décharge des neurones glutamatergiques présynaptiques par une modulation du signal rétrograde véhiculé par les endocannabinoïdes (Andre et al., 2010). Par ailleurs, l'activation du récepteur D1 diminue les courants générés par les récepteurs GABA_A grâce au recrutement de la PKA (Flores-Hernandez et al., 2000) levant ainsi l'inhibition GABAergique exercée sur les NEM striato-nigraux et augmentant alors la capacité des afférences corticales de déclencher une réponse des NEM.

Il faut noter également une éventuelle modulation négative des courants AMPA par le récepteur D2 postsynaptique (Hernandez-Echeagaray et al., 2004). Cependant, une étude récente utilisant une technique de libération de glutamate au niveau des épines dendritiques proximales ne permet pas de retrouver ce résultat

(Higley and Sabatini, 2010). Selon eux, la réduction du flux calcique entrant se fait par une inhibition du récepteur NMDA. Par ailleurs, le récepteur D2, également exprimé par le neurone présynaptique, inhibe la capacité de libération de glutamate (Bamford et al., 2004a; Bamford et al., 2004b). De plus, l'importance de l'inhibition est déterminée par la fréquence de la stimulation corticale (Bamford et al., 2004b). En effet, alors qu'à une fréquence de stimulation corticale à 1 Hz, l'activation des récepteurs présynaptiques par du quinpirole n'induit aucun changement dans la fréquence ou l'amplitude des courants postsynaptiques excitateurs enregistrés *in vitro* dans les NEM, le quinpirole induit une diminution significative de la fréquence de ces courants lors d'une forte stimulation corticale à 20 Hz.

La dopamine régule donc différemment l'excitabilité et la réponse des NEM aux excitations corticales selon le récepteur exprimé. L'activation du récepteur D1 favorise la réponse au glutamate en augmentant l'excitabilité du neurone et en favorisant le passage de l'état bas à l'état haut. A l'inverse, le récepteur D2 bloque la transmission synaptique en réduisant l'excitabilité du neurone et en réduisant la capacité du neurone à se dépolariser. De plus, les récepteurs dopaminergiques D1 et D2 favorisent ou inhibent respectivement la probabilité de libération du neurone cortical présynaptique. Grâce à ces mécanismes, la dopamine peut agir comme un filtre des transmissions synaptiques glutamatergiques. Toutefois, dans l'optique de faciliter l'analyse des résultats obtenus, les auteurs des études citées ci-dessus ont isolé physiquement ou pharmacologiquement les NEM étudiés. La dopamine contrôle également l'activité des interneurons dans le striatum, complexifiant, de ce fait, le contrôle dopaminergique des informations sortantes du striatum. Dans le prochain paragraphe, nous détaillerons les effets dopaminergiques sur l'activité des interneurons GABAergiques et sur les interneurons cholinergiques striataux.

1.3.3.3. Régulation dopaminergique de l'activité des interneurons du striatum

La dopamine contrôle l'activité des interneurons striataux grâce à des mécanismes postsynaptiques et présynaptiques. Grâce à des études électrophysiologiques et à des modèles de souris KO pour un récepteur dopaminergique précis, il a pu être déterminé que l'activité des interneurons GABAergiques et des interneurons cholinergiques est modulée par des récepteurs de la famille D1 et des récepteurs de la famille D2 (Centonze et al., 2003a). Il apparaît alors que la dépolarisation membranaire (Pisani et al., 2000; Bracci et al., 2002; Centonze et al., 2003a) indépendante de la tétrodotoxine (TTX) (Aosaki et al., 1998; Centonze et al., 2003a) induite par la dopamine dans les interneurons GABAergiques (Bracci et al., 2002; Centonze et al., 2003a) et cholinergiques (Aosaki et al., 1998; Pisani et al., 2000; Centonze et al., 2003a) peut être bloqué par du SCH 23390, antagoniste spécifique des récepteurs de la famille D1 situés sur les dendrites des neurones (Centonze et al., 2003a). Par ailleurs, la dépolarisation membranaire de ces interneurons induite par la dopamine chez des souris KO pour les récepteurs D1 est bloquée par un antagoniste des récepteurs de la famille D1, le SCH 23390 (Centonze et al., 2003a), laissant à penser que l'activité des interneurons striataux est régulée plus spécifiquement par les récepteurs D5. De même, il a été démontré que l'activation des récepteurs de la famille D2 déprime les courants postsynaptiques inhibiteurs enregistrés sur des interneurons GABAergiques (Bracci et al., 2002) et cholinergiques (Pisani et al., 2000). Les courants postsynaptiques inhibiteurs mesurés sur les deux types d'interneurons par Centonze et al. (2003a) sont bloqués par la bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A lors du blocage des récepteurs glutamatergiques mais l'activation des récepteurs de la famille D2 par un agoniste des récepteurs D2, le quinpirole, ne

permet pas de réduire les effets membranaires de l'application de GABA ou de muscarine sur la membrane des interneurones (Pisani et al., 2000). De plus, Momiyama et Koga (2001) montrent que l'application de dopamine réduit la fréquence des courants postsynaptiques inhibiteurs enregistrés sur les interneurones cholinergiques mais pas leur amplitude. L'ensemble de ces résultats suggère donc que les récepteurs D2 impliqués dans le contrôle de l'activité des interneurones sont situés sur les terminaisons présynaptiques GABAergiques. Enfin, la manipulation pharmacologique du récepteur D2 dans des souris KO pour le récepteur D2 ne permet pas de retrouver ces résultats, ce qui permet de conclure que ces mécanismes sont réalisés par le récepteur D2 lui-même (Centonze et al., 2003a).

Plusieurs études ont pu révéler l'action de ces récepteurs sur les conductances ioniques des interneurones. Ainsi, l'activation du récepteur D2 permet la diminution de la fréquence de décharge des interneurones cholinergiques grâce à l'inhibition des canaux sodiques (Maurice et al., 2004). En outre, le récepteur D2 est fortement couplé aux canaux calciques de type L (Sato et al., 2014) et peut donc favoriser la fermeture de ces canaux au niveau de la terminaison présynaptique des neurones GABAergiques (Momiyama and Koga, 2001) et cholinergiques (Yan et al., 1997). Par ailleurs, l'action facilitatrice du récepteur D5 sur les neurones cholinergiques striataux se réalise par la fermeture de conductances potassiques et l'ouverture de conductances cationiques non sélectives (Aosaki et al., 1998).

1.3.3.4. Régulation dopaminergique de la plasticité corticostriatale

La plasticité synaptique correspond à un changement dans l'efficacité synaptique à long terme qui peut être induit lors de protocoles expérimentaux spécifiques et qui peut être corrélée à l'apprentissage et la mémorisation. Elle se présente sous deux formes: une potentialisation à long terme (PLT) caractérisée par

un renforcement de la transmission synaptique et une dépression à long terme (DLT) caractérisée par une diminution de la force synaptique. Ces changements peuvent être présynaptiques et correspondent à une augmentation ou une diminution de la probabilité de libération ou du quantum de neurotransmetteurs, résultant alors en une stimulation plus intense ou moins intense du neurone postsynaptique. Ces changements peuvent aussi être postsynaptiques et correspondent alors à une augmentation du nombre d'épines dendritiques ou du nombre de récepteurs au neurotransmetteur utilisé, résultant en une réponse plus forte pour une stimulation égale, ou bien en une augmentation du nombre de contacts synaptiques entre les neurones engagés dans cette plasticité.

La plasticité corticostriatale a été découverte dans les années 1990 lors d'études électrophysiologiques *in vitro*. Des stimulations téaniques de la synapse corticostriatale réalisées par Calabresi et al. (1992a;, 1992b) à une fréquence de 50 ou 100 Hz induisent invariablement une DLT dans les neurones striataux enregistrés en présence de concentration physiologique de magnésium alors que les mêmes stimulations téaniques induisent une PLT dans les neurones striataux enregistrés dans un milieu sans magnésium (Calabresi et al., 1992b). Cette plasticité corticostriatale est nécessaire à l'apprentissage de la motricité volontaire chez la souris (Koralek et al., 2012). De plus, les expériences *in vitro* montrent que le blocage des récepteurs NMDA n'affectent pas la mise en place de la DLT mais bloquent la mise en place de la PLT (Calabresi et al., 1992a). L'ensemble de ces résultats démontrent alors l'activation nécessaire du récepteur NMDA pour l'induction de la PLT corticostriatale. A l'inverse, la mise en place de la DLT est altérée par le blocage des récepteurs métabotropiques au glutamate (mGluR) (Calabresi et al., 1992a;Lerner and Kreitzer, 2012); plus précisément, l'induction de la DLT requiert l'activation des

mGluR 1 (Gubellini et al., 2001). Enfin, l'activation des canaux calciques de type L (Lerner and Kreitzer, 2012) et l'augmentation intracellulaire de calcium qui s'ensuit a également été démontré comme un élément nécessaire à la mise en place de la DLT (Plotkin et al., 2013). L'activation conjointe des mGluR et des canaux calciques de type L conduit à la production d'endocannabinoïdes qui peuvent induire une DLT présynaptique (Gerdeman et al., 2002;Gerfen and Surmeier, 2011). Les endocannabinoïdes produits diffusent alors du NEM vers la terminaison glutamatergique pour activer le récepteur aux endocannabinoïdes CB1 qui, une fois activé, diminuera la libération de glutamate. Enfin, la direction de la plasticité induite dépend de la fréquence de stimulation du neurone postsynaptique (Fino et al., 2005;Lerner and Kreitzer, 2012) et est observable dans les deux voies de sortie du striatum (Fino et al., 2005). Une stimulation haute fréquence induit une PLT alors qu'une faible stimulation induit une DLT des NEM. Donc, si la PLT semble induite seulement par une augmentation de l'excitation dans la synapse, il apparaît que la DLT puisse être induite de deux manières différentes: d'une part une stimulation faible et non synchronisée déprime la force de la transmission synaptique, d'autre part, l'excitation neuronale augmente la production d'endocannabinoïdes dont le rôle est de déprimer la libération de glutamate.

La dopamine joue un rôle modulateur important dans la plasticité corticostriatale. En effet, la DLT ne peut pas être induite *in vitro* lors de déplétion dopaminergique (Calabresi et al., 1992a;Bagetta et al., 2011) suggérant que la dopamine endogène est importante dans l'induction de la DLT. Récemment, des enregistrements électrophysiologiques *in vitro* ont démontré que l'induction de la DLT dans les NEM est bloquée par du sulpiride, un antagoniste des récepteurs D2 (Kreitzer and Malenka, 2007;Shen et al., 2008;Bagetta et al., 2011;Lerner and

Kreitzer, 2012) impliquant le récepteur D2 dans la DLT dépendante des endocannabinoïdes. De plus, ce type de DLT, observable seulement dans les neurones striato-pallidaux de souris exprimant la protéine de fluorescence verte GFP (Kreitzer and Malenka, 2007; Shen et al., 2008) en condition native, est inductible par une stimulation pharmacologique des récepteurs CB1 dans les synapses corticostriatales engageant les neurones striato-nigraux (Kreitzer and Malenka, 2007). Certains auteurs ont alors suggéré que la restriction de la DLT induite par les endocannabinoïdes n'est pas due à une expression différentielle des récepteurs CB1 présynaptiques mais à l'implication de l'activation des récepteurs D2 dans la surproduction des endocannabinoïdes et à l'incapacité d'augmenter la production des endocannabinoïdes par l'activation du récepteur D1 (Shen et al., 2008). Cependant, la DLT a pu aussi être observée dans les deux voies de sortie du striatum (Wang et al., 2006; Paille et al., 2010; Bagetta et al., 2011). En fait, Bagetta et al. (2011) ont étudié l'induction de la DLT *in vitro* chez des souris dont les neurones striato-pallidaux expriment la GFP (BAC D2) et dans des souris dont les neurones striato-nigraux expriment la GFP (BAC D1) ainsi que dans des souris contrôles. De manière intéressante, ils démontrent que les NEM des deux voies chez les souris contrôles, tout comme les neurones striato-nigraux n'exprimant pas la GFP chez les souris BAC D2, sont capables d'exprimer une DLT. En revanche, les neurones striato-nigraux des souris BAC D1 ne sont pas capables d'exprimer une DLT, ce qui laisse penser que la restriction de DLT observée par Kreitzer et Malenka (2007) pourrait être un biais expérimental dû à l'expression de la GFP. Le mécanisme par lequel le récepteur D2 augmente la production d'endocannabinoïdes n'est pas encore connu. Il a été proposé que l'activation du récepteur D2 inhibe le récepteur à l'adénosine

A2A dont le rôle est de bloquer la production d'endocannabinoïdes (Shen et al., 2008;Lerner and Kreitzer, 2012).

Les interneurones striataux ont également un rôle à jouer dans la plasticité striatale. En effet, la dopamine, via l'activation du récepteur D5, excite les interneurones SFA qui, en libérant de l'oxyde nitrique, contribuent à l'induction de la DLT dans les neurones de projection du striatum (Centonze et al., 2003b). Il apparaît également que l'activation du récepteur D2 diminue les effets excitateurs des neurones cholinergiques exercés sur les NEM par l'intermédiaire des récepteurs M1 afin de favoriser l'induction de la DLT dépendante des endocannabinoïdes (Wang et al., 2006).

Des enregistrements électrophysiologiques *in vitro* ont révélé que la PLT n'est pas inductible chez des souris KO pour le récepteur D1 (Centonze et al., 2003b). De plus, lorsque la synapse corticostriatale engageant un neurone striato-nigral est stimulée de façon à induire une PLT et que le récepteur D1 est bloqué, la PLT n'est pas seulement bloquée mais l'induction d'une DLT dépendante des endocannabinoïdes est aussi observée (Shen et al., 2008). Ces résultats suggèrent donc que l'activation du récepteur D1 est essentielle à l'induction de la PLT des neurones striato-nigraux. En outre, le fait qu'une DLT plutôt qu'une PLT se mette en place en l'absence de l'activation du récepteur D1, telle que l'on puisse l'observer dans les neurones striato-pallidaux, laisse penser que le taux basal de dopamine dans le striatum permettrait d'induire une dépression de la force de transmission synaptique. La PLT striatale serait donc mise en place lors d'un signal glutamatergique coordonné à un signal dopaminergique phasique.

1.3.4. Conséquences d'une dénervation dopaminergique

La dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriée a des conséquences dramatiques sur la motricité. Chez l'humain, elle conduit à la maladie de Parkinson dont les premiers troubles visibles sont des troubles moteurs. En effet, trois symptômes cardinaux sont observés: un ralentissement et une difficulté à initier le mouvement, respectivement bradykinésie et akinésie, mais également une rigidité des muscles ainsi que des tremblements de repos.

La découverte de molécules toxiques spécifiques des neurones monoaminergiques a permis la création de nombreux modèles animaux de la maladie de Parkinson. Parmi ces neurotoxines, la 6-hydroxydopamine (6-OHDA) et le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) sont couramment utilisés (Pour revue: Dauer and Przedborski, 2003). La 6-OHDA pénètre dans les neurones grâce au transporteur des monoamines. Une fois à l'intérieur du cytoplasme, elle génère des espèces oxygénées réactives toxiques pour le neurone. Comme cette toxine ne passe pas la barrière hématoencéphalique, elle doit être injectée localement dans la SNc ou le faisceau médian du télencéphale par stéréotaxie. Ce mode d'injection, souvent pratiquée unilatéralement, permet alors de générer des modèles hémiparkinsoniens. A l'inverse, le MPTP passant la barrière hématoencéphalique, cette toxine peut être injectée par voie veineuse et intrapéritonéale. Elle est ensuite métabolisée par la MAO B dans le cerveau et oxydée en MPP⁺. Le MPP⁺ est ensuite intégré dans les neurones dopaminergiques par le DAT où il bloque le complexe I de la mitochondrie et génère des espèces oxygénées réactives qui induiront une augmentation du nombre de protéines mal repliées ainsi qu'une auto-oxydation de la dopamine, toxique pour la cellule.

1.3.4.1. Conséquence de la dénervation dopaminergique de M1

Nous avons vu dans les chapitres précédents que M1 reçoit des informations en provenance des ganglions de la base par l'intermédiaire du thalamus. Or, l'activité des ganglions de la base est fortement altérée lors de la déplétion dopaminergique, comme observé dans la maladie de Parkinson. L'altération de l'activité des ganglions de la base par une déplétion dopaminergique sera détaillée dans une prochaine partie; toutefois, du fait de sa position fonctionnelle dans le contrôle moteur, M1 pourrait jouer un rôle important dans le traitement et la transmission des informations altérées des ganglions de la base en signes moteurs pathologiques de la maladie de Parkinson. Pour autant, peu d'études se sont employées à quantifier la nature et la sévérité de cette pathologie dans M1. Des études anatomiques réalisées sur des cerveaux de patients *post mortem* ont révélé une perte de 70% des fibres catécholaminergiques exprimant la TH mais pas la DBH de M1 (Gaspar et al., 1991), suggérant une perte de l'innervation dopaminergique de cette structure. De même, les modèles animaux de la maladie de Parkinson révèlent une perte substantielle de l'innervation dopaminergique de M1. Ainsi, après déplétion dopaminergique unilatérale, une diminution de près de 93% des fibres marquées pour la TH est observable dans M1 du côté lésé (Halje et al., 2012).

- *Altération de l'activité des neurones de projection*

La dénervation dopaminergique de M1 entraîne des altérations de la motricité fine chez les animaux (Plowman et al., 2011) ainsi que chez l'Homme (Fellows and Noth, 2004) qui pourraient être le reflet d'altérations du fonctionnement même de M1. Cependant, les études réalisées chez l'Homme ou l'animal sont divergentes selon le protocole utilisé et l'avancement de la perte de l'innervation dopaminergique. Chez

l'humain présentant une atteinte moyenne, des mesures fonctionnelles par imagerie par résonance magnétique révèle une hyperactivité de M1 (Sabatini et al., 2000). A l'inverse, une précédente étude mesurant l'utilisation du glucose chez des patients parkinsoniens traités depuis longtemps révèle un manque d'activation de M1 lors du mouvement (Rascol et al., 1994). Chez des primates ayant reçu une injection de MPTP, l'enregistrement de l'activité unitaire à un stade moyen de la dégénérescence, soit environ 50% de perte des neurones dopaminergiques de la SNc, montre une hyperactivité neuronale (Doudet et al., 1990). Enfin, chez le rat, la dénervation dopaminergique bloque l'expression du gène précoce c-fos dans les neurones corticaux (Hosp et al., 2011). Ces résultats suggèrent donc que la déplétion dopaminergique altère différemment le fonctionnement de M1 selon le stade d'avancée de la lésion.

Les études sur l'activité de M1 au repos lors de lésions dopaminergiques donnent des résultats plus convergents. En effet, l'excitabilité générale de M1 est réduite chez des patients parkinsoniens (Vacherot et al., 2010) ainsi que chez les animaux déplétés unilatéralement ou bilatéralement en dopamine (Brown et al., 2009; Viaro et al., 2011). Viaro et al. (2011) indiquent, chez des animaux lésés unilatéralement, que les altérations corticales progressent dans le temps et sont bilatérales. Viaro et al. (2011) démontrent néanmoins que les changements sont plus importants du côté lésé que du côté non lésé, qui subit une réorganisation topographique. De plus, dans un modèle de rongeur (Mallet et al., 2006) ou de singe (Pasquereau and Turner, 2011) déplétés en dopamine, l'activité générale de M1 semble diminuée. En effet, les neurones PT (Pasquereau and Turner, 2011) et IT (Mallet et al., 2006; Ballion et al., 2008) présentent une diminution de leur fréquence de décharge. En outre, il s'avère que les neurones de projection adoptent un mode

de décharge en bouffées pendant un temps plus long (Pasquereau and Turner, 2011), émettent des bouffées plus longues (Goldberg et al., 2002) et montrent une réduction des intervalles longs entre deux potentiels d'action (Mallet et al., 2006). Il semble, cependant, que la fréquence atteinte au sein d'une bouffée est plus faible que chez les animaux contrôles (Pasquereau and Turner, 2011). Par ailleurs, les neurones de M1 présentent une corrélation de décharge plus importante chez le singe ayant reçu une injection de MPTP (Goldberg et al., 2002) mais une perte progressive de la périodicité de décharge (Goldberg et al., 2002; Pasquereau and Turner, 2011). De façon intéressante, il est à noter que certains groupes de neurones gardent une décharge périodique à environ 20 Hz (Pasquereau and Turner, 2011; Valencia et al., 2014). Récemment, il a aussi été démontré que la spécificité directionnelle des réponses de M1 aux informations somatomotrices est diminuée lors d'une dénervation dopaminergique chez le singe (Pasquereau and Turner, 2013) et pourrait contribuer à l'augmentation de la rigidité musculaire observée chez les patients Parkinsoniens. Par ailleurs, la dénervation dopaminergique entraîne une augmentation de la taille des épines dendritiques des neurones IT sans modification de la fréquence ni de l'amplitude des courants excitateurs miniatures postsynaptiques (Ueno et al., 2014).

- *Altération de l'activité des circuits locaux inhibiteurs*

Il a été démontré que le blocage des conductances GABAergiques, à l'inverse de l'infusion de L-DOPA dans M1, restaure l'excitabilité et la taille de l'aire de représentation des membres antérieurs (Viaro et al., 2011), ce qui suggère alors une augmentation de l'activité des circuits locaux inhibiteurs en absence de dopamine. Toutefois, une étude chez des sujets présentant une atteinte légère à moyenne de la maladie de Parkinson révèle plutôt une diminution de l'efficacité de l'inhibition

présynaptique (Chu et al., 2009). Plus récemment, il a été suggéré qu'une partie seulement de l'inhibition intracorticale est diminuée chez les patients atteints de la maladie de Parkinson (Hanajima et al., 2011). Néanmoins, ces résultats obtenus par des méthodes de stimulations transmagnétiques ont été mis en doute par une récente étude (Ni et al., 2013) dans laquelle il est démontré que la réduction de l'inhibition observée chez les patients Parkinsoniens est en fait le résultat d'une augmentation de la facilitation corticale à court terme. Il serait alors possible que l'augmentation de la facilitation corticale résulte d'une adaptation à une inhibition trop forte.

- *Altération de la plasticité*

L'absence de l'innervation spécifique de M1 bloque l'apprentissage d'une tâche de motricité fine (Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011) chez le rat. Ces résultats obtenus chez l'animal sont cohérents avec les expériences menées chez l'humain. En effet, les patients parkinsoniens présentent une réduction de la PLT (Morgante et al., 2006; Huang et al., 2011; Kishore et al., 2011) et de la DLT (Kishore et al., 2011) quelque soit le stade de développement de la maladie et la longueur du traitement dopaminergique appliqué (Morgante et al., 2006; Huang et al., 2011; Kishore et al., 2011).

- *Conclusions: la difficulté d'appréhender les dysfonctionnements de M1 lors de la déplétion dopaminergique*

Les altérations de l'activité de M1 sont, le plus souvent, étudiées dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson ou chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Les résultats obtenus sont donc difficilement associables à une altération intrinsèque de l'activité de M1. La compréhension de l'action de la dopamine sur l'activité des neurones de M1 constituerait une étape importante dans

l'interprétation de tels résultats dans le sens où elle permettrait de séparer les effets directs des effets réseaux susceptibles d'apporter un biais important dans de telles études.

1.3.4.2. Conséquence de la dénervation dopaminergique dans le striatum

- *Dérégulation de l'activité des neurones de projection*

Des enregistrements de potentiels de champ ont révélé une augmentation de la cohérence de l'activité oscillatoire autour de 20 Hz entre le cortex moteur et le NST chez le rat ayant reçu une injection de 6-OHDA (Sharott et al., 2005) ainsi que dans la SNr (Tseng et al., 2005) et le GPe (Zold et al., 2007). La stimulation des récepteurs dopaminergiques par l'agoniste non-spécifique apomorphine rétablit la cohérence normale entre les structures (Sharott et al., 2005) donc le lien entre la déplétion dopaminergique et l'hypersynchronisation oscillatoire dans les boucles motrices formées entre le cortex et les ganglions de la base semble évident. De plus, ces résultats suggèrent que l'altération de l'activité oscillatoire de M1 par la déplétion dopaminergique se transmet aux ganglions de la base. En effet, il est intéressant de noter que l'hypersynchronisation de l'activité oscillatoire se retrouve également entre les NEM striataux et le cortex (Tseng et al., 2001). En outre, la déplétion dopaminergique induit une augmentation du couplage électrotonique entre les NEM striataux, probablement par une surrégulation des jonctions gap (Onn and Grace, 1999; Pour revue: Weinberger and Dostrovsky, 2011) ainsi qu'une perte des contacts collatéraux entre NEM (Taverna et al., 2008; Lopez-Huerta et al., 2013), suggérant l'apparition de groupes de neurones pouvant s'activer les uns les autres indépendamment. Une déplétion dopaminergique du striatum entraîne également une augmentation de l'excitabilité et de la réponse des NEM striato-pallidaux (Mallet

et al., 2006;Ballion et al., 2009) caractérisée par un état bas et un état haut plus dépolarisés et un déséquilibre dans la durée de ces états (Tseng et al., 2001). En effet, par des enregistrements intracellulaires *in vivo*, Tseng et al. (2001) ont démontré que les NEM passent moins de temps à l'état bas et plus de temps à l'état haut lors d'une déplétion dopaminergique par rapport à des animaux contrôles.

La déplétion dopaminergique induit une perte de l'inhibition des canaux calciques de type L des NEM striato-pallidaux (Day et al., 2006), expliquant leur hyperactivité. Cette déshinhibition est accompagnée d'une perte des épines dendritiques sur ces neurones (Zaja-Milatovic et al., 2005;Day et al., 2006;Suarez et al., 2014;Toy et al., 2014) ainsi qu'une perte d'environ 50% des courants postsynaptiques excitateurs générés par les afférences corticales (Day et al., 2006). Ces résultats sont incohérents avec l'augmentation de l'excitabilité des neurones de la voie indirecte. Il a été cependant décrit une plasticité importante des synapses corticostriatales et thalamocorticales allant dans le sens d'un renforcement de la force synaptique. Notamment, les synapses glutamatergiques sont significativement élargies et plus volumineuses dans un modèle de singe traité au MPTP contrairement à des singes contrôles et présentent un nombre de perforations des densités postsynaptiques plus important (Villalba and Smith, 2011), suggérant que les épines dendritiques restantes sont plus efficaces. De plus, la facilitation de l'ouverture des canaux calciques dendritiques liée à la perte de la stimulation tonique du récepteur D2 cause une augmentation de l'excitabilité des dendrites. En effet, des mesures de propagation rétrograde de potentiels d'action calciques sur les dendrites de NEM portant le récepteur D2 par imagerie calcique en condition de déplétion dopaminergique ont révélé qu'un seul potentiel d'action rétrograde peut diffuser sur une distance plus longue qu'en condition physiologique (Day et al., 2008).

L'hyperexcitabilité des neurones striato-pallidaux est également causée par une augmentation de l'activité facilitatrice cholinergique par les récepteurs muscariniques M1 (Day et al., 2008).

A l'inverse, l'excitabilité des NEM striato-nigraux diminue. Ces neurones deviennent silencieux en absence de dopamine (Mallet et al., 2006;Ballion et al., 2009). La dénervation dopaminergique entraîne également une perte de la densité d'épines dendritiques sur ces neurones (Zaja-Milatovic et al., 2005;Suarez et al., 2014;Toy et al., 2014).

L'hypersynchronisation et la plus haute probabilité de réponse des NEM striato-pallidaux accompagnée de l'hypoactivité des NEM striato-nigraux permettent alors plus facilement la transmission des informations corticales au GPe qui adopte également une activité oscillante autour de 20 Hz (Zold et al., 2012). Par ailleurs, la différence qui s'établit dans les fréquences de décharge des neurones striato-pallidaux et des neurones striato-nigraux est probablement la cause de l'akinésie et du ralentissement des mouvements observés lors d'une déplétion dopaminergique. En effet, il a été démontré qu'une activation des récepteurs D1 par l'injection d'agonistes (Paille et al., 2010) ou par des techniques d'optogénétique (Kravitz et al., 2010) rétablit une activité motrice normale.

- *Dérégulation de l'activité des interneurones*

La synchronisation aberrante et l'activité oscillatoire adoptée par les NEM striataux peut aussi être le reflet d'un dysfonctionnement des circuits locaux inhibiteurs. En effet, l'innervation des interneurones à décharge rapide est réduite de moitié sur les neurones striato-pallidaux lors d'une dénervation dopaminergique (Salin et al., 2009), suggérant alors une inhibition moins forte de ces neurones sur

les NEM. En cohérence avec ceci, un modèle informatique mettant en jeu plusieurs centaines de neurones striataux suggère que la levée de l'inhibition des NEM par les interneurones à décharge rapide suffit à faire apparaître les différences d'excitabilité des neurones de la voie directe et de la voie indirecte sans dopamine (Damodaran et al., 2014). De plus, le patron de décharge des interneurones GABAergiques de type SFA passe d'un mode de décharge tonique à un mode de décharge phasique à une fréquence d'environ 60 Hz en condition de déplétion dopaminergique conduisant à l'émission de forts courants inhibiteurs dans près de la moitié des NEM (Dehorter et al., 2009).

La dénervation dopaminergique provoque également une réorganisation de l'innervation cholinergique des neurones de projection (Salin et al., 2009). En effet, alors que les neurones cholinergiques innervent les NEM striato-nigraux et striato-pallidaux de façon égale dans un système physiologique, une innervation cholinergique cinq fois plus importante des NEM striato-pallidaux est constatée lors d'une déplétion dopaminergique. De même, la déplétion dopaminergique entraîne une diminution du contrôle de l'activité tonique des interneurones NAT par le découplage des autorécepteurs muscariniques M4 et des canaux calciques de type L (Ding et al., 2006) conduisant le neurone NAT à décharger de manière phasique *in vitro* (Ding et al., 2006). Il est également intéressant de noter que l'activité des interneurones NAT se synchronise et adopte également un rythme oscillatoire proche de 20 Hz *in vivo* après une déplétion dopaminergique (Raz et al., 1996). L'ensemble de ces résultats expliquerait alors l'hyperactivation des NEM de la voie indirecte.

- *Dérégulation de la plasticité corticostriatale*

Une dénervation dopaminergique quasi complète du striatum, comme observée lors d'un stade avancée de la maladie de Parkinson, induit une altération

de la plasticité striatale. Cette altération est causée par la modification de l'activité glutamatergique présynaptique et par l'altération dendritique traitées dans le chapitre précédent. Les études s'accordent en effet sur une perte de la DLT (Calabresi et al., 1992a; Kreitzer and Malenka, 2007; Paille et al., 2010; Bagetta et al., 2011) ainsi que de la PLT (Paille et al., 2010). Comme la maladie de Parkinson correspond à une neurodégénérescence lente de la voie dopaminergique nigrostriée, il est intéressant de noter que l'altération de la plasticité est différente selon le degré de dénervation dopaminergique (Paille et al., 2010). Ainsi, une dénervation dopaminergique incomplète n'altère pas la DLT alors qu'elle bloque complètement la mise en place de la PLT (Paille et al., 2010). La perte de la DLT des neurones striato-pallidaires pouvant être rétablie par un blocage de l'enzyme de dégradation des endocannabinoïdes accompagné de la stimulation des récepteurs D2 ou par la stimulation des récepteurs D2 uniquement (Kreitzer and Malenka, 2007) ou par la co-activation des récepteurs D1 et D2 (Calabresi et al., 1992a) suggère alors que la seule perte de dopamine est responsable de l'incapacité d'induire une DLT de ces neurones. A l'inverse, la perte de la PLT a été mise en relation avec des réarrangements postsynaptiques des récepteurs NMDA. Lors d'une dénervation dopaminergique incomplète chez le rat mimant les stades précoces de la maladie de Parkinson, l'altération synaptique observée dans les NEM striataux est également accompagnée par une augmentation importante de la sous-unité NR2A du récepteur NMDA (Paille et al., 2010). Lors d'une déplétion complète de l'innervation dopaminergique mimant les stades tardifs de la maladie de Parkinson, les études réalisées sont divergentes. En effet, alors que Paille et al. (2010) montrent une diminution de l'expression de la sous-unité NR2A sans modification des autres sous-unités, une étude récente propose une augmentation importante de l'expression de surface de la sous-unité NR2B et de

la sous-unité NR1 (Gan et al., 2014). Une étude plus ancienne fait, quant à elle, état d'une diminution spécifique de la sous-unité NR2B chez des rats traités à la 6-OHDA ainsi que d'une diminution de l'expression des protéines associées au trafic des sous-unités des récepteurs NMDA (Gardoni et al., 2006). Même s'ils divergent, ces résultats suggèrent néanmoins une altération importante de la composition des récepteurs NMDA. De façon intéressante, la restauration de la PLT par l'activation du récepteur D1 passe par un rééquilibrage de la composition des récepteurs NMDA (Paille et al., 2010) suggérant alors que l'altération de la structure protéique de la synapse est responsable de la perte de la PLT.

1.3.4.3. Traitements de la maladie de Parkinson: actualité et perspectives

- *Traitements actuels de la maladie de Parkinson*

Détailler l'ensemble de l'arsenal thérapeutique existant actuellement pour traiter la maladie de Parkinson et les mécanismes d'action de ces traitements dépasse le cadre de ma thèse. Néanmoins, une partie de mes travaux de thèse a consisté à étudier les bénéfices thérapeutiques des greffes de neurones dopaminergiques dans un modèle murin de la maladie de Parkinson. Ce chapitre a donc pour but de rappeler quelques notions importantes sur les principaux traitements utilisés et les effets secondaires associés justifiant la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Actuellement, aucun traitement de la maladie de Parkinson ne permet de réduire la neurodégénérescence ou bien de rétablir les voies dopaminergiques lésées (Pour revue: Meissner et al., 2011). Les traitements pharmacologiques utilisés sont donc symptomatiques et centrés, bien souvent, sur le remplacement de la dopamine par des prises orales de L-DOPA associés à des inhibiteurs des enzymes

de dégradation de la dopamine. Malgré une grande efficacité à rétablir les altérations motrices causée par la maladie de Parkinson et son coût peu élevée, la L-DOPA est inefficace pour réduire certains symptômes tels que l'altération du langage, de la posture et de l'équilibre (Pour revue: Rascol et al., 2003). Plus important, il apparaît que la L-DOPA aggrave certains symptômes non moteurs associés à la perte de l'innervation dopaminergique telle que les hallucinations ou les altérations cognitives (Pour revue: Rascol et al., 2003). De plus, si le traitement à la L-DOPA améliore considérablement la qualité de vie au début du traitement, près de la moitié de patients développent des dyskinésies induites par la L-DOPA après 5 ans de traitement (Rascol et al., 2000) puis près de 75% des patients développent ces troubles 10 ans après le début du traitement (Hauser et al., 2007). Le développement de ces dyskinésies est notamment due à la libération trop importante de dopamine dans le système après la prise médicamenteuse de L-DOPA mais une récente étude a également mis en évidence un rôle direct de la L-DOPA dans le développement de ces dyskinésies chez le singe traité au MPTP (Porrás et al., 2014). En parallèle de ces dyskinésies, l'efficacité de la L-DOPA diminue au cours du temps et les patients expérimentent des fluctuations motrices caractérisées par des transitions rapides entre des capacités motrices rétablies par le traitement et des phases d'immobilité lorsque la dose médicamenteuse n'est plus suffisamment efficace (Pour revue: Cenci et al., 2011). Les fluctuations motrices les plus communes sont causées par une diminution de l'efficacité d'une dose thérapeutique dans le temps.

Des stratégies ont été développées afin de réduire le développement des dyskinésies comme l'utilisation d'agonistes des récepteurs dopaminergiques en première intention. Malgré la réduction du développement des dyskinésies à 5 ans (Rascol et al., 2000) et 10 ans (Hauser et al., 2007), ces médicaments montrent les

mêmes effets négatifs que la L-DOPA (Pour revue: Rascol et al., 2003). Parallèlement au développement de stratégies thérapeutiques, une technique visant à diminuer l'hyperactivité du NST a été développée par Benazzouz et al. (1993). En effet, ils démontrent qu'une stimulation à haute fréquence du NST parvient à réduire la bradykinésie et la rigidité musculaire observées chez le singe traité au MPTP. Appliquée chez l'Homme, la stimulation cérébrale profonde bilatérale du NST améliore les conditions de vie du patient tout en permettant de réduire voire d'arrêter totalement les traitements médicamenteux (Benabid et al., 2000). Néanmoins, la mise en place des électrodes de stimulation est compliquée et n'est efficace que lorsque le sujet est encore jeune, répond bien au traitement à la L-DOPA et ne présente aucun trouble cognitif (Pour revue: Kocabicak et al., 2012). Par ailleurs, des troubles psychiatriques, telles que des manies et des dépressions, ont été observés chez certains patients ayant bénéficié de cette intervention (Pour revue: Kocabicak et al., 2012).

Malgré la démonstration de leur utilité dans l'amélioration des conditions de vie du patient, les thérapeutiques actuelles de la maladie de Parkinson ne permettent donc pas d'enrayer le processus neurodégénératif et présentent des effets secondaires à court et à long terme ou des conditions d'applications drastiques. C'est pourquoi la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre la maladie de Parkinson constitue un enjeu majeur pour la recherche en neurosciences.

- *Traiter la maladie de Parkinson par la thérapie cellulaire: déboires et perspectives*

Le remplacement des cellules lésées par des greffes neuronales constitue une nouvelle approche thérapeutique intéressante concernant le traitement de la maladie

de Parkinson. Au début des années 1990, des études cliniques se sont employées à implanter des cellules provenant de tissu du mésencéphale de fœtus dans le striatum d'un petit nombre de patients parkinsoniens pour tester l'innocuité et l'efficacité de la transplantation de neurones dopaminergiques fœtaux dans le traitement de la maladie de Parkinson (Lindvall et al., 1992;Widner et al., 1992). Une partie des patients bénéficiaires de ces greffes ont alors montré une récupération significative de leurs habilités motrices ainsi que la réduction voire l'arrêt des traitements dopaminergiques, même à très long terme (Kefalopoulou et al., 2014). Cependant, même si les études cliniques qui ont suivi ont démontré que les neurones transplantés survivent et s'implantent dans le cerveau de l'hôte (Mendez et al., 2008) et sont capables de libérer de la dopamine dans le striatum (Kefalopoulou et al., 2014), un petit pourcentage de neurones transplantés présentent des agrégats protéiques caractéristiques de la maladie de Parkinson (Mendez et al., 2008). En outre, certaines études cliniques peinent à montrer une récupération significative des troubles parkinsoniens chez des patients âgés (Freed et al., 2001). Par ailleurs, certains patients présentent également des dyskinésies induites par le greffon (Pour revue: Gaillard and Jaber, 2011).

Un des facteurs pouvant contribuer à l'ensemble de ces problèmes est la place ectopique du greffon qui pourrait exposer les cellules greffées à un environnement défavorable comprenant un manque de facteurs trophiques spécifiques essentiels à la survie des neurones greffés. Par ailleurs, leur placement ectopique dans le striatum ne leur permet pas de recevoir les afférences régulatrices de la SNc et ne restaure pas les boucles motrices physiologiques. La raison pour laquelle ces études ont consisté à implanter les neurones dans le striatum réside dans l'idée que les neurones dopaminergiques embryonnaires greffés dans un

cerveau adulte n'auraient pas eu la capacité d'émettre des axones suffisamment longs pour atteindre le striatum. En 2009, notre groupe a démontré dans un modèle de souris traitée à la 6-OHDA que cette idée est fautive (Gaillard et al., 2009). En effet, l'utilisation de suspensions de neurones dopaminergiques issus du mésencéphale ventrale de fœtus de souris exprimant la GFP a permis de montrer qu'une fois greffés dans la SNc, ces neurones sont capables de rétablir point à point les connections avec le striatum dorsolatéral. De plus, le dosage de dopamine dans le striatum a révélé que ces neurones rétablissent le taux de dopamine striatal à 33% du taux de dopamine striatal mesuré chez les souris contrôles. Enfin, les souris ayant reçu cette greffe homotopique voient leur score réduit de 94% au test de rotation induit par l'apomorphine. L'ensemble de ces résultats démontrent alors que la greffe homotopique dans la substance noire compacte de neurones dopaminergiques fœtaux est capable de rétablir l'anatomie des voies dopaminergiques perdues lors de la lésion et donne naissance à des neurones fonctionnels. Il reste maintenant à déterminer si le contrôle exercé par ces neurones permet de rétablir l'activité électrophysiologique des NEM striataux et si la greffe homotopique des neurones dopaminergiques apporte un bénéfice plus important que la greffe ectopique.

1.3.5. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle murin de la maladie de Parkinson

En continuité des travaux antérieurs réalisés dans le laboratoire, l'objectif de cette étude est d'évaluer le bénéfice de la greffe intra-striatale et le bénéfice de la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques de mésencéphale ventral dans un modèle animal de la maladie de Parkinson. Le modèle animal de la maladie de Parkinson a été obtenu chez la souris adulte par une injection unilatérale de 6-OHDA au niveau de la substance noire. Trois semaines après la lésion, les neurones

dopaminergiques exprimant la GFP ont été transplantés au niveau de la SNc ou du striatum pour comparaison. Pour ce faire, nous avons caractérisé l'activité des neurones de projection du striatum chez des souris contrôles, lésées et bénéficiant d'un transplant intra-striatal ou intra-nigral de neurones dopaminergiques embryonnaires par des enregistrements électrophysiologiques chez l'animal anesthésié.

2. Choix des techniques

2.1. Procédures électrophysiologiques

Pour acquérir des informations sur la fonctionnalité des réseaux cérébraux, plusieurs techniques s'offrent à l'expérimentateur. Il est possible d'extraire la région d'intérêt et de l'isoler pour l'analyser *in vitro* ou bien d'accéder aux structures cérébrales *in vivo* sur l'animal vigile ou anesthésié. La technique *in vitro* permet un accès plus aisé aux cellules d'intérêt ainsi qu'un contrôle fin et une manipulation plus libre des conditions expérimentales. En effet, puisque les tranches de cerveau baignent dans un milieu extracellulaire préparé par l'expérimentateur, il est aisé de moduler la composition de ce milieu de façon très précise et/ou d'ajouter des produits pharmacologiques pour influencer l'activité des structures. De plus, l'acquisition des données se fait à l'aide d'un microscope, ce qui permet de distinguer les neurones d'intérêt sur des critères morphologiques. Cette technique permet également d'accéder à des caractéristiques intrinsèques des neurones et permet l'étude et la manipulation des différentes conductances et des différents courants qui régulent ces caractéristiques. Cependant, la limite principale de cette technique réside dans le fait que l'expérimentateur isole complètement le système d'intérêt de sa localisation biologique et s'affranchit entièrement des relations complexes et des dynamiques physiologiques fonctionnelles qui existent entre les structures.

Les expérimentations *in vivo* permettent l'étude de l'activité des neurones d'une structure dans un contexte plus physiologique en conservant au maximum l'intégrité des réseaux neuronaux. Ces techniques *in vivo* permettent l'étude de l'activité générale des structures grâce à l'enregistrement de potentiels de champs

incluant un grand nombre de neurones ou bien l'étude de l'activité unitaire de neurones par des enregistrements extracellulaires ou intracellulaires. Chez l'animal vigile, l'implantation préalable d'électrodes dans les structures d'intérêt permet l'étude de l'activité des neurones lorsque l'animal interagit avec son environnement ou lors de tests comportementaux. Bien qu'extrêmement intéressante car se rapprochant au mieux des conditions naturelles de fonctionnement du cerveau, il reste cependant difficile de moduler localement l'activité des neurones lors des expériences. L'analyse électrophysiologique des neurones chez l'animal anesthésié permet, quant à elle, cette modulation locale par l'application d'agonistes ou d'antagonistes par l'expérimentateur bien que l'état des réseaux neuronaux lors de l'anesthésie soient différents de chez l'animal vigile. Les limitations principales des différentes techniques *in vivo* résident dans la difficulté d'accéder aux neurones et de distinguer les différentes familles de neurones enregistrées ainsi que dans l'incapacité de contrôler les modifications du milieu extracellulaire. Néanmoins, il existe plusieurs techniques additionnelles qui permettent d'aider à distinguer les familles neuronales. Il est en effet possible d'insérer une électrode de stimulation dans un noyau cible de la structure d'intérêt afin de repérer les neurones de projection par l'enregistrement de réponses antidromiques. Cette technique consiste à stimuler l'axone du neurone pour induire un potentiel d'action qui se propagera vers le corps cellulaire. La latence qui s'écoule entre la stimulation et l'enregistrement de la réponse possède une variabilité très faible qui permet d'identifier les neurones. Les enregistrements extracellulaires peuvent également être couplés à l'injection juxtacellulaire de neurobiotine dans le neurone (Pinault, 1996). Ce marqueur est alors injecté à l'aide d'un courant qui excite le neurone puis révélé *a posteriori*. Cette technique possède un faible rendement mais permet tout de même de relier des caractéristiques

électrophysiologiques spécifiques dans des conditions expérimentales données à des caractéristiques anatomiques décrites dans la littérature.

Pour caractériser la modulation de l'activité des neurones pyramidaux de projection de M1 par l'activation pharmacologique des récepteurs D2, nous avons besoin d'une technique permettant de mesurer l'activité basale des neurones que nous pourrions moduler par l'injection d'agonistes ou d'antagonistes dopaminergiques. Nous avons porté notre choix sur l'enregistrement extracellulaire de l'activité unitaire des neurones *in vivo* sur l'animal anesthésié notamment pour pouvoir appliquer localement les agonistes et antagonistes dopaminergiques en s'affranchissant de la modulation des réseaux sous-corticaux qui influencent M1. Lors de ce projet, nous avons décidé d'identifier les neurones pyramidaux par une injection juxtacellulaire de neurobiotine. Toutefois, pour pallier au faible taux de réussite de cette technique, nous avons décidé d'opérer une stimulation antidromique du striatum ipsilatéral au site d'enregistrement. Grâce à cela, nous avons pu mettre en évidence des caractéristiques électrophysiologiques spécifiques aux neurones de projection de M1 dans nos conditions.

La deuxième partie de ma thèse a consisté à mesurer les caractéristiques électrophysiologiques des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou dans la SNc. Ces neurones embryonnaires expriment la GFP sous contrôle du promoteur de la TH. L'innervation dopaminergique dans le striatum cible différents types de neurones, il était donc important de garder les réseaux neuronaux intègres. Nous avons donc utilisé la technique d'enregistrement extracellulaire pour ce projet. Comme les NEM sont silencieux chez l'animal anesthésié, nous avons stimulé le cortex moteur ipsilatéral au site d'enregistrement pour enregistrer les réponses des neurones striataux. Afin

de différencier les différents types de neurones striataux, nous avons choisi, comme précédemment, d'opérer des marquages par injection juxtacellulaire de neurobiotine. Dans ce projet, nous avons également décidé d'opérer une stimulation antidromique d'une région cible des NEM: la SNr. Grâce à cela, nous tirerons les caractéristiques électrophysiologiques de ce type de NEM afin de distinguer entre les neurones striato-pallidaux et striato-nigraux.

2.2. Injections pharmacologiques d'agonistes ou d'antagonistes

La modulation pharmacologique de l'activité des neurones par l'injection d'agonistes ou d'antagonistes peut s'opérer de diverses manières. La première méthode est une injection intrapéritonéale des produits pharmacologiques en solution. Ce type d'injection entraîne un délai de plusieurs minutes entre le moment de l'injection et les premiers effets enregistrés. De plus, cette méthode est très peu spécifique puisque, véhiculée par la circulation sanguine, la solution injectée agit sur toutes les structures qui contiennent des récepteurs à l'agent pharmacologique injecté. Elle a toutefois l'avantage d'être simple à mettre en place. Nous l'avons donc utilisé dans un premier temps pour vérifier que la dopamine avait une influence sur M1. Pour cibler spécifiquement une région cérébrale, il est possible d'injecter localement l'agoniste ou l'antagoniste soit par pression d'air, soit par la technique d'iontophorèse qui consiste à le diffuser au moyen d'un courant électrique. Ces techniques d'injection requièrent l'introduction d'une deuxième pipette à proximité de la pipette d'enregistrement ou l'utilisation de pipettes à plusieurs tubes. Comme l'injection d'un courant électrique dans un tissu excitable tel que le cerveau peut entraîner d'éventuels biais dans les enregistrements, nous n'avons pas retenu cette

solution pour l'injection locale d'agonistes dopaminergiques dans le premier projet et avons préféré injecter nos produits pharmacologiques par pression d'air.

2.3. Analyse stéréologique de l'innervation dopaminergique

La stéréologie regroupe un ensemble de techniques qui permet d'évaluer de façon non biaisée un nombre d'objets dans un volume à partir des mesures réalisées dans une partie seulement de ce volume. Les méthodes modernes de stéréologie sont basées sur l'étude des intersections aléatoires entre une sonde de forme géométrique et l'objet d'intérêt. Pour estimer des longueurs dans un objet en trois dimensions, Smith et Guttman (1953) ont démontré que la longueur totale d'objets linéaires par unité de volume, soit la densité de longueur L_V , pouvait être estimée par la valeur moyenne du nombre d'intersections entre l'objet linéaire et des plans aléatoires, uniformes et isotropes selon la formule suivante:

$$L_V = 2 \cdot \frac{\sum Q}{\sum A} \quad (1)$$

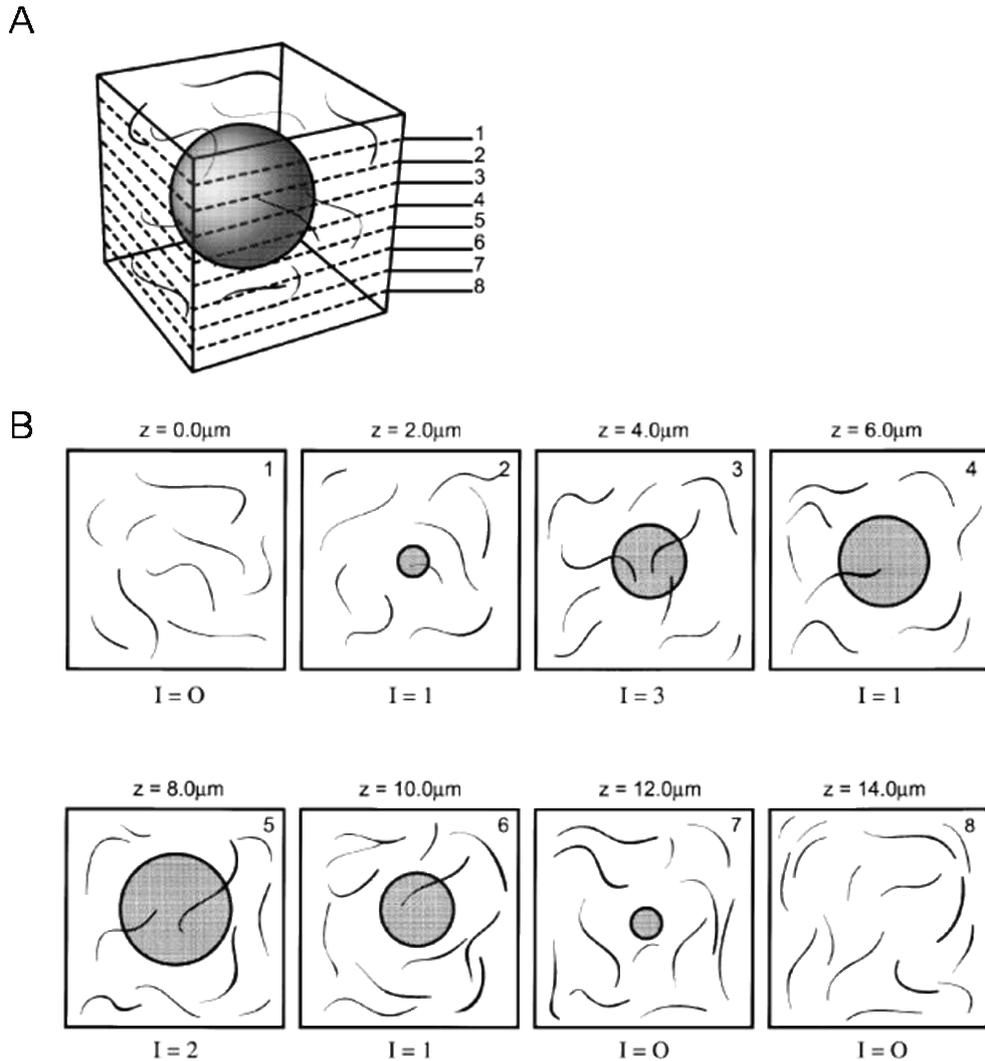
Où $\sum Q$ est le nombre d'intersections aléatoires, $\sum A$ est l'aire de la sonde (plan)

Gundersen (1979) a par la suite démontré cette approche pour des objets linéaires dans des coupes de tissus comportant une épaisseur. La nécessité d'obtenir des intersections entre l'objet et la sonde qui soient isotropes a néanmoins limité une application plus étendue de l'équation (1). Obtenir de telles intersections nécessite en effet que la sonde ou les objets linéaires possèdent des orientations isotropes, c'est à dire que toutes les directions de l'espace que peuvent occuper la sonde ou l'objet aient la même probabilité. Comme les objets biologiques sont de nature anisotrope, une attention spéciale est requise pour assurer des intersections isotropes incluant l'utilisation de sections isotropes uniformes aléatoires (Gundersen,

1979) ou de sections verticales uniformes et aléatoires (Baddeley et al., 1986). En 1990, Ghokale a démontré qu'une combinaison de sections verticales et de cycloïdes permettait une estimation sans biais de L_V totale à partir d'images projetées des objets linéaires (Gokhale, 1990). Mais, dans des coupes de cerveaux, les repères anatomiques sont difficiles à reconnaître après une rotation autour d'un ou de plusieurs axes, comme exigée respectivement par les méthodes qui utilisent des plans verticaux ou des plans isotropes aléatoires uniformes. Pour contourner ce problème, Larsen et al. (1998) ont développé une méthode reposant sur l'utilisation de plans isotropes virtuels pour sonder des objets linéaires dans des coupes d'épaisseur connue. La limitation principale de cette méthode réside dans l'existence de règles de quantifications complexes dans les différents plans focaux de l'axe Z ainsi que le balayage impossible de microstructures par de nombreuses sondes. La méthode que nous avons utilisée pour estimer la longueur totale des fibres dopaminergiques dans M1 et dans le cortex cingulaire est celle décrite par Mouton et al. (2002). Cette technique repose sur la mesure des intersections entre des objets linéaires et des sondes virtuelles sphériques uniformément réparties dans les structures d'intérêt (Fig. 14). De par la nature isotrope de la surface des sphères, le résultat est indépendant de l'orientation de la coupe. De plus, cette technique ne requiert pas de rotations autour d'un ou plusieurs axes comme dans les méthodes précédemment présentées.

Néanmoins, cette technique nécessite un signal qui perdure dans le temps. En effet, les mesures ne peuvent être réalisées qu'en direct et non sur photographies. Classiquement, le marquage des neurones dopaminergiques s'effectue par l'intermédiaire d'un anticorps dirigé contre la TH. Toutefois, cette protéine révèle toutes les fibres catécholaminergiques et ne constituait pas, pour nous, la meilleure

cible. Ainsi, pour caractériser anatomiquement l'innervation dopaminergique de M1, nous avons choisi d'utiliser un anticorps dirigé contre le DAT, uniquement exprimé par les neurones dopaminergiques. Pour obtenir un signal non labile dans le temps, nous avons donc utilisé une réaction chromogène grâce à la 3-3'-diaminobenzidine (DAB).



Mouton et al. 2002

Figure 14: Représentation schématique de la quantification stéréologique par des sphères virtuelles (Mouton et al., 2002). Une sphère virtuelle de rayon connu est apposée dans l'épaisseur de la coupe (A). Ainsi, pour chaque plan focal, l'expérimentateur peut déterminer le nombre d'intersections de l'objet linéaire avec la section de la sphère contenue dans le plan focal (B).

3. Matériel et méthodes

3.1. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité de M1 par l'activation des récepteurs D2

3.1.1. Animaux

Toutes les expériences menées sur les animaux ont été conduites en conformité avec les règles établies par le Ministère Français de l'Agriculture et de la Forêt (Décret 87849) et les directives de l'Union Européenne (2010/63/EU). Toutes les mesures nécessaires à la limitation du nombre d'animaux ainsi que la limitation de leur souffrance ont été prises en compte. Des souris femelles C57/Bl6 (Janvier, France) ont été maintenues dans des cages ventilées sous un cycle jour/nuit de 12h. De plus, les animaux ont eu accès à de l'eau et de la nourriture *ad libitum*.

Afin d'étudier le rôle de la dopamine sur l'activité des neurones de projection de M1, nous avons choisi de travailler sur la souris adulte (3 à 6 mois) pour éviter les biais expérimentaux liés aux différences structurelles des cerveaux en cours de développement ou liés au vieillissement naturel du cerveau.

3.1.2. Procédures électrophysiologiques

3.1.2.1. Anesthésie et chirurgie

Avant la chirurgie, les souris ont été profondément anesthésiées grâce à une injection intrapéritonéale (i.p.) d'Uréthane (1,8 g/kg) avant d'être installées sur un cadre stéréotaxique (LPC, France). L'efficacité de l'anesthésie a été contrôlée par l'examen du réflexe nociceptif induit par un pincement de la queue puis de la patte. Durant toute la durée de l'expérience, la température de la souris a été maintenue à

37°C grâce à un coussin chauffant équipée d'une sonde rectale. En cas de besoin, une dose additionnelle d'Uréthane (0,25 g/kg, i.p.) a été administrée quelque soit l'avancement de l'expérience. Un atlas stéréotaxique de souris a été utilisé pour placer les différentes électrodes et stimulations dans le cerveau des souris (Paxinos and Franklin, 2001).

3.1.2.2. Procédures électrophysiologiques

Les enregistrements extracellulaires ont été réalisés à l'aide d'électrodes étirées à partir de capillaires en borosilicate (GC 150 F, Harvard Apparatus, Angleterre) avec une étireuse P-97 Flaming Brown (Sutter Instrument, USA). L'extrémité de l'électrode a ensuite été cassée à un diamètre de 2 μm puis l'électrode a été remplie avec une solution de chlorure de sodium (NaCl) 0,4 M contenant 2,5% de neurobiotine (Vector Labs, USA). Les électrodes avaient une résistance *in vivo* comprise entre 12 et 20 M Ω . Les électrodes d'enregistrement ont été descendues dans M1 (1,3-1,5 mm latéral au bregma et 1,0-1,5 mm antérieur au bregma) à une profondeur de 0,65 mm à 1 mm à partir de la surface du cerveau. Le signal obtenu est d'abord amplifié 10 fois, filtré (300 Hz-10kHz) puis encore amplifié 100 fois (MultiClamp 700-B, Axon Instruments, USA). Enfin, le signal est digitalisé (Micro 1401 mk II, Cambridge Electronics, Angleterre) puis acquis sur ordinateur grâce au logiciel Spike2 7.0 (Cambridge Electronics, Angleterre). A la fin de l'enregistrement, les neurones enregistrés sont marqués par une injection juxtacellulaire de neurobiotine (Vector Labs, USA) comme décrit par Pinault (1996). Brièvement, des pulses de courant positifs (250 ms, 2 Hz) sont appliqués à des intensités de courant croissantes (1-5 nA) jusqu'à induire une décharge importante du neurone. Immédiatement après l'injection de neurobiotine, les souris toujours anesthésiées ont été perfusées avec 150 mL de NaCl 0,9% et 250 mL de paraformaldéhyde (PFA) 4%

à l'aide d'une canule placée dans le ventricule gauche de la souris. Les cerveaux prélevés sont ensuite post-fixés 24 heures dans du PFA 4% à 4°C puis placés dans une solution de saccharose 30% à 4°C pour cryoprotection. Des coupes coronales de 40 µm contenant M1 sont par la suite réalisées grâce à un cryostat (CM 3050 S, Leica, Allemagne). Pour révéler la neurobiotine, les coupes sont rincées 3 fois dans une solution tampon phosphate (*Phosphate Buffer Saline, PBS*) 0,1 M puis les sites aspécifiques sont bloqués dans une solution de blocage composée de PBS 0,1 M contenant 3% d'albumine sérique bovine (*Bovine Serum Albumin, BSA*) et 0,3% de Triton X-100 puis incubées toute la nuit à 4°C dans un nouveau bain de solution de blocage contenant de la streptavidine Alexa 568 (Invitrogen, USA) diluée au 1/800 dans du PBS à 4°C. Les coupes sont ensuite rincées 3 fois dans du PBS avant d'être montées sur des lames gélatinées et couvertes avec un milieu de montage DePeX (VWR, USA). Afin de repérer les neurones de projection de M1 pendant l'enregistrement, nous avons stimulé de façon antidromique le striatum ipsilatéral au site d'enregistrement à l'aide d'une électrode concentrique bipolaire (SNEX-100, Rhodes Medical Instruments, USA) implantée dans le striatum dorsolatéral (0,2 mm antérieur au bregma, 2 mm latéral au bregma, profondeur 1,85 mm à partir de la surface cérébrale). Des stimulations électriques (0,5 ms, 600-800 µA) ont été appliquées toutes les 5 secondes grâce à un stimulateur externe (DS3; Digitimer, Angleterre) déclenché par un système 1401 Plus (Cambridge Electronics Design, Angleterre).

3.1.2.3. Procédures pharmacologiques

L'administration systémique d'un antagoniste ou d'un agoniste des récepteurs D2 a été réalisée grâce à l'implantation intrapéritonéale d'une aiguille connectée par un cathéter à une seringue remplie soit avec un agoniste des récepteurs D2

(quinpirole, 0,5 mg/kg, Sigma, USA), soit avec un antagoniste des récepteurs D2 (halopéridol, 0,5 mg/kg, Sigma, USA). Des injections de NaCl 0,9% ont également été réalisées pour servir de contrôle. L'agoniste ou l'antagoniste a été injecté après 30 minutes d'enregistrement de l'activité basale du neurone, puis l'activité électrophysiologique a été enregistrée pendant 45 minutes supplémentaires.

Pour l'administration locale intracorticale des produits pharmacologiques, nous avons utilisé des pipettes d'injection étirées à partir de capillaires en borosilicate (GC 100 FS, Harvard Apparatus, Angleterre) remplies avec du quinpirole 100 μ M, du quinpirole 1 μ M ou du liquide céphalorachidien de synthèse (ACSF). La pipette a ensuite été descendue à proximité de la pipette d'enregistrement. Après l'enregistrement de l'activité basale du neurone pendant 5 minutes, 200 nL de solution ont été injectés par pression d'air puis l'activité électrophysiologique du neurone enregistrée pendant 15 minutes supplémentaires.

3.1.2.4. Analyse des données électrophysiologiques

Les enregistrements obtenus ont été analysés après l'expérience. La durée du potentiel d'action a été mesurée du début du potentiel d'action jusqu'au retour de la ligne de base de l'enregistrement. Pour évaluer la modulation pharmacologique de l'activité neuronale, la fréquence de décharge en potentiels d'action a été mesurée pour des durées d'enregistrement de 10 minutes ou de 1 minute selon qu'il s'agissait respectivement d'une injection systémique ou locale. Les durées de potentiels d'action, la réponse du neurone à la stimulation striatale et les fréquences de décharge ont été analysées avec le logiciel Spike2 7.0 (Cambridge Electronics design, Angleterre). Pour déterminer le patron de décharge des neurones enregistrés, nous avons utilisé l'analyse de bouffées du logiciel NeuroExplorer. Nous

avons considéré une bouffée comme étant une suite d'au minimum 2 potentiels d'action émis à une fréquence comprise entre 50 Hz et 100 Hz pour une durée minimum de 5 ms.

3.1.3. Procédures anatomiques

Toutes les étapes des procédures d'immunohistochimie ont été réalisées sous agitation.

3.1.3.1. Immunohistochimie DAT

Trois souris ont été profondément anesthésiées puis les cerveaux ont été fixés par une perfusion intracardiaque de 150 mL de NaCl 0,9% suivi de 250 mL de PFA 1%. Une fois prélevés, les cerveaux ont été post-fixés pendant 24 heures dans du PFA 1% à 4°C et placés dans du saccharose 30% pour cryoprotection. Les cerveaux ont ensuite été coupés en 6 séries de coupes coronales (40 µm) avec un microtome à vibration (MICROM HM 650 V, ThermoScientific, Science) conservées par la suite à -20°C dans une solution antigel composée de PBS 0,05 M contenant 0,19% de glucose, 37,5% d'éthylène glycol et 0,25% d'azide de sodium.

Pour chaque cerveau, une des 6 séries a été choisie pour l'immunohistochimie DAT. Les coupes ont été rincées trois fois dans du tampon salin contenant du Tris (TBS) 0,1 M pour éliminer toute trace de solution antigel. Ensuite, elles ont été traitées avec une solution de peroxyde d'hydrogène diluée à 0,6% dans du TBS 0,1 M pendant 15 minutes pour éliminer la peroxydase endogène qui pourrait créer un biais dans le signal par la suite, puis rincées de nouveau trois fois dans du TBS 0,1 M. Après un bain de 90 minutes dans une solution de blocage des sites aspécifiques composée de TBS 0,1 M contenant 10% de sérum d'âne et 0,3% de triton X-100, les

coupes sont incubées 48 heures à 4°C avec un anticorps primaire fait chez le lapin dirigé contre le DAT (don du Pr Bertrand Bloch, CNRS UMR 5293) dilué au 1/5000 dans un nouveau bain de solution de blocage. Les coupes sont alors rincées trois nouvelles fois dans du TBS 0,1 M puis incubées 1 heure dans un anticorps secondaire biotinylé d'âne dirigé contre le lapin (Jackson Immuno Research, USA) dilué au 1/500 dans du TBS 0,1 M contenant 5% de sérum d'âne et 0,3% de triton X-100. Après un nouveau cycle de 3 rinçages dans du TBS 0,1 M, les coupes sont incubées dans une solution de TBS avec 0,5% d'un complexe avidine-biotine pendant 1 heure et 15 minutes. Les coupes sont ensuite rincées trois fois dans du TBS 0,1M puis le marquage est révélé avec une solution de DAB (Sigma, USA) contenant 0,33% de peroxyde d'hydrogène. Les coupes sont ensuite montées, séchées puis couvertes dans un milieu de montage DePeX (VWR, USA).

3.1.3.2. Analyse stéréologique de la longueur des fibres dopaminergiques dans le cortex cingulaire et M1

Le cortex cingulaire (Cg) et M1 ont été définis grâce à l'utilisation d'un atlas stéréotaxique de souris (Paxinos and Franklin, 2001). Cg s'étend de 2,58 mm antérieur au bregma à 0,82 mm postérieur au bregma, et de la ligne médiane du cerveau jusqu'à l'apparition de couches horizontales pour la limite latérale. M1, quant à lui, s'étend de 1,1 mm antérieur au bregma à 0.94 mm postérieur au bregma. L'épaisseur plus faible de la couche IV et l'épaisseur importante de la couche V ont permis de définir les limites médianes et latérales de M1. La limite ventrale a été définie par la partie la plus dorsale du corps calleux. Les couches profondes de M1 s'étendent sur la moitié la plus ventrale de la structure, soit de 500 µm de la surface jusqu'à la limite dorsale du corps calleux, comme défini par Lev et White (1997).

Sur le nombre total de coupes de cerveau contenant M1 pour une série, nous avons quantifié la longueur de fibres marquées pour le DAT. Après l'immunohistochimie DAT, l'épaisseur des coupes a été mesurée à $11,97 \pm 0,38 \mu\text{m}$, ce qui correspond à un rétrécissement dû au traitement des coupes d'environ 70%. Pour utiliser l'analyse stéréologique par des sphères virtuelles de Mouton et al. 2002, les coupes ont été scannées à l'aide d'une caméra (Orca R2, Hamamatsu Electronic, Japon) connectée à un microscope (DM 5500, Leica, Allemagne). Par la suite, des sondes sphériques virtuelles de $4 \mu\text{m}$ de rayon incluses dans des zones de sondage carrées de $10 \mu\text{m}$ de côté sont superposées le long de l'axe Z de Cg et M1 grâce au logiciel Mercator (Explora Nova, France). L'espacement entre deux zones de sondage a été fixée à $50 \mu\text{m}$. Les sphères peuvent ainsi être visualisées comme une suite de cercles concentriques de rayon croissant puis décroissant tout au long de la mise au point dans l'axe Z. Enfin, grâce à cela, les intersections entre la bordure extérieure du cercle visualisé et les fibres marquées pour le DAT ont été dénombrées par l'expérimentateur à chaque plan focal de la coupe. Afin d'éviter les biais causés par des effets de bord, une zone de garde mesurant $1 \mu\text{m}$ a été définie à chaque extrémité de la coupe. La longueur totale des fibres marquées pour le DAT a ensuite été calculée à partir de l'équation suivante:

$$L = 2 (\sum Q) \frac{v}{a} F1.F2.F3$$

où Q est le nombre d'intersections comptées, $\frac{v}{a}$ est le rapport du volume d'une zone de sondage sur l'aire d'une sphère, F1 est l'inverse du nombre de coupes utilisées sur le nombre total de coupes (1/6), F2 est l'inverse de l'aire de l'échantillonnage et F3 est l'inverse de l'épaisseur de l'échantillonnage.

Toutes les valeurs données sont les moyennes \pm erreur standard à la moyenne obtenues. De plus, les valeurs calculées ont été corrigées pour le rétrécissement de l'épaisseur des coupes.

3.1.3.3. Analyse de la distribution des fibres dopaminergiques dans M1

Afin d'analyser l'étendue rostrocaudale et médiolatérale des fibres dopaminergiques dans M1, nous avons utilisé les photographies des coupes utilisées auparavant pour l'analyse stéréologique. Pour chaque coupe, nous avons déterminé la surface occupée par les fibres marquées pour le DAT. Les résultats obtenus ont ensuite été reportés sur un graphique représentant la surface occupée par les fibres marquées pour le DAT en μm^2 en fonction des coordonnées de l'axe antéropostérieur. Les mesures ont été réalisées grâce au logiciel Image J 1.47v.

3.1.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., USA). Nous avons utilisé un test de Mann-Whitney pour analyser les données indépendantes et une ANOVA à 2 facteurs suivie d'un test post-oc de Bonferroni pour comparer l'effet des drogues dans le temps entre les groupes.

3.2. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNC dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson

Les expériences électrophysiologiques détaillées dans ce chapitre font partie d'un projet plus important regroupant des techniques d'analyses comportementales, électrophysiologiques et neuro-anatomiques afin de comparer les effets de greffes

de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la substance noire compacte dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson. Dans ce projet, des souris âgées de 3 mois, ayant été entraînées à un test permettant l'analyse de la démarche et à un test de préhension de nourriture qui permet l'étude de la motricité fine, reçoivent une injection de 6-OHDA dans la SNc afin de détruire les neurones dopaminergiques. Après un temps de survie de 3 semaines, un premier groupe de souris reçoit une greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires, un deuxième groupe de souris reçoit une greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires et un troisième groupe de souris ne reçoit aucune greffe. Après plusieurs semaines de tests comportementaux, une partie de ces souris est utilisée afin d'analyser les caractéristiques électrophysiologiques des NEM pour les trois conditions. Les souris ont alors entre 9 et 12 mois lors des analyses électrophysiologiques réalisées à partir de la semaine suivant la fin des tests comportementaux.

3.2.1. Animaux

Toutes les mesures nécessaires à la limitation du nombre d'animaux ainsi que la limitation de leur souffrance ont été prises en compte. Des souris femelles C57/Bl6 (Janvier, France) ont été maintenues seules dans des cages ventilées sous un cycle jour/nuit de 12h. De plus, les animaux ont subi une restriction alimentaire de 12 heures avant les tests comportementaux pendant toute la durée de ces tests. Par la suite, les souris ont eu accès à l'eau et la nourriture *ad libitum*. Pour cette étude, 4 groupes expérimentaux ont été créés. Le premier groupe a été constitué de souris contrôles, le deuxième groupe a été constitué avec des souris lésées mais non transplantées, le troisième groupe a été constitué avec les souris lésées puis ayant

reçu un transplant intra-striatal de neurones dopaminergiques embryonnaires. Enfin le quatrième groupe a été constitué avec les souris lésées puis ayant reçu un transplant intra-nigral de neurones dopaminergiques embryonnaires.

3.2.2. Procédures électrophysiologiques

3.2.2.1. Anesthésie

Avant la chirurgie, les souris ont été profondément anesthésiées grâce à une injection intrapéritonéale (i.p.) d'Uréthane (1,8 g/kg) avant d'être installées sur un cadre stéréotaxique (LPC, France). L'efficacité de l'anesthésie a été contrôlée par l'examen du réflexe nociceptif induit par un pincement de la queue puis de la patte. Durant toute la durée de l'expérience, la température de la souris a été maintenue à 37°C grâce à un coussin chauffant équipée d'une sonde rectale. En cas de besoin, une dose additionnelle d'Uréthane (0,25 g/kg, i.p.) a été administrée quelque soit l'avancement de l'expérience. Un atlas stéréotaxique de souris a été utilisé pour placer les différentes électrodes et stimulations dans le cerveau des souris (Paxinos and Franklin, 2001).

3.2.2.2. Procédure électrophysiologique

Les électrodes d'enregistrement ont été étirées à partir de capillaires de borsilicate (GC 150 F 10, Harvard Apparatus, Angleterre) à l'aide d'une étireuse P-1000 Flaming Brown (Sutter Instruments, USA). L'extrémité des électrodes a ensuite été cassée à un diamètre de 2 μm pour une résistance *in vitro* de 12 à 20 M Ω . Les électrodes ont été préalablement remplies avec du NaCl 0,4 M contenant 2,5% de neurobiotine (Vector Labs, USA) puis descendues dans le striatum dorsolatéral ipsilatéral au site de lésion et/ou de transplantation (0,3-0,6 mm antérieur au bregma;

2-2,2 mm latéral au bregma, profondeur 2-3 mm par rapport à la surface du cerveau). Comme les NEM sont silencieux dans nos conditions d'enregistrement, nous avons stimulé le cortex moteur à l'aide d'une électrode concentrique bipolaire (SNEX-100, Rhodes Medical Instruments, USA). Une paire de stimulations de 0,5 ms séparées par 100 ms ont été appliquées dans le cortex moteur grâce à un stimulateur externe (DS3; Digitimer, Angleterre) déclenché par un système 1401 Plus (Cambridge Electronics Design, Angleterre). Pour la recherche des neurones striataux, la double stimulation a été appliquée à une fréquence de 1 Hz pour une intensité de 2 mA. Toutes les investigations suivantes concernant les réponses des neurones aux stimulations corticales ont été réalisées à 0,33 Hz pour éviter les interférences entre les paires de stimulations successives. Il a en effet été démontré qu'une stimulation à 1 Hz pouvait induire une plasticité à court terme des neurones. Comme pour les précédentes analyses sur M1, à la fin de l'enregistrement, les neurones ont été marqués par une injection juxtacellulaire de neurobiotine à la suite de laquelle la souris a été immédiatement perfusée. Pour ce projet, les souris ont subi une perfusion intracardiaque de 150 mL de NaCl 0,9% puis de 250 mL de PFA 4%. Dans ce projet, la neurobiotine injectée a été révélée selon le même protocole que dans le premier projet, à l'exception près que l'incubation dans la streptavidine Alexa 568 a été réduite à 1h45 à température ambiante.

3.2.2.3. Analyses électrophysiologiques

Les analyses ont été réalisées après les enregistrements grâce au logiciel Spike 2 7.0 (Cambridge Electronics design, Angleterre). Dans un premier temps, les caractéristiques électrophysiologiques du neurone sont déterminées. Pour cela, la durée du potentiel d'action a été mesurée entre le pic le plus dépolarisé et le pic le plus hyperpolarisé. De plus, la fréquence de décharge a été mesurée sur la durée

totale du premier enregistrement, soit 58 secondes. Pour s'approcher au plus de l'activité de décharge spontanée, la fréquence calculée a été corrigée selon la formule suivante:

$$F_{\text{corrigée}} = \frac{[(F_{\text{mesurée}} \times 58) - N_{\text{réponses}}]}{58}$$

où $F_{\text{corrigée}}$ est la fréquence intrinsèque du neurone, $F_{\text{mesurée}}$ est la fréquence totale mesurée lors de l'enregistrement et $N_{\text{réponses}}$ est le nombre de potentiels d'action émis par le neurone en réponse aux stimulations corticales. Par ailleurs, l'intensité du courant pour lequel le neurone répond dans 50% des cas sur la première ou la deuxième stimulation corticale (courant 50%) est également déterminée. Cette mesure permet de déterminer le profil de réponse des neurones.

Dans un deuxième temps, les caractéristiques de réponse ont été évaluées selon deux moyens. Tout d'abord, la latence de réponse moyenne ainsi que l'écart type de la latence à la stimulation corticale est déterminée. Dans un deuxième temps, la fenêtre de réponse des neurones striataux enregistrés est mesurée. Pour ce faire, la latence de réponse minimale et la latence de réponse maximale à la stimulation préférentielle a été mesurée puis la fenêtre de réponse des neurones d'un même groupe expérimental a été évaluée de deux façons: en calculant le temps entre la latence minimale moyenne du groupe et la latence maximale moyenne du groupe ou en moyennant les fenêtres de réponse évaluées pour chaque neurone.

3.2.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., USA). Un test de Bartlett a tout d'abord été réalisé afin de s'assurer de la distribution gaussienne des valeurs de chaque groupe. Si le test

de Bartlett détectait une différence significative dans les variances entre les groupes, un test de Forsythe était réalisé afin de confirmer cette différence. Si la différence statistique était confirmée, un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test post-oc de Dunn a été réalisé pour évaluer les différences entre les groupes expérimentaux. Si la répartition gaussienne des valeurs était confirmée, une ANOVA à un facteur suivie d'un test post-oc de Bonferroni a été réalisé.

4. Résultats

4.1. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité du cortex moteur primaire par l'activation des récepteurs D2

4.1.1. Distribution anatomique des terminaisons dopaminergiques dans le cortex moteur primaire

Le marquage du DAT a permis de révéler spécifiquement les terminaisons dopaminergiques dans M1 (Fig. 15 A, B, D) et Cg (Fig. 15 C, E). Les fibres dopaminergiques ont été observées dans les couches profondes de M1. Que ce soit dans M1 ou dans Cg, les fibres visualisées sont longues, tortueuses et fines. De plus, ces fibres apparaissent enchevêtrées et présentent des embranchements. L'étendue de l'innervation dans ces deux structures a été évaluée par stéréologie. La longueur moyenne totale des fibres dopaminergiques était de $1,89 \pm 0,22$ m dans M1 et de $3,64 \pm 0,56$ m dans Cg. La densité de l'innervation dopaminergique a ensuite été calculée en divisant la longueur totale des fibres dopaminergiques mesurée dans la structure par le volume total de la structure. Dans M1, la densité de l'innervation dopaminergique est de $0,54 \pm 0,01$ m/mm³ et de $2,18 \pm 0,20$ m/mm³ dans Cg. Donc, selon notre approche stéréologique, l'innervation dopaminergique est 4,4 fois plus importante dans Cg que dans M1. Cependant, les fibres dopaminergiques de M1 semblent se situer presque exclusivement dans les couches profondes de M1 (Fig. 15 D). Afin de vérifier ce point, nous avons mesuré l'innervation dopaminergique de M1 dans les couches profondes, définies comme la moitié la plus profonde de cette structure (Fig. 15 B). La longueur totale des fibres dopaminergiques situées dans les couches profondes de M1 était de $1,39 \pm 0,06$ m. Un test de Mann-Whitney n'a révélé aucune différence significative entre la longueur totale de fibres dopaminergiques dans M1 entier et dans les couches profonde de M1 ($p = 0,097$),

confirmant notre hypothèse de départ selon laquelle les fibres dopaminergiques innervent préférentiellement les couches profondes de M1. La densité des terminaisons dopaminergiques dans les couches profondes de M1 a ensuite été estimée à $1,38 \pm 0,17$ m/mm³. Par conséquent, la densité de l'innervation dopaminergique des couches profondes de M1 est du même ordre que l'innervation dopaminergique de Cg.

Afin de caractériser plus précisément la distribution neuroanatomique de l'innervation dopaminergique, nous avons mesuré l'étendue des fibres marquées pour le DAT à la surface de M1. Nous avons ainsi pu mettre en évidence des différences dans la distribution rostrocaudale des fibres dopaminergiques. En effet, les fibres dopaminergiques occupent le plus de surface entre 0,2 et 1,10 mm antérieur au bregma (Fig. 15 F). En outre, cette portion de M1 est la seule à être innervée dans tout son plan médiolatéral (Fig. 15 G). Il est intéressant de noter que cette aire de M1 correspond à l'aire de représentation des membres antérieurs (Tennant et al., 2011), ce qui permet de supposer que la dopamine pourrait jouer un rôle important dans la régulation des mouvements des membres antérieurs ainsi que de la plasticité de cette zone.

L'ensemble de ces résultats montre que des terminaisons dopaminergiques innervent les couches profondes de M1 chez la souris selon un gradient rostrocaudal. De plus, la densité de cette innervation est comparable à la densité de l'innervation de Cg. De façon intéressante, il a été décrit que la dopamine module l'activité neuronale de Cg (Lopez-Avila et al., 2004; Schweimer and Hauber, 2006). Donc, nos résultats suggèrent fortement que la densité des fibres dopaminergiques des couches profondes de M1 peut être suffisamment importante pour avoir un impact significatif sur l'activité neuronale.

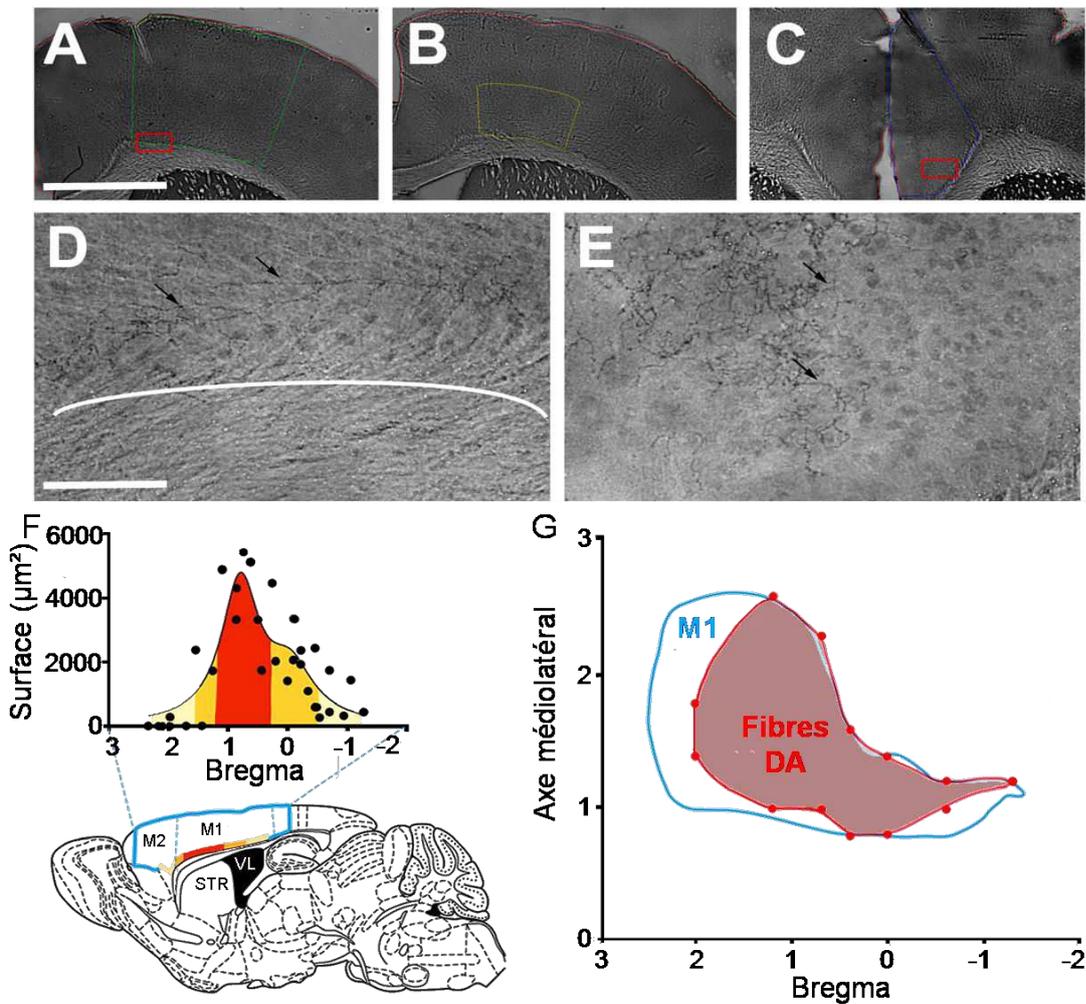


Figure 1: Distribution des fibres dopaminergiques dans M1. (A-C) Exemple de délimitation des régions corticales: M1 entier (A; ligne verte), les couches profondes de M1 (B; ligne jaune), Cg (C; ligne bleue). (D-E) Les photographies des fibres marquées par le DAT (flèches noires) dans les couches profondes de M1 (D) et dans Cg (E) sont des agrandissements des régions délimitées par les cadres rouges dans (A) et (C), respectivement. (F) Répartition rostrocaudale des fibres marquées par le DAT dans M1. Les surfaces occupées par les fibres sont représentées pour chaque coordonnée antéropostérieure par rapport au bregma. Les couleurs allant de l'orange au rose pâle représentent l'importance de la surface occupée. Le même code couleur est utilisé pour représenter ces surfaces sur le schéma de coupe sagittale de cerveau de souris en dessous (M1 et M2 sont délimitées par la ligne bleue). (G) Représentation de l'étendue des fibres marquées pour le DAT sur la surface de M1. La ligne bleue représente les limites de M1, la ligne rouge représente la surface occupée par les fibres marquées pour le DAT. Echelle: 100 μm (A-C) et 12,5 μm (D-E)

4.1.2. Caractéristiques électrophysiologiques des neurones enregistrés

La question du rôle fonctionnel des récepteurs D2 sur l'activité des neurones de M1 a été traitée grâce à des enregistrements électrophysiologiques extracellulaires chez l'animal anesthésié (Fig. 16 A). Quarante-seize neurones ont été enregistrés dans les couches profondes de M1 de 56 souris (Fig. 16 B). Afin de révéler les effets des récepteurs D2 sur les neurones de projection de M1, nous nous sommes intéressés uniquement à la modulation dopaminergique des neurones pyramidaux de M1. Des études précédentes ont établi les caractéristiques électrophysiologiques des neurones pyramidaux dans le cortex préfrontal. Il a été démontré que les neurones pyramidaux possèdent une faible fréquence de décharge comprise entre 0,1 Hz et 5 Hz (Hajos et al., 2003) et émettent des potentiels d'actions dont la durée excède 0,95 ms (Mallet et al., 2005; Tseng et al., 2006). Nous avons alors cherché à discriminer les neurones selon ces caractéristiques électrophysiologiques. Toutefois, dans nos conditions, notre échantillon ne présentait pas de distribution bi-modale qui nous aurait permis de différencier les neurones de projections des interneurones corticaux (Fig. 16 C). En nous intéressant au patron de décharge des neurones, nous avons constaté que 83 neurones présentaient un patron de décharge en bouffées constituées de doublets ou de triplets de potentiels d'action (Fig. 16 A). En moyenne, $34,47 \pm 2,44$ % des potentiels d'actions émis par ces neurones étaient présents dans des bouffées. Nous avons alors essayé de caractériser les différentes familles neuronales grâce à ce critère.

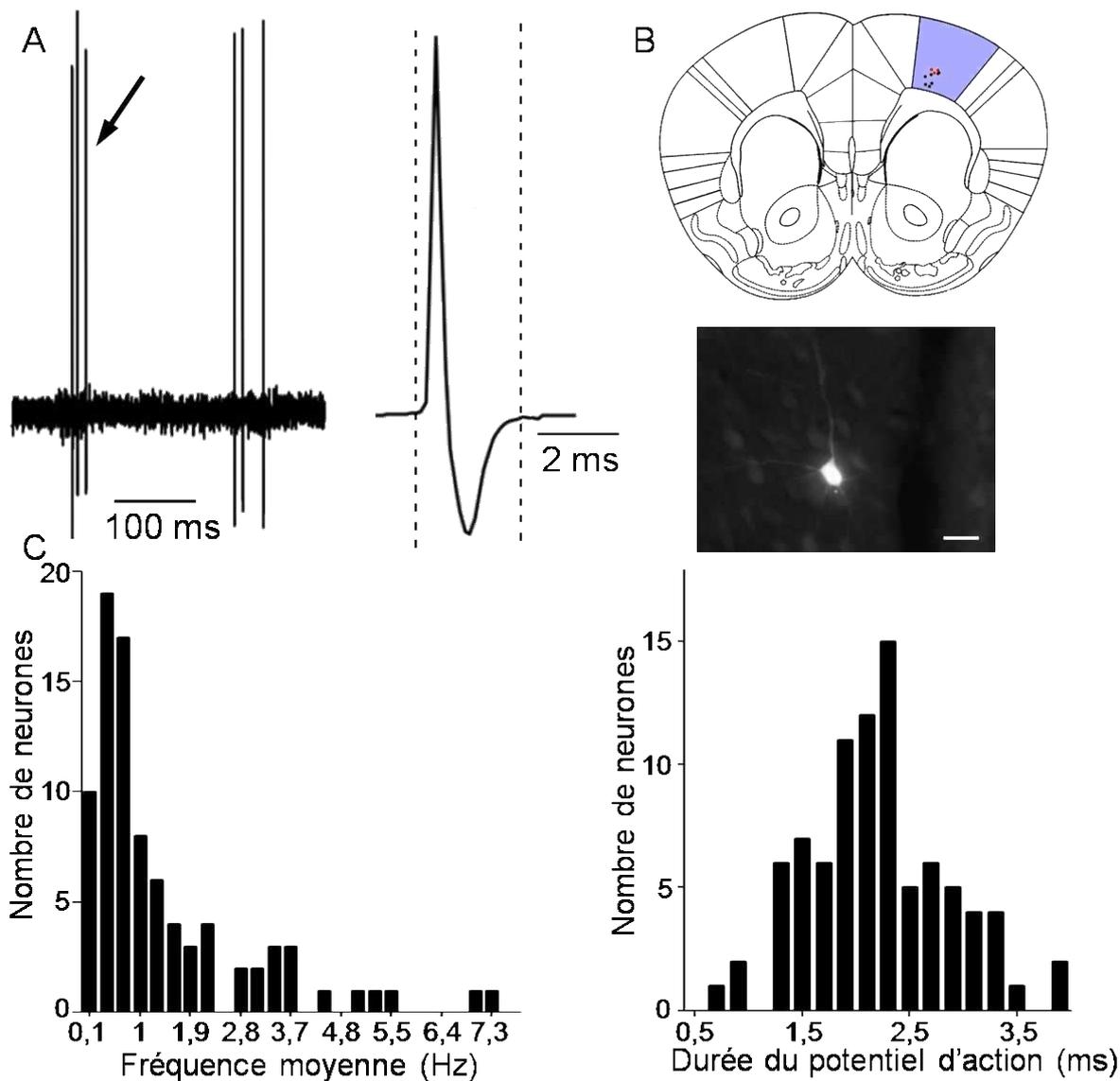


Figure 16: Caractéristiques électrophysiologiques des neurones de M1. (A) Exemple d'un enregistrement extracellulaire représentatif d'un neurone cortical (gauche). La présence d'un triplet est indiquée par la flèche noire. Exemple d'un potentiel d'action moyen réalisé sur un enregistrement d'au moins 5 minutes. La durée du potentiel d'action a été mesurée entre les deux lignes pointillées. (B) Représentation schématique de la distribution des neurones enregistrés dans M1 (1,4 mm antérieur au bregma). Les neurones injectés avec de la neurobiotine sont indiqués en rouge, les neurones non injectés sont indiqués en noir. La photographie montre un exemple représentatif de la morphologie des neurones marqués à la neurobiotine. L'échelle représente 20 μm . (C) Distribution de la fréquence moyenne (Hz) et de la durée du potentiel d'action (ms).

La stimulation antidromique est une technique d'identification électrophysiologique des neurones de projection. Elle consiste à stimuler électriquement l'axone des neurones présents dans la structure cible pour évoquer un potentiel d'action antidromique qui se diffuse du point de stimulation vers le noyau cellulaire le long de l'axone (Fig. 17 A). La latence de ce potentiel d'action montre très peu de variabilité, il est ainsi possible de distinguer ce potentiel d'action des potentiels d'action orthodromique (diffusant le long de l'axone du noyau vers la terminaison axonale) (Fig. 17 B). L'évocation d'un potentiel antidromique pendant l'émission d'un potentiel d'action orthodromique provoque une collision visible sur l'enregistrement (Fig. 17 B) et constitue une preuve supplémentaire de la nature du neurone enregistré.

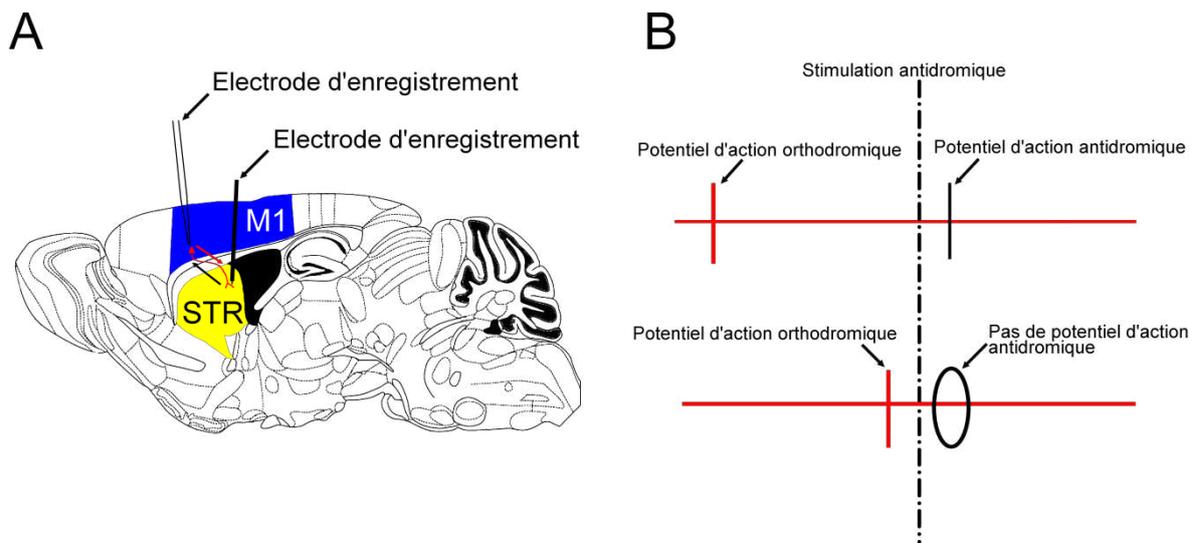


Figure 17: Schéma explicatif de la technique de stimulation antidromique (A) Position des électrodes: Une électrode d'enregistrement implantée dans M1 permet d'enregistrer les potentiels d'action orthodromique (flèche rouge) et les potentiels d'action antidromiques (flèche noire) évoqués grâce à une électrode de stimulation implantée dans le striatum. (B) Déroulement de l'identification des neurones par stimulation antidromique. Une stimulation antidromique (trait vertical en pointillé) déclenchée pendant l'enregistrement de l'activité d'un neurone cortical conduit à l'émission d'un potentiel d'action antidromique (dessin du haut). Lorsque la stimulation antidromique est déclenchée proche d'un potentiel d'action orthodromique (dessin du bas), une collision a lieu entre le potentiel d'action orthodromique et le potentiel d'action antidromique. Le potentiel d'action antidromique est alors invisible sur l'enregistrement.

Pour déterminer un critère d'inclusion spécifique de nos conditions expérimentales, nous avons analysé les caractéristiques électrophysiologiques de neurones identifiés comme neurones de projection grâce à leur réponse antidromique évoquée par une stimulation du striatum ipsilatéral (Fig. 18 A). Les neurones répondant à cette stimulation ont donc été considéré comme étant des neurones pyramidaux. Nous avons enregistré l'activité de 9 neurones répondant à la stimulation antidromique ainsi que l'activité de 4 neurones non-répondant. Même avec l'aide de cette discrimination électrophysiologique, l'ensemble des neurones enregistrés ne présentaient pas de différences exploitables concernant la fréquence de décharge ou bien la durée du potentiel d'action (Fig. 18 B) L'analyse statistique a tout de même permis de révéler des différences significatives entre les patrons de décharge de ces deux groupes de neurones ($p < 0,01$). En effet, au moins 25% et au plus 68% des potentiels d'action émis par les neurones répondant à la stimulation antidromique étaient inclus dans des bouffées. En revanche, les neurones non-répondants présentaient entre 0 et 8,8% de leurs potentiels d'action dans des bouffées (Figure 18 B). En conclusion, la caractéristique électrophysiologique la plus pertinente dans nos conditions pour considérer un neurone comme étant pyramidal est le pourcentage de potentiels inclus dans des bouffées. Nous avons inclus dans notre étude 30 neurones en utilisant comme critère la présence d'au moins 15% des potentiels d'action dans des bouffées. Dans la suite de l'étude, nous avons considéré ces neurones comme des neurones pyramidaux potentiels.

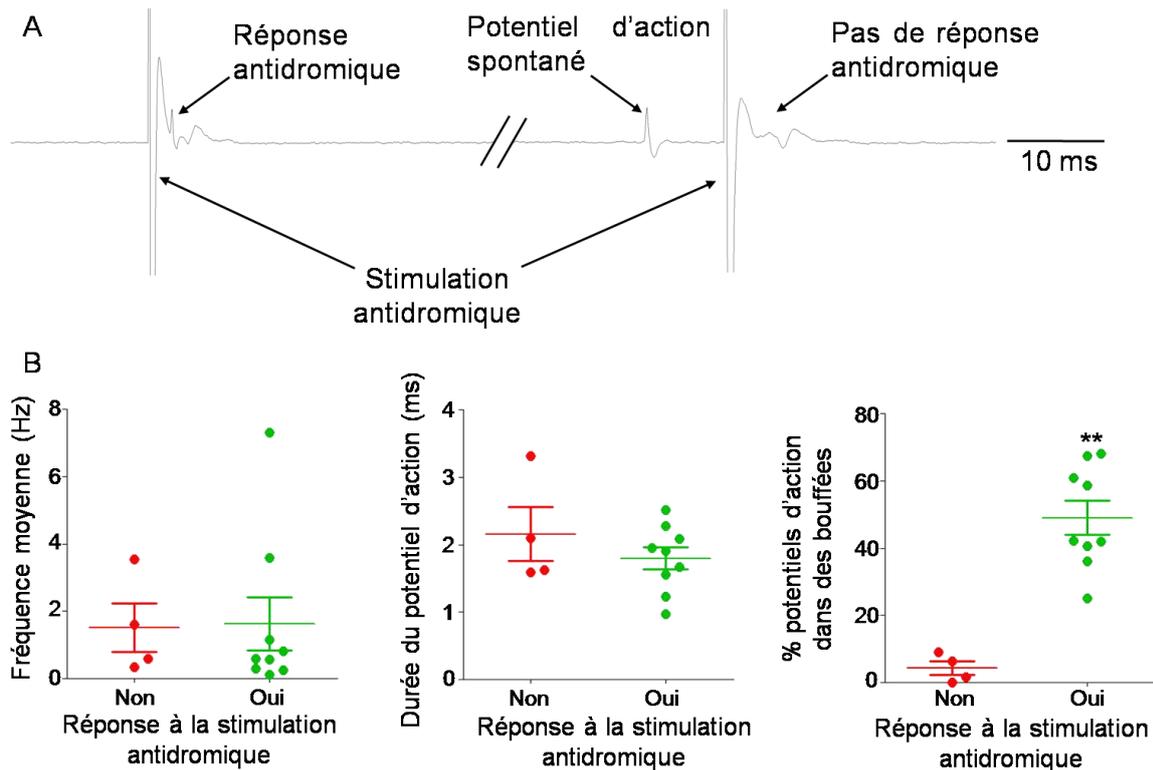


Figure 18: Caractéristiques électrophysiologiques des neurones pyramidaux identifiés électrophysiologiquement. (A) Exemple d'un enregistrement extracellulaire représentatif d'un neurone répondant à la stimulation du striatum par un potentiel d'action antidromique (gauche). La survenue d'un potentiel d'action spontané juste avant la stimulation antidromique entre en collision avec le potentiel d'action antidromique, résultant en l'absence d'une réponse antidromique visible sur l'enregistrement (droite). (B) Les neurones ont été divisés en deux groupes selon la présence d'une réponse (vert) ou l'absence de réponse (rouge) à la stimulation striatale. Les graphiques montrent les données individuelles ainsi que les moyennes \pm SEM des caractéristiques électrophysiologiques. Fréquence moyenne (Hz), Durée du potentiel d'action (ms) et pourcentage de potentiels d'action inclus dans les bouffées: ** $p < 0,01$

4.1.3. Effets d'un agoniste et d'un antagoniste des récepteurs sur l'activité des neurones pyramidaux potentiels de M1 *in vivo*

Afin d'étudier les effets de la dopamine sur l'activité neuronale de M1, nous avons enregistré la décharge en potentiels d'action des neurones pyramidaux potentiels dans les couches profondes de M1 et leur réponse à un agoniste des récepteurs D2, le quinpirole, ou à un antagoniste des récepteurs D2, l'halopéridol. Dans un premier temps, nous avons appliqué le quinpirole (0,5 mg/kg; n = 5), l'halopéridol (0,5 mg/kg; n = 5) ou une solution saline à 0,9% (n = 5) par injection intrapéritonéale (i.p.) (Fig. 19 A, B). Nous avons alors constaté que l'activation du récepteur D2 par le quinpirole provoque une augmentation supérieure à 200% de la fréquence de décharge des neurones pyramidaux potentiels, passant de $1,46 \pm 0,39$ Hz à $3,44 \pm 0,81$ Hz (ANOVA à 2 facteurs, $F_{(2,60)} = 15,11$, $p < 0,001$). En revanche, aucun effet significatif du blocage des récepteurs D2 par l'halopéridol n'a pu être mis en évidence.

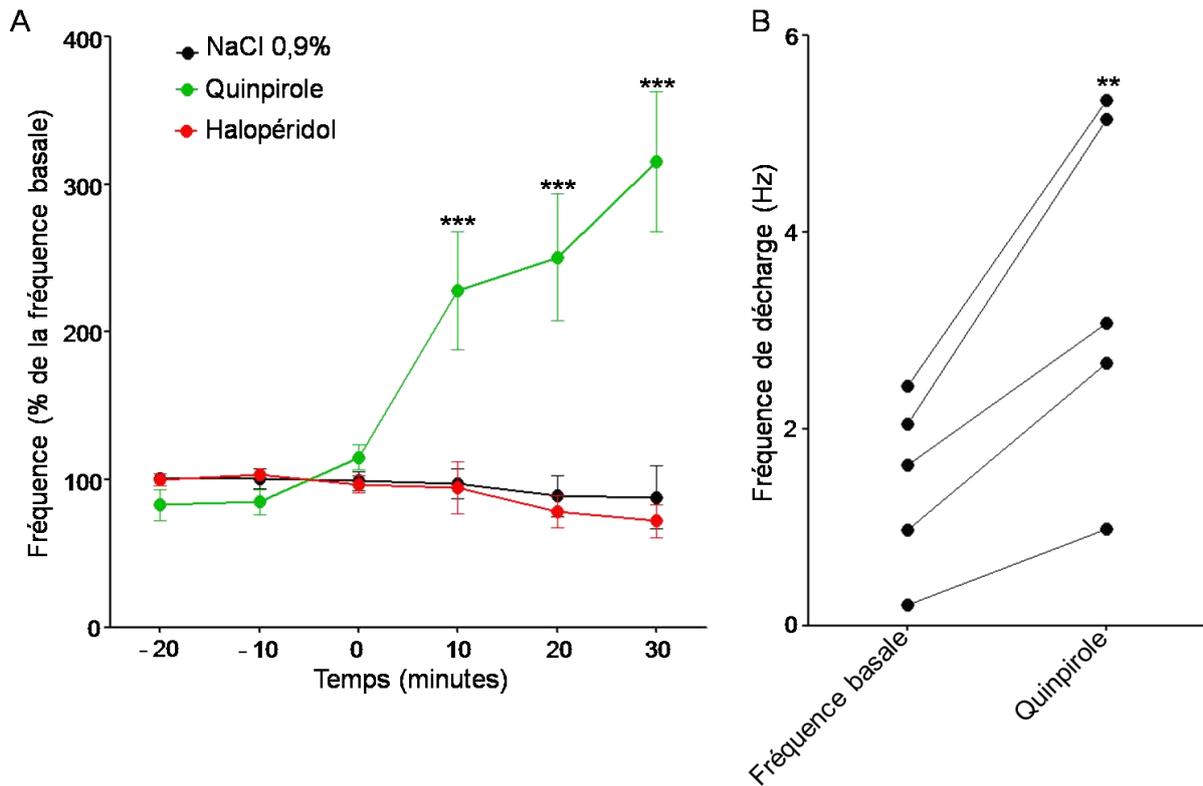


Figure 19: Modulation de l'activité neuronale de M1 par les récepteurs D2. (A) Effet d'une injection périphérique d'un agoniste des récepteurs D2, quinpirole (0,5 mg/kg; n=5; vert) ou de l'antagoniste des récepteurs D2, l'halopéridol (0,5 mg/kg; n = 5; rouge) ou de NaCl 0,9% (n=5; blanc) sur la fréquence de décharge des neurones pyramidaux potentiels. (B) Réponse individuelle des neurones pyramidaux potentiels à l'injection de quinpirole. ** p< 0,01; *** p < 0,001.

Cependant, les effets observés alors peuvent être causés par un effet réseaux, conduit notamment par les ganglions de la base. Pour éviter les effets indirects causés par les réseaux influençant M1, et ainsi caractériser au mieux les effets directs de l'activation des récepteurs D2 sur l'activité des neurones de projection de M1, nous avons réalisé des injections locales intracorticales de quinpirole 100 μ M, de quinpirole 1 μ M ou d'ACSF (Fig. 20 A, B). Dans cette seconde partie de l'expérimentation, nous avons décidé de ne pas tester l'influence d'un blocage des récepteurs D2 sur l'activité des neurones pyramidaux potentiels de M1 du fait de l'absence de modification significative lors des injections périphériques. Les résultats obtenus lors des injections locales de quinpirole sont cohérents avec les résultats obtenus lors des injections périphériques. En effet, l'activation locale des récepteurs D2 aussi bien par le quinpirole 100 μ M que par le quinpirole 1 μ M provoque une augmentation significative de la fréquence de décharge des neurones pyramidaux potentiels de M1 de près de 400% (ANOVA à 2 facteurs, $F_{(4,28)} = 3,98$, $p < 0,001$) et d'environ 200% (ANOVA à 2 facteurs, $F_{(4,36)} = 3,98$, $p < 0,01$), respectivement. Plus précisément, le quinpirole 1 μ M augmente la fréquence de décharge des neurones pyramidaux potentiels de $1,53 \pm 0,44$ Hz à $2,47 \pm 0,62$ Hz (Fig. 20 C). De surcroît, l'analyse du patron de décharge des neurones révèle que l'augmentation de la décharge se traduit par une augmentation du nombre de bouffées émises par le neurone mais pas par une modulation du pourcentage de potentiels d'action inclus dans ces bouffées. Ces résultats indiquent alors que la dopamine peut augmenter l'activité des neurones pyramidaux de M1 mais n'a aucune influence sur le patron de décharge de ces neurones.

L'ensemble des résultats obtenus démontre que la dopamine exerce un rôle direct sur l'activité neuronale de M1 en augmentant la fréquence de décharge des neurones pyramidaux par l'intermédiaire des récepteurs D2.

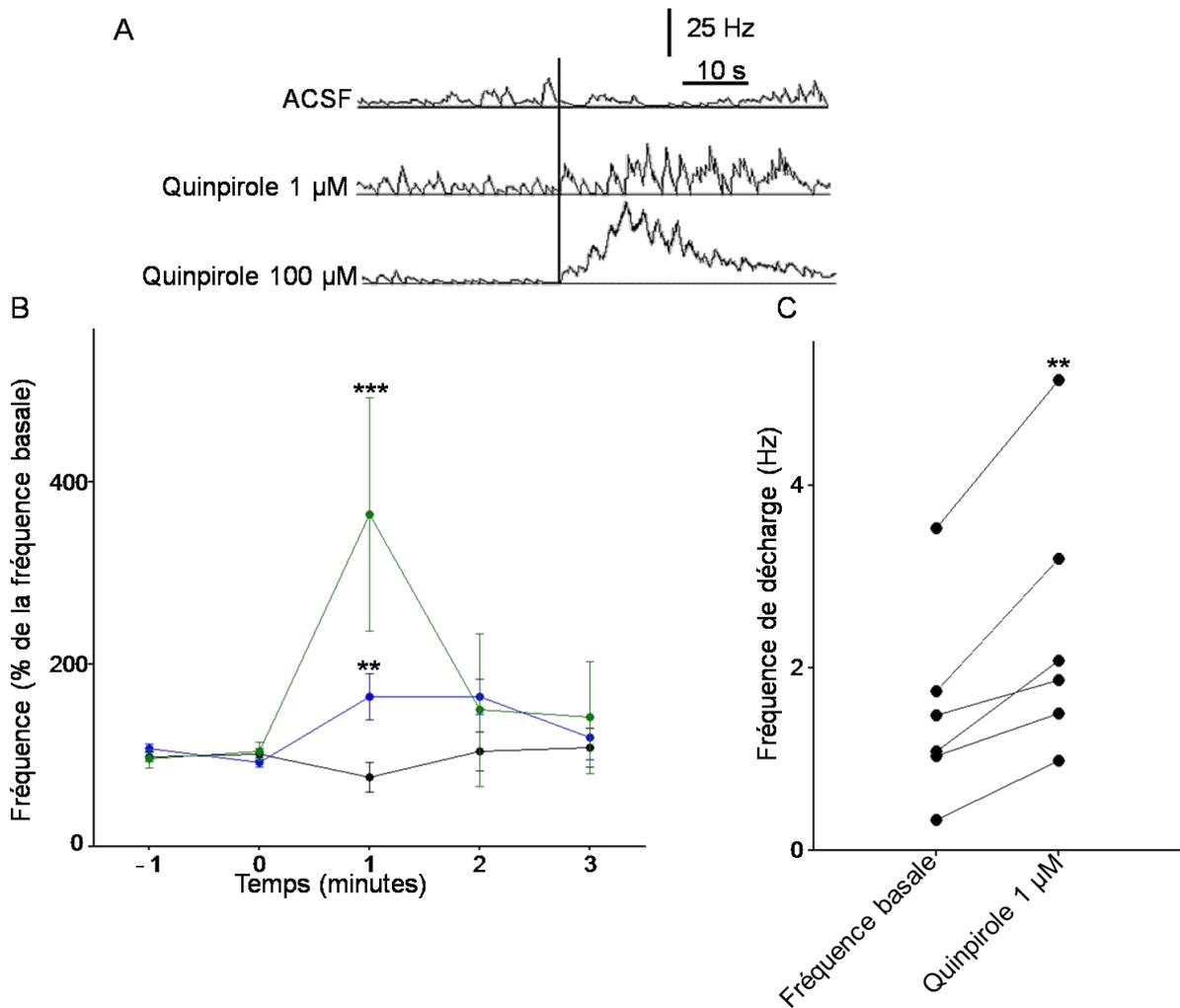


Figure 20: Injection intracorticale de quinpirole ou d'ACSF. (A) Enregistrement représentatif de la fréquence de décharge instantanée de neurones pyramidaux potentiel 30 s avant l'injection et 40 secondes après l'injection d'ACSF (haut), de quinpirole 1 μ M (milieu) ou de quinpirole 100 μ M (bas). La ligne verticale représente l'injection (B) Effet de l'injection intracorticale de quinpirole 100 μ M (n = 4; vert), de quinpirole 1 μ M (n = 6, bleu) ou d'ACSF (n = 5, noir). (C) Réponse individuelle des neurones pyramidaux potentiels à l'injection de quinpirole 1 μ M. ** p < 0,01; *** p < 0,001.

4.2. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson

4.2.1. Caractérisation des NEM striataux

Le striatum étant composé de différentes populations neuronales, notre premier objectif a été de définir des caractéristiques permettant d'identifier les neurones enregistrés. L'analyse morphologique des neurones striataux après le marquage juxtacellulaire à la neurobiotine permet de mettre à jour la présence ou l'absence d'épines dendritiques caractéristiques des neurones de projection du striatum (Fig. 21 A). Toutefois, le rendement de cette technique étant faible, il ne nous permet pas à lui seul d'identifier les NEM des interneurones striataux. Nous avons donc cherché un critère électrophysiologique pertinent pour discriminer les différentes familles neuronales. Plusieurs études ont démontré que les NEM répondent aux stimulations corticales par des potentiels d'action dont la durée est intermédiaire entre celle des potentiels d'actions des interneurones à décharge rapide et celle des interneurones NAT (Wilson et al., 1990; Kawaguchi, 1993; Mallet et al., 2005; Sharott et al., 2009; Inokawa et al., 2010). Nous avons mesuré la durée du potentiel d'action des neurones enregistrés entre la première et la deuxième déflexion (Fig. 21 B) afin de réaliser la distribution de notre échantillon (Fig. 21 C). Les durées des potentiels d'action des 16 neurones enregistrés montrent une tendance à une répartition multimodale des valeurs. Une limite inférieure peut être observée à 0,5 ms. Dans le striatum, il a été décrit que les interneurones à décharge rapide émettent des potentiels d'action plus courts que les autres familles de neurones (Kawaguchi, 1993). Les neurones dont la durée du potentiel d'action est inférieure à 0.5 ms pourraient donc appartenir à cette catégorie d'interneurones.

Néanmoins, si une séparation entre deux groupes semble apparaître aux alentours de 1 ms, il est impossible de fixer avec certitude une limite supérieure à la durée du potentiel d'action permettant d'inclure les neurones de projection du striatum. Il faut donc chercher une autre méthode de discrimination pour différencier entre NEM et interneurones.

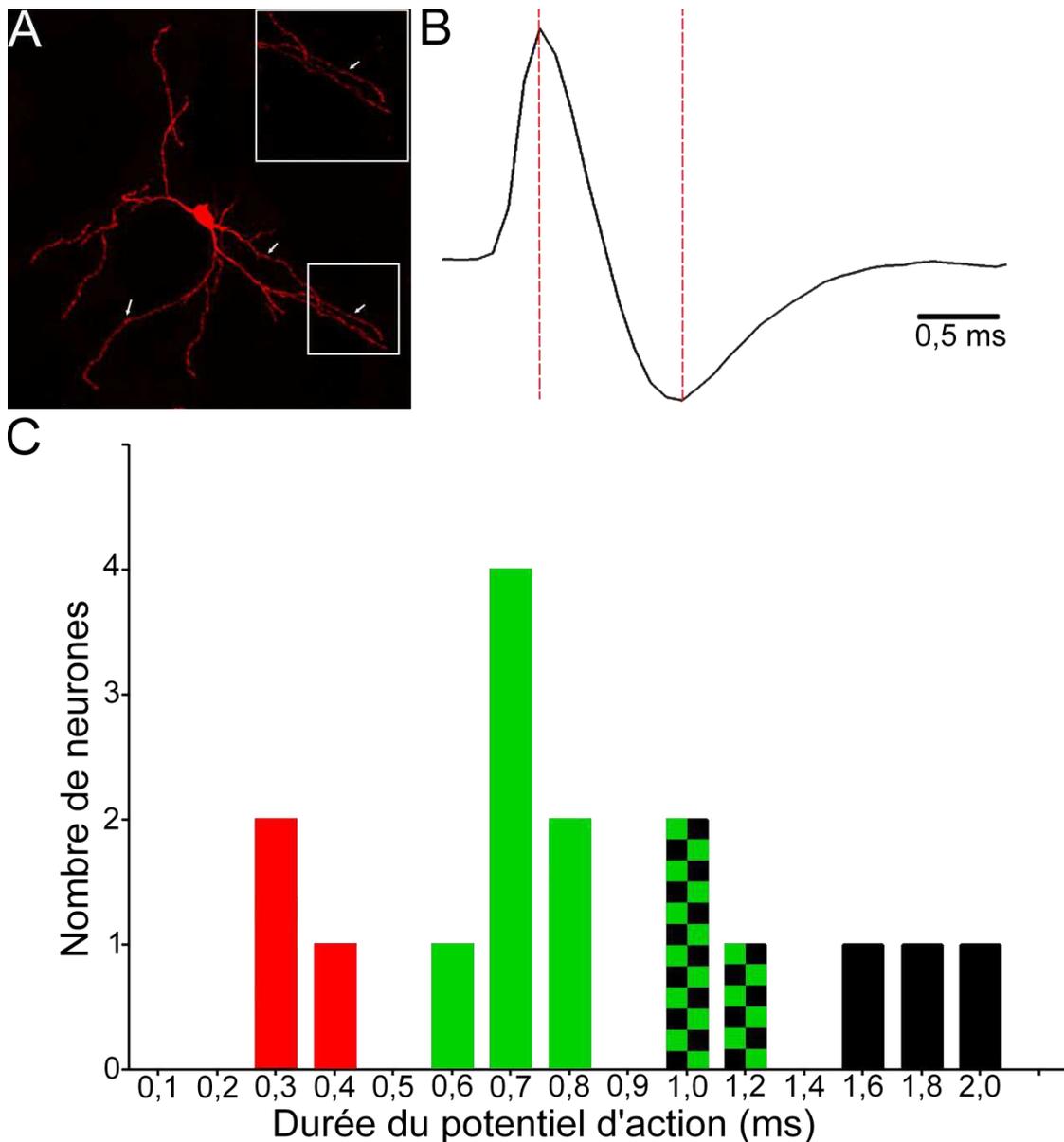


Figure 21: Caractérisation anatomique et électrophysiologique des NEM. (A) Photographie représentative des NEM marqués à la neurobiotine. Les épines dendritiques du neurone sont indiquées par les flèches blanches dans l'agrandissement des dendrites du cadre blanc. (B) Potentiel d'action moyen mesuré sur l'enregistrement électrophysiologique. La durée du potentiel d'action est mesurée dans le cadre rouge. (C) Distribution des durées des potentiels d'action de l'ensemble des neurones striataux enregistrés pour notre étude. Différents groupes de durée de potentiels d'action peuvent être définis: potentiels d'action courts(rouge), potentiels d'action moyens (vert), potentiel d'action long (noir). Un groupe de durée intermédiaire entre moyens et longs (carrés verts et noirs).

Une précédente étude a permis de démontrer que les différentes populations neuronales du striatum répondent différemment à des paires de stimulation corticales (Mallet et al., 2005). En effet, les NEM répondent préférentiellement à la deuxième stimulation (Mallet et al., 2005). Nous avons donc réalisé des paires de stimulations dans M1 pour enregistrer la réponse des neurones du striatum dorsolatéral. Par ailleurs, il a été démontré que la fréquence de décharge des NEM est inférieure à la fréquence de décharge des interneurons NAT (Wilson et al., 1990). Nous avons donc mis en relation la fréquence des neurones, le type de réponse déterminé par les doubles stimulations et la durée du potentiel d'action (Fig. 22 C). Tous les neurones présentant une réponse préférentielle à la seconde stimulation ont une activité spontanée inférieure à 0,02 Hz et une durée de potentiel d'action comprise entre 0,5 ms et 1,09 ms. Le seul neurone répondant préférentiellement à la première stimulation avait une durée moyenne de potentiel de 1,36 ms et une fréquence de 0,05 Hz. Pour la suite des expérimentations, nous avons donc inclus les neurones dont la durée du potentiel d'action moyen est comprise entre 0,5 ms et 1,25 ms.

Dans cette étude, nous avons donc inclus 9 neurones pour la condition "contrôle", 13 neurones pour la condition "lésée", 13 neurones pour la condition "transplant striatal" et 10 neurones pour la condition "transplant nigral". Aucune différence dans la durée moyenne du potentiel d'action des différents groupes n'a été détectée ($p = 0,61$), confirmant que nos populations de neurones sont homogènes dans les 4 conditions (Fig. 22 C).

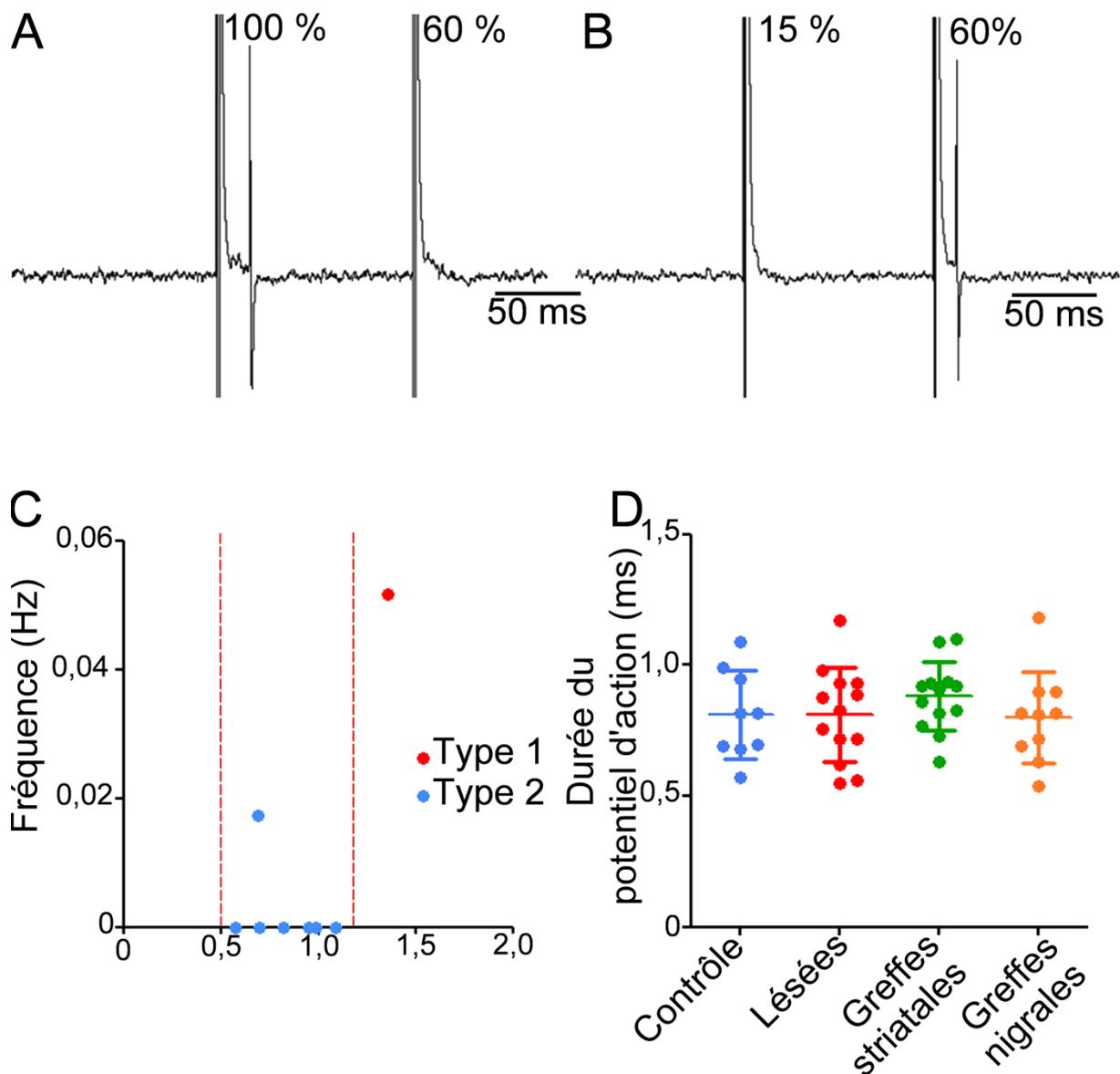


Figure 22: Distinction des familles neuronales du striatum. (A-B) Profil de réponse des différentes familles de neurones striataux à la stimulation corticale. Les interneurons putatifs répondent préférentiellement à la première stimulation (A) alors que les NEM putatifs répondent préférentiellement à la deuxième stimulation (B). (C) Graphique montrant la relation entre la durée du potentiel d'action, la fréquence et le type de réponse pour chaque neurone enregistré. Les limites d'inclusion pour notre étude sont indiquées par les lignes pointillées rouges. (D) Distribution de la durée des potentiels d'action pour chaque groupe expérimental. Les données individuelles ainsi que la moyenne \pm déviation standard sont indiquées.

4.2.2. Modification de l'activité de décharge des NEM

Il a été montré que la lésion dopaminergique augmente l'activité des NEM dans le striatum (Tseng et al., 2001; Mallet et al., 2006). Conformément à ces études, nos résultats indiquent que le pourcentage de neurones silencieux est moins important pour les souris traitées à la 6-OHDA (38%) que pour les souris contrôles (90%) (Fig. 23 A). Par ailleurs, la lésion induit une augmentation significative de la fréquence de décharge des NEM (Kruskall-Wallis, $p = 0,031$) (Fig. 23 B). La greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires rétablit partiellement le taux de NEM silencieux (69%) et réduit significativement la fréquence de décharge des NEM par rapport aux souris lésées, ramenant cette fréquence à une valeur équivalente à celle des souris contrôles. De même, la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires rétablit partiellement la proportion de NEM silencieux (70%) et réduit la fréquence de décharge.

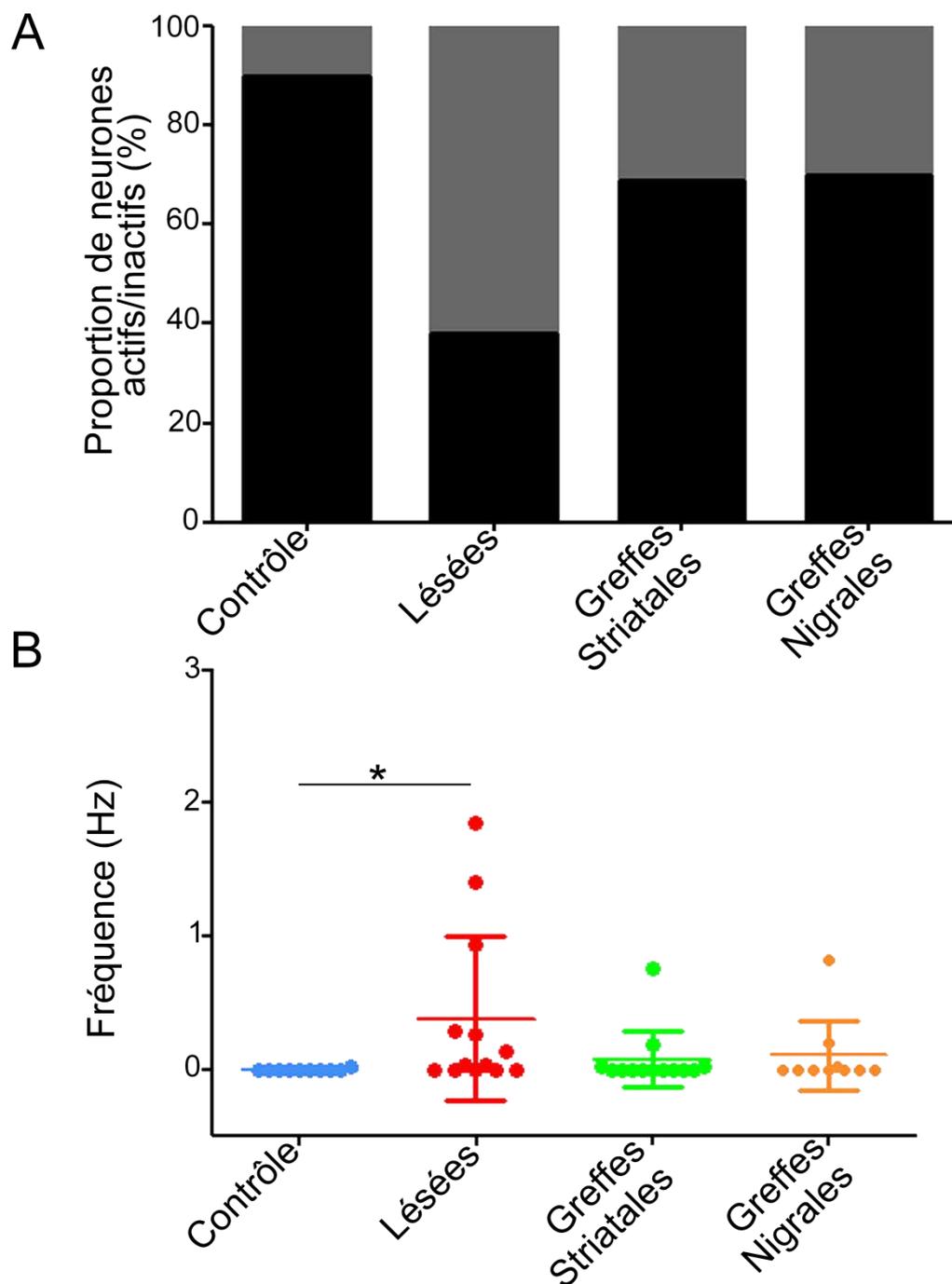


Figure 23: Modification de l'activité de décharge des NEM. (A) Proportion de neurones spontanément actifs (gris) ou inactifs (noir) pour les différents groupes expérimentaux. Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre de NEM enregistrés pour le groupe expérimental considéré. (B) Fréquence de décharge des NEM, les valeurs individuelles sont représentées ainsi que la moyenne \pm écart type. *: $p < 0,05$

4.2.3. Modification de l'efficacité de la transmission cortico-striée

Nous avons évalué l'efficacité de la transmission cortico-striatale des neurones en mesurant l'intensité du courant de stimulation permettant d'obtenir un potentiel d'action dans 50% des cas (courant 50%). L'intensité moyenne du courant 50% chez les souris contrôles ($n = 6$) a été évaluée à $650 \pm 147,5 \mu\text{A}$ alors que le courant 50% moyen chez les souris lésées ($n = 9$) a été évalué à $1220 \pm 406 \mu\text{A}$ (Fig. 24) mais aucune différence significative n'a pu être établie entre ces deux conditions. Ces résultats suggèrent donc que les NEM du groupe lésé sont moins excitables que les NEM du groupe contrôle dans nos conditions ou bien que la probabilité de libération de glutamate ou la taille des quanta glutamatergiques ont pu être modifiés par la lésion de la SNc. Nos résultats peuvent s'expliquer par la différence de l'altération de la voie directe et de la voie indirecte. Il a été démontré que les NEM de la voie indirecte deviennent plus excitables suite à une lésion dopaminergique alors que les NEM de la voie directe deviennent moins excitables (Mallet et al., 2006; Ballion et al., 2009). Nos résultats pourraient alors refléter une disproportion dans l'enregistrement de NEM d'une voie de sortie au détriment de l'autre. L'analyse des statistiques descriptives des valeurs chez les souris contrôles et chez les souris lésées va dans ce sens. En effet, la distribution des valeurs autour de la moyenne, déterminée par le calcul de l'espace interquartile Q, indique une étendue plus importante des valeurs autour de la moyenne pour le groupe lésé que pour le groupe contrôle (Q = 222,5 μA contre Q = 810 μA ; contrôle contre lésée).

La greffe de neurones embryonnaires dans le striatum ($n = 10$) ou dans la SNc ($n = 7$) abaisse le seuil du courant 50% à $875 \pm 666,2 \mu\text{A}$ et $570 \pm 265,3 \mu\text{A}$, respectivement (Fig. 24). Il est alors intéressant de noter que la greffe de neurones embryonnaires dans la substance noire réduit le seuil du courant 50% à une valeur

plus proche du groupe contrôle que la greffe de neurones embryonnaires dans le striatum. Par ailleurs, seule la différence observée entre le groupe lésé et le groupe transplanté dans la SNc est significative (ANOVA 1facteur, $p = 0,026$). Ces résultats suggèrent alors que la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans la SNc est plus efficace pour rétablir l'excitabilité des NEM que la greffe de neurones embryonnaires dans le striatum. Ceci est confirmé par l'analyse de l'espace interquartile. En effet, l'espace interquartile du groupe transplanté dans le striatum est de 1128 μA alors que l'espace interquartile du groupe transplanté dans la SNc est de 500 μA indiquant des valeurs d'intensité seuil plus resserrées autour de la moyenne.

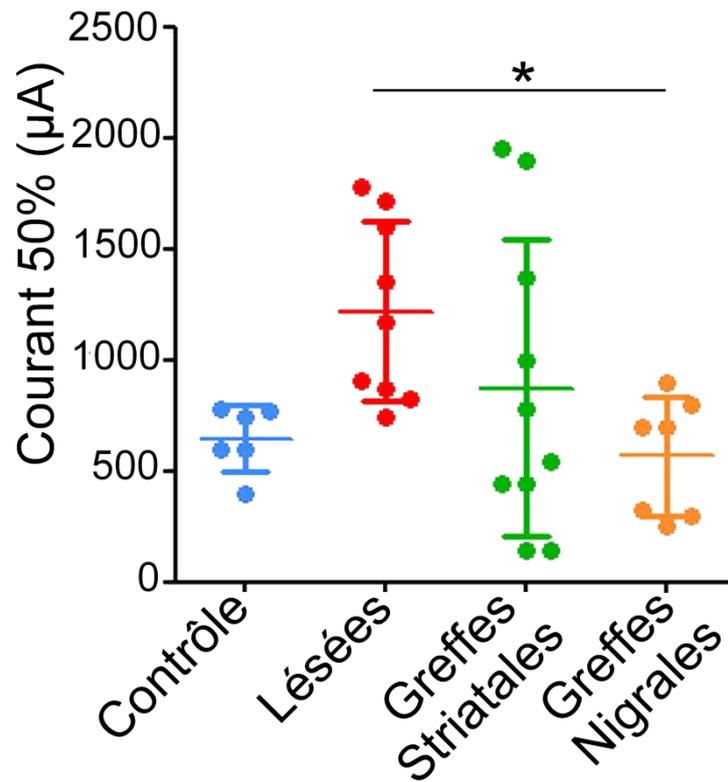


Figure 24: Modification de l'efficacité de la transmission cortico-striatale. Le courant 50% correspond à l'intensité de courant de stimulation pour laquelle la probabilité de réponse en potentiel d'action est de 0,5. * $p < 0,05$

4.2.4. Modifications de la cinétique de la transmission cortico-striée

Dans une précédente étude réalisée par Mallet et al. (2006), il a été démontré que les neurones striatopallidaux répondent plus rapidement aux stimulations corticales à un courant 50% dans un modèle de rat de la maladie de Parkinson. De même, ils démontrent que la lésion dopaminergique entraîne une diminution de l'écart type de la latence moyenne de réponse des neurones striato-nigraux et une augmentation de l'écart type de la latence moyenne de réponse des neurones striato-pallidaux. Nous avons alors mesuré la latence moyenne de la réponse des NEM enregistrés pour le courant 50% (Fig. 25 A) et calculé l'écart type moyen de cette latence (Fig. 25 B). Les valeurs moyennes de la latence de réponse ne sont pas différentes entre les groupes (ANOVA 1 facteur, $p = 0,87$) mais la variabilité semble être augmentée par la lésion et très faiblement restaurée par les deux types de greffes. Ceci suggère que si la latence moyenne du groupe n'est pas modifiée par la lésion, la réponse moyenne pour chaque neurone pourrait être affectée par la lésion dopaminergique. Nous avons alors étudié la moyenne des écarts type de la réponse des neurones dans chaque groupe. Encore une fois, aucune différence n'a été détectée (ANOVA 1 facteur, $p = 0,2$). Néanmoins, il faut noter que la greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires semble augmenter la variabilité de la réponse des neurones.

La membrane des NEM oscille entre un état bas hyperpolarisé ne permettant pas la réponse des NEM et un état haut dépolarisé permissif à l'émission de potentiels d'action (Wilson and Kawaguchi, 1996; Tseng et al., 2001; Mahon et al., 2006). Cette fenêtre temporelle pendant laquelle le neurone peut émettre des réponses aux stimulations corticales est modulée par la dopamine (West and Grace, 2002; Planert et al., 2013) et est altérée lors de la perte de l'innervation

dopaminergique (Tseng et al., 2001). Nous avons alors caractérisé cette fenêtre en mesurant la latence de réponse minimum et la latence de réponse maximum de chaque neurone à un courant 50%. Grâce à cela, nous avons pu déterminer la durée de la fenêtre de réponse des neurones pour chaque groupe expérimental (Fig. 25 C). Aucune différence n'a été détectée dans la durée moyenne de la fenêtre de réponse (ANOVA 1 facteur, $p = 0,19$). Ceci suggère alors que le temps pendant lequel le neurone peut émettre un potentiel d'action ne subit pas de modification par nos manipulations. Les mécanismes neurobiologiques modulant le début de la réponse et la fin de la réponse sont divers. Notamment, les interneurones à décharge rapide exercent une inhibition puissante sur les NEM qui réduit la fenêtre de réponse des NEM (Mallet et al., 2006; Szydlowski et al., 2013). Par ailleurs, la dopamine régule les transitions entre l'état haut et l'état bas (West and Grace, 2002). En cohérence avec les résultats de Mallet et al. (2006), nos résultats démontrent que la dénervation dopaminergique affecte la transmission corticostriée. De plus, une perte de l'inhibition exercée par les interneurones à décharge rapide a été suggéré par une étude anatomique (Salin et al., 2009) et une modélisation informatique des réseaux neuronaux (Damodaran et al., 2014). L'ensemble de ces études suggère alors que l'initiation ou l'arrêt de la réponse peut être altérée par la lésion de la SNc. Aucune différence significative n'a été détectée dans la latence minimum moyenne de réponse entre les groupes (ANOVA 1 facteur, $p = 0,87$) ou dans la latence maximum moyenne de réponse entre les groupes (ANOVA 1 facteur, $p = 0,3$) (Fig. 25 D). L'ensemble de ces résultats montre donc qu'aucune caractéristique cinétique de réponse des NEM n'est altérée dans nos conditions.

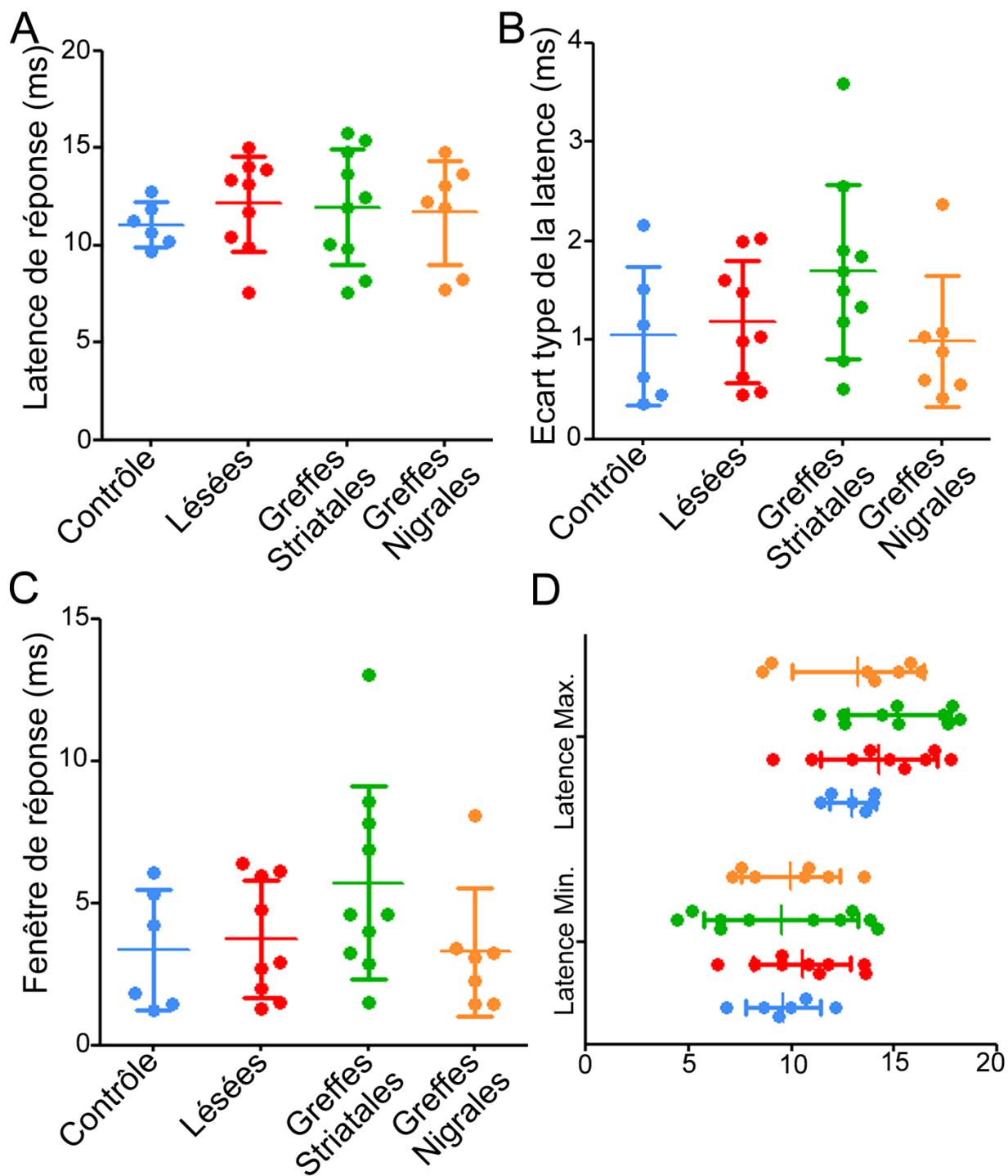


Figure 25: Caractéristiques de réponse des NEM au courant 50%. (A) Latence de réponse des NEM. (B) Ecart type de la latence de réponse des NEM. (C) Fenêtre de réponse moyenne des NEM. (D) Initiation et arrêt de la réponse des NEM caractérisés respectivement par la latence minimum moyenne et la latence maximum moyenne de réponse.

5. Discussion

L'introduction de cette thèse souligne l'importance de la dopamine dans le contrôle de la motricité tant au niveau cortical qu'au niveau des ganglions de la base. Pour autant, bien que l'innervation dopaminergique et le rôle de la dopamine soit très bien documentés dans le striatum, structure d'entrée des ganglions de la base, il n'existe que très peu de données sur l'innervation dopaminergique et le rôle de la dopamine dans M1 qui se révèle pourtant être une structure clef dans le contrôle moteur. En effet, en projetant des afférences dans le striatum et dans la moelle épinière, M1 permet la mise en place du plan moteur ainsi que sa bonne exécution. Plusieurs études ont suggéré la présence de fibres dopaminergiques au sein de M1 sans pour autant décrire précisément l'étendue de l'innervation dopaminergique. D'autres études ont également suggéré que la dopamine module l'excitabilité générale de M1 en mettant en évidence une diminution de la topographie des membres lors de la modulation pharmacologique des récepteurs D2 et en mettant en évidence le rôle de la dopamine dans les apprentissages moteurs. Néanmoins, les études réalisées sur la modulation dopaminergique directe des neurones pyramidaux de M1 restent contradictoires.

Notre première étude a permis de décrire précisément l'étendue et la densité des fibres dopaminergiques dans M1 chez la souris ainsi que le rôle direct de l'activation des récepteurs D2 sur l'activité unitaire des neurones de projection de M1. Nos résultats démontrent non seulement que l'innervation dopaminergique est restreinte aux couches profondes contenant les neurones de projection de la structure mais également qu'elle innerve préférentiellement l'aire de représentation des membres antérieurs. De plus, la densité de l'innervation dopaminergique des

couches profondes de M1 est suffisamment importante pour exercer un rôle sur l'activité des neurones de M1. Ces résultats anatomiques complètent et corroborent les études réalisées précédemment dans lesquelles il a été montré que la dopamine module l'acquisition de nouvelles tâches motrices et l'étendue de la représentation des membres antérieurs dans M1 (Parr-Brownlie and Hyland, 2005; Hosp et al., 2009; Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011). En outre, ces données anatomiques soulèvent la question de la modulation de l'activité des neurones par la dopamine. Pour y répondre, nous avons enregistré l'activité unitaire des neurones de projection de M1 en modulant par des injections d'agents pharmacologiques périphériques et locales les récepteurs dopaminergiques D2. Grâce à cela, nous avons montré que l'activation des récepteurs D2 augmente la fréquence de décharge des neurones de M1 sans modifier leur patron de décharge. Par ailleurs, nos résultats démontrent également que ces effets sont locaux et non dus à la modulation dopaminergique d'autres structures des réseaux moteurs. Associés aux études qui démontrent des altérations de la motricité fine dans des modèles de dénervation dopaminergique (Plowman et al., 2011) et chez des patients de la maladie de Parkinson nouvellement diagnostiqués (Fellows and Noth, 2004), nos résultats suggèrent également un rôle des récepteurs D2 de M1 dans les troubles de la motricité liés à une dérégulation de la modulation dopaminergique.

M1 fournit des afférences excitatrices massives au striatum dorsolatéral qui permet la sélection de plans moteurs cohérents ainsi que l'initiation du mouvement grâce à la transmission des informations corticales aux autres structures des ganglions de la base. Nous avons vu que l'innervation dopaminergique du striatum est bien décrite, ainsi que son action au niveau des réseaux neuronaux du striatum. La dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc innervant le striatum

est à l'origine des principaux symptômes moteurs observés dans la maladie de Parkinson. La thérapie cellulaire visant à remplacer les neurones dopaminergiques de la SNc détruits lors de cette pathologie constitue un enjeu important des neurosciences. A ce titre, des études cliniques consistant à transplanter des neurones dopaminergiques dans le striatum réalisées à la fin du siècle dernier ont donné des résultats encourageants mais contrastés. Suite aux résultats obtenus en 2009 dans notre laboratoire montrant une reconstruction des voies dopaminergiques nigro-striées par une transplantation de neurones dopaminergiques dans la substance noire, nous avons voulu caractériser les récupérations fonctionnelles apportées par ces transplantations. Pour ce faire, nous avons analysé le rétablissement des caractéristiques électrophysiologiques des NEM du striatum par une greffe de neurones dopaminergiques du mésencéphale ventral dans le striatum ou dans la substance noire. Les résultats préliminaires obtenus ont permis de mettre en évidence un critère pertinent de discrimination des neurones striataux. De plus, nous avons démontré que si l'activité du striatum et la fréquence de décharge des neurones sont rétablies par les deux types de greffes avec la même efficacité, seule la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires permet de rétablir la transmission cortico-striatale à un niveau physiologique. Ceci démontre alors que la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires est plus efficace pour rétablir les caractéristiques électrophysiologiques des neurones striataux.

5.1. PROJET 1: Contrôle dopaminergique de l'activité de M1 par l'activation des récepteurs D2

Cette étude a permis de révéler l'existence d'une innervation dopaminergique conséquente des couches profondes de M1. En effet, les mesures stéréologiques

réalisées en parallèle dans M1 et dans Cg, une structure au sein de laquelle le rôle de l'innervation dopaminergique est bien connue, ont permis de montrer que l'innervation dopaminergique des couches profondes de M1 est du même ordre de grandeur que l'innervation dopaminergique de Cg. Par ailleurs, l'analyse de la répartition des fibres sur l'axe médiolatéral et sur l'axe rostrocaudal démontre que les fibres dopaminergiques innervent préférentiellement l'aire de représentation des membres antérieurs. L'ensemble de ces résultats, suggère un rôle direct de la dopamine dans le contrôle de l'activité de M1. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons alors enregistré l'activité des neurones de projection cortico-striataux lors de la modulation pharmacologique du récepteur D2. L'identification de ces neurones a été basée sur le patron de décharge des neurones enregistrés. Cette caractéristique s'est, en effet, révélé la plus pertinente dans nos conditions d'enregistrement.

L'analyse de la modulation de l'activité des neurones de projection par le récepteur D2 a été réalisée en deux temps. Dans un premier temps, nous avons mis en évidence que l'activation du récepteur D2 par l'injection intrapéritonéale de quinpirole cause une augmentation significative de l'activité des neurones pyramidaux. Aucune modification de l'activité n'a été mise en évidence après le blocage des récepteurs D2 par une injection intrapéritonéale d'halopéridol. Comme le rôle communément décrit du récepteur D2 est un rôle inhibiteur de l'activité des neurones, nous avons voulu vérifier ces résultats par des injections locales intracorticales pour éviter les éventuels effets réseaux par l'activation des ganglions de la base. L'injection de quinpirole 100 μ M puis 1 μ M confirment l'action activatrice de l'activation des récepteurs D2.

Cette étude fournit donc pour la première fois une description précise de l'innervation dopaminergique de M1 chez la souris. De plus, nous avons montré que

l'activation des récepteurs D2 joue un rôle activateur des neurones pyramidaux potentiels de M1. Même si les mécanismes exacts de cette activation restent à déterminer, notre étude constitue un nouveau pas vers la compréhension de la modulation dopaminergique de M1 par la dopamine. Enfin, nos résultats suggèrent que l'altération de la modulation locale des récepteurs D2 pourrait être impliquée dans des troubles physiopathologiques associés avec l'altération de l'homéostasie dopaminergique.

Jusqu'à présent, les études suggérant la présence de fibres dopaminergiques dans M1 avaient utilisé des méthodes indirectes basées sur la recapture de la dopamine radioactive (Descarries et al., 1987) ou le marquage de l'enzyme TH (Gaspar et al., 1991). Bien que la TH soit communément utilisée pour révéler les fibres dopaminergiques (Gaspar et al., 1991; Busceti et al., 2008), elle n'en reste pas moins commune à tous les neurones catécholaminergiques et ne permet donc pas de distinguer les fibres dopaminergiques des fibres adrénérgiques dans le cortex. En revanche, il a été montré que le DAT est spécifiquement exprimé par les neurones dopaminergiques (Ciliax et al., 1995). C'est pourquoi nous avons décidé de marquer les fibres dopaminergiques avec le DAT dans M1. Nos résultats chez la souris démontrant l'existence d'une innervation dopaminergique de M1 sont cohérents avec des études antérieures réalisées chez plusieurs espèces dont le rat (Descarries et al., 1987), le singe (Raghanti et al., 2008) et l'Homme (Gaspar et al., 1991; Raghanti et al., 2008) mais elles complètent celles-ci en apportant une quantification précise de la densité et de l'étendue de l'innervation dopaminergique de M1.

5.1.1. Régionalisation des fibres dopaminergiques dans M1

Pour la première fois, nous avons pu démontrer que la densité de l'innervation dopaminergique de M1 est similaire à la densité de l'innervation dopaminergique de Cg pour laquelle le rôle modulateur de la dopamine est bien décrit (Lopez-Avila et al., 2004; Schweimer and Hauber, 2006; Huang et al., 2013). Par ailleurs, nous avons montré que les fibres dopaminergiques innervent principalement les couches profondes de M1 qui contiennent les neurones de projection de la structure. De précédentes études réalisées dans le cortex cérébral dont M1 (Gaspar et al., 1995) et le cortex préfrontal (Santana et al., 2009) ont décrit la présence de récepteurs dopaminergiques dans les couches V et VI. Alors que le récepteur D1 est exprimé dans toutes les couches corticales et majoritairement dans la partie inférieure de la couche VI (Gaspar et al., 1995), l'expression du récepteur dopaminergique D2 est restreinte à toute l'épaisseur de la couche V (Gaspar et al., 1995). De plus, toutes les populations de neurones des couches profondes expriment le récepteur D1 ou le récepteur D2 (Santana et al., 2009) mais les neurones corticostriataux de la partie inférieure de la couche V expriment préférentiellement le récepteur D2 (Gaspar et al., 1995; Santana et al., 2009) alors que les interneurones GABAergiques expriment préférentiellement le récepteur D1 (Santana et al., 2009). Nos résultats, associés à ces études antérieures, suggèrent alors que la dopamine est capable de moduler l'activité de M1, et peut moduler la transmission corticostriatale. Il est également intéressant de noter que les neurones pyramidaux exprimant les récepteurs de la famille D1 sont toujours situés à proximité d'interneurones GABAergiques exprimant les récepteurs de la famille D2 et vice-versa (Santana et al., 2009), suggérant alors que la dopamine peut influencer l'activité des deux populations neuronales du cortex, renforçant ainsi son action au sein de groupes fonctionnels neuronaux.

Pour caractériser plus amplement l'innervation dopaminergique de M1, nous avons analysé la répartition des fibres dopaminergiques sur la surface de M1. Nos résultats démontrent alors l'existence d'un gradient de densité des fibres dopaminergiques dont le maximum est atteint au niveau de l'aire de représentation des membres antérieurs, suggérant que la dopamine joue un rôle important dans la régulation de l'activité des neurones corticaux contrôlant la motricité fine. De plus, c'est également la seule aire de représentation de M1 pour laquelle l'innervation dopaminergique s'étend sur toute la latéralité. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs études électrophysiologiques démontrant que le blocage du récepteur D2 diminue la topographie des membres antérieurs (Parr-Brownlie and Hyland, 2005; Hosp et al., 2009). De plus, la réduction des cartes motrices des membres antérieurs dans un modèle de rat traité à la 6-OHDA est corrélée à une altération de la motricité fine (Plowman et al., 2011). Une altération de la force de préhension a également été décrite chez des patients parkinsoniens *de novo* (Fellows and Noth, 2004) ainsi qu'une perte de la sélectivité de direction de la décharge des neurones pyramidaux chez le singe traité au MPTP (Pasquereau and Turner, 2013). Par ailleurs, nos résultats sont également cohérents avec des études comportementales réalisées chez le rat dans lesquelles il a été démontré que la déplétion sélective de l'innervation dopaminergique de M1 empêche l'apprentissage de nouvelles tâches motrices fines chez le rat (Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011).

L'ensemble de nos résultats anatomiques suggère que la dopamine joue un rôle crucial dans le bon fonctionnement de M1 et qu'elle pourrait avoir un rôle important dans la régulation de l'apprentissage de nouveaux mouvements et le contrôle de la motricité fine chez les mammifères. Nous avons alors décidé de caractériser l'action de la dopamine sur l'activité basale des neurones pyramidaux

dans M1 afin d'apporter de nouvelles clefs pour la compréhension de la régulation dopaminergique de M1.

5.1.2. Caractérisation électrophysiologique des neurones pyramidaux

Afin de tester notre hypothèse selon laquelle la dopamine module l'activité des neurones de projection de M1, nous avons enregistré l'activité des neurones chez l'animal anesthésié. Les caractéristiques électrophysiologiques intrinsèques des neurones pyramidaux corticaux ont été décrites dans plusieurs études (Hajos et al., 2003;Mallet et al., 2005;Tseng et al., 2006) mais nos conditions expérimentales n'ont pas permis de les utiliser pour la discrimination des populations neuronales. En revanche, 86% des neurones enregistrés présentaient un patron de décharge en bouffées. Nous avons émis l'hypothèse que cette caractéristique électrophysiologique pourrait être utilisée pour distinguer les neurones pyramidaux des interneurones. Grâce à des expériences de stimulation antidromique du striatum ipsilatéral, nous avons pu déterminer que les neurones de projection corticostriataux possèdent un patron de décharge en bouffées de 2 ou 3 potentiels d'action et émettent au moins 25% des potentiels d'action dans des bouffées. Ces caractéristiques sont cohérentes avec les neurones à type de décharge en bouffées intrinsèques retrouvées *in vivo* par Dégénétais et al. (2002) dont les corps cellulaires sont situés dans la couche V du cortex préfrontal (Connors and Gutnick, 1990;Degenetais et al., 2002). Par ailleurs, Connors et Gutnick (1990) ont montré que les neurones à décharge en bouffées intrinsèques sont tous pyramidaux. Trois neurones présentant ces caractéristiques électrophysiologiques et injectés avec de la neurobiotine dans nos conditions ont également montré des caractéristiques anatomiques de neurones pyramidaux avec un corps cellulaire pyramidal. De

manière intéressante, les neurones pyramidaux de la couche V sont des neurones qui contactent la moelle épinière et/ou le striatum mais très rarement le thalamus et jamais le cortex contralatéral (Reiner et al., 2003), suggérant que nous avons ciblé spécifiquement les neurones impliqués directement dans la mise en place et l'exécution du mouvement. Néanmoins, des études plus récentes corrélient les neurones pyramidaux IT et PT avec une activité de décharge régulière et non avec une activité de décharge en bouffées intrinsèques (Hattox and Nelson, 2007;Oswald et al., 2013). La divergence de nos résultats avec ceux-ci est sans doute liée aux différences de préparation utilisées. En effet, ces deux groupes réalisent leurs études électrophysiologiques *in vitro*, détruisant de fait les afférences qui influencent l'activité des neurones enregistrés.

5.1.3. Modulation dopaminergique de l'activité de M1 par les récepteurs D2

Lors de cette étude, nous avons démontré que la dopamine module directement l'activité des neurones pyramidaux de M1. L'injection périphérique ou intracorticale de quinpirole augmente la fréquence de l'activité basale sans changer le patron de décharge des neurones. Ces résultats sont cohérents avec des études électrophysiologiques montrant que le blocage des récepteurs D2 par une injection périphérique ou intracorticale d'halopéridol diminue l'excitabilité générale de M1 (Parr-Brownlie and Hyland, 2005;Hosp et al., 2009), suggérant un rôle excitateur du récepteur D2 dans M1. Cependant, nous ne trouvons aucun effet significatif de l'injection périphérique d'halopéridol sur l'activité des neurones pyramidaux dans M1. Une diminution du taux de dopamine par l'anesthésique pourrait expliquer nos résultats. En effet, Hosp et al. (2009) utilisent la kétamine qui ne modifie pas le métabolisme dopaminergique (McCown et al., 1983), alors que l'uréthane, utilisé

dans cette étude, diminue significativement le métabolisme dopaminergique (McCown et al., 1983). Ceci suggère alors que le niveau basal de dopamine dans nos conditions pourrait être trop bas pour qu'une diminution significative de son action puisse être mise en évidence.

Awenowicz et Porter (2002) ainsi que Huda et al. (2001) ont montré une implication des deux familles de récepteurs dans la modulation dopaminergique de l'activité des neurones pyramidaux corticaux. Leur étude démontre qu'une application iontophorétique de dopamine 0,1 M entraîne un effet globalement inhibiteur sur l'activité des neurones pyramidaux par une activation synergique des récepteurs D1 et D2. La discordance entre nos résultats et ceux d'Awenowicz et Porter (2002) et de Huda et al. (2001) peut être expliquée de différentes manières. D'une part, il a été démontré que le taux de dopamine est 50 fois moins élevé dans le cortex cérébral que dans le striatum (Godefroy et al., 1991). Or, une concentration de 0,1 M correspond à un taux de dopamine mesuré dans le striatum lors d'une décharge phasique (Benoit-Marand et al., 2000). Ces résultats suggèrent alors que la concentration de dopamine utilisée dans les études d'Awenowicz et Porter (2002) et de Huda et al. (2001) dépasse les concentrations physiologiques que l'on pourrait retrouver dans le cortex moteur. Une étude *in vivo* a démontré qu'une trop forte stimulation des récepteurs D1 supprime l'activité des neurones du cortex préfrontal (Vijayraghavan et al., 2007), suggérant qu'une dose optimale de dopamine est nécessaire pour obtenir un fonctionnement optimal des neurones. Ces résultats suggèrent également que les études pré-citées sont biaisées par une trop forte dose de dopamine. D'autre part, les différences de résultats obtenus entre notre étude et ces deux études pré-citées pourraient s'expliquer par des différences méthodologiques. En effet, nous avons appliqué localement nos drogues

pharmacologiques par pression d'air alors qu'Awenowicz et Porter et Huda et al. ont procédé à des injections iontophorétiques avec un courant de forte intensité. Un biais occasionné par le courant d'injection ne peut donc pas être éliminé. En effet, il a récemment été démontré *in vitro* que l'application d'un courant de forte intensité à proximité de neurones entraîne une diminution de la fréquence de décharge de ces neurones (Moore et al., 2011).

Nos résultats montrant un rôle excitateur des récepteurs D2 dans M1 sont cohérents avec une récente étude *in vitro* indiquant que l'activation du récepteur D2 augmente l'activité des neurones pyramidaux pendant plusieurs dizaines de secondes dans le cortex préfrontal (Moore et al., 2011). Dans le striatum, il a été démontré que le récepteur D2 module l'activité des canaux calciques de type L (Hernandez-Lopez et al., 2000). Par ailleurs, l'activation du récepteur D2 prolonge l'excitabilité des neurones pyramidaux de la couche V dans le cortex préfrontal (Gee et al., 2012). En effet, cette étude démontre que l'activation des récepteurs D2 induit une prolongation de la dépolarisation après que l'excitation soit terminée. La dépolarisation membranaire décrite par Gee et al. (2012) est consécutive à une stimulation synaptique glutamatergique. Elle nécessite l'activation des récepteurs NMDA et la mise en jeu des canaux calciques de type L et entraîne la décharge du neurone en potentiels d'action. L'augmentation de l'activité des neurones pyramidaux de M1 dans nos conditions pourrait alors être due à un tel mécanisme.

L'ensemble de ces résultats nous permet d'émettre l'hypothèse que la dopamine module directement l'activité des neurones pyramidaux corticaux.

A l'inverse, plusieurs études suggèrent que l'influence excitatrice pourrait être indirecte. En effet, les neurones dopaminergiques innervent les interneurones GABAergiques dans le cortex préfrontal (Sesack et al., 1998b). Les interneurones

GABAergiques expriment, de plus, les récepteurs dopaminergiques (Santana et al., 2009). Il a été démontré récemment que l'activation du récepteur D2 inhibe les interneurons GABAergiques *in vitro* dans le cortex préfrontal de rat et de souris (Xu and Yao, 2010), résultant en une diminution de la probabilité de décharge du GABA et en une diminution des courants postsynaptiques inhibiteurs (Seamans et al., 2001;Trantham-Davidson et al., 2004). De plus, l'activation du récepteur D1 augmente les courants inhibiteurs GABAergiques sur les neurones pyramidaux (Gorelova et al., 2002). Ces études suggèrent alors un rôle indirect de la dopamine sur l'activité des neurones glutamatergiques qui passe par l'inhibition des interneurons GABAergiques.

5.1.4. Considérations fonctionnelles et pathologiques

Nos résultats démontrent de façon intéressante que la dopamine innerve préférentiellement l'aire de représentation des membres antérieurs chez la souris (Tennant et al., 2011). Or, il a été démontré que la dopamine dans M1 est nécessaire à l'apprentissage de nouvelles tâches motrices (Molina-Luna et al., 2009;Hosp et al., 2011). En outre, une déplétion dopaminergique de M1 chez le rat conduit à une réduction de la représentation corticale des membres antérieurs et à une réduction des mouvements des membres antérieurs induits par microstimulation intracorticale (Viaro et al., 2011) et altère aussi l'apprentissage moteur (Molina-Luna et al., 2009;Hosp et al., 2011). Ces résultats suggèrent donc un rôle prépondérant de la dopamine dans les habiletés motrices des membres antérieurs. Une étude clinique a révélé une force de préhension anormale chez les patients atteints de la maladie de Parkinson *de novo*. Par ailleurs, une perte de l'innervation dopaminergique de M1 lors de la maladie de Parkinson a été démontrée (Gaspar et al., 1991). Ceci suggère

alors que la dopamine joue également un rôle dans le contrôle de la motricité fine. Il est intéressant de noter que des études cliniques ont démontré qu'il est impossible d'induire une PLT de M1 chez les patients parkinsoniens (Morgante et al., 2006;Huang et al., 2011) lorsqu'ils n'ont pas reçu de traitement dopaminergique (Morgante et al., 2006;Huang et al., 2011). De plus, Huang et al. (2011) ont également démontré que les dyskinésies induites par la L-DOPA sont le reflet d'une plasticité anormale de M1. L'ensemble de ces résultats suggèrent alors que la dopamine est cruciale pour la bonne mise en place de la plasticité dans M1.

Nos analyses électrophysiologiques démontrent que la dopamine est capable d'augmenter l'activité basale des neurones pyramidaux de M1 par l'activation des récepteurs D2. L'augmentation de l'activité basale se traduit par une augmentation du nombre de potentiels d'action sans modification du patron de décharge. L'activation du récepteur D2 entraîne donc une augmentation de la fréquence d'émission de doublets ou triplets par le neurone.

Dans le cortex préfrontal, un modèle computationnel a suggéré qu'une libération phasique de dopamine active en premier lieu les récepteurs D1 qui permettraient alors de faire passer une information aux structures sous-corticales en augmentant le ratio signal/bruit mais en réduisant la flexibilité comportementale (Pour revue: Durstewitz and Seamans, 2008). A la suite de cette activation des récepteurs D1, la concentration de dopamine diminue et l'activation du récepteur D2 préparerait les neurones pyramidaux à recevoir une nouvelle information, permettant ainsi la flexibilité comportementale, mais en diminuant le ratio signal/bruit (Pour revue: Durstewitz and Seamans, 2008). Dans cette structure, des études électrophysiologiques suggèrent que la libération phasique de dopamine pourrait agir également en deux temps. L'activation du récepteur D1 inhibe l'activité de neurones

pyramidaux sur une courte période de temps (Zhou and Antic, 2012), puis l'activation des récepteurs D2 augmente l'activité des neurones pyramidaux pendant plusieurs dizaines de secondes (Moore et al., 2011). Par ailleurs, le blocage du récepteur D2 diminue l'excitabilité générale de M1 (Parr-Brownlie and Hyland, 2005; Hosp et al., 2009; Viaro et al., 2011). Il serait alors possible que l'augmentation de l'activité des neurones pyramidaux par l'activation des récepteurs D2 résultant d'une dépolarisation prolongée dépendante du calcium (Gee et al. 2012) puisse coder un signal d'arrêt du mouvement en cours par une augmentation du bruit dans M1 tout en préparant le neurone à recevoir de nouvelles informations par une augmentation de l'excitabilité du neurone. La dopamine ayant un rôle crucial dans l'acquisition de nouvelles capacités motrices (Molina-Luna et al., 2009; Hosp et al., 2011) et la plasticité synaptique (Morgante et al., 2006; Molina-Luna et al., 2009), il est également possible que l'activation du récepteur D2 maintienne l'excitation du neurone pyramidal pour induire un renforcement synaptique de la voie motrice activée lors de l'apprentissage de nouveaux mouvements.

5.1.5. Conclusions de l'étude

Notre étude fournit pour la première fois une description précise de l'innervation dopaminergique de M1 chez la souris grâce à une quantification stéréologique de la densité de fibres dans M1 et à une description de la distribution des fibres au sein de la structure. De plus, nous avons démontré que l'activation du récepteur D2 augmente l'activité basale des neurones pyramidaux potentiels de M1 sans altérer leur patron de décharge. Ces résultats constituent une nouvelle étape dans la compréhension des mécanismes par lesquels la dopamine module l'activité de M1 et suggère que l'altération de la modulation locale des récepteurs D2 peut être

impliquée dans des conditions physiopathologiques causées par une destruction de l'innervation dopaminergique.

5.2. PROJET 2: Mesure de l'activité des NEM suite à la greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum ou la SNc dans un modèle de souris de la maladie de Parkinson

Notre étude a pour objectif la comparaison des bénéfices apportés par une greffe intra-striatale de neurones embryonnaires dopaminergiques ou par une greffe intra-nigrale de neurones embryonnaires dopaminergiques. Les résultats présentés ci-dessus proviennent de l'analyse de données préliminaires et ont permis de prospecter les différents paramètres analysables grâce à notre technique d'enregistrement de l'activité des neurones striataux. L'étude électrophysiologique réalisée dans le cadre de ma thèse a été précédée par des analyses comportementales et sera suivie par des analyses neuroanatomiques des transplants réalisés qui apporteront des données supplémentaires pour affiner nos analyses.

Les premières investigations réalisées ont permis de déterminer une méthode de caractérisation des NEM striataux dans nos conditions. En effet, l'analyse de données électrophysiologiques telles que la durée du potentiel d'action, la fréquence de décharge et le type de réponse à des paires de stimulations corticales nous ont permis de définir un critère d'inclusion des neurones striataux basés sur la durée du potentiel d'action. Nous avons choisi ce paramètre car il est connu pour ne pas être modifié par une lésion dopaminergique contrairement à la fréquence de décharge ou la réponse des stimulations corticales.

Les analyses réalisées lors de cette étude préliminaire ont d'ores et déjà permis de mettre en évidence des caractéristiques altérées par la dénervation dopaminergique. Ainsi, nous avons montré que la lésion de la SNc par une injection de 6-OHDA provoque une augmentation du nombre de neurones spontanément actifs ainsi qu'une augmentation de la fréquence de décharge des NEM. Ces deux

caractéristiques sont rétablies aussi bien par une greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires que par une greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires. Néanmoins, aucune différence entre les groupes de souris contrôles et de souris lésées n'a pu être mise en évidence concernant l'excitabilité ou les caractéristiques de réponse des NEM. Outre le fait que les différences puissent être masquées par des effectifs encore trop faibles, il est probable que le fait que nous n'ayons pas distingué les neurones striatopallidaux des neurones striatonigraux masque nos différences en augmentant la variabilité. En effet, il a été démontré que les NEM striatopallidaux deviennent plus excitables après une lésion dopaminergique alors que les NEM striatonigraux deviennent moins excitables (Mallet et al., 2006). Afin de pallier à cela, nous mettons actuellement au point un protocole de stimulation antidromique de la SNr tel que décrit précédemment par Mallet et al. (2005, 2006). Grâce à cela, nous pourrions affiner les résultats préliminaires obtenus dans ces quatre premiers groupes expérimentaux.

5.2.1. Caractérisation des neurones striataux

La caractérisation des neurones striataux peut être réalisée grâce à une comparaison des caractéristiques anatomiques et électrophysiologiques des neurones (Wilson et al., 1990; Kawaguchi, 1993; Inokawa et al., 2010; Sharott et al., 2012). Les NEM possèdent des dendrites épineuses et émettent des potentiels d'action d'une durée comprise entre la durée des potentiels d'action des interneurones GABAergiques et la durée des potentiels d'action des interneurones TAN. Nous avons donc décidé de sélectionner les neurones *a posteriori* sur la base de la présence ou l'absence d'épines dendritiques visualisées après un marquage à la neurobiotine et de réaliser le graphique de distribution des durées des potentiels

d'action. Cependant, si le marquage des neurones à la neurobiotine nous permet de mettre en évidence les épines dendritiques des NEM, l'analyse de la distribution des durées des potentiels d'action ne nous a pas permis de mettre en évidence de limites précises pour sélectionner les NEM. En effet, une famille de neurones émettant des potentiels d'action courts est facilement identifiable dans notre échantillonnage mais il nous est impossible de distinguer un groupe de neurones émettant des potentiels d'action de taille moyenne. Une précédente étude a également mis en évidence un chevauchement dans les durées de potentiels d'action de différentes familles neuronales lors d'enregistrements extracellulaires *in vivo* (Sharott et al., 2012), en précisant de plus que les durées des potentiels d'action des interneurones SFA et TAN ainsi que les durées des potentiels d'action des NEM peuvent être similaires. En 2005, Mallet et al. ont démontré que les NEM répondent préférentiellement à la deuxième stimulation corticale lors de paires de stimulations. Toutefois, cette caractéristique est altérée par la dénervation dopaminergique (Mallet et al., 2006) et n'est donc pas utilisable, seule, pour déterminer quels sont les NEM dans nos quatre conditions expérimentales. Par ailleurs, si la fréquence de décharge des NEM est plus faible que celle des autres neurones striataux (Wilson et al., 1990; Kawaguchi, 1993; Mallet et al., 2006), il a également été démontré que la dénervation dopaminergique modifie la fréquence de décharge des neurones (Mallet et al., 2006). Seule la durée du potentiel d'action est invariable dans nos conditions, nous avons donc combiné ces trois caractéristiques pour utiliser au final la durée du potentiel d'action comme critère de sélection. Cette combinaison nous a alors permis de déterminer un intervalle de durée de potentiels d'action cohérent avec les études précédentes et avec les durées des potentiels d'action observés pour les neurones marqués à la neurobiotine et présentant des épines dendritiques.

Les NEM sont à l'origine des deux voies de sortie du striatum et sont caractérisés en fonction de leur structure cible (Bolam et al., 2000) et des molécules qu'ils expriment (Le Moine and Bloch, 1995;Lobo et al., 2006). En effet, alors que les NEM exprimant le récepteur dopaminergique D1 contactent la SNr pour former la voie directe des ganglions de la base, les NEM exprimant le récepteur dopaminergique D2 contactent le GPe pour former la voie indirecte des ganglions de la base. Il a, en outre, été démontré que ces deux types de neurones sont affectés différemment par la destruction de la voie dopaminergique nigro-striée (Mallet et al., 2005;Day et al., 2006). Lors des expériences présentées dans ce manuscrit, nous avons considéré les NEM dans leur globalité sans distinguer *a priori* entre neurones striatopallidiaux et striatonigraux afin de mesurer l'activité globale des neurones de projection du striatum. Nous projetions de réaliser une caractérisation anatomique des neurones injectés avec de la neurobiotine afin de discriminer entre les NEM de chaque voie de sortie *a posteriori*. Devant le faible rendement de la technique d'injection de neurobiotine, nous avons décidé de mettre au point une technique d'identification électrophysiologique par stimulation antidromique de la SNr pour les prochaines séries d'expériences. Les premiers essais réalisés ont prouvé la faisabilité de cette technique dans nos conditions et nous permettront, par la suite de classifier les NEM selon leur appartenance à la voie directe ou indirecte.

5.2.2. Caractéristiques électrophysiologiques des NEM après lésion de la SNC

Nos résultats montrent une augmentation de la proportion de NEM spontanément actifs chez les souris lésées par rapport aux souris contrôles. Par ailleurs, la fréquence de décharge moyenne des NEM est significativement augmentée par la lésion dopaminergique. Une augmentation de l'activité spontanée

des NEM dans des modèles de lésion dopaminergique prenant en compte l'activité globale des neurones de projection a été décrite auparavant (Di Loreto et al., 1996;Tseng et al., 2001). Plusieurs études ont également démontré que les neurones striatopallidaux ont tendance à être plus actifs spontanément que les neurones striatonigraux en condition physiologique (Mallet et al., 2005;Kreitzer and Malenka, 2007;Flores-Barrera et al., 2010), notamment à cause d'un potentiel de membrane moins hyperpolarisé (Gertler et al., 2008) mais également à cause d'un nombre d'événements excitateurs postsynaptiques plus importants dus à une libération plus importante de glutamate dans la synapse corticostriatale (Kreitzer and Malenka, 2007;Cepeda et al., 2008). Par ailleurs, la déplétion dopaminergique du striatum augmente l'écart d'activité entre les deux voies de sortie du striatum en provoquant la diminution de la fréquence de décharge des neurones striatonigraux et l'augmentation de la fréquence de décharge des neurones striatopallidaux (Mallet et al., 2006;Ballion et al., 2009). Différentes études ont montré que l'absence de dopamine dans le striatum entraîne une déshinhibition des canaux calciques de type L des neurones striatopallidaux (Day et al., 2006). Il a été, de plus, suggéré que ces neurones échappent au contrôle inhibiteur exercé par les interneurones à décharge rapide (Mallet et al., 2006;Salin et al., 2009;Damodaran et al., 2014). Par ailleurs, Mallet et al. (2006) suggèrent que l'hyperactivation des neurones striato-pallidaux est telle qu'elle masque l'hypoactivation des neurones striato-nigraux, résultant de fait en l'observation d'une augmentation de l'activité globale du striatum. Nos résultats sont donc cohérents avec les études antérieures.

La déshinhibition des canaux calciques et la diminution de l'inhibition par les interneurones à décharge rapide suite à la perte de l'innervation dopaminergique conduisent à une augmentation globale de l'excitabilité des NEM striataux (Tseng et

al., 2001) et à une altération de l'efficacité de la transmission cortico-striatale (Mallet et al., 2006). En effet, ces auteurs montrent que les neurones striato-pallidiaux répondent plus rapidement aux stimulations corticales avec peu de variation dans la latence alors que les neurones striatonigraux répondent avec la même latence moyenne mais avec une variation plus importante. Contrairement à ce que nous attendions dans nos conditions, aucune différence significative n'est détectable concernant la transmission cortico-striatale ou bien la latence de réponse et sa déviation standard. Pour autant, l'efficacité de la transmission cortico-striatale semble diminuée après la lésion dopaminergique.

Afin de caractériser au mieux l'activité électrophysiologique du striatum déplété en dopamine dans cette étude, nous avons décidé d'approfondir l'analyse des caractéristiques de réponse à la stimulation corticale des NEM. Pour cela, nous avons mesuré la fenêtre de réponse des NEM ainsi que la moyenne de la latence minimum et la moyenne de la latence maximum. L'inhibition exercée par les neurones à décharge rapide sur les NEM (Mallet et al., 2006;Szydlowski et al., 2013) semble être altérée après une dénervation dopaminergique (Salin et al., 2009;Damodaran et al., 2014). Les neurones à décharge rapide permettent de restreindre la fenêtre de réponse des NEM. Nos résultats ne montrent aucune altération dans les caractéristiques de la fenêtre de réponse des NEM. Plusieurs hypothèses sont alors envisageables. Tout d'abord, la dénervation dopaminergique n'altère pas l'inhibition exercée par les neurones à décharge rapide sur les NEM. Ceci est cohérent avec les expérimentations réalisées par Mallet et al. (2006) qui n'observent aucune altération dans l'excitabilité ou dans la capacité de réponse des neurones à décharge rapide dans un modèle de rat de la maladie de Parkinson. Néanmoins, d'autres études montrent que le patron de décharge des interneurones

GABAergiques de type SFA est altéré après une dénervation dopaminergique et induisent de forts courant inhibiteurs dans près de la moitié des NEM (Dehorter et al., 2009). Par ailleurs, ces neurones répondent également aux afférences corticales (Sharott et al., 2012). Dans le cas où il y a effectivement une altération de l'activité des interneurones à décharge rapide après la dénervation dopaminergique, il est envisageable que la forte inhibition exercée par les interneurones SFA après une déplétion dopaminergique puisse remplacer l'inhibition exercée par les interneurones à décharge rapide. Enfin, il a été démontré que l'activité des interneurones du striatum est modulée par la dopamine par des mécanismes présynaptiques et postsynaptiques (Bracci et al., 2002;Centonze et al., 2002;Centonze et al., 2003a). Or, l'anesthésie à l'uréthane induit une diminution significative du métabolisme dopaminergique (McCown et al., 1983). Ceci pourrait alors expliquer pourquoi les résultats de Mallet et al. (2006) et nos propres observations ne montrent pas d'altération dans l'inhibition exercée par les interneurones à décharge rapide. Toutefois, Mallet et al. (2006) démontrent une altération de la latence de réponse des NEM et une altération de la variabilité de cette réponse après déafférentation dopaminergique, ce que nous ne retrouvons pas dans nos conditions. La différence entre nos deux études réside dans l'identification de la famille des NEM dans l'étude de Mallet et al. (2006), suggérant que différencier les NEM striatopallidaux des NEM striatonigraux est nécessaire pour révéler les altérations de la latence de réponse et sa variabilité.

5.2.3. Effets des greffes de neurones dopaminergiques embryonnaires

Jusqu'à présent, les études réalisées sur les apports des greffes de neurones dopaminergiques embryonnaires se sont surtout intéressées aux récupérations des

capacités motrices de l'animal. A notre connaissance, toutes les études ont porté sur des greffes intra-striatales de neurones dopaminergiques embryonnaires pour lesquelles il a été démontré que la greffe rétablit le pourcentage de neurones silencieux et tend à restaurer la fréquence de décharge des neurones du striatum (Di Loreto et al., 1996). Dans notre étude, la greffe intra-striatale entraîne une diminution de la fréquence de décharge moyenne à une valeur proche de la fréquence de décharge moyenne mesurée chez les souris contrôles. Cependant, aucune différence significative n'a pu être détectée. Il faut toutefois considérer que le nombre de neurones enregistrés est faible, pouvant expliquer l'absence de significativité. Au vu des résultats, il est très probable qu'une augmentation de l'effectif confirme le rétablissement de la fréquence de décharge par la greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires. Outre la fréquence de décharge plus élevée dans l'étude de Di Loreto et al. (1996), nos résultats sont donc cohérents avec leur démonstration. Dans l'étude de Di Loreto et al. (1996), aucune distinction n'a été faite entre les neurones de projection et les interneurones striataux. Or, ces derniers présentent une fréquence de décharge plus importante que les NEM (Wilson et al., 1990; Koos and Tepper, 1999; Mallet et al., 2005; Mallet et al., 2006; Inokawa et al., 2010), pouvant augmenter artificiellement leurs mesures de la fréquence de décharge des neurones et donc expliquer les différences de fréquence de décharge entre nos deux études. Nos analyses n'ont révélé aucune différence significative entre l'excitabilité des NEM des souris ayant bénéficié d'une greffe striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires et l'excitabilité des NEM de souris lésées ou des NEM de souris contrôles. Notre étude démontre également une très importante variabilité à cette moyenne indiquant que le contrôle dopaminergique des NEM n'est pas rétabli de façon optimale par ce type de greffe.

Il a été démontré que la récupération de l'activité de décharge (Di Loreto et al., 1996) et de la plasticité synaptique (Rylander et al., 2013) des NEM suite à la greffe striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires n'est efficace que dans un rayon limité autour de la greffe. Nous avons donc restreint nos investigations à un périmètre proche de la greffe intra-striatale pour ne cibler que les neurones influencés par la dopamine. Par ailleurs, le placement ectopique des neurones dopaminergiques dans le striatum les prive de la régulation qui s'exerce sur les neurones dopaminergiques de la SNc en condition physiologique, ce qui pourrait les empêcher ainsi de fournir une innervation fine et adéquate aux neurones striataux.

La greffe de neurones dopaminergiques embryonnaires dans la SNc n'a, à notre connaissance, jamais fait l'objet d'une étude électrophysiologique. Nos résultats indiquent que ce type de greffe entraîne un rétablissement partiel de la proportion de neurones silencieux, avec la même efficacité que pour les greffes intra-striatales de neurones dopaminergiques embryonnaires. De même, la fréquence de décharge moyenne des neurones est réduite par la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires bien que nous n'ayons pu montrer aucune différence significative. Tout comme pour la greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires, l'augmentation de l'effectif dans ce groupe nous permettra de confirmer ou non ce rétablissement. Par ailleurs, contrairement à la greffe de neurones dopaminergiques dans le striatum, la greffe de neurones dopaminergiques dans la SNc rétablit la transmission cortico-striatale, suggérant alors une meilleure récupération fonctionnelle des NEM grâce à ce type de greffes.

L'ensemble de ces résultats suggèrent donc que la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires est plus efficace que la greffe de

neurones dopaminergiques embryonnaires dans le striatum concernant la récupération des caractéristiques électrophysiologiques des NEM.

5.2.4. Conclusion de l'étude: considérations techniques et analytiques

Les résultats présentés dans ce projet sont des résultats préliminaires qui nous ont permis de mettre au point des paramètres d'analyse pertinents pour étudier les différences de bénéfices de deux sites de greffes de neurones dopaminergiques: le striatum, site ectopique, ou la SNc, site homotopique. Plusieurs paramètres ont été retenus dont certains, comme la fréquence de décharge ou bien l'efficacité de la transmission cortico-striatales, ont été décrits dans la littérature comme étant modifiés par la perte de l'innervation dopaminergique. Dans cette étude, nous avons confirmé ces altérations. En effet, la déafférentation dopaminergique entraîne une augmentation significative de la fréquence de décharge ainsi qu'une altération de la transmission cortico-striatale révélée par l'augmentation de l'intensité du courant de la stimulation corticale nécessaire à l'évocation d'une probabilité de réponse des NEM de 50%.

Les différences entre les greffes nigrales et les greffes striatales de neurones dopaminergiques embryonnaires n'ont jamais été étudiées. Nous avons démontré que si l'activité du striatum est rétablie de manière égale par les deux greffes, seule la greffe intra-nigrale restaure l'efficacité de la transmission cortico-striatales. Ces résultats montrent que la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires est plus efficace pour restaurer l'activité cortico-striatale que la greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires.

Conclusions et perspectives

Les études réalisées dans le cadre de ma thèse ont permis de caractériser le rôle de la dopamine dans le contrôle de l'activité des neurones de projection dans deux structures majeures de la régulation motrice: M1, d'une part, et le striatum d'autre part. Les neurones de projection de M1 peuvent contacter à la fois le striatum, la moelle épinière, le thalamus et les autres aires cérébrales (Reiner et al., 2003;Lei et al., 2004;Oswald et al., 2013). Ils jouent un rôle majeur dans la planification motrice et l'exécution du plan moteur adapté (Kiritani et al., 2012). Le striatum reçoit la majorité de ses afférences du cortex moteur et du thalamus (Ebrahimi et al., 1992;Kincaid and Wilson, 1996) et ses neurones de projection constituent deux voies de sortie en contactant soit la SNr et le GPi, soit le GPe (Alexander et al., 1986;Alexander and Crutcher, 1990). Ces caractéristiques lui permettent de filtrer les plans moteurs transmis par M1 pour sélectionner et initier le plan moteur adapté à la situation.

Les fibres dopaminergiques provenant de la SNc forment une innervation dense dans le striatum (Matsuda et al., 2009) dont l'action sur les neurones striataux est bien décrite (Bracci et al., 2002;Centonze et al., 2002;West and Grace, 2002;Centonze et al., 2003a;Centonze et al., 2003b;Gerfen and Surmeier, 2011;Surmeier et al., 2011). De manière intéressante, nous avons démontré que M1 reçoit une innervation dopaminergique suffisante pour réguler l'activité des neurones pyramidaux (Vitrac et al., 2014). Tout comme pour le striatum, cette innervation provient du mésencéphale ventral (Hosp et al., 2011) et il a été démontré que la dopamine permet l'apprentissage de nouveaux mouvements (Molina-Luna et al., 2009;Hosp et al., 2011) et pourrait réguler la motricité fine. En effet, la dopamine innerve préférentiellement les régions impliquées dans la représentation des

membres antérieurs chez le rongeur (Vitrac et al., 2014) et peut moduler la taille des cartes motrices dans M1 (Parr-Brownlie and Hyland, 2005) ainsi que les mouvements évoqués par microstimulation corticale (Viaro et al., 2011). Par ailleurs, la destruction des neurones dopaminergiques altère la force de préhension chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (Fellows and Noth, 2004) et empêche la mise en place de la PLT (Morgante et al., 2006). Ces éléments suggèrent donc un rôle crucial de la dopamine dans le contrôle de la motricité par M1 et suggèrent également que M1 puisse être impliqué dans des pathologies liées à une dérégulation de l'homéostasie dopaminergique telle que la maladie de Parkinson. Plusieurs études ont d'ores et déjà démontré une dérégulation de l'activité de M1 dans la maladie de Parkinson (Mallet et al., 2006; Pasquereau and Turner, 2011, 2013; Rumpel et al., 2013). Néanmoins, la dénervation dopaminergique responsable de cette pathologie n'atteint pas que M1. Il est donc difficile de savoir si les altérations observées sont spécifiques à la disparition des fibres dopaminergiques dans M1 ou bien si elles sont dues à des effets réseaux transmis le long des circuits corticaux et sous-corticaux régulant la motricité. De plus amples investigations concernant la régulation dopaminergique de M1 en condition physiologique et physiopathologique sont donc nécessaires pour comprendre et restaurer ces altérations.

Les études précédentes suggérant l'implication du récepteur D2 dans la modulation dopaminergique de l'activité de M1, nous avons focalisée notre étude sur l'implication du récepteur D2. Toutefois, l'action des récepteurs D1 ne doit pas être négligée. De nouveaux enregistrements *in vivo* pourraient être réalisés en utilisant des agonistes et des antagonistes des récepteurs D1 afin de révéler leur action sur l'activité des neurones pyramidaux.

Cette étude soulève également de nouvelles interrogations. D'une part, les mécanismes par lesquels l'activation des récepteurs D2 augmente l'activité des neurones pyramidaux est inconnue. Pour répondre à cette question, les enregistrements extracellulaires *in vivo* réalisés lors de cette étude pourraient être répétés après le blocage des récepteurs GABA_A par une injection locale de bicuculline afin d'isoler les neurones pyramidaux de l'inhibition exercée par les interneurons corticaux. Si l'augmentation de l'activité basale décrite ici est directe, nous devrions alors retrouver nos résultats alors que si l'inhibition est indirecte, aucune modification significative de l'activité des neurones pyramidaux ne devrait être mesurée. Néanmoins, une augmentation de l'activité basale est à prévoir du fait de la désinhibition des neurones pyramidaux dont la présence pourrait diminuer artificiellement l'augmentation potentielle de la fréquence de décharge due à l'activation des récepteurs D2. D'autre part, les conséquences d'une telle activation ne sont pas connues. Généralement, les récepteurs D2 sont associés à l'inhibition du mouvement. Il est alors surprenant d'observer une augmentation de l'activité basale des neurones pyramidaux. Le développement de techniques optogénétiques pourraient nous permettre de mieux comprendre les conséquences comportementales de cette modulation de l'activité de M1. En effet, l'activation optogénétique directe des récepteurs D2 dans un modèle de souris exprimant la protéine ChR2 spécifiquement dans les neurones exprimant le récepteur D2 (Kravitz et al., 2010) permettrait alors de vérifier si l'activation neuronale qui fait suite à l'activation des récepteurs D2 dans M1 conduit à un arrêt du mouvement ou non. Enfin, les récepteurs D2 pourraient être impliqués dans la plasticité synaptique dans M1. Pour vérifier cela, des expériences *in vitro* sur des tranches de cerveau contenant M1 pourraient être réalisées. En effet, un protocole de paires de

stimulation réalisées entre des neurones de la couche II/III et de la couche V permettrait de mesurer le renforcement synaptique lors du blocage ou de l'activation des récepteurs D2.

L'activité du striatum est fortement altérée dans la maladie de Parkinson (Tseng et al., 2001;Day et al., 2006;Mallet et al., 2006). Parmi les traitements actuels, le traitement à la L-DOPA reste la stratégie la plus efficace pour améliorer la vie du patient mais provoque l'apparition de dyskinésies à moyen terme (Rascol et al., 2000;Hauser et al., 2007;Porras et al., 2014). Le développement de stratégies thérapeutiques basées sur la transplantation de neurones dopaminergiques embryonnaires pour remplacer les neurones dopaminergiques détruits représente un enjeu important dans la recherche sur la maladie de Parkinson. A la fin du XXème siècle, des études cliniques ont permis d'évaluer les bénéfices d'un transplant intra-striatal de neurones dopaminergiques embryonnaires chez des patients parkinsoniens et ont donné des résultats contrastés quant à l'efficacité de ces greffes (Lindvall et al., 1992;Widner et al., 1992;Freed et al., 2001;Kefalopoulou et al., 2014). L'étude en cours dans notre laboratoire vise à déterminer si la transplantation intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires présente un bénéfice par rapport à une transplantation intra-striatale suite à une déafférentation dopaminergique chez la souris. Nos résultats suggèrent que l'activité électrophysiologique des neurones de projection du striatum est mieux rétablie chez les souris bénéficiant d'un greffon de neurones dopaminergiques embryonnaires dans la substance noire.

La maladie de Parkinson cause également des atteintes cellulaires caractérisées notamment par la perte des épines dendritiques des NEM (Zaja-Milatovic et al.,

2005;Day et al., 2006;Suarez et al., 2014;Toy et al., 2014). Par ailleurs, il a été démontré que l'exercice physique (Toy et al., 2014) et un traitement chronique à la L-DOPA (Suarez et al., 2014) restaurent la densité d'épines dendritiques sur les NEM striatopallidaux. Les études sur l'altération des épines dendritiques suite à une déplétion dopaminergique sont conflictuelles. En effet, alors que certains groupes démontrent une perte de la densité d'épines dendritiques spécifiquement sur les neurones striatopallidaux (Day et al., 2006), de récentes études démontrent que la perte des épines dendritiques s'opère sur les neurones des deux voies de sortie du striatum (Suarez et al., 2014; Toy et al., 2014). D'autre part, Day et al. (2006) démontrent que la perte des épines dendritiques s'accompagne d'une diminution de 50% des courants postsynaptiques excitateurs. Ces altérations dendritiques occasionnent une réorganisation importante des synapses des neurones striatopallidaux (Villalba and Smith, 2011) qui deviennent plus excitables (Day et al., 2006;Day et al., 2008). L'évaluation de la densité d'épines dendritiques dans nos conditions de greffes pourrait donc être intéressante afin de savoir si la perte d'épines dendritiques causée par la perte de l'innervation dopaminergique est spécifique des neurones d'une voie de sortie du striatum ou non et pour savoir si cette densité est mieux rétablie par un des deux types de greffes. En ce sens, l'observation des neurones de projection injectés avec de la neurobiotine pendant les tests préliminaires ont révélé qu'il est possible d'observer les épines dendritiques suite à un marquage juxtacellulaire.

Des dyskinésies sont induites par la L-DOPA dans des modèles de rongeurs (Suarez et al., 2014) ainsi que chez les patients atteints de la maladie de Parkinson (Pour revue: Cenci et al., 2011), mettant en évidence qu'une concentration trop importante de dopamine dans les circuits striataux sont responsables de l'apparition

de ces troubles. De par leur situation ectopique, les neurones dopaminergiques transplantés dans le striatum pourraient libérer de la dopamine de façon anarchique, conduisant au développement de dyskinésies. Les dyskinésies induites par la L-DOPA ont été attribuées à une hypersensibilité des récepteurs D1 causée par une trop faible densité des épines dendritiques (Suarez et al., 2014). Il serait alors intéressant de tester la réponse des NEM striatonigraux à la modulation pharmacologique des récepteurs D1.

Dans l'introduction de ce manuscrit, il est décrit que l'activité de l'ensemble des ganglions de la base est altérée dans la maladie de Parkinson. Notamment, le NST adopte une activité oscillante (Sharott et al., 2005; Shimamoto et al., 2013; Sharott et al., 2014) corrélée à l'activité de M1 (Shimamoto et al., 2013). Par ailleurs, l'activité des neurones du NST est également altérée et adopte un patron de décharge phasique présentant une fréquence plus élevée que dans un système sain (Rumpel et al., 2013). Il a récemment été démontré que l'activité oscillante du NST ainsi que la modification de l'activité de décharge des neurones du NST sont corrélées à la sévérité des symptômes moteurs observés chez les patients parkinsoniens (Sharott et al., 2014). Une greffe intra-striatale de neurones dopaminergiques embryonnaires restaure la fréquence de décharge et réduit la cohérence de l'activité oscillante entre le cortex moteur et le NST (Rumpel et al., 2013). Toutefois, la greffe de neurones dopaminergiques dans le striatum est inefficace pour réduire l'activité phasique des neurones sous-thalamiques et aurait même tendance à l'aggraver (Rumpel et al., 2013). De même, l'activité oscillante de M1 à 20 Hz n'est pas réduite par ce type de greffe (Rumpel et al., 2013). Nous avons prévu d'étudier l'activité des neurones du NST pour vérifier que la greffe intra-nigrale de neurones dopaminergiques embryonnaires est efficace pour rétablir une activité

physiologique de cette structure. Pour cela, nous allons mettre en place une technique d'enregistrements de potentiels de champ dans M1 couplés à des enregistrements extracellulaires des neurones du NST.

BIBLIOGRAPHIE

- Ade, K.K., Janssen, M.J., Ortinski, P.I., and Vicini, S. (2008). Differential tonic GABA conductances in striatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 28, 1185-1197.
- Alexander, G.E., and Crutcher, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13, 266-271.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R., and Strick, P.L. (1986). Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9, 357-381.
- Anderson, C.T., Sheets, P.L., Kiritani, T., and Shepherd, G.M. (2010). Sublayer-specific microcircuits of corticospinal and corticostriatal neurons in motor cortex. *Nat Neurosci* 13, 739-744.
- Andre, V.M., Cepeda, C., Cummings, D.M., Jocoy, E.L., Fisher, Y.E., William Yang, X., and Levine, M.S. (2010). Dopamine modulation of excitatory currents in the striatum is dictated by the expression of D1 or D2 receptors and modified by endocannabinoids. *Eur J Neurosci* 31, 14-28.
- Aosaki, T., Kiuchi, K., and Kawaguchi, Y. (1998). Dopamine D1-like receptor activation excites rat striatal large aspiny neurons in vitro. *J Neurosci* 18, 5180-5190.
- Awenowicz, P.W., and Porter, L.L. (2002). Local application of dopamine inhibits pyramidal tract neuron activity in the rodent motor cortex. *J Neurophysiol* 88, 3439-3451.
- Baddeley, A.J., Gundersen, H.J., and Cruz-Orive, L.M. (1986). Estimation of surface area from vertical sections. *J Microsc* 142, 259-276.
- Bagetta, V., Picconi, B., Marinucci, S., Sgobio, C., Pendolino, V., Ghiglieri, V., Fusco, F.R., Giampa, C., and Calabresi, P. (2011). Dopamine-dependent long-term depression is expressed in striatal spiny neurons of both direct and indirect pathways: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci* 31, 12513-12522.
- Ballion, B., Frenois, F., Zold, C.L., Chetrit, J., Murer, M.G., and Gonon, F. (2009). D2 receptor stimulation, but not D1, restores striatal equilibrium in a rat model of Parkinsonism. *Neurobiol Dis* 35, 376-384.
- Ballion, B., Mallet, N., Bezard, E., Lanciego, J.L., and Gonon, F. (2008). Intratelencephalic corticostriatal neurons equally excite striatonigral and striatopallidal neurons and their discharge activity is selectively reduced in experimental parkinsonism. *Eur J Neurosci* 27, 2313-2321.
- Bamford, N.S., Robinson, S., Palmiter, R.D., Joyce, J.A., Moore, C., and Meshul, C.K. (2004a). Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. *J Neurosci* 24, 9541-9552.
- Bamford, N.S., Zhang, H., Schmitz, Y., Wu, N.P., Cepeda, C., Levine, M.S., Schmauss, C., Zakharenko, S.S., Zablow, L., and Sulzer, D. (2004b).

- Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals. *Neuron* 42, 653-663.
- Beaulieu, J.M., and Gainetdinov, R.R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev* 63, 182-217.
- Beckstead, M.J., Grandy, D.K., Wickman, K., and Williams, J.T. (2004). Vesicular dopamine release elicits an inhibitory postsynaptic current in midbrain dopamine neurons. *Neuron* 42, 939-946.
- Benabid, A.L., Koudsie, A., Benazzouz, A., Fraix, V., Ashraf, A., Le Bas, J.F., Chabardes, S., and Pollak, P. (2000). Subthalamic stimulation for Parkinson's disease. *Arch Med Res* 31, 282-289.
- Benazzouz, A., Gross, C., Feger, J., Boraud, T., and Bioulac, B. (1993). Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. *Eur J Neurosci* 5, 382-389.
- Bennett, B.D., and Wilson, C.J. (1999). Spontaneous activity of neostriatal cholinergic interneurons in vitro. *J Neurosci* 19, 5586-5596.
- Benoit-Marand, M., Ballion, B., Borrelli, E., Boraud, T., and Gonon, F. (2011). Inhibition of dopamine uptake by D2 antagonists: an in vivo study. *J Neurochem* 116, 449-458.
- Benoit-Marand, M., Borrelli, E., and Gonon, F. (2001). Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo. *J Neurosci* 21, 9134-9141.
- Benoit-Marand, M., Jaber, M., and Gonon, F. (2000). Release and elimination of dopamine in vivo in mice lacking the dopamine transporter: functional consequences. *Eur J Neurosci* 12, 2985-2992.
- Bevan, M.D., Booth, P.A., Eaton, S.A., and Bolam, J.P. (1998). Selective innervation of neostriatal interneurons by a subclass of neuron in the globus pallidus of the rat. *J Neurosci* 18, 9438-9452.
- Bjorklund, A., and Dunnett, S.B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci* 30, 194-202.
- Blackwell, K.T., Czubyko, U., and Plenz, D. (2003). Quantitative estimate of synaptic inputs to striatal neurons during up and down states in vitro. *J Neurosci* 23, 9123-9132.
- Bolam, J.P., Hanley, J.J., Booth, P.A., and Bevan, M.D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *J Anat* 196 (Pt 4), 527-542.
- Bracci, E., Centonze, D., Bernardi, G., and Calabresi, P. (2002). Dopamine excites fast-spiking interneurons in the striatum. *J Neurophysiol* 87, 2190-2194.
- Brown, A.R., Hu, B., Antle, M.C., and Teskey, G.C. (2009). Neocortical movement representations are reduced and reorganized following bilateral intrastriatal 6-

- hydroxydopamine infusion and dopamine type-2 receptor antagonism. *Exp Neurol* 220, 162-170.
- Buda, M., Gonon, F., Cespuglio, R., Jouvet, M., and Pujol, J.F. (1981). In vivo electrochemical detection of catechols in several dopaminergic brain regions of anaesthetized rats. *Eur J Pharmacol* 73, 61-68.
- Busceti, C.L., Biagioni, F., Mastroiacovo, F., Bucci, D., Lenzi, P., Pasquali, L., Trabucco, A., Nicoletti, F., and Fornai, F. (2008). High number of striatal dopaminergic neurons during early postnatal development: correlation analysis with dopaminergic fibers. *J Neural Transm* 115, 1375-1383.
- Calabresi, P., Centonze, D., Pisani, A., Sancesario, G., North, R.A., and Bernardi, G. (1998). Muscarinic IPSPs in rat striatal cholinergic interneurons. *J Physiol* 510 (Pt 2), 421-427.
- Calabresi, P., Maj, R., Pisani, A., Mercuri, N.B., and Bernardi, G. (1992a). Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci* 12, 4224-4233.
- Calabresi, P., Pisani, A., Mercuri, N.B., and 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.
- Camps, M., Kelly, P.H., and Palacios, J.M. (1990). Autoradiographic localization of dopamine D 1 and D 2 receptors in the brain of several mammalian species. *J Neural Transm Gen Sect* 80, 105-127.
- Carlsson, A. (2001). A paradigm shift in brain research. *Science* 294, 1021-1024.
- Carlsson, A., Lindqvist, M., and Magnusson, T. (1957). 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* 180, 1200.
- Carlsson, T., Bjorklund, T., and Kirik, D. (2007). Restoration of the striatal dopamine synthesis for Parkinson's disease: viral vector-mediated enzyme replacement strategy. *Curr Gene Ther* 7, 109-120.
- Carr, D.B., Day, M., Cantrell, A.R., Held, J., Scheuer, T., Catterall, W.A., and Surmeier, D.J. (2003). Transmitter modulation of slow, activity-dependent alterations in sodium channel availability endows neurons with a novel form of cellular plasticity. *Neuron* 39, 793-806.
- Carrillo-Reid, L., Tecuapetla, F., Ibanez-Sandoval, O., Hernandez-Cruz, A., Galarraga, E., and Bargas, J. (2009). Activation of the cholinergic system endows compositional properties to striatal cell assemblies. *J Neurophysiol* 101, 737-749.
- Carrillo-Reid, L., Tecuapetla, F., Tapia, D., Hernandez-Cruz, A., Galarraga, E., Drucker-Colin, R., and Bargas, J. (2008). Encoding network states by striatal cell assemblies. *J Neurophysiol* 99, 1435-1450.

- Cenci, M.A., Ohlin, K.E., and Odin, P. (2011). Current options and future possibilities for the treatment of dyskinesia and motor fluctuations in Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 10, 670-684.
- Centonze, D., Bracci, E., Pisani, A., Gubellini, P., Bernardi, G., and Calabresi, P. (2002). Activation of dopamine D1-like receptors excites LTS interneurons of the striatum. *Eur J Neurosci* 15, 2049-2052.
- Centonze, D., Grande, C., Saulle, E., Martin, A.B., Gubellini, P., Pavon, N., Pisani, A., Bernardi, G., Moratalla, R., and Calabresi, P. (2003b). Distinct roles of D1 and D5 dopamine receptors in motor activity and striatal synaptic plasticity. *J Neurosci* 23, 8506-8512.
- Centonze, D., Grande, C., Usiello, A., Gubellini, P., Erbs, E., Martin, A.B., Pisani, A., Tognazzi, N., Bernardi, G., Moratalla, R., Borrelli, E., and Calabresi, P. (2003a). Receptor subtypes involved in the presynaptic and postsynaptic actions of dopamine on striatal interneurons. *J Neurosci* 23, 6245-6254.
- Cepeda, C., Andre, V.M., Yamazaki, I., Wu, N., Kleiman-Weiner, M., and Levine, M.S. (2008). Differential electrophysiological properties of dopamine D1 and D2 receptor-containing striatal medium-sized spiny neurons. *Eur J Neurosci* 27, 671-682.
- Chen, B.T., Patel, J.C., Moran, K.A., and Rice, M.E. (2011). Differential calcium dependence of axonal versus somatodendritic dopamine release, with characteristics of both in the ventral tegmental area. *Front Syst Neurosci* 5, 39.
- Chen, B.T., and Rice, M.E. (2001). Novel Ca²⁺ dependence and time course of somatodendritic dopamine release: substantia nigra versus striatum. *J Neurosci* 21, 7841-7847.
- Chergui, K., Suaud-Chagny, M.F., and Gonon, F. (1994). Nonlinear relationship between impulse flow, dopamine release and dopamine elimination in the rat brain in vivo. *Neuroscience* 62, 641-645.
- Cho, R.H., Segawa, S., Okamoto, K., Mizuno, A., and Kaneko, T. (2004). Intracellularly labeled pyramidal neurons in the cortical areas projecting to the spinal cord. II. Intra- and juxta-columnar projection of pyramidal neurons to corticospinal neurons. *Neurosci Res* 50, 395-410.
- Cho, S., Neff, N.H., and Hadjiconstantinou, M. (1997). Regulation of tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase by dopaminergic drugs. *Eur J Pharmacol* 323, 149-157.
- Chu, J., Wagle-Shukla, A., Gunraj, C., Lang, A.E., and Chen, R. (2009). Impaired presynaptic inhibition in the motor cortex in Parkinson disease. *Neurology* 72, 842-849.
- Chuhma, N., Tanaka, K.F., Hen, R., and Rayport, S. (2011). Functional connectome of the striatal medium spiny neuron. *J Neurosci* 31, 1183-1192.

- Ciliax, B.J., Heilman, C., Demchyshyn, L.L., Pristupa, Z.B., Ince, E., Hersch, S.M., Niznik, H.B., and Levey, A.I. (1995). The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* 15, 1714-1723.
- Connors, B.W., and Gutnick, M.J. (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci* 13, 99-104.
- Contreras, D. (2004). Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Netw* 17, 633-646.
- Cowan, A.I., and Stricker, C. (2004). Functional connectivity in layer IV local excitatory circuits of rat somatosensory cortex. *J Neurophysiol* 92, 2137-2150.
- Crittenden, J.R., and Graybiel, A.M. (2011). Basal Ganglia disorders associated with imbalances in the striatal striosome and matrix compartments. *Front Neuroanat* 5, 59.
- D'souza, U.M. (2010). *Chapter 2: Gene and promoter structures of the dopamine receptors*. Humana Press.
- Dahlstrom, A., and Fuxe, K. (1964). Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20, 398-399.
- Damodaran, S., Evans, R.C., and Blackwell, K.T. (2014). Synchronized firing of fast-spiking interneurons is critical to maintain balanced firing between direct and indirect pathway neurons of the striatum. *J Neurophysiol* 111, 836-848.
- Dauer, W., and Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 39, 889-909.
- Day, M., Wang, Z., Ding, J., An, X., Ingham, C.A., Shering, A.F., Wokosin, D., Ilijic, E., Sun, Z., Sampson, A.R., Mugnaini, E., Deutch, A.Y., Sesack, S.R., Arbuthnott, G.W., and Surmeier, D.J. (2006). Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nat Neurosci* 9, 251-259.
- Day, M., Wokosin, D., Plotkin, J.L., Tian, X., and Surmeier, D.J. (2008). Differential excitability and modulation of striatal medium spiny neuron dendrites. *J Neurosci* 28, 11603-11614.
- Defelipe, J., and Farinas, I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog Neurobiol* 39, 563-607.
- Degenetais, E., Thierry, A.M., Glowinski, J., and Gioanni, Y. (2002). Electrophysiological properties of pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex: an in vivo intracellular recording study. *Cereb Cortex* 12, 1-16.
- Dehorter, N., Guigoni, C., Lopez, C., Hirsch, J., Eusebio, A., Ben-Ari, Y., and Hammond, C. (2009). Dopamine-deprived striatal GABAergic interneurons

- burst and generate repetitive gigantic IPSCs in medium spiny neurons. *J Neurosci* 29, 7776-7787.
- Delle Donne, K.T., Sesack, S.R., and Pickel, V.M. (1997). Ultrastructural immunocytochemical localization of the dopamine D2 receptor within GABAergic neurons of the rat striatum. *Brain Res* 746, 239-255.
- Deniau, J.M., Mailly, P., Maurice, N., and Charpier, S. (2007). The pars reticulata of the substantia nigra: a window to basal ganglia output. *Prog Brain Res* 160, 151-172.
- Deniau, J.M., Menetrey, A., and Charpier, S. (1996). The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: segregated patterns of striatal afferents and relationship to the topography of corticostriatal projections. *Neuroscience* 73, 761-781.
- Descarries, L., Lemay, B., Doucet, G., and Berger, B. (1987). Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neuroscience* 21, 807-824.
- Descarries, L., Watkins, K.C., Garcia, S., Bosler, O., and Doucet, G. (1996). Dual character, asynaptic and synaptic, of the dopamine innervation in adult rat neostriatum: a quantitative autoradiographic and immunocytochemical analysis. *J Comp Neurol* 375, 167-186.
- Di Loreto, S., Florio, T., Capozzo, A., Napolitano, A., Adorno, D., and Scarnati, E. (1996). Transplantation of mesencephalic cell suspension in dopamine-denervated striatum of the rat. I. Effects on spontaneous activity of striatal neurons. *Exp Neurol* 138, 318-326.
- Ding, J., Guzman, J.N., Tkatch, T., Chen, S., Goldberg, J.A., Ebert, P.J., Levitt, P., Wilson, C.J., Hamm, H.E., and Surmeier, D.J. (2006). RGS4-dependent attenuation of M4 autoreceptor function in striatal cholinergic interneurons following dopamine depletion. *Nat Neurosci* 9, 832-842.
- Doudet, D.J., Gross, C., Arluison, M., and Bioulac, B. (1990). Modifications of precentral cortex discharge and EMG activity in monkeys with MPTP-induced lesions of DA nigral neurons. *Exp Brain Res* 80, 177-188.
- Dubach, M., Schmidt, R., Kunkel, D., Bowden, D.M., Martin, R., and German, D.C. (1987). Primate neostriatal neurons containing tyrosine hydroxylase: immunohistochemical evidence. *Neurosci Lett* 75, 205-210.
- Dugast, C., Suaud-Chagny, M.F., and Gonon, F. (1994). Continuous in vivo monitoring of evoked dopamine release in the rat nucleus accumbens by amperometry. *Neuroscience* 62, 647-654.
- Durstewitz, D., and Seamans, J.K. (2008). The dual-state theory of prefrontal cortex dopamine function with relevance to catechol-o-methyltransferase genotypes and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 64, 739-749.

- Ebrahimi, A., Pochet, R., and Roger, M. (1992). Topographical organization of the projections from physiologically identified areas of the motor cortex to the striatum in the rat. *Neurosci Res* 14, 39-60.
- English, D.F., Ibanez-Sandoval, O., Stark, E., Tecuapetla, F., Buzsaki, G., Deisseroth, K., Tepper, J.M., and Koos, T. (2012). GABAergic circuits mediate the reinforcement-related signals of striatal cholinergic interneurons. *Nat Neurosci* 15, 123-130.
- Feindel, W. (1982). The contributions of Wilder Penfield to the functional anatomy of the human brain. *Hum Neurobiol* 1, 231-234.
- Fellows, S.J., and Noth, J. (2004). Grip force abnormalities in de novo Parkinson's disease. *Mov Disord* 19, 560-565.
- Fino, E., Glowinski, J., and Venance, L. (2005). Bidirectional activity-dependent plasticity at corticostriatal synapses. *J Neurosci* 25, 11279-11287.
- Fisher, R.S., Levine, M.S., Sibley, D.R., and Ariano, M.A. (1994). D2 dopamine receptor protein location: Golgi impregnation-gold toned and ultrastructural analysis of the rat neostriatum. *J Neurosci Res* 38, 551-564.
- Flores-Barrera, E., Vizcarra-Chacon, B.J., Tapia, D., Bargas, J., and Galarraga, E. (2010). Different corticostriatal integration in spiny projection neurons from direct and indirect pathways. *Front Syst Neurosci* 4, 15.
- Flores-Hernandez, J., Hernandez, S., Snyder, G.L., Yan, Z., Fienberg, A.A., Moss, S.J., Greengard, P., and Surmeier, D.J. (2000). D(1) dopamine receptor activation reduces GABA(A) receptor currents in neostriatal neurons through a PKA/DARPP-32/PP1 signaling cascade. *J Neurophysiol* 83, 2996-3004.
- Floresco, S.B., West, A.R., Ash, B., Moore, H., and Grace, A.A. (2003). Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* 6, 968-973.
- Francois, C., Savy, C., Jan, C., Tande, D., Hirsch, E.C., and Yelnik, J. (2000). Dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the normal state, in MPTP-treated monkeys, and in Parkinson's disease patients. *J Comp Neurol* 425, 121-129.
- Freed, C.R., Greene, P.E., Breeze, R.E., Tsai, W.Y., Dumouchel, W., Kao, R., Dillon, S., Winfield, H., Culver, S., Trojanowski, J.Q., Eidelberg, D., and Fahn, S. (2001). Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 344, 710-719.
- Fu, Y., Yuan, Y., Halliday, G., Rusznak, Z., Watson, C., and Paxinos, G. (2012). A cytoarchitectonic and chemoarchitectonic analysis of the dopamine cell groups in the substantia nigra, ventral tegmental area, and retrorubral field in the mouse. *Brain Struct Funct* 217, 591-612.
- Fujiyama, F., Sohn, J., Nakano, T., Furuta, T., Nakamura, K.C., Matsuda, W., and Kaneko, T. (2011). Exclusive and common targets of neostriatofugal

- projections of rat striosome neurons: a single neuron-tracing study using a viral vector. *Eur J Neurosci* 33, 668-677.
- Gaillard, A., Decressac, M., Frappe, I., Fernagut, P.O., Prestoz, L., Besnard, S., and Jaber, M. (2009). Anatomical and functional reconstruction of the nigrostriatal pathway by intranigral transplants. *Neurobiol Dis* 35, 477-488.
- Gaillard, A., and Jaber, M. (2011). Rewiring the brain with cell transplantation in Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 34, 124-133.
- Gale, E., and Li, M. (2008). Midbrain dopaminergic neuron fate specification: Of mice and embryonic stem cells. *Mol Brain* 1, 8.
- Gan, J., Qi, C., Mao, L.M., and Liu, Z. (2014). Changes in surface expression of N-methyl-D-aspartate receptors in the striatum in a rat model of Parkinson's disease. *Drug Des Devel Ther* 8, 165-173.
- Gardoni, F., Picconi, B., Ghiglieri, V., Polli, F., Bagetta, V., Bernardi, G., Cattabeni, F., Di Luca, M., and Calabresi, P. (2006). A critical interaction between NR2B and MAGUK in L-DOPA induced dyskinesia. *J Neurosci* 26, 2914-2922.
- Gaspar, P., Bloch, B., and Le Moine, C. (1995). D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *Eur J Neurosci* 7, 1050-1063.
- Gaspar, P., Duyckaerts, C., Alvarez, C., Javoy-Agid, F., and Berger, B. (1991). Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 30, 365-374.
- Gee, S., Ellwood, I., Patel, T., Luongo, F., Deisseroth, K., and Sohal, V.S. (2012). Synaptic activity unmask dopamine D2 receptor modulation of a specific class of layer V pyramidal neurons in prefrontal cortex. *J Neurosci* 32, 4959-4971.
- Gerdeman, G.L., Ronesi, J., and Lovinger, D.M. (2002). Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat Neurosci* 5, 446-451.
- Gerfen, C.R. (1984). The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311, 461-464.
- Gerfen, C.R., and Surmeier, D.J. (2011). Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annu Rev Neurosci* 34, 441-466.
- Gertler, T.S., Chan, C.S., and Surmeier, D.J. (2008). Dichotomous anatomical properties of adult striatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 28, 10814-10824.
- Gittis, A.H., and Kreitzer, A.C. (2012). Striatal microcircuitry and movement disorders. *Trends Neurosci* 35, 557-564.

- Gittis, A.H., Nelson, A.B., Thwin, M.T., Palop, J.J., and Kreitzer, A.C. (2010). Distinct roles of GABAergic interneurons in the regulation of striatal output pathways. *J Neurosci* 30, 2223-2234.
- Godefroy, F., Bassant, M.H., Lamour, Y., and Weil-Fugazza, J. (1991). Effect of aging on dopamine metabolism in the rat cerebral cortex: a regional analysis. *J Neural Transm Gen Sect* 83, 13-24.
- Gokhale, A.M. (1990). Unbiased estimation of curve length in 3-d using vertical slices. *J. Microsc.* 159, 133-141.
- Goldberg, J.A., Boraud, T., Maraton, S., Haber, S.N., Vaadia, E., and Bergman, H. (2002). Enhanced synchrony among primary motor cortex neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine primate model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 22, 4639-4653.
- Gonon, F. (1997). Prolonged and extrasynaptic excitatory action of dopamine mediated by D1 receptors in the rat striatum in vivo. *J Neurosci* 17, 5972-5978.
- Gorelova, N., Seamans, J.K., and Yang, C.R. (2002). Mechanisms of dopamine activation of fast-spiking interneurons that exert inhibition in rat prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 88, 3150-3166.
- Gowrishankar, R., Hahn, M.K., and Blakely, R.D. (2013). Good riddance to dopamine: Roles for the dopamine transporter in synaptic function and dopamine-associated brain disorders. *Neurochem Int.*
- Grace, A.A., and Bunney, B.S. (1984a). The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *J Neurosci* 4, 2866-2876.
- Grace, A.A., and Bunney, B.S. (1984b). The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J Neurosci* 4, 2877-2890.
- Graybiel, A.M., and Ragsdale, C.W., 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.
- Grobin, A.C., and Deutch, A.Y. (1998). Dopaminergic regulation of extracellular gamma-aminobutyric acid levels in the prefrontal cortex of the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 285, 350-357.
- Gubellini, P., Saulle, E., Centonze, D., Bonsi, P., Pisani, A., Bernardi, G., Conquet, F., and Calabresi, P. (2001). Selective involvement of mGlu1 receptors in corticostriatal LTD. *Neuropharmacology* 40, 839-846.
- Gundersen, H.J.G. (1979). Estimation of tubule or cylinder LV, SV and VV on thick sections. *J Microsc* 117, 333-345.
- Gurevich, E.V., and Joyce, J.N. (1999). Distribution of dopamine D3 receptor expressing neurons in the human forebrain: comparison with D2 receptor expressing neurons. *Neuropsychopharmacology* 20, 60-80.

- Hajos, M., Gartside, S.E., Varga, V., and Sharp, T. (2003). In vivo inhibition of neuronal activity in the rat ventromedial prefrontal cortex by midbrain-raphe nuclei: role of 5-HT_{1A} receptors. *Neuropharmacology* 45, 72-81.
- Halje, P., Tamte, M., Richter, U., Mohammed, M., Cenci, M.A., and Petersson, P. (2012). Levodopa-induced dyskinesia is strongly associated with resonant cortical oscillations. *J Neurosci* 32, 16541-16551.
- Hallett, P.J., Spoelgen, R., Hyman, B.T., Standaert, D.G., and Dunah, A.W. (2006). Dopamine D1 activation potentiates striatal NMDA receptors by tyrosine phosphorylation-dependent subunit trafficking. *J Neurosci* 26, 4690-4700.
- Hanajima, R., Terao, Y., Shiota, Y., Ohminami, S., Nakatani-Enomoto, S., Okabe, S., Matsumoto, H., Tsutsumi, R., and Ugawa, Y. (2011). Short-interval intracortical inhibition in Parkinson's disease using anterior-posterior directed currents. *Exp Brain Res* 214, 317-321.
- Hattox, A.M., and Nelson, S.B. (2007). Layer V neurons in mouse cortex projecting to different targets have distinct physiological properties. *J Neurophysiol* 98, 3330-3340.
- Hauser, R.A., Rascol, O., Korczyn, A.D., Jon Stoessel, A., Watts, R.L., Poewe, W., De Deyn, P.P., and Lang, A.E. (2007). Ten-year follow-up of Parkinson's disease patients randomized to initial therapy with ropinirole or levodopa. *Mov Disord* 22, 2409-2417.
- Hernandez-Echeagaray, E., Starling, A.J., Cepeda, C., and Levine, M.S. (2004). Modulation of AMPA currents by D2 dopamine receptors in striatal medium-sized spiny neurons: are dendrites necessary? *Eur J Neurosci* 19, 2455-2463.
- Hernandez-Lopez, S., Bargas, J., Surmeier, D.J., Reyes, A., and Galarraga, 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.
- Hernandez-Lopez, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraga, E., Bargas, J., Hamm, H., and Surmeier, D.J. (2000). D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLC[β]₁-IP₃-calcineurin-signaling cascade. *J Neurosci* 20, 8987-8995.
- Higley, M.J., and Sabatini, B.L. (2010). Competitive regulation of synaptic Ca²⁺ influx by D2 dopamine and A_{2A} adenosine receptors. *Nat Neurosci* 13, 958-966.
- Hira, R., Ohkubo, F., Ozawa, K., Isomura, Y., Kitamura, K., Kano, M., Kasai, H., and Matsuzaki, M. (2013). Spatiotemporal Dynamics of Functional Clusters of Neurons in the Mouse Motor Cortex during a Voluntary Movement. *J Neurosci* 33, 1377-1390.
- Holt, D.J., Graybiel, A.M., and Saper, C.B. (1997). Neurochemical architecture of the human striatum. *J Comp Neurol* 384, 1-25.

- Hooks, B.M., Mao, T., Gutnisky, D.A., Yamawaki, N., Svoboda, K., and Shepherd, G.M. (2013). Organization of cortical and thalamic input to pyramidal neurons in mouse motor cortex. *J Neurosci* 33, 748-760.
- Hosp, J.A., Mann, S., Wegenast-Braun, B.M., Calhoun, M.E., and Luft, A.R. (2013). Region and task-specific activation of Arc in primary motor cortex of rats following motor skill learning. *Neuroscience*.
- Hosp, J.A., Molina-Luna, K., Hertler, B., Atiemo, C.O., and Luft, A.R. (2009). Dopaminergic modulation of motor maps in rat motor cortex: an in vivo study. *Neuroscience* 159, 692-700.
- Hosp, J.A., Pekanoivic, A., Rioult-Pedotti, M.S., and Luft, A.R. (2011). Dopaminergic Projections from Midbrain to Primary Motor Cortex Mediate Motor Skill Learning. *J Neurosci* 31, 2481-2487.
- Huang, J.J., Yen, C.T., Liu, T.L., Tsao, H.W., Hsu, J.W., and Tsai, M.L. (2013). Effects of dopamine D2 agonist quinpirole on neuronal activity of anterior cingulate cortex and striatum in rats. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Huang, Y.Z., Rothwell, J.C., Lu, C.S., Chuang, W.L., and Chen, R.S. (2011). Abnormal bidirectional plasticity-like effects in Parkinson's disease. *Brain* 134, 2312-2320.
- Huda, K., Salunga, T.L., and Matsunami, K. (2001). Dopaminergic inhibition of excitatory inputs onto pyramidal tract neurons in cat motor cortex. *Neurosci Lett* 307, 175-178.
- Humphries, M.D., Wood, R., and Gurney, K. (2009). Dopamine-modulated dynamic cell assemblies generated by the GABAergic striatal microcircuit. *Neural Netw* 22, 1174-1188.
- Hurd, Y.L., Suzuki, M., and Sedvall, G.C. (2001). D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. *J Chem Neuroanat* 22, 127-137.
- Hurley, M.J., and Jenner, P. (2006). What has been learnt from study of dopamine receptors in Parkinson's disease? *Pharmacol Ther* 111, 715-728.
- Ibanez-Sandoval, O., Tecuapetla, F., Unal, B., Shah, F., Koos, T., and Tepper, J.M. (2010). Electrophysiological and morphological characteristics and synaptic connectivity of tyrosine hydroxylase-expressing neurons in adult mouse striatum. *J Neurosci* 30, 6999-7016.
- Inokawa, H., Yamada, H., Matsumoto, N., Muranishi, M., and Kimura, M. (2010). Juxtacellular labeling of tonically active neurons and phasically active neurons in the rat striatum. *Neuroscience* 168, 395-404.
- Iversen, S.D., and Iversen, L.L. (2007). Dopamine: 50 years in perspective. *Trends Neurosci* 30, 188-193.

- Jaber, M., Dumartin, B., Sagne, C., Haycock, J.W., Roubert, C., Giros, B., Bloch, B., and Caron, M.G. (1999). Differential regulation of tyrosine hydroxylase in the basal ganglia of mice lacking the dopamine transporter. *Eur J Neurosci* 11, 3499-3511.
- Jaber, M., Robinson, S.W., Missale, C., and Caron, M.G. (1996). Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* 35, 1503-1519.
- Jaffe, E.H., Marty, A., Schulte, A., and Chow, R.H. (1998). Extrasynaptic vesicular transmitter release from the somata of substantia nigra neurons in rat midbrain slices. *J Neurosci* 18, 3548-3553.
- Jimenez-Castellanos, J., and Graybiel, A.M. (1987). Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix. *Neuroscience* 23, 223-242.
- Joel, D., and Weiner, I. (1994). The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience* 63, 363-379.
- Joel, D., and Weiner, I. (2000). The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience* 96, 451-474.
- Jung, H.Y., Mickus, T., and Spruston, N. (1997). Prolonged sodium channel inactivation contributes to dendritic action potential attenuation in hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 17, 6639-6646.
- Karachi, C., Francois, C., Parain, K., Bardinet, E., Tande, D., Hirsch, E., and Yelnik, J. (2002). Three-dimensional cartography of functional territories in the human striatopallidal complex by using calbindin immunoreactivity. *J Comp Neurol* 450, 122-134.
- 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., and Kubota, Y. (1997). GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex* 7, 476-486.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., and Emson, P.C. (1990). Projection subtypes of rat neostriatal matrix cells revealed by intracellular injection of biocytin. *J Neurosci* 10, 3421-3438.
- Kebabian, J.W., and Calne, D.B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277, 93-96.

- Kebabian, J.W., Petzold, G.L., and Greengard, P. (1972). Dopamine-sensitive adenylate cyclase in caudate nucleus of rat brain, and its similarity to the "dopamine receptor". *Proc Natl Acad Sci U S A* 69, 2145-2149.
- Kefalopoulou, Z., Politis, M., Piccini, P., Mencacci, N., Bhatia, K., Jahanshahi, M., Widner, H., Rehnroos, S., Brundin, P., Bjorklund, A., Lindvall, O., Limousin, P., Quinn, N., and Foltynie, T. (2014). Long-term clinical outcome of fetal cell transplantation for Parkinson disease: two case reports. *JAMA Neurol* 71, 83-87.
- Khan, Z.U., Gutierrez, A., Martin, R., Penafiel, A., Rivera, A., and De La Calle, A. (2000). Dopamine D5 receptors of rat and human brain. *Neuroscience* 100, 689-699.
- Kincaid, A.E., and Wilson, C.J. (1996). Corticostriatal innervation of the patch and matrix in the rat neostriatum. *J Comp Neurol* 374, 578-592.
- Kiritani, T., Wickersham, I.R., Seung, H.S., and Shepherd, G.M. (2012). Hierarchical connectivity and connection-specific dynamics in the corticospinal-corticostriatal microcircuit in mouse motor cortex. *J Neurosci* 32, 4992-5001.
- Kishore, A., Joseph, T., Velayudhan, B., Popa, T., and Meunier, S. (2011). Early, severe and bilateral loss of LTP and LTD-like plasticity in motor cortex (M1) in de novo Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol* 123, 822-828.
- Kisilevsky, A.E., Mulligan, S.J., Altier, C., Iftinca, M.C., Varela, D., Tai, C., Chen, L., Hameed, S., Hamid, J., Macvicar, B.A., and Zamponi, G.W. (2008). D1 receptors physically interact with N-type calcium channels to regulate channel distribution and dendritic calcium entry. *Neuron* 58, 557-570.
- Kita, H. (2007). Globus pallidus external segment. *Prog Brain Res* 160, 111-133.
- Kita, H., and Kita, T. (2001). Number, origins, and chemical types of rat pallidostriatal projection neurons. *J Comp Neurol* 437, 438-448.
- Kita, H., and Kitai, S.T. (1994). The morphology of globus pallidus projection neurons in the rat: an intracellular staining study. *Brain Res* 636, 308-319.
- Kleim, J.A., Barbay, S., Cooper, N.R., Hogg, T.M., Reidel, C.N., Remple, M.S., and Nudo, R.J. (2002). Motor learning-dependent synaptogenesis is localized to functionally reorganized motor cortex. *Neurobiol Learn Mem* 77, 63-77.
- Kleim, J.A., Barbay, S., and Nudo, R.J. (1998). Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning. *J Neurophysiol* 80, 3321-3325.
- Kleim, J.A., Lussnig, E., Schwarz, E.R., Comery, T.A., and Greenough, W.T. (1996). Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. *J Neurosci* 16, 4529-4535.
- Kliem, M.A., Pare, J.F., Khan, Z.U., Wichmann, T., and Smith, Y. (2009). Comparative Ultrastructural Analysis of D1 and D5 Dopamine Receptor

- Distribution in the Substantia Nigra and Globus Pallidus of Monkeys. *Adv Behav Biol* 58, 239-253.
- Kocabicak, E., Tan, S.K., and Temel, Y. (2012). Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: Why so successful? *Surg Neurol Int* 3, S312-314.
- Koos, T., and Tepper, J.M. (1999). Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nat Neurosci* 2, 467-472.
- Koos, T., and Tepper, J.M. (2002). Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. *J Neurosci* 22, 529-535.
- Koos, T., Tepper, J.M., and Wilson, C.J. (2004). Comparison of IPSCs evoked by spiny and fast-spiking neurons in the neostriatum. *J Neurosci* 24, 7916-7922.
- Koralek, A.C., Jin, X., Long, J.D., 2nd, Costa, R.M., and Carmena, J.M. (2012). Corticostriatal plasticity is necessary for learning intentional neuroprosthetic skills. *Nature* 483, 331-335.
- Kovacs, K.J. (2008). Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *J Neuroendocrinol* 20, 665-672.
- Kravitz, A.V., Freeze, B.S., Parker, P.R., Kay, K., Thwin, M.T., Deisseroth, K., and Kreitzer, A.C. (2010). Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature* 466, 622-626.
- Kreitzer, A.C., and Malenka, R.C. (2007). Endocannabinoid-mediated rescue of striatal LTD and motor deficits in Parkinson's disease models. *Nature* 445, 643-647.
- Kubota, Y., and Kawaguchi, Y. (2000). Dependence of GABAergic synaptic areas on the interneuron type and target size. *J Neurosci* 20, 375-386.
- Kuramoto, E., Furuta, T., Nakamura, K.C., Unzai, T., Hioki, H., and Kaneko, T. (2009). Two types of thalamocortical projections from the motor thalamic nuclei of the rat: a single neuron-tracing study using viral vectors. *Cereb Cortex* 19, 2065-2077.
- Landwehrmeyer, B., Mengod, G., and Palacios, J.M. (1993a). Differential visualization of dopamine D2 and D3 receptor sites in rat brain. A comparative study using in situ hybridization histochemistry and ligand binding autoradiography. *Eur J Neurosci* 5, 145-153.
- Landwehrmeyer, B., Mengod, G., and Palacios, J.M. (1993b). Dopamine D3 receptor mRNA and binding sites in human brain. *Brain Res Mol Brain Res* 18, 187-192.
- Larsen, J.O., Gundersen, H.J., and Nielsen, J. (1998). Global spatial sampling with isotropic virtual planes: estimators of length density and total length in thick, arbitrarily orientated sections. *J Microsc* 191, 238-248.

- Le Moine, C., and Bloch, B. (1995). D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J Comp Neurol* 355, 418-426.
- Le Moine, C., Tison, F., and Bloch, B. (1990). D2 dopamine receptor gene expression by cholinergic neurons in the rat striatum. *Neurosci Lett* 117, 248-252.
- Lee, F.J., Pei, L., Moszczynska, A., Vukusic, B., Fletcher, P.J., and Liu, F. (2007). Dopamine transporter cell surface localization facilitated by a direct interaction with the dopamine D2 receptor. *Embo J* 26, 2127-2136.
- Lei, W., Jiao, Y., Del Mar, N., and Reiner, A. (2004). Evidence for differential cortical input to direct pathway versus indirect pathway striatal projection neurons in rats. *J Neurosci* 24, 8289-8299.
- Lerner, T.N., and Kreitzer, A.C. (2012). RGS4 is required for dopaminergic control of striatal LTD and susceptibility to parkinsonian motor deficits. *Neuron* 73, 347-359.
- Lev, D.L., and White, E.L. (1997). Organization of pyramidal cell apical dendrites and composition of dendritic clusters in the mouse: emphasis on primary motor cortex. *Eur J Neurosci* 9, 280-290.
- Levesque, D., Diaz, J., Pilon, C., Martres, M.P., Giros, B., Souil, E., Schott, D., Morgat, J.L., Schwartz, J.C., and Sokoloff, P. (1992). Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 8155-8159.
- Levey, A.I., Hersch, S.M., Rye, D.B., Sunahara, R.K., Niznik, H.B., Kitt, C.A., Price, D.L., Maggio, R., Brann, M.R., and Ciliax, B.J. (1993). Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 8861-8865.
- Lindvall, O., Widner, H., Rehncrona, S., Brundin, P., Odin, P., Gustavii, B., Frackowiak, R., Leenders, K.L., Sawle, G., Rothwell, J.C., and Et Al. (1992). Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: one-year clinical and neurophysiological observations in two patients with putaminal implants. *Ann Neurol* 31, 155-165.
- Liu, J.C., Defazio, R.A., Espinosa-Jeffrey, A., Cepeda, C., De Vellis, J., and Levine, M.S. (2004). Calcium modulates dopamine potentiation of N-methyl-D-aspartate responses: electrophysiological and imaging evidence. *J Neurosci Res* 76, 315-322.
- Lloyd, K.G., and Hornykiewicz, O. (1972). Occurrence and distribution of aromatic L-amino acid (L-DOPA) decarboxylase in the human brain. *J Neurochem* 19, 1549-1559.

- Lobo, M.K., Karsten, S.L., Gray, M., Geschwind, D.H., and Yang, X.W. (2006). FACS-array profiling of striatal projection neuron subtypes in juvenile and adult mouse brains. *Nat Neurosci* 9, 443-452.
- Lopez-Avila, A., Coffeen, U., Ortega-Legaspi, J.M., Del Angel, R., and Pellicer, F. (2004). Dopamine and NMDA systems modulate long-term nociception in the rat anterior cingulate cortex. *Pain* 111, 136-143.
- Lopez-Huerta, V.G., Carrillo-Reid, L., Galarraga, E., Tapia, D., Fiordelisio, T., Drucker-Colin, R., and Bargas, J. (2013). The balance of striatal feedback transmission is disrupted in a model of parkinsonism. *J Neurosci* 33, 4964-4975.
- Lubke, J., Egger, V., Sakmann, B., and Feldmeyer, D. (2000). Columnar organization of dendrites and axons of single and synaptically coupled excitatory spiny neurons in layer 4 of the rat barrel cortex. *J Neurosci* 20, 5300-5311.
- Magill, P.J., Bolam, J.P., and Bevan, M.D. (2001). Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *Neuroscience* 106, 313-330.
- Mahan, L.C., Burch, R.M., Monsma, F.J., Jr., and Sibley, D.R. (1990). Expression of striatal D1 dopamine receptors coupled to inositol phosphate production and Ca²⁺ mobilization in *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 2196-2200.
- Mahon, S., Deniau, J.M., and 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., 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.
- Mailly, P., Charpier, S., Mahon, S., Menetrey, A., Thierry, A.M., Glowinski, J., and Deniau, J.M. (2001). Dendritic arborizations of the rat substantia nigra pars reticulata neurons: spatial organization and relation to the lamellar compartmentation of striato-nigral projections. *J Neurosci* 21, 6874-6888.
- Mallet, L., Schupbach, M., N'diaye, K., Remy, P., Bardinet, E., Czernecki, V., Welter, M.L., Pelissolo, A., Ruberg, M., Agid, Y., and Yelnik, J. (2007). Stimulation of subterritories of the subthalamic nucleus reveals its role in the integration of the emotional and motor aspects of behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 10661-10666.
- Mallet, N., Ballion, B., Le Moine, C., and Gonon, F. (2006). Cortical inputs and GABA interneurons imbalance projection neurons in the striatum of parkinsonian rats. *J Neurosci* 26, 3875-3884.
- Mallet, N., Le Moine, C., Charpier, S., and Gonon, F. (2005). Feedforward inhibition of projection neurons by fast-spiking GABA interneurons in the rat striatum in vivo. *J Neurosci* 25, 3857-3869.

- Mallet, N., Micklem, B.R., Henny, P., Brown, M.T., Williams, C., Bolam, J.P., Nakamura, K.C., and Magill, P.J. (2012). Dichotomous organization of the external globus pallidus. *Neuron* 74, 1075-1086.
- Mansour, A., Meador-Woodruff, J.H., Bunzow, J.R., Civelli, O., Akil, H., and Watson, S.J. (1990). Localization of dopamine D2 receptor mRNA and D1 and D2 receptor binding in the rat brain and pituitary: an in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. *J Neurosci* 10, 2587-2600.
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., and Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5, 793-807.
- Matsuda, W., Furuta, T., Nakamura, K.C., Hioki, H., Fujiyama, F., Arai, R., and Kaneko, T. (2009). Single nigrostriatal dopaminergic neurons form widely spread and highly dense axonal arborizations in the neostriatum. *J Neurosci* 29, 444-453.
- Maurice, N., Mercer, J., Chan, C.S., Hernandez-Lopez, S., Held, J., Tkatch, T., and 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.
- Mccown, T.J., Mueller, R.A., and Breese, G.R. (1983). Effects of anesthetics and electrical stimulation on nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 224, 489-493.
- Meiser, J., Weindl, D., and Hiller, K. (2013). Complexity of dopamine metabolism. *Cell Commun Signal* 11, 34.
- Meissner, W.G., Frasier, M., Gasser, T., Goetz, C.G., Lozano, A., Piccini, P., Obeso, J.A., Rascol, O., Schapira, A., Voon, V., Weiner, D.M., Tison, F., and Bezard, E. (2011). Priorities in Parkinson's disease research. *Nat Rev Drug Discov* 10, 377-393.
- Mendez, I., Vinuela, A., Astradsson, A., Mukhida, K., Hallett, P., Robertson, H., Tierney, T., Holness, R., Dagher, A., Trojanowski, J.Q., and Isacson, O. (2008). Dopamine neurons implanted into people with Parkinson's disease survive without pathology for 14 years. *Nat Med* 14, 507-509.
- Mermelstein, P.G., Song, W.J., Tkatch, T., Yan, Z., and Surmeier, D.J. (1998). Inwardly rectifying potassium (IRK) currents are correlated with IRK subunit expression in rat nucleus accumbens medium spiny neurons. *J Neurosci* 18, 6650-6661.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., and Caron, M.G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78, 189-225.
- Miyazaki, I., and Asanuma, M. (2008). Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself. *Acta Med Okayama* 62, 141-150.

- Molina-Luna, K., Hertler, B., Buitrago, M.M., and Luft, A.R. (2008). Motor learning transiently changes cortical somatotopy. *Neuroimage* 40, 1748-1754.
- Molina-Luna, K., Pekanovic, A., Rohrich, S., Hertler, B., Schubring-Giese, M., Rioult-Pedotti, M.S., and Luft, A.R. (2009). Dopamine in motor cortex is necessary for skill learning and synaptic plasticity. *PLoS One* 4, e7082.
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Menezes, J.R., and Macklis, J.D. (2007). Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 8, 427-437.
- Momiyama, T., and Koga, E. (2001). Dopamine D(2)-like receptors selectively block N-type Ca(2+) channels to reduce GABA release onto rat striatal cholinergic interneurons. *J Physiol* 533, 479-492.
- Moore, A.R., Zhou, W.L., Potapenko, E.S., Kim, E.J., and Antic, S.D. (2011). Brief dopaminergic stimulations produce transient physiological changes in prefrontal pyramidal neurons. *Brain Res* 1370, 1-15.
- Morgante, F., Espay, A.J., Gunraj, C., Lang, A.E., and Chen, R. (2006). Motor cortex plasticity in Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesias. *Brain* 129, 1059-1069.
- Mouton, P.R., Gokhale, A.M., Ward, N.L., and West, M.J. (2002). Stereological length estimation using spherical probes. *J Microsc* 206, 54-64.
- Murray, A.M., Hyde, T.M., Knable, M.B., Herman, M.M., Bigelow, L.B., Carter, J.M., Weinberger, D.R., and Kleinman, J.E. (1995). Distribution of putative D4 dopamine receptors in postmortem striatum from patients with schizophrenia. *J Neurosci* 15, 2186-2191.
- Nagatsu, T., Levitt, M., and Udenfriend, S. (1964). Tyrosine Hydroxylase. the Initial Step in Norepinephrine Biosynthesis. *J Biol Chem* 239, 2910-2917.
- Nambu, A. (2007). Globus pallidus internal segment. *Prog Brain Res* 160, 135-150.
- Nambu, A., Tokuno, H., and Takada, M. (2002). Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci Res* 43, 111-117.
- Neafsey, E.J., Bold, E.L., Haas, G., Hurley-Gius, K.M., Quirk, G., Sievert, C.F., and Terreberry, R.R. (1986). The organization of the rat motor cortex: a microstimulation mapping study. *Brain Res* 396, 77-96.
- Neve, K.A., Seamans, J.K., and Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res* 24, 165-205.
- Ni, Z., Bahl, N., Gunraj, C.A., Mazzella, F., and Chen, R. (2013). Increased motor cortical facilitation and decreased inhibition in Parkinson disease. *Neurology* 80, 1746-1753.
- Nicola, S.M., and Malenka, R.C. (1998). Modulation of synaptic transmission by dopamine and norepinephrine in ventral but not dorsal striatum. *J Neurophysiol* 79, 1768-1776.

- Nirenberg, M.J., Vaughan, R.A., Uhl, G.R., Kuhar, M.J., and Pickel, V.M. (1996). The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Neurosci* 16, 436-447.
- Nisenbaum, E.S., Mermelstein, P.G., Wilson, C.J., and Surmeier, D.J. (1998). Selective blockade of a slowly inactivating potassium current in striatal neurons by (+/-) 6-chloro-APB hydrobromide (SKF82958). *Synapse* 29, 213-224.
- 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.
- Nudo, R.J., Milliken, G.W., Jenkins, W.M., and Merzenich, M.M. (1996). Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys. *J Neurosci* 16, 785-807.
- Onn, S.P., and Grace, A.A. (1999). Alterations in electrophysiological activity and dye coupling of striatal spiny and aspiny neurons in dopamine-denervated rat striatum recorded in vivo. *Synapse* 33, 1-15.
- Oswald, M.J., Tantirigama, M.L., Sonntag, I., Hughes, S.M., and Empson, R.M. (2013). Diversity of layer 5 projection neurons in the mouse motor cortex. *Front Cell Neurosci* 7, 174.
- Paille, V., Picconi, B., Bagetta, V., Ghiglieri, V., Sgobio, C., Di Filippo, M., Viscomi, M.T., Giampa, C., Fusco, F.R., Gardoni, F., Bernardi, G., Greengard, P., Di Luca, M., and Calabresi, P. (2010). Distinct levels of dopamine denervation differentially alter striatal synaptic plasticity and NMDA receptor subunit composition. *J Neurosci* 30, 14182-14193.
- Pakhotin, P., and Bracci, E. (2007). Cholinergic interneurons control the excitatory input to the striatum. *J Neurosci* 27, 391-400.
- Parent, A., Lavoie, B., Smith, Y., and Bedard, P. (1990). The dopaminergic nigropallidal projection in primates: distinct cellular origin and relative sparing in MPTP-treated monkeys. *Adv Neurol* 53, 111-116.
- Parr-Brownlie, L.C., and Hyland, B.I. (2005). Bradykinesia induced by dopamine D2 receptor blockade is associated with reduced motor cortex activity in the rat. *J Neurosci* 25, 5700-5709.
- Parsons, S.M. (2000). Transport mechanisms in acetylcholine and monoamine storage. *Faseb J* 14, 2423-2434.
- Pascual-Leone, A., Nguyet, D., Cohen, L.G., Brasil-Neto, J.P., Cammarota, A., and Hallett, M. (1995). Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *J Neurophysiol* 74, 1037-1045.

- Pasquereau, B., and Turner, R.S. (2011). Primary motor cortex of the parkinsonian monkey: differential effects on the spontaneous activity of pyramidal tract-type neurons. *Cereb Cortex* 21, 1362-1378.
- Pasquereau, B., and Turner, R.S. (2013). Primary motor cortex of the parkinsonian monkey: altered neuronal responses to muscle stretch. *Front Syst Neurosci* 7, 98.
- Paxinos, G., and Franklin, K.B.J. (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates, Second Edition*. San Diego: Academic Press.
- Perez, M.F., White, F.J., and Hu, X.T. (2006). Dopamine D(2) receptor modulation of K(+) channel activity regulates excitability of nucleus accumbens neurons at different membrane potentials. *J Neurophysiol* 96, 2217-2228.
- Petreaunu, L., Mao, T., Sternson, S.M., and Svoboda, K. (2009). The subcellular organization of neocortical excitatory connections. *Nature* 457, 1142-1145.
- Phillips, P.E., and Stamford, J.A. (2000). Differential recruitment of N-, P- and Q-type voltage-operated calcium channels in striatal dopamine release evoked by 'regular' and 'burst' firing. *Brain Res* 884, 139-146.
- Pinault, D. (1996). A novel single-cell staining procedure performed in vivo under electrophysiological control: morpho-functional features of juxtacellularly labeled thalamic cells and other central neurons with biocytin or Neurobiotin. *J Neurosci Methods* 65, 113-136.
- Pisani, A., Bonsi, P., Centonze, D., Calabresi, P., and Bernardi, G. (2000). Activation of D2-like dopamine receptors reduces synaptic inputs to striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 20, RC69.
- Planert, H., Berger, T.K., and Silberberg, G. (2013). Membrane properties of striatal direct and indirect pathway neurons in mouse and rat slices and their modulation by dopamine. *PLoS One* 8, e57054.
- Planert, H., Szydlowski, S.N., Hjorth, J.J., Grillner, S., and Silberberg, G. (2010). Dynamics of synaptic transmission between fast-spiking interneurons and striatal projection neurons of the direct and indirect pathways. *J Neurosci* 30, 3499-3507.
- Plotkin, J.L., Shen, W., Rafalovich, I., Sebel, L.E., Day, M., Chan, C.S., and Surmeier, D.J. (2013). Regulation of dendritic calcium release in striatal spiny projection neurons. *J Neurophysiol* 110, 2325-2336.
- Plowman, E.K., Thomas, N.J., and Kleim, J.A. (2011). Striatal dopamine depletion induces forelimb motor impairments and disrupts forelimb movement representations within the motor cortex. *J Parkinsons Dis* 1, 93-100.
- Podda, M.V., Riccardi, E., D'ascenzo, M., Azzena, G.B., and Grassi, C. (2010). Dopamine D1-like receptor activation depolarizes medium spiny neurons of the mouse nucleus accumbens by inhibiting inwardly rectifying K+ currents

through a cAMP-dependent protein kinase A-independent mechanism. *Neuroscience* 167, 678-690.

- Porras, G., De Deurwaerdere, P., Li, Q., Marti, M., Morgenstern, R., Sohr, R., Bezard, E., Morari, M., and Meissner, W.G. (2014). L-dopa-induced dyskinesia: beyond an excessive dopamine tone in the striatum. *Sci Rep* 4, 3730.
- Potjans, T.C., and Diesmann, M. (2012). The Cell-Type Specific Cortical Microcircuit: Relating Structure and Activity in a Full-Scale Spiking Network Model. *Cereb Cortex*.
- Primus, R.J., Thurkauf, A., Xu, J., Yevich, E., Mcinerney, S., Shaw, K., Tallman, J.F., and Gallagher, D.W. (1997). II. Localization and characterization of dopamine D4 binding sites in rat and human brain by use of the novel, D4 receptor-selective ligand [3H]NGD 94-1. *J Pharmacol Exp Ther* 282, 1020-1027.
- Raghanti, M.A., Stimpson, C.D., Marcinkiewicz, J.L., Erwin, J.M., Hof, P.R., and Sherwood, C.C. (2008). Cortical dopaminergic innervation among humans, chimpanzees, and macaque monkeys: a comparative study. *Neuroscience* 155, 203-220.
- Rascol, O., Brooks, D.J., Korczyn, A.D., De Deyn, P.P., Clarke, C.E., and Lang, A.E. (2000). A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N Engl J Med* 342, 1484-1491.
- Rascol, O., Payoux, P., Ory, F., Ferreira, J.J., Brefel-Courbon, C., and Montastruc, J.L. (2003). Limitations of current Parkinson's disease therapy. *Ann Neurol* 53 Suppl 3, S3-12; discussion S12-15.
- Rascol, O., Sabatini, U., Chollet, F., Fabre, N., Senard, J.M., Montastruc, J.L., Celsis, P., Marc-Vergnes, J.P., and Rascol, A. (1994). Normal activation of the supplementary motor area in patients with Parkinson's disease undergoing long-term treatment with levodopa. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57, 567-571.
- Raz, A., Feingold, A., Zelanskaya, V., Vaadia, E., and Bergman, H. (1996). Neuronal synchronization of tonically active neurons in the striatum of normal and parkinsonian primates. *J Neurophysiol* 76, 2083-2088.
- Reiner, A., Jiao, Y., Del Mar, N., Laverghetta, A.V., and Lei, W.L. (2003). Differential morphology of pyramidal tract-type and intratelencephalically projecting-type corticostriatal neurons and their intrastriatal terminals in rats. *J Comp Neurol* 457, 420-440.
- Rice, M.E., and Cragg, S.J. (2008). Dopamine spillover after quantal release: rethinking dopamine transmission in the nigrostriatal pathway. *Brain Res Rev* 58, 303-313.

- Rioult-Pedotti, M.S., Friedman, D., Hess, G., and Donoghue, J.P. (1998). Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat Neurosci* 1, 230-234.
- Roche, K.W., O'brien, R.J., Mammen, A.L., Bernhardt, J., and Huganir, R.L. (1996). Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit. *Neuron* 16, 1179-1188.
- Rommelfanger, K.S., and Wichmann, T. (2010). Extrastriatal dopaminergic circuits of the Basal Ganglia. *Front Neuroanat* 4, 139.
- Rothwell, J. (2009). Meet the brain neurophysiology. *Int Rev Neurobiol* 86, 51-65.
- Rouge-Pont, F., Usiello, A., Benoit-Marand, M., Gonon, F., Piazza, P.V., and Borrelli, E. (2002). Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial control by D2 receptors. *J Neurosci* 22, 3293-3301.
- Rumpel, R., Alam, M., Klein, A., Ozer, M., Wesemann, M., Jin, X., Krauss, J.K., Schwabe, K., Ratzka, A., and Grothe, C. (2013). Neuronal firing activity and gene expression changes in the subthalamic nucleus after transplantation of dopamine neurons in hemiparkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 59, 230-243.
- Rylander, D., Bagetta, V., Pendolino, V., Zianni, E., Grealish, S., Gardoni, F., Di Luca, M., Calabresi, P., Cenci, M.A., and Picconi, B. (2013). Region-specific restoration of striatal synaptic plasticity by dopamine grafts in experimental parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E4375-4384.
- Sabatini, U., Boulanouar, K., Fabre, N., Martin, F., Carel, C., Colonnese, C., Bozzao, L., Berry, I., Montastruc, J.L., Chollet, F., and Rascol, O. (2000). Cortical motor reorganization in akinetic patients with Parkinson's disease: a functional MRI study. *Brain* 123 (Pt 2), 394-403.
- Salin, P., Lopez, I.P., Kachidian, P., Barroso-Chinea, P., Rico, A.J., Gomez-Bautista, V., Coulon, P., Kerkerian-Le Goff, L., and Lanciego, J.L. (2009). Changes to interneuron-driven striatal microcircuits in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 34, 545-552.
- Santana, N., Mengod, G., and Artigas, F. (2009). Quantitative analysis of the expression of dopamine D1 and D2 receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 19, 849-860.
- Sato, A., Sasaoka, T., Nishijo, T., and Momiyama, T. (2014). GABAergic synaptic transmission onto striatal cholinergic interneurons in dopamine D2 receptor knock-out mice. *Neuroscience* 263, 138-147.
- Sato, F., Lavalley, P., Levesque, M., and Parent, A. (2000). Single-axon tracing study of neurons of the external segment of the globus pallidus in primate. *J Comp Neurol* 417, 17-31.
- Schubert, D., Kotter, R., Luhmann, H.J., and Staiger, J.F. (2006). Morphology, electrophysiology and functional input connectivity of pyramidal neurons

- characterizes a genuine layer va in the primary somatosensory cortex. *Cereb Cortex* 16, 223-236.
- Schulz, J.M., Pitcher, T.L., Savanthrapadian, S., Wickens, J.R., Oswald, M.J., and Reynolds, J.N. (2011). Enhanced high-frequency membrane potential fluctuations control spike output in striatal fast-spiking interneurons in vivo. *J Physiol* 589, 4365-4381.
- Schweimer, J., and Hauber, W. (2006). Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. *Learn Mem* 13, 777-782.
- Seamans, J.K., Gorelova, N., Durstewitz, D., and Yang, C.R. (2001). Bidirectional dopamine modulation of GABAergic inhibition in prefrontal cortical pyramidal neurons. *J Neurosci* 21, 3628-3638.
- Seeman, P., Guan, H.C., Van Tol, H.H., and Niznik, H.B. (1993). Low density of dopamine D4 receptors in Parkinson's, schizophrenia, and control brain striata. *Synapse* 14, 247-253.
- Sesack, S.R., Hawrylak, V.A., Guido, M.A., and Levey, A.I. (1998a). Cellular and subcellular localization of the dopamine transporter in rat cortex. *Adv Pharmacol* 42, 171-174.
- Sesack, S.R., Hawrylak, V.A., Melchitzky, D.S., and Lewis, D.A. (1998b). Dopamine innervation of a subclass of local circuit neurons in monkey prefrontal cortex: ultrastructural analysis of tyrosine hydroxylase and parvalbumin immunoreactive structures. *Cereb Cortex* 8, 614-622.
- Sharott, A., Doig, N.M., Mallet, N., and Magill, P.J. (2012). Relationships between the firing of identified striatal interneurons and spontaneous and driven cortical activities in vivo. *J Neurosci* 32, 13221-13236.
- Sharott, A., Gulberti, A., Zittel, S., Tudor Jones, A.A., Fickel, U., Munchau, A., Koppen, J.A., Gerloff, C., Westphal, M., Buhmann, C., Hamel, W., Engel, A.K., and Moll, C.K. (2014). Activity parameters of subthalamic nucleus neurons selectively predict motor symptom severity in Parkinson's disease. *J Neurosci* 34, 6273-6285.
- Sharott, A., Magill, P.J., Harnack, D., Kupsch, A., Meissner, W., and Brown, P. (2005). Dopamine depletion increases the power and coherence of beta-oscillations in the cerebral cortex and subthalamic nucleus of the awake rat. *Eur J Neurosci* 21, 1413-1422.
- Sharott, A., Moll, C.K., Engler, G., Denker, M., Grun, S., and Engel, A.K. (2009). Different subtypes of striatal neurons are selectively modulated by cortical oscillations. *J Neurosci* 29, 4571-4585.
- Shen, W., Flajolet, M., Greengard, P., and Surmeier, D.J. (2008). Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity. *Science* 321, 848-851.

- Shen, W., Hamilton, S.E., Nathanson, N.M., and Surmeier, D.J. (2005). Cholinergic suppression of KCNQ channel currents enhances excitability of striatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 25, 7449-7458.
- Shen, W., Hernandez-Lopez, S., Tkatch, T., Held, J.E., and Surmeier, D.J. (2004). Kv1.2-containing K⁺ channels regulate subthreshold excitability of striatal medium spiny neurons. *J Neurophysiol* 91, 1337-1349.
- Shen, W., Tian, X., Day, M., Ulrich, S., Tkatch, T., Nathanson, N.M., and Surmeier, D.J. (2007). Cholinergic modulation of Kir2 channels selectively elevates dendritic excitability in striatopallidal neurons. *Nat Neurosci* 10, 1458-1466.
- Shimamoto, S.A., Ryapolova-Webb, E.S., Ostrem, J.L., Galifianakis, N.B., Miller, K.J., and Starr, P.A. (2013). Subthalamic nucleus neurons are synchronized to primary motor cortex local field potentials in Parkinson's disease. *J Neurosci* 33, 7220-7233.
- Shink, E., Bevan, M.D., Bolam, J.P., and Smith, Y. (1996). The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. *Neuroscience* 73, 335-357.
- Sidhu, A. (1998). Coupling of D1 and D5 dopamine receptors to multiple G proteins: Implications for understanding the diversity in receptor-G protein coupling. *Mol Neurobiol* 16, 125-134.
- Smith, C.S., and Guttman, L. (1953). Measurement of internal boundaries in three dimensional structures by random sectioning. *Trans. AIME* 197, 81-92.
- Smith, Y., Bevan, M.D., Shink, E., and Bolam, J.P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience* 86, 353-387.
- Smith, Y., Bolam, J.P., and Von Krosigk, M. (1990). Topographical and Synaptic Organization of the GABA-Containing Pallidosubthalamic Projection in the Rat. *Eur J Neurosci* 2, 500-511.
- Smith, Y., and Kieval, J.Z. (2000). Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 23, S28-33.
- Snyder, G.L., Allen, P.B., Fienberg, A.A., Valle, C.G., Haganir, R.L., Nairn, A.C., and Greengard, P. (2000). Regulation of phosphorylation of the GluR1 AMPA receptor in the neostriatum by dopamine and psychostimulants in vivo. *J Neurosci* 20, 4480-4488.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Bouthenet, M.L., and Schwartz, J.C. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347, 146-151.
- Spano, P.F., Govoni, S., and Trabucchi, M. (1978). Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system. *Adv Biochem Psychopharmacol* 19, 155-165.

- Suarez, L.M., Solis, O., Carames, J.M., Taravini, I.R., Solis, J.M., Murer, M.G., and Moratalla, R. (2014). L-DOPA treatment selectively restores spine density in dopamine receptor D2-expressing projection neurons in dyskinetic mice. *Biol Psychiatry* 75, 711-722.
- Sun, X., Milovanovic, M., Zhao, Y., and Wolf, M.E. (2008). Acute and chronic dopamine receptor stimulation modulates AMPA receptor trafficking in nucleus accumbens neurons cocultured with prefrontal cortex neurons. *J Neurosci* 28, 4216-4230.
- Surmeier, D.J., Bargas, J., Hemmings, H.C., Jr., Nairn, A.C., and Greengard, P. (1995). Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. *Neuron* 14, 385-397.
- Surmeier, D.J., Carrillo-Reid, L., and Bargas, J. (2011). Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies. *Neuroscience* 198, 3-18.
- Surmeier, D.J., Ding, J., Day, M., Wang, Z., and Shen, W. (2007). D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci* 30, 228-235.
- Surmeier, D.J., Eberwine, J., Wilson, C.J., Cao, Y., Stefani, A., and Kitai, S.T. (1992). Dopamine receptor subtypes colocalize in rat striatonigral neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 10178-10182.
- Szydlowski, S.N., Pollak Dorocic, I., Planert, H., Carlen, M., Meletis, K., and Silberberg, G. (2013). Target selectivity of feedforward inhibition by striatal fast-spiking interneurons. *J Neurosci* 33, 1678-1683.
- Tande, D., Hoglinger, G., Debeir, T., Freundlieb, N., Hirsch, E.C., and Francois, C. (2006). New striatal dopamine neurons in MPTP-treated macaques result from a phenotypic shift and not neurogenesis. *Brain* 129, 1194-1200.
- Taverna, S., Ilijic, E., and Surmeier, D.J. (2008). Recurrent collateral connections of striatal medium spiny neurons are disrupted in models of Parkinson's disease. *J Neurosci* 28, 5504-5512.
- Tennant, K.A., Adkins, D.L., Donlan, N.A., Asay, A.L., Thomas, N., Kleim, J.A., and Jones, T.A. (2011). The organization of the forelimb representation of the C57BL/6 mouse motor cortex as defined by intracortical microstimulation and cytoarchitecture. *Cereb Cortex* 21, 865-876.
- Tepper, J.M., Tecuapetla, F., Koos, T., and Ibanez-Sandoval, O. (2010). Heterogeneity and diversity of striatal GABAergic interneurons. *Front Neuroanat* 4, 150.
- Thurley, K., Senn, W., and Luscher, H.R. (2008). Dopamine increases the gain of the input-output response of rat prefrontal pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 99, 2985-2997.
- Toy, W.A., Petzinger, G.M., Leyshon, B.J., Akopian, G.K., Walsh, J.P., Hoffman, M.V., Vuckovic, M.G., and Jakowec, M.W. (2014). Treadmill exercise reverses

- dendritic spine loss in direct and indirect striatal medium spiny neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 63, 201-209.
- Trantham-Davidson, H., Neely, L.C., Lavin, A., and Seamans, J.K. (2004). Mechanisms underlying differential D1 versus D2 dopamine receptor regulation of inhibition in prefrontal cortex. *J Neurosci* 24, 10652-10659.
- Tseng, K.Y., Kargieman, L., Gacio, S., Riquelme, L.A., and Murer, M.G. (2005). Consequences of partial and severe dopaminergic lesion on basal ganglia oscillatory activity and akinesia. *Eur J Neurosci* 22, 2579-2586.
- Tseng, K.Y., Kasanetz, F., Kargieman, L., Riquelme, L.A., and Murer, M.G. (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.
- Tseng, K.Y., Mallet, N., Toreson, K.L., Le Moine, C., Gonon, F., and O'donnell, P. (2006). Excitatory response of prefrontal cortical fast-spiking interneurons to ventral tegmental area stimulation in vivo. *Synapse* 59, 412-417.
- Tseng, K.Y., and O'donnell, P. (2004). Dopamine-glutamate interactions controlling prefrontal cortical pyramidal cell excitability involve multiple signaling mechanisms. *J Neurosci* 24, 5131-5139.
- Tseng, K.Y., and O'donnell, P. (2007). D2 dopamine receptors recruit a GABA component for their attenuation of excitatory synaptic transmission in the adult rat prefrontal cortex. *Synapse* 61, 843-850.
- Turner, R.S., and DeLong, M.R. (2000). Corticostriatal activity in primary motor cortex of the macaque. *J Neurosci* 20, 7096-7108.
- Ueno, T., Yamada, J., Nishijima, H., Arai, A., Migita, K., Baba, M., Ueno, S., and Tomiyama, M. (2014). Morphological and electrophysiological changes in intratelencephalic-type pyramidal neurons in the motor cortex of a rat model of levodopa-induced dyskinesia. *Neurobiol Dis* 64, 142-149.
- Vacherot, F., Attarian, S., Vaugoyeau, M., and Azulay, J.P. (2010). A motor cortex excitability and gait analysis on Parkinsonian patients. *Mov Disord* 25, 2747-2755.
- Valencia, M., Chavez, M., Artieda, J., Bolam, J.P., and Mena-Segovia, J. (2014). Abnormal functional connectivity between motor cortex and pedunculopontine nucleus following chronic dopamine depletion. *J Neurophysiol* 111, 434-440.
- Veinante, P., and Deschenes, M. (2003). Single-cell study of motor cortex projections to the barrel field in rats. *J Comp Neurol* 464, 98-103.
- Venance, L., and Glowinski, J. (2003). Heterogeneity of spike frequency adaptation among medium spiny neurones from the rat striatum. *Neuroscience* 122, 77-92.

- Vergo, S., Johansen, J.L., Leist, M., and Lotharius, J. (2007). Vesicular monoamine transporter 2 regulates the sensitivity of rat dopaminergic neurons to disturbed cytosolic dopamine levels. *Brain Res* 1185, 18-32.
- Viaro, R., Morari, M., and Franchi, G. (2011). Progressive motor cortex functional reorganization following 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *J Neurosci* 31, 4544-4554.
- Vijayraghavan, S., Wang, M., Birnbaum, S.G., Williams, G.V., and Arnsten, A.F. (2007). Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. *Nat Neurosci* 10, 376-384.
- Vilchis, C., Bargas, J., Ayala, G.X., Galvan, E., and Galarraga, E. (2000). Ca²⁺ channels that activate Ca²⁺-dependent K⁺ currents in neostriatal neurons. *Neuroscience* 95, 745-752.
- Villalba, R.M., and Smith, Y. (2011). Differential structural plasticity of corticostriatal and thalamostriatal axo-spinous synapses in MPTP-treated Parkinsonian monkeys. *J Comp Neurol* 519, 989-1005.
- Vitrac, C., Peron, S., Frappe, I., Fernagut, P.O., Jaber, M., Gaillard, A., and Benoit-Marand, M. (2014). Dopamine control of pyramidal neuron activity in the primary motor cortex via D2 receptors. *Front Neural Circuits* 8, 13.
- Wang, Y.M., Gainetdinov, R.R., Fumagalli, F., Xu, F., Jones, S.R., Bock, C.B., Miller, G.W., Wightman, R.M., and Caron, M.G. (1997). Knockout of the vesicular monoamine transporter 2 gene results in neonatal death and supersensitivity to cocaine and amphetamine. *Neuron* 19, 1285-1296.
- Wang, Z., Kai, L., Day, M., Ronesi, J., Yin, H.H., Ding, J., Tkatch, T., Lovinger, D.M., and Surmeier, D.J. (2006). Dopaminergic control of corticostriatal long-term synaptic depression in medium spiny neurons is mediated by cholinergic interneurons. *Neuron* 50, 443-452.
- Weiler, N., Wood, L., Yu, J., Solla, S.A., and Shepherd, G.M. (2008). Top-down laminar organization of the excitatory network in motor cortex. *Nat Neurosci* 11, 360-366.
- Weinberger, M., and Dostrovsky, J.O. (2011). A basis for the pathological oscillations in basal ganglia: the crucial role of dopamine. *Neuroreport* 22, 151-156.
- Weiner, D.M., Levey, A.I., Sunahara, R.K., Niznik, H.B., O'dowd, B.F., Seeman, P., and Brann, M.R. (1991). D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 1859-1863.
- West, A.R., and 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.
- Widner, H., Tetrad, J., Rehncrona, S., Snow, B., Brundin, P., Gustavii, B., Bjorklund, A., Lindvall, O., and Langston, J.W. (1992). Bilateral fetal mesencephalic

- grafting in two patients with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *N Engl J Med* 327, 1556-1563.
- Wilson, C.J., Chang, H.T., and Kitai, S.T. (1990). Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci* 10, 508-519.
- Wilson, C.J., and Kawaguchi, Y. (1996). The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J Neurosci* 16, 2397-2410.
- Wu, Y., Richard, S., and Parent, A. (2000). The organization of the striatal output system: a single-cell juxtacellular labeling study in the rat. *Neurosci Res* 38, 49-62.
- Xu, T.X., and Yao, W.D. (2010). D1 and D2 dopamine receptors in separate circuits cooperate to drive associative long-term potentiation in the prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 16366-16371.
- Yan, Z., Song, W.J., and Surmeier, J. (1997). D2 dopamine receptors reduce N-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a membrane-delimited, protein-kinase-C-insensitive pathway. *J Neurophysiol* 77, 1003-1015.
- Young, C.E., and Yang, C.R. (2004). Dopamine D1/D5 receptor modulates state-dependent switching of soma-dendritic Ca²⁺ potentials via differential protein kinase A and C activation in rat prefrontal cortical neurons. *J Neurosci* 24, 8-23.
- Zaja-Milatovic, S., Milatovic, D., Schantz, A.M., Zhang, J., Montine, K.S., Samii, A., Deutch, A.Y., and Montine, T.J. (2005). Dendritic degeneration in neostriatal medium spiny neurons in Parkinson disease. *Neurology* 64, 545-547.
- Zhang, Z.W., and Deschenes, M. (1997). Intracortical axonal projections of lamina VI cells of the primary somatosensory cortex in the rat: a single-cell labeling study. *J Neurosci* 17, 6365-6379.
- Zhang, Z.W., and Deschenes, M. (1998). Projections to layer VI of the posteromedial barrel field in the rat: a reappraisal of the role of corticothalamic pathways. *Cereb Cortex* 8, 428-436.
- Zheng, P., Zhang, X.X., Bunney, B.S., and Shi, W.X. (1999). Opposite modulation of cortical N-methyl-D-aspartate receptor-mediated responses by low and high concentrations of dopamine. *Neuroscience* 91, 527-535.
- Zhou, W.L., and Antic, S.D. (2012). Rapid dopaminergic and GABAergic modulation of calcium and voltage transients in dendrites of prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Physiol* 590, 3891-3911.
- Zold, C.L., Escande, M.V., Pomata, P.E., Riquelme, L.A., and Murer, M.G. (2012). Striatal NMDA receptors gate cortico-pallidal synchronization in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 47, 38-48.

Zold, C.L., Larramendy, C., Riquelme, L.A., and Murer, M.G. (2007). Distinct changes in evoked and resting globus pallidus activity in early and late Parkinson's disease experimental models. *Eur J Neurosci* 26, 1267-1279.