TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ..... **iv**

RÉSUMÉ ..... **vii**

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU ..... **xv**

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES ..... **xvii**

CHAPITRE I
INTRODUCTION **1**

1.1 Mise en contexte : réalisation d'activités motrices 1

1.1.1 Neurobiologie du mouvement 1

1.1.2 Mémorisation d'une séquence motrice 3

1.2 Le striatum 4

1.2.1 Division structurelle et fonctionnelle 4

1.2.2 Composition cellulaire 7

1.2.3 Fonctionnement du striatum : les ganglions de la base 8

1.2.4 L'afférence glutamatergique 14

1.2.4.1 Les récepteurs NMDA 14

1.2.4.2 Les récepteurs métabotropes du groupe I 15

1.2.4.3 Les voies de signalisation glutamatergique 16

1.2.5 L'afférence dopaminergique 23

1.2.5.1 La dopamine 23

1.2.5.2 Les récepteurs dopaminergiques 25

1.2.5.3 La voie dopaminergique D_1 26

1.2.5.4 La voie dopaminergique D_2 29

1.2.6 Modulation de la transmission synaptique par le système dopaminergique 31

1.2.6.1 Modulation de l'excitation des neurones épineux du striatum par le système dopaminergique 31

1.2.6.2 Modulation de la plasticité synaptique par le système dopaminergique 33

1.3 Exemple de trouble de l'exécution du mouvement : la maladie de Parkinson et les dyskinésies induites par la L-DOPA 37

1.3.1 La maladie de Parkinson 37

1.3.1.1 L'épidémiologie 38

1.3.1.2 La physiopathologie 39

1.3.1.3 Les symptômes 40

1.3.1.4 Les traitements 43

1.3.2 La L-DOPA : de la perte à l'excès de mouvements 44

1.3.3 Les dyskinésies induites par la L-DOPA 49

1.3.3.1 Physiopathologie des dyskinésies : modifications présynaptiques 51

1.3.3.2 Physiopathologie des dyskinésies : modifications postsynaptiques 52

1.3.4 Les modèles animaux de la maladie de Parkinson 60

1.3.5 Modèle animal des dyskinésies induites par la L-DOPA : le rat 6-OHDA 63

CHAPITRE II
HYPOTHÈSES DE RECHERCHE 65

2.1 Est-ce que PKA par son action sur $STEP_{61}$ est impliquée dans l'apprentissage moteur? 66

2.2 Est-ce que l'innervation dopaminergique est nécessaire lors de l'apprentissage moteur? 67

2.3 Est-ce que les calpaïnes et cdk5 sont impliquées dans le contrôle du mouvement? 68

CHAPITRE III
REGULATION OF TYROSINE PHOSPHATASE STEP61 BY PROTEIN KINASE A DURING MOTOR SKILL LEARNING IN MICE 70

3.1 Contribution des auteurs 70

3.2 Résumé 70

3.3 Premier article scientifique 72

Abstract 73

Introduction 74

Materials and Methods 75

Ethics Statement 75

Animals 75
Experimental Design 75
Pharmacological Treatments 76
Rotarod Test 77
Motor Ability Tests 77
Western Blotting 78
Statistical Analysis 79
Results 79
Modulation of STEP61 Phosphorylation during Rotarod Training 79
Striatal PKA Inhibition Impaired Rotarod Learning 79
Integrity of Motor Abilities during Striatal PKA Inhibition 80
PKA Activity Altered Striatal STEP61 Phosphorylation 81
Discussion 81
Supporting Information 85
References 86
Figures 90

CHAPITRE IV
PARTIAL DOPAMINE DEPLETION IN MPTP-TREATED MICE DIFFERENTIALLY ALTERED MOTOR SKILL LEARNING AND ACTION CONTROL 95

4.1 Contribution des auteurs 95
4.2 Résumé 95
4.3 Deuxième article scientifique 97
Abstract 98
Introduction 99
Materials and methods 100
Animals 100
Treatments 100
Rotarod test 100
Wire suspension test 101
Pole test 101

Western blotting 101
Statistical analysis 102
Results 102
MPTP treatment-induced striatal DA depletion 102
DA depletion influenced rotarod performances 104
Motor abilities were not affected by DA depletion 106
Discussion 106
Acknowledgements 109
References 110
Figures 114

CHAPITRE V
STRIATAL INHIBITION OF CALPAINS PREVENTS LEVODOPA-INDUCED NEUROCHEMICAL CHANGES AND ABNORMAL INVOLUNTARY MOVEMENTS IN HEMIPARKINSONIAN RAT MODEL . 120

5.1 Contribution des auteurs 120
5.2 Résumé 120
5.3 Troisième article scientifique 122
Abstract 123
Introduction 124
Materials and Methods 126
Animals 126
Experimental design 126
6-OHDA lesions 127
Intrastriatal inhibition of calpains and cdk5 127
L-DOPA treatment 128
Apomorphine test 128
Analysis of the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests 128
Analysis of AIMs 129
Western blotting analysis 130
Immunofluorescence analysis 131
Data analysis 132

Results 133

Validation of the unilateral 6-OHDA-lesioned rat model 133

Calpains and cdk5 inhibitors did not alter the antiparkinsonian effect of L-DOPA 133

L-DOPA combined with MDL28170 increased TH levels in 6-OHDA-lesioned rats 135

Striatal biochemical modifications induced by calpains or cdk5 inhibition 137

Intrastriatal inhibition of calpains or cdk5 prevented AIMs emergence induced by L-DOPA 137

Discussion 138

Antiparkinsonian effects of L-DOPA are not altered by calpains or cdk5 inhibition 139

Inhibition of calpains and cdk5 activities prevents LID emergence 140

Calpains activity influences the TH levels of dopamine neurons 142

Concluding remarks 143

Acknowledgments 144

References 145

Figures 151

CHAPITRE VI
DISCUSSION GÉNÉRALE 158

6.1 Est-ce que PKA par son action sur $STEP_{61}$ est impliquée dans l'apprentissage moteur? 158

6.1.1 PKA est impliquée dans l'apprentissage moteur 158

6.1.2 L'activité de $STEP_{61}$ est modulée durant l'apprentissage moteur 162

6.1.3 PKA est impliquée dans l'exécution du mouvement 165

6.2 Est-ce que l'innervation dopaminergique est nécessaire lors de l'apprentissage moteur? 166

6.3 Est-ce que les calpaïnes et cdk5 sont impliquées dans le contrôle du mouvement? 171

6.3.1 Les calpaïnes et cdk5 dans les dyskinésies induites par la L-DOPA 173

6.3.2 Mécanismes moléculaires du striatum par lesquels les calpaïnes et cdk5 jouent un rôle dans les dyskinésies induites par la L-DOPA 175

6.3.2.1 La phosphorylation de dynamine 175

6.3.2.2 La phosphorylation d'ERK1/2 176

6.3.2.3 L'augmentation de l'expression de la tyrosine hydroxylase 179

6.4 Conclusion générale 182

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 186

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

Figure		Page
1.1	Schéma des différentes phases et structures impliquées dans l'apprentissage moteur	4
1.2	Le striatum	7
1.3	Les ganglions de la base	9
1.4	Boucles cortico-ganglions de la base-thalamo-corticales	10
1.5	Schéma simplifié de l'organisation des ganglions de la base dans la boucle motrice	12
1.6	Schéma des voies de signalisation glutamatergique	22
1.7	La dopamine	24
1.8	Schéma de la synthèse de la dopamine	25
1.9	Voies de signalisation dopaminergique D_1	29
1.10	Voies de signalisation dopaminergique D_2	30
1.11	Schéma de l'induction de la plasticité synaptique au niveau des neurones épineux du striatum	36
1.12	Représentation de l'effet de la perte de dopamine sur la boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale	40
1.13	Traitements pour augmenter la biodisponibilité de la L-DOPA	46
1.14	Schéma de l'effet de l'administration de la L-DOPA chez des patients parkinsoniens au stade précoce et au stade avancé	48
1.15	Schéma de la boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale chez les patients parkinsoniens dans un état dyskinétique	50
1.16	Schéma des modifications présynaptiques et postsynaptiques associées aux dyskinésies induites par la L-DOPA	59
2.1	Schéma des interactions moléculaires au niveau du striatum	66

Rapport-Gratuit.com

6.1 La modulation de l'activité de PKA dans le striatum induit des troubles dans la réalisation d'activités motrices 166

6.2 Exemple représentatif de cellules TH-positives retrouvées dans le striatum de rats 6-OHDA traités à la L-DOPA en combinaison avec l'inhibiteur des calpaïnes 181

6.3 Schéma récapitulatif des résultats des travaux de recherche 185

Tableau **Page**

1.1 Traitements symptomatiques utilisés pour la maladie de Parkinson 44

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AC	Adénylate cyclase
AMPA	α-amino -3-hydroxy -5-méthylisoxazole -4-propionate
AMPc	Adénosine 3',5'-monophosphate cyclique
Ck1	Caséine kinase 1
CAMKII	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II
Cdk5	Cyclin-dependent kinase 5
COMT	Catéchol-O-méthyltranférase
CREB	CAMP-responsive element-binding protein
DARPP-32	Dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein-32kDa
DAT	Transporteur à la dopamine
DDC	Dopa décarboxylase
DOPAC	Acide dihydroxyphénylacétique
Epac	Exchange protein directly activated by cAMP
ERK1/2	Extracellular signal-regulated kinases 1/2
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GDP	Guanosine-5'-diphosphate
GIRK	G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels
GPe	Globus pallidus externe
GPi	Globus pallidus interne
GRK6	G protein-coupled receptor kinase 6
GSK3	Glycogen synthase kinase 3
GTP	Guanosine-5'-triphosphate
HVA	Acide homovanillique

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

IP_3	Inositol -1,4,5-triphosphate
L-DOPA	L-dihydroxyphénylalanine
LID	Dyskinésies induites par la L-DOPA
MAO	Monoamine oxydase
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MEK1/2	Mitogen-activated protein kinase kinase 1/2
MFB	Medial forebrain bundle
mGluR	Récepteur métabotrope
MPP+	1-méthyl -4-pyridinium
MPTP	1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
PP1	Protéine phosphatase 1
PP2B	Protéine phosphatase 2B
PP2A	Protéine phosphatase 2A
PKA	Protéine kinase A
PLC	Phospholipase C
SNc	Substance noire pars compacta
SNr	Substance noire pars reticulata
STEP	Striatal-enriched protein tyrosine phosphatase
STN	Noyau sous-thalamique
TH	Tyrosine hydroxylase
VMAT2	Transporteur vésiculaire des monoamines de type 2
3-OMD	3-O-méthyldopa
5-HT	Sérotonine
6-OHDA	6-hydroxydopamine

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Mise en contexte : réalisation d'activités motrices

La réalisation d'activités motrices, comme que faire du vélo ou jouer du piano, est complexe. Tout d'abord, elle nécessite notre capacité à exécuter des mouvements volontaires, par exemple, notre capacité à appuyer sur les pédales ou serrer les freins du vélo. Bien que cette capacité motrice soit essentielle à la bonne réalisation d'une activité motrice, il n'en demeure pas moins que la tâche motrice n'est pas réalisée avec aisance dès la première pratique. En effet, en plus de cette composante motrice, la réalisation d'activités motrices nécessite une composante cognitive qui consiste en notre capacité à apprendre et mémoriser des séquences motrices. Par exemple, pour freiner, il faut apprendre à arrêter de pédaler et appuyer sur les deux freins du vélo en même temps. Il est aussi à mentionner que la réalisation des actions motrices est teintée par une composante limbique (émotionnelle). En effet, la réalisation d'une activité motrice fait intervenir notre motivation qui peut être intrinsèque, c'est-à-dire liée à notre plaisir, ou extrinsèque, c'est-à-dire liée aux conséquences qui en résultent (obtention d'une conséquence positive ou évitement d'une conséquence négative). Par exemple, un cycliste de haut niveau sera motivé à améliorer ses performances dans le but de gagner une compétition. Ainsi, la réalisation d'une tâche motrice est complexe et elle fait intervenir l'ensemble de notre cerveau. Dans ce contexte, les travaux de recherche présentés dans cet ouvrage ont porté sur l'exécution ainsi que sur l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice.

1.1.1 Neurobiologie du mouvement

Au niveau cérébral, l'exécution du mouvement est organisée de manière hiérarchique et plusieurs structures cérébrales participent au processus. Presque

l'ensemble du cortex est impliqué dans la réalisation d'un mouvement volontaire. Le cortex représente le chef d'orchestre. Il organise et produit les séquences motrices afin de les transmettre à la moelle épinière, qui informera en retour les muscles du mouvement à effectuer (Kolb et Whishaw, 2002).

De manière plus exhaustive, lorsque nous exécutons un mouvement volontaire, le cortex préfrontal définit l'action à réaliser et planifie le mouvement. Les instructions sont ensuite transmises à l'aire motrice supplémentaire et au cortex prémoteur, qui effectuent une représentation adaptée, organisent et produisent les séquences motrices. Puis, les séquences motrices sont transmises au cortex moteur, qui donnera l'ordre d'exécuter le mouvement en véhiculant l'information à la moelle épinière. Les informations sensorielles en provenance des cortex somatosensoriel et visuel sont aussi importantes pour la réalisation d'un mouvement. Elles contribuent, entre autres, à la formation d'une image mentale du corps dans l'espace, à définir les paramètres à adopter (durée et amplitude de contraction des muscles) et à informer le cortex moteur que le mouvement est accompli (Kolb et Whishaw, 2002).

Pour réaliser un mouvement harmonieux, le cortex ne fonctionne pas tout seul. Il doit interagir avec deux autres structures : le striatum et le cervelet. Chacune de ses structures participe à sa manière au contrôle du mouvement en formant un réseau cortico-striatal et un réseau cortico-cérébelleux. Le réseau cortico-striatal joue un rôle dans la fluidité du mouvement. Il permet de produire des mouvements qui ne seront ni trop rapides, ni trop lents. Le réseau cortico-cérébelleux joue un rôle, entre autres, dans la coordination et la précision du mouvement. Ces deux structures sont essentielles à la réalisation adéquate du mouvement et leurs dysfonctionnements induisent inévitablement des troubles du mouvement. Les études cliniques ont permis d'observer qu'un dysfonctionnement au niveau du striatum induit soit des troubles hyperkinétiques, comme dans le cas de la maladie de Huntington, soit des troubles hypokinétiques, comme dans le cas de la maladie de Parkinson, alors qu'une atteinte du cervelet induit des mouvements erratiques, imprécis et mal coordonnés (Kolb et Whishaw, 2002).

1.1.2 Mémorisation d'une séquence motrice

Afin de réaliser avec aisance une tâche motrice, les séquences motrices doivent être apprises et mémorisées. Pour cela, les séquences motrices sont effectuées de manière répétée et plusieurs séances d'entraînement sont nécessaires. L'apprentissage et la mémorisation de ces séquences s'effectuent donc graduellement à travers la pratique. Une fois apprise et mémorisée, la tâche motrice pourra être rapidement effectuée malgré une période prolongée sans pratique (Karni *et coll.*, 1998; Ungerleider *et coll.*, 2002; Doyon *et coll.*, 2009).

D'après les travaux de Karni, Doyon et leurs collaborateurs, les processus d'apprentissage et de mémorisation impliquent diverses phases et structures cérébrales (Figure 1.1, p. 4) (Karni *et coll.*, 1998; Ungerleider *et coll.*, 2002; Doyon *et coll.*, 2009). Tout d'abord, une phase d'apprentissage rapide durant laquelle une large amélioration des performances et de la capacité à réaliser les séquences motrices est observée. La phase d'apprentissage rapide correspond à la première séance d'entraînement. Durant cette phase, les réseaux cortico-cérébelleux et cortico-striatal sont activés. Ces réseaux participent à l'émergence de plans moteurs et l'élaboration d'une stratégie optimale d'exécution. Il s'en suit une phase de consolidation. La consolidation est le processus par lequel la représentation neuronale des séquences motrices sera stabilisée durablement. Durant cette phase, l'activité de l'hippocampe et du striatum est augmentée. La consolidation est influencée par des facteurs tels que le sommeil. Elle permet de maintenir, voire d'augmenter, les performances lors de l'initiation de la deuxième séance d'entraînement. La deuxième séance ainsi que les séances d'entraînement ultérieures représentent la phase d'apprentissage lente. Lors de cette phase, le gain de performance se fait graduellement à travers les différentes séances d'entraînement. L'augmentation des performances pour chaque séance d'entraînement est moindre comparativement à celle observée durant la première séance d'entraînement. Lors de cette phase, l'implication du réseau cortico-striatal augmente alors que l'implication du réseau cortico-cérébelleux diminue. Ces réseaux contribuent à la stabilisation des performances, l'automatisation et le maintien à long terme de la tâche motrice (Karni *et coll.*, 1998; Ungerleider *et coll.*, 2002; Doyon *et coll.*, 2009).

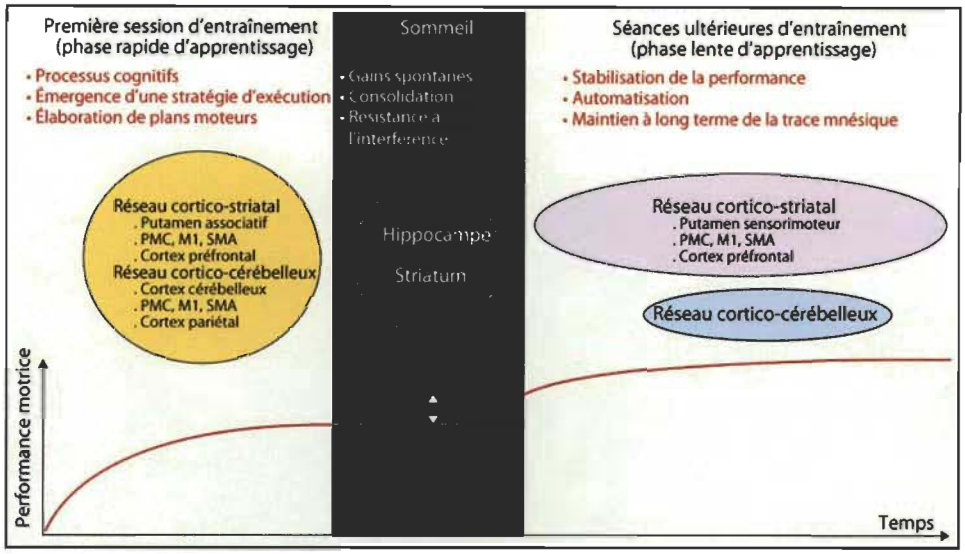


Figure 1.1 Schéma des différentes phases et structures impliquées dans l'apprentissage moteur.
M1, cortex moteur primaire; PMC, cortex prémoteur; SMA, aire motrice supplémentaire. (Tirée de Doyon *et coll.*, 2011.)

Ainsi, la réalisation d'activités motrices est complexe et elle est régie par de nombreuses structures cérébrales. Dans ce contexte, les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont porté sur les mécanismes moléculaires du striatum qui sont engagés dans l'exécution ainsi que dans l'apprentissage et la mémorisation d'activités motrices.

1.2 Le striatum

1.2.1 Division structurelle et fonctionnelle

Le striatum est divisé en striatum dorsal et en striatum ventral. Le striatum dorsal est composé du putamen et du noyau caudé. Chez le rongeur, le putamen et le noyau caudé sont fusionnés. La région dorsolatérale correspond au putamen et la région dorsomédiale correspond au noyau caudé. Le striatum ventral est composé quant à lui essentiellement du noyau accumbens (Figure 1.2, p. 7) (Joel et Weiner, 2000; Voorn *et coll.*, 2004).

Le striatum reçoit des informations en provenance du cortex de manière topographique. Cette transmission topographique permet d'attribuer aux régions distinctes du striatum des fonctions semblables aux aires corticales qui les innervent. Par conséquent, la région dorsolatérale (putamen, chez le primate) reçoit des informations des aires prémotrices, du cortex moteur et du cortex somatosensoriel et sera donc impliquée dans des fonctions sensorimotrices telles que l'exécution du mouvement (Alexander *et coll.*, 1986; Parent et Hazrati, 1995). Il est à noter que cette région est organisée de manière somatotopique, c'est-à-dire qu'une cartographie du corps telle que représentée au niveau cortical y est retrouvée. La représentation des membres postérieurs, du tronc et des membres antérieurs se situe au niveau dorsal et la représentation de la tête se situe au niveau ventral (Voorn *et coll.*, 2004). La région dorsomédiale (noyau caudé, chez le primate) reçoit des informations des aires corticales associatives (c'est-à-dire cognitives) et sera donc impliquée dans les fonctions cognitives telles que la mémoire ou l'apprentissage. Le striatum ventral reçoit, quant à lui, les informations du cortex limbique et jouera donc un rôle dans les comportements associés aux émotions comme la motivation (Alexander *et coll.*, 1986; Parent et Hazrati, 1995). L'innervation corticale permet donc une organisation fonctionnelle du striatum en différents territoires : le territoire sensorimoteur (région dorsolatérale), le territoire associatif (région dorsomédiale) et le territoire limbique (striatum ventral) (Figure 1.2, p. 7). Bien que cette division fonctionnelle du striatum reste globalement valide, il apparaît que cette division ne doit pas être considérée comme absolue (Voorn *et coll.*, 2004). En effet, les études récentes montrent que les territoires sensorimoteur et associatif qui sont impliqués dans l'exécution du mouvement et l'apprentissage contribuent aussi à des comportements qui furent longtemps attribués uniquement au territoire limbique tels que les comportements associés au système de la récompense (Voorn *et coll.*, 2004; Balleine et O'Doherty, 2010). Dans ce contexte, les différents territoires contribuent ensemble, mais selon des aspects et des degrés différents, à apporter les informations nécessaires à la réalisation adéquate d'un comportement. Par exemple, chez le rongeur, l'enregistrement *in vivo* de l'activité neuronale du striatum dorsal lors de l'apprentissage moteur a démontré que l'activité neuronale de la région dorsomédiale (associative) est augmentée pendant la phase rapide d'apprentissage, alors

que l'activité neuronale de la région dorsolatérale (sensorimotrice) est augmentée pendant la phase lente d'apprentissage (Yin *et coll.*, 2009). Ce profil d'activation a aussi été retrouvé chez l'humain (Lehericy *et coll.*, 2005). Les régions dorsolatérale et dorsomédiale participent donc toutes les deux à l'apprentissage moteur, mais contribuent à des aspects différents de cet apprentissage (Lehericy *et coll.*, 2005; Yin *et coll.*, 2009). La région dorsomédiale serait nécessaire à la mise en place et à l'acquisition des séquences motrices, alors que la région dorsolatérale, en plus de contribuer à l'exécution du mouvement, permettrait de maintenir la représentation des habiletés lorsque la tâche est apprise (Lehericy *et coll.*, 2005).

Ainsi, le striatum dorsal regroupant les territoires sensorimoteur et associatif a été le lieu d'étude des travaux de recherche présentés dans cet ouvrage et les prochaines sections s'attarderont donc principalement au striatum dorsal.

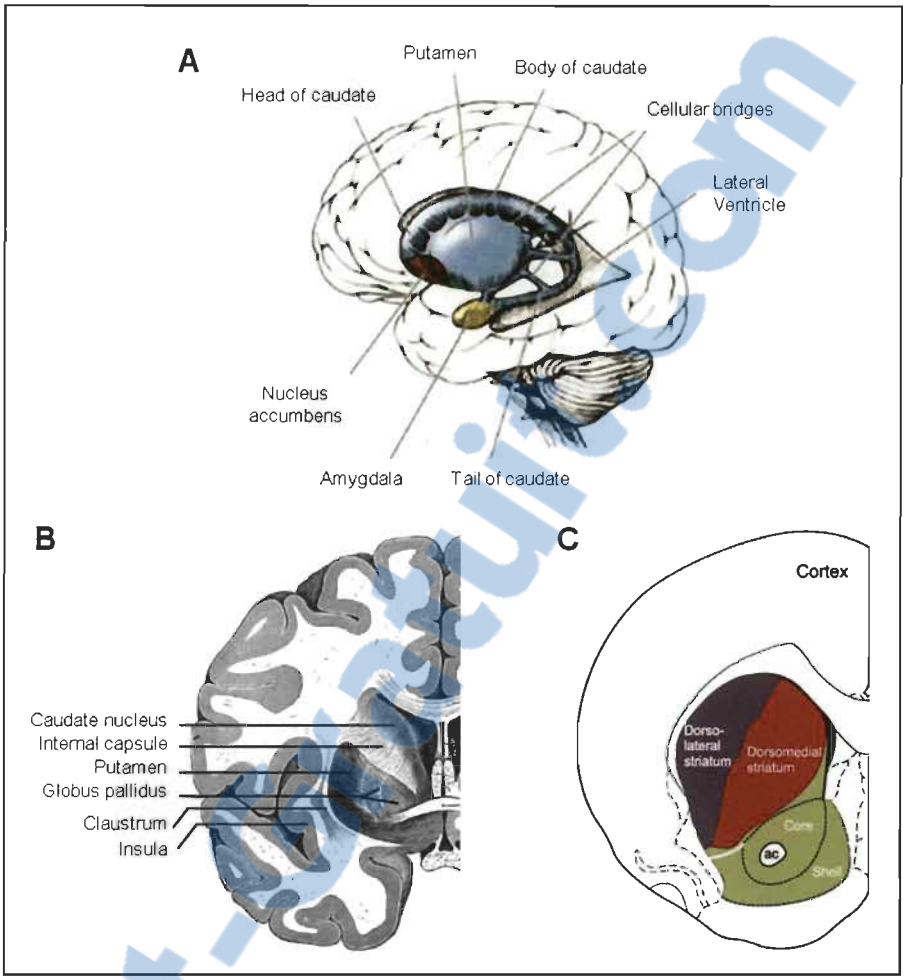


Figure 1.2 **Le striatum.**
(A) Représentation du striatum chez l'humain en vue sagittale. Le striatum dorsal, en bleu, est composé du putamen et du noyau caudé. Le striatum ventral est composé essentiellement du noyau accumbens, en rouge. (Adaptée de Blumenfeld, 2010.) (B) Représentation d'une coupe coronale du cerveau humain à travers la commissure antérieure. (Adaptée de Gray, 1918.) (C) Représentation d'une coupe coronale d'un cerveau de rongeur au niveau du striatum. La région dorsolatérale, en mauve, équivaut au putamen et représente le territoire sensorimoteur. La région dorsomédiale, en rouge, équivaut au noyau caudé et représente le territoire associatif. Le striatum ventral, en vert, représente le territoire limbique. (Tirée de Humphries et Prescott, 2010.)

1.2.2 Composition cellulaire

Au niveau cellulaire, le striatum est composé principalement de neurones épineux GABAergiques de taille moyenne (plus de 90 %). Ces neurones de projection libèrent

Rapport-gratuit.com

l'acide γ-aminobutyrique (GABA), le principal neurotransmetteur inhibiteur du cerveau (Parent et Hazrati, 1995; Kreitzer, 2009; Valjent *et coll.*, 2009; Surmeier *et coll.*, 2011a). Ils sont séparés en deux populations en fonction de leurs sites de projection et des molécules qu'ils expriment. D'une part, une population de neurones épineux se projette au niveau du globus pallidus interne (GPi) et de la substance noire pars reticulata (SNr). Cette population de neurones exprime la substance P, la dynorphine et le récepteur dopaminergique D_1. Elle constitue la voie directe des ganglions de la base. D'autre part, une population de neurones épineux se projette sur le globus pallidus externe (GPe) et exprime l'enképhaline et les récepteurs dopaminergiques D_2. Elle forme la voie indirecte des ganglions de la base (Gerfen *et coll.*, 1990; Le Moine et Bloch, 1995; Surmeier *et coll.*, 1996; Gong *et coll.*, 2003; Bertran-Gonzalez *et coll.*, 2008; Matamales *et coll.*, 2009). Il est à mentionner qu'un faible pourcentage de neurones épineux coexprime les récepteurs dopaminergiques D_1 et D_2 (5 % dans le striatum dorsal; Bertran-Gonzalez *et coll.*, 2008). De plus, le striatum est aussi composé de quatre classes d'interneurones, représentants 5 à 10 % de l'ensemble des neurones : les interneurones cholinergiques, les interneurones GABAergiques exprimant la calrétinine, les interneurones GABAergiques exprimant la parvalbumine et les interneurones GABAergiques exprimant le neuropeptide Y, la somatostatine et l'oxyde nitrique synthase (Parent et Hazrati, 1995; Kreitzer, 2009; Valjent *et coll.*, 2009; Surmeier *et coll.*, 2011a).

1.2.3 Fonctionnement du striatum : les ganglions de la base

Le striatum ne fonctionne pas tout seul. Il fait partie d'un réseau de noyaux sous-corticaux interconnectés et hautement organisés : les ganglions de la base. Les ganglions de la base sont formés du striatum, de la substance noire pars reticulata (SNr) et pars compacta (SNc), du globus pallidus interne (GPi) et externe (GPe) et du noyau sous-thalamique (STN) (Figure 1.3, p. 9).

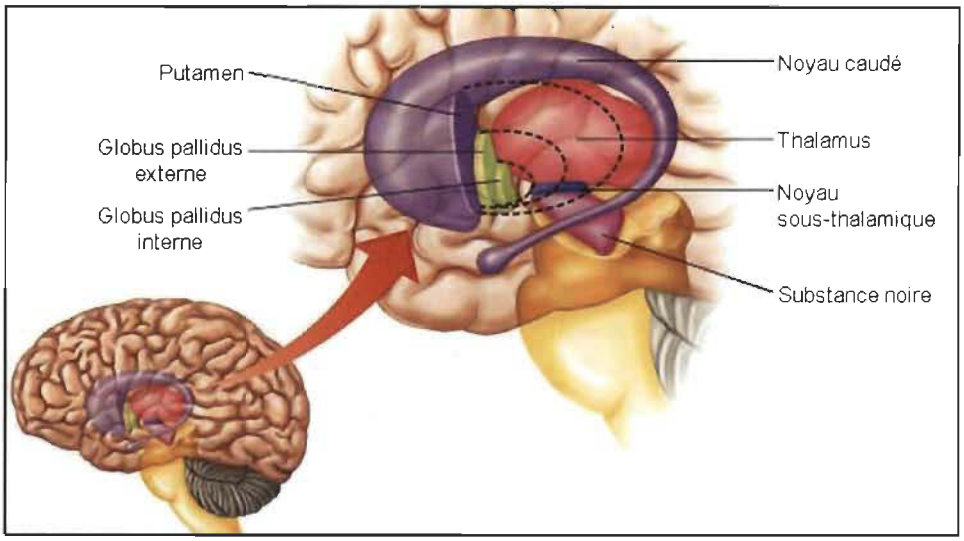


Figure 1.3 Les ganglions de la base. (Adaptée du site internet ACCES accessible à l'adresse : http://acces.ens-lyon.fr/acces.)

Dans les années 1980, le premier modèle fonctionnel des ganglions de la base a été établi par les travaux d'Albin, Alexander et DeLong. Dans ce modèle, les ganglions de la base fonctionnent selon une boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale (Alexander *et coll.*, 1986). Les informations en provenance des différentes aires corticales sont véhiculées de manière ségrégée à travers les ganglions de la base, puis redirigées vers le cortex par le thalamus. De cette manière, les ganglions de la base forment une série de boucles fonctionnant de manière parallèle et ayant des fonctions semblables aux aires corticales qui les alimentent (Figure 1.4, p. 10). Cette organisation anatomique permet aux ganglions de la base de ne pas être uniquement impliqués dans des fonctions motrices, comme il fut longtemps considéré, mais de jouer aussi un rôle dans des fonctions comme l'apprentissage, les actions motivées par un but et la formation des habitudes (Alexander *et coll.*, 1986; Redgrave *et coll.*, 2010).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

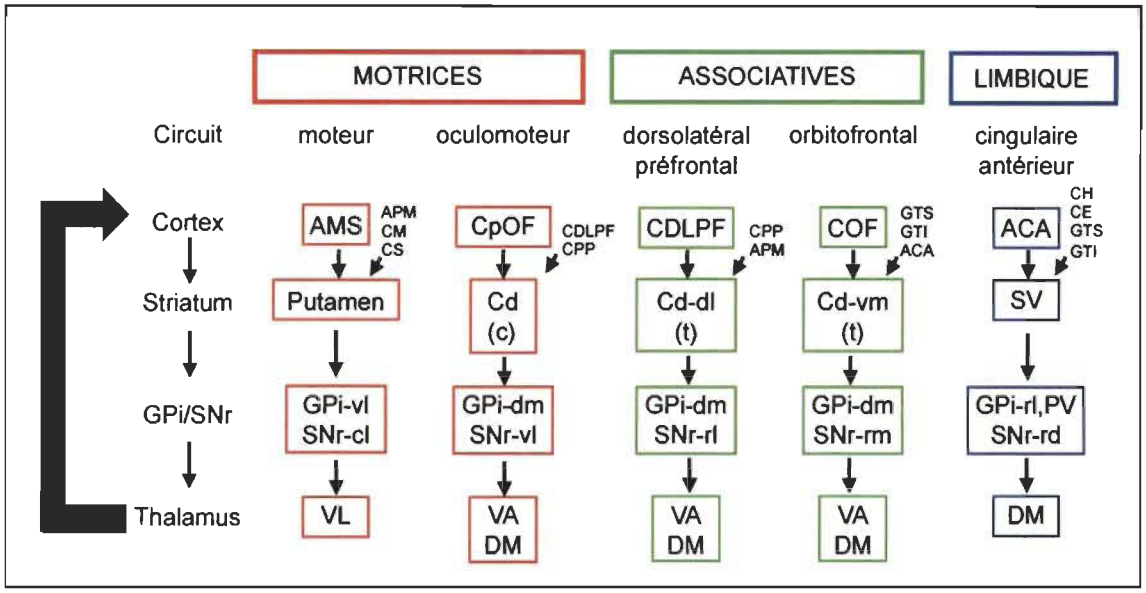


Figure 1.4 **Boucles cortico-ganglions de la base-thalamo-corticales.** Représentation des cinq boucles cortico-ganglions de la base-thalamo-corticales : motrice, oculomotrice, dorsolatérale préfrontale, orbitofrontale et cingulaire antérieure. Le striatum représente la porte d'entrée des informations en provenance des différentes aires corticales. Le GPi et la SNr représentent les portes de sortie et se projettent sur le thalamus. Le thalamus retourne l'information à certaines aires corticales qui alimentent le circuit. ACA, aire cingulaire antérieure; AMS, aire motrice supplémentaire; APM, aire prémotrice; Cd, noyau caudé; CDLPF, cortex dorsolatéral préfrontal; CE, cortex entorhinal; CH, cortex hippocampal, CM, cortex moteur; CPP, cortex pariétal postérieur; CpOF, champs oculomoteurs frontaux; CS, cortex somatosensoriel, GPi, globus pallidus interne; GTI, gyrus temporal inférieur; GTS, gyrus temporal supérieur; PV, pallidum ventral; SNr, substance noire pars reticulata; SV, striatum ventral; c, corps; cl, caudolatéral; dm, dorsomédial; t, tête; va, ventroantérieur; vl, ventrolatéral; rd, rostrodorsal; rl, rostrolatéral; rm, rostromédial. (Adaptée d'Alexander *et coll.*, 1986.)

L'exécution du mouvement est régie par la boucle motrice (Figure 1.5, p. 12). Cette boucle est la mieux caractérisée. Les afférences glutamatergiques excitatrices des cortex moteur, prémoteur et somatosensoriel convergent vers le striatum, qui représente la principale porte d'entrée des ganglions de la base. Au niveau du striatum, l'information est transmise au GPi et à la SNr, qui représentent les portes de sortie des ganglions de la base, selon deux voies : la voie directe et la voie indirecte (Obeso *et coll.*, 2008; Redgrave *et coll.*, 2010).

La voie directe, comme son nom l'indique, se projette directement sur le GPi et la SNr. Elle est aussi nommée striato-nigrale et est formée de neurones épineux exprimant la substance P, la dynorphine et le récepteur dopaminergique D_1. Ces neurones exercent une influence GABAergique inhibitrice sur le GPi et la SNr. L'activation de la voie directe permet ainsi la levée de l'inhibition exercée par le GPi et la SNr sur le thalamus. Le thalamus pourra alors transmettre l'information au cortex, plus particulièrement à l'aire motrice supplémentaire. La voie indirecte, aussi appelée striato-pallidale, est formée de neurones épineux exprimant principalement l'enképhaline et le récepteur D_2. Ces neurones véhiculent l'information au GPi et à la SNr par un relais impliquant le GPe et le STN. Les neurones épineux GABAergiques de la voie indirecte envoient des projections inhibitrices sur le GPe permettant la levée d'inhibition du STN et ainsi l'excitation du GPi et de la SNr. Contrairement à la voie directe, l'activation de la voie indirecte permet le maintien de l'inhibition exercée par le GPi et la SNr sur le thalamus. Par conséquent, les informations envoyées par le thalamus au cortex seront freinées. Bien qu'ayant un rôle contradictoire, les voies directe et indirecte fonctionnent de manière complémentaire en créant une balance entre l'activation (voie directe) et l'inhibition (voie indirecte) du thalamus. D'un point de vue fonctionnel, l'activation de la voie directe facilite le mouvement alors que l'activation de la voie indirecte freine le mouvement. Cette représentation du modèle classique a été confirmée par une étude récente, chez le rongeur, permettant d'activer séparément, *in vivo*, la voie directe et indirecte grâce à la technique d'optogénétique (Kravitz *et coll.*, 2010).

L'activation des voies directe et indirecte est modulée par les neurones dopaminergiques en provenance de la SNc. Ces neurones dopaminergiques libèrent comme neurotransmetteur la dopamine au niveau du striatum. La libération de la dopamine facilite l'excitation des neurones épineux de la voie directe et atténue l'excitation des neurones épineux de la voie indirecte. Il en résulte un déséquilibre en faveur de l'activation du thalamus, ce qui facilitera le mouvement. Un excès de dopamine induira donc un excès de mouvement. À l'opposé, la réduction de la dopamine causée par la perte des neurones dopaminergiques, comme c'est le cas chez les patients parkinsoniens, entrainera un déséquilibre en faveur de l'inhibition du thalamus, d'où la

perte de mouvements observée chez ces patients (Obeso *et coll.*, 2008; Redgrave *et coll.*, 2010).

Toutefois, ce modèle fonctionnel des ganglions de la base est bien plus complexe et les récentes études anatomiques ont permis de montrer qu'il existe plusieurs autres connexions neuronales entre les différentes structures (Redgrave *et coll.*, 2010). Entre autres, le striatum reçoit également des afférences glutamatergiques du thalamus (Smith *et coll.*, 2004b; Ding *et coll.*, 2008; Smith *et coll.*, 2009) et il s'avère que le STN représente une autre porte d'entrée des ganglions de la base en recevant des afférences du cortex et du thalamus (Nambu *et coll.*, 2002; Lanciego *et coll.*, 2004; Redgrave *et coll.*, 2010). Il est aussi à mentionner que la ségrégation des voies directe et indirecte dans les ganglions de la base est moins marquée chez le singe que chez le rongeur (Joel et Weiner, 2000; Parent *et coll.*, 2001).

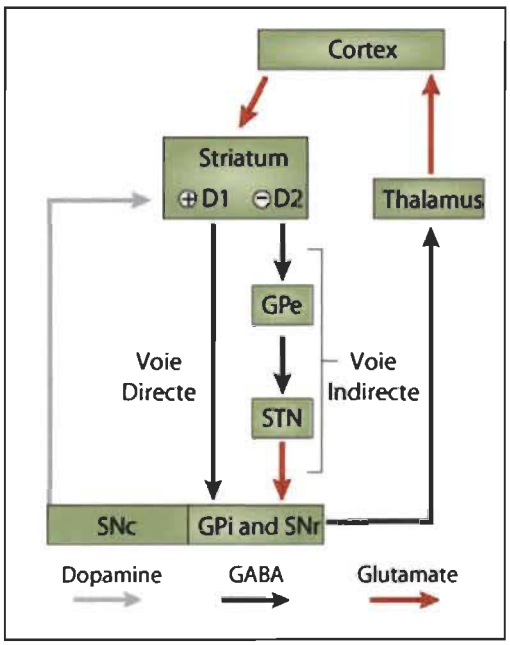


Figure 1.5 Schéma simplifié de l'organisation des ganglions de la base dans la boucle motrice.
GPe, globus pallidus externe; GPi, globus pallidus interne; SNc, substance noire pars compacta; SNr, substance noire pars reticulata; STN, noyau sous-thalamique. (Adaptée de Redgrave *et coll.*, 2010.)

Bien que le fonctionnement des ganglions de la base et la fonction des voies directe et indirecte soient bien connus pour l'exécution du mouvement, ceci n'est pas le cas pour l'apprentissage moteur. Toutefois, comme pour l'exécution, il a été montré que les voies directe et indirecte sont impliquées différemment dans l'apprentissage moteur. Chez la souris, la destruction des neurones épineux de la voie directe empêche la réalisation de la tâche motrice tout au long des phases d'apprentissage, alors que la délétion des neurones épineux de la voie indirecte altère l'apprentissage lors de la phase rapide menant à un retard d'apprentissage (Durieux *et coll.*, 2012). La contribution des voies directe et indirecte dans l'apprentissage moteur serait dépendante de leurs localisations dans le striatum (Yin *et coll.*, 2009; Durieux *et coll.*, 2012). En effet, il a été montré que la voie indirecte de la région dorsomédiale est impliquée lors de la phase rapide d'apprentissage (Durieux *et coll.*, 2012), alors que la voie indirecte de la région dorsolatérale serait plus impliquée lors de la phase lente d'apprentissage (Yin *et coll.*, 2009). Toutefois, Durieux *et coll.* ont observé que la destruction des neurones épineux de la voie indirecte dans la région dorsolatérale n'affecte aucune phase d'apprentissage moteur. Ainsi, bien que les voies directe et indirecte participent à l'apprentissage moteur, d'autres études sont nécessaires à la compréhension de leur contribution dans l'apprentissage moteur.

En plus de recevoir des informations glutamatergiques et dopaminergiques, le striatum intègre des informations de plusieurs autres systèmes de neurotransmission qui peuvent aussi moduler son fonctionnement. En effet, les études montrent que les systèmes sérotoninergique (Mathur et Lovinger, 2012; Rylander, 2012; Miguelez *et coll.*, 2014), cholinergique (Zhou *et coll.*, 2002; Muller et Bohnen, 2013; Lim *et coll.*, 2014), noradrénergique (Brotchie, 2005; Fornai *et coll.*, 2007; Brichta *et coll.*, 2013; Huot *et coll.*, 2013), adénosinergique (Fuxe *et coll.*, 2007; Morelli *et coll.*, 2007; Brichta *et coll.*, 2013; Huot *et coll.*, 2013), endocannabinoïde (Di Filippo *et coll.*, 2008; Lovinger et Mathur, 2012; Huot *et coll.*, 2013) et ipioïde (Brotchie, 2005; Brichta *et coll.*, 2013; Huot *et coll.*, 2013) influencent aussi le fonctionnement du striatum associé à la fonction motrice. Toutefois, pour les besoins liés à la compréhension de cette thèse,

les prochaines séctions se concentreront uniquement sur les systèmes glutamatergique et dopaminergique.

1.2.4 L'afférence glutamatergique

Au niveau moléculaire, les informations en provenance du cortex sont transmises au striatum par le glutamate, le principal neurotransmetteur excitateur du cerveau. Le glutamate, libéré par les terminaisons nerveuses glutamatergiques, active des récepteurs glutamatergiques présents sur les neurones du striatum. Les récepteurs glutamatergiques sont classés en deux grandes catégories : les récepteurs ionotropes et les récepteurs métabotropes. Les récepteurs ionotropes incluent le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA), le récepteur α-amino -3-hydroxy -5-méthylisoxazole -4-propionate (AMPA) et le récepteur kaïnate (Dingledine *et coll.*, 1999). Contrairement aux récepteurs ionotropes qui sont des canaux ioniques, les récepteurs métabotropes font partie des récepteurs couplés aux protéines G. Ils sont divisés en trois groupes en fonction de leurs séquences d'homologie et de leur liaison à la protéine G. Les récepteurs du groupe I ($mGluR_1$ et $mGluR_5$) sont couplés à la protéine $G\alpha_q$ et activent la phospholipase C (PLC). Les récepteurs du groupe II ($mGlurR_2$ et $mGlurR_3$) et du groupe III ($mGluR_4$, $mGlurR_6$, $mGluR_7$ et $mGluR_8$) sont couplés à la protéine $G\alpha_i$ et inhibent l'adénylate cyclase (AC) (Pin et Duvoisin, 1995; Conn et Pin, 1997; Conn *et coll.*, 2005; Nicoletti *et coll.*, 2011). Pour les besoins associés à la compréhension des travaux de recherche présentés, seulement les récepteurs NMDA et métabotropes du groupe I ainsi que leurs voies de signalisation seront décrits dans cet ouvrage.

1.2.4.1 Les récepteurs NMDA

Les récepteurs NMDA sont des canaux ioniques voltage-dépendants. Ce sont des hétéromères composés de différentes sous-unités. Il existe huit sous-unités NR1, quatre sous-unités NR2 (NR2A-D) et deux sous-unités NR3. Afin d'être fonctionnel, le récepteur NMDA doit posséder au moins une sous-unité NR1 avec une sous-unité NR2. De manière générale, les récepteurs NMDA sont des tétramères composés de

deux sous-unités NR1 et de deux sous-unités NR2 (Dingledine *et coll.*, 1999; Paoletti et Neyton, 2007; Glasgow *et coll.*, 2014). La sous-unité NR2 définit les propriétés électrophysiologiques des récepteurs NMDA comme la perméabilité au calcium (Dingledine *et coll.*, 1999; Glasgow *et coll.*, 2014). L'activation des NMDA nécessite la présence du glutamate et du coagoniste glycine ou D-sérine (Johnson et Ascher, 1987; Kleckner et Dingledine, 1988; Lerma *et coll.*, 1990; Schell *et coll.*, 1995). De plus, l'ion magnésium qui bloque le canal doit être délogé à la suite d'une dépolarisation membranaire pour permettre le passage des ions (Mayer *et coll.*, 1984; Nowak *et coll.*, 1984; Ascher et Nowak, 1988; Dingledine *et coll.*, 1999). Au niveau du striatum, les sous-unités NR1, NR2A et NR2B sont présentes sur les neurones épineux et les interneurones, avec une dominance pour les sous-unités NR1 et NR2B (Standaert *et coll.*, 1994; Standaert *et coll.*, 1999). La sous-unité NR2C est presque absente et la sous-unité NR2D est présente seulement sur les interneurones (Standaert *et coll.*, 1994; Standaert *et coll.*, 1999).

1.2.4.2 Les récepteurs métabotropes du groupe I

Les récepteurs métabotropes du groupe I font partie des récepteurs couplés aux protéines G (Pin et Duvoisin, 1995; Conn et Pin, 1997; Conn *et coll.*, 2005; Nicoletti *et coll.*, 2011). Les récepteurs couplés aux protéines G possèdent une extrémité N-terminale extracellulaire, un domaine à sept passages transmembranaires et une extrémité C-terminale intracellulaire (Landry et Gies, 2009). Une fois le glutamate fixé au récepteur, ce dernier va transmettre l'information à l'intérieur de la cellule par l'activation d'une protéine G hétérotrimérique. Les récepteurs métabotropes du groupe I sont couplés à la protéine $G\alpha_q$ et agissent sur la PLC (Pin et Duvoisin, 1995; Conn et Pin, 1997; Conn *et coll.*, 2005; Nicoletti *et coll.*, 2011). L'activation de la PLC augmente la formation de l'inositol -1,4,5-triphosphate (IP_3), permettant ainsi le passage du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique vers le cytosol. Il en résulte une augmentation de la disponibilité du calcium intracellulaire (Pin et Duvoisin, 1995; Conn *et coll.*, 2005; Nicoletti *et coll.*, 2011). Les récepteurs métabotropes du groupe I sont composés des récepteurs de type 1 ($mGluR_1$) et de type 5 ($mGluR_5$) (Pin et Duvoisin,

1995; Conn et Pin, 1997; Conn *et coll.*, 2005; Nicoletti *et coll.*, 2011). Au niveau du striatum, les récepteurs $mGluR_1$ et $mGluR_5$ sont exprimés sur les neurones épineux du striatum et les interneurones (Tallaksen-Greene *et coll.*, 1998). Les récepteurs $mGluR_1$ sont aussi localisés sur les terminaisons nerveuses dopaminergiques, où ils modulent la relâche de dopamine (Verma et Moghaddam, 1998; Paquet et Smith, 2003; Zhang et Sulzer, 2003).

1.2.4.3 Les voies de signalisation glutamatergique

L'activation des récepteurs NMDA et $mGluR_{1/5}$, provoque l'augmentation du calcium intracellulaire qui induit l'activation de protéines calcium-dépendantes telles que les calpaïnes, la protéine phosphatase 2B (PP2B, aussi nommée calcineurine) et la protéine « calcium/calmodulin-dependent protein kinase II » (CaMKII) (Liu *et coll.*, 2002; Nishi *et coll.*, 2002; Wang *et coll.*, 2004; Baudry *et coll.*, 2013). Bien que ces protéines soient à même d'agir sur de nombreux substrats, uniquement les voies de signalisation nécessaires à la compréhension des présents travaux de recherche seront développées. En plus d'induire ensemble une série d'évènements intracellulaires, les récepteurs NMDA et $mGluR_5$ s'influencent mutuellement. L'activation des récepteurs $mGluR_5$ amplifie les courants des récepteurs NMDA et l'activation des récepteurs NMDA limite la désensitisation des récepteurs $mGluR_5$ (Alagarsamy *et coll.*, 1999; Pisani *et coll.*, 2001; Alagarsamy *et coll.*, 2002; Choe *et coll.*, 2006). Les récepteurs $mGluR_5$ interagissent aussi physiquement avec le récepteur à l'adénosine A_{2A} avec qui ils agissent en synergie pour induire des évènements intracellulaires comme l'activation de la voie de signalisation des « mitogen-activated protein kinases » (MAPK) (Ferre *et coll.*, 2002; Nishi *et coll.*, 2003; Ferraro *et coll.*, 2012). Il est aussi à mentionner que l'interaction des récepeteurs $mGluR_5$ et A_{2A} module la transmission dopaminergique en formant un complexe d'hétérorécepteurs regroupant les récepteurs $mGluR_5$, les récepteurs A_{2A} et les récepteurs dopaminergiques D_2 (Cabello *et coll.*, 2009; Fuxe *et coll.*, 2010; Fuxe *et coll.*, 2015). Dans ce contexte, les récepteurs $mGluR_5$ et A_{2A} agissent en synergie et s'opposent aux récepteurs D_2 (Popoli *et coll.*, 2001; Fuxe *et coll.*, 2010; Fuxe *et coll.*, 2015). Les récepteurs A_{2A} sont couplés positivement à l'adenylate

cyclase et sont activés par l'adénosine (Fredholm *et coll.*, 2000; Ferraro *et coll.*, 2012). La source d'adénosine dans le striatum n'est pas clairement établie. Une étude a toutefois montré que l'adenosine extracellulaire ne proviendrait pas de l'hydrolyse de l'ATP, mais plutôt de la libération, par un mécanisme d'excitation – sécrétion, de l'adénosine intracellulaire emmagasinée dans des vésicules (Melani *et coll.*, 2012). Au niveau du striatum, les récepteurs A_{2A} sont présents sur les neurones épineux de la voie indirecte et au niveau présynaptique sur les interneurones cholinergiques (Fink *et coll.*, 1992; Schiffmann et Vanderhaeghen, 1993; Preston *et coll.*, 2000). En plus de moduler la transmission dopaminergique par leurs intéractions avec les récepteurs D_2 (Ferre *et coll.*, 1997; Fuxe *et coll.*, 2010; Ferraro *et coll.*, 2012; Fuxe *et coll.*, 2015), les récepteurs A_{2A} favorisent la libération d'acétylcholine par les interneurones cholinergiques (Kirkpatrick et Richardson, 1993; Kirk et Richardson, 1994; Kurokawa *et coll.*, 1994) et modulent la transmission synaptique (Shen *et coll.*, 2008; Lerner *et coll.*, 2010; Tozzi *et coll.*, 2011; Tozzi *et coll.*, 2012).

L'augmentation de calcium à la suite de l'activation des récepteurs glutamatergiques est à même d'induire l'activation des calpaïnes (Figure 1.6, p. 22) (Goll *et coll.*, 2003; Wu et Lynch, 2006; Cowan *et coll.*, 2008; Del Rio *et coll.*, 2008; Meyer *et coll.*, 2008; Baudry *et coll.*, 2013). Les calpaïnes sont des protéases calcium-dépendantes existantes sous 15 isoformes. Les m-calpaïnes et les μ-calpaïnes représentent les principales isoformes de cette famille de protéases. Ces isoformes ubiquitaires sont fortement exprimées au niveau du cerveau et sont retrouvées aussi bien dans les neurones que dans les cellules gliales. Les m-calpaïnes et μ-calpaïnes sont des hétérodimères composés d'une large sous-unité catalytique distincte (respectivement calpaïne-1 et calpaïne-2) et d'une petite sous-unité régulatrice commune (calpaïne-4). L'activation des m-calpaïnes et des μ-calpaïnes nécessite des niveaux de concentration en calcium différents, soit respectivement des millimolaires ou des micromolaires. Leur activité est aussi modulée par leur phosphorylation ou leur liaison à la calpastatine, leur inhibiteur endogène (Goll *et coll.*, 2003; Wu et Lynch, 2006; Baudry *et coll.*, 2013). Elles participent à plusieurs fonctions physiologiques telles que la mobilité cellulaire, la mort cellulaire, l'autophagie, la croissance axonale et la plasticité synaptique (Goll *et*

Rapport-Gratuit.com

coll., 2003; Baudry et Bi, 2013; Baudry *et coll.*, 2013; Moretti *et coll.*, 2014). Elles sont aussi impliquées dans des conditions pathologiques associées à une augmentation non physiologique des niveaux de calcium qui peut provenir d'un dérèglement de la transmission glutamatergique et/ou d'une atteinte mitochondriale (Vosler *et coll.*, 2008). L'augmentation non physiologique des niveaux de calcium induit une suractivation pathologique des calpaïnes (Vosler *et coll.*, 2008). Dans ce contexte, elles sont retrouvées dans l'hischémie cérébrale ainsi que dans plusieurs maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer, d'Huntington et de Parkinson, où elles jouent un rôle dans la mort neuronale (Vosler *et coll.*, 2008). Du fait qu'elles participent à la mobilité et la mort cellulaires, un dérèglement pathologique de leur fonctionnement est aussi associé à plusieurs types de cancer (Moretti *et coll.*, 2014). Les calpaïnes possèdent de nombreux substrats. Parmi ceux-ci, les calpaïnes sont capables de cliver le cofacteur de la protéine « cyclin-dependent kinase 5 » (cdk5) p35 en p25, induisant l'augmentation de l'activité de cdk5 (Patrick *et coll.*, 1999; Kusakawa *et coll.*, 2000; Lee *et coll.*, 2000b). L'activation de la voie calpaïnes/cdk5/p25 est généralement associée à la mort neuronale dans des contextes pathologiques (Vosler *et coll.*, 2008). Toutefois, l'activation de cette voie participe aussi à des processus physiologiques tels que la plasticité synaptique et la synaptogenèse (Fischer *et coll.*, 2005; Hawasli et Bibb, 2007; Mlewski *et coll.*, 2008; Baudry *et coll.*, 2013) et son activation n'induit pas nécessairement la mort neuronale (Fischer *et coll.*, 2005; Meyer *et coll.*, 2008; Lebel *et coll.*, 2009). Il est aussi à mentionner que la voie des calpaïnes/cdk5/p25 peut être activée à la suite d'une augmentation de calcium induite par la stimulation des récepteurs dopaminergiques D_1 (Lebel *et coll.*, 2009; Lebel et Cyr, 2011).

L'activation de la protéine phosphatase 2B (PP2B), par la stimulation des récepteurs glutamatergiques, permet d'induire l'activation de cdk5 (Figure 1.6, p. 22) (Liu *et coll.*, 2001; Liu *et coll.*, 2002). Cdk5 est une sérine/thréonine kinase qui, contrairement aux autres kinases cycline-dépendantes, nécessite sa liaison aux cofacteurs p35 et p39 pour être activée (Ko *et coll.*, 2001). L'activation de cdk5 se fait à la suite de sa phosphorylation ou de la phosphorylation de son cofacteur p35 par la caséine kinase 1 (ck1), qui est elle-même activée par la PP2B (Liu *et coll.*, 2001; Liu *et*

coll., 2002). Le complexe cdk5/p35 est impliqué dans plusieurs fonctions physiologiques tels que la migration neuronale, la formation des neurites, le développement neuromusculaire, le dynamisme du cytosquelette, la plasticité synaptique, la signalisation dopaminergique, l'endoytose et l'exocytose (Smith *et coll.*, 2001a; Smith et Tsai, 2002; Angelo *et coll.*, 2006; Hawasli et Bibb, 2007; Su et Tsai, 2011). Au niveau du striatum, cdk5 est connue pour atténuer l'activation de la voie dopaminergique D_1. En effet, l'activation de cdk5/p35 induit la phosphorylation de la protéine « dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein-32 kDa » (DARPP32) sur la thréonine 75 (Thr75), transformant DARPP32 en un inhibiteur de la protéine kinase A (PKA), une protéine effectrice de la signalisation dopaminergique D_1 (Bibb *et coll.*, 1999). DARPP32 est une phosphoprotéine qui agit comme un intégrateur signalétique impliqué dans la modulation de divers signaux cellulaires en réponse à de multiples neurotransmetteurs comme la dopamine et le glutamate (Greengard *et coll.*, 1999; Greengard, 2001). DARPP32 est bien connue pour jouer un rôle de régulateur dans la signalisation dopaminergique. Lorsqu'elle est phosphorylée sur la thréonine 34 (Thr34) par PKA, à la suite de la stimulation des récepteurs dopaminergiques D_1, elle amplifie la signalisation dopaminergique alors que lorsqu'elle est phosphorylée sur la Thr75 par cdk5 ou dephosphoylée sur la Thr34 par PP2B, à la suite de la stimulation des récepteurs glutamatergiques, elle attenue la signalisation dopaminergique (Greengard *et coll.*, 1999; Greengard, 2001; Nishi *et coll.*, 2002; Nishi *et coll.*, 2005; Valjent *et coll.*, 2005). Il est aussi à mentionner que l'expression de cdk5 et p35 est modulée par la dopamine. En effet, il a été montré chez les rongeurs que l'administration chronique de drogues augmentant la présence de dopamine dans la fente synaptique, telles que la cocaïne et l'amphétamine, induit l'augmentation de l'expression de cdk5 et p35 par l'activation du facteur de transcription ΔFosB (Bibb *et coll.*, 2001; Mlewski *et coll.*, 2008). Dans ce contexte, cdk5/p35 joue un rôle de rétrocontrôle négatif sur la transmission dopaminergique (Bibb *et coll.*, 2001; Bibb, 2003). L'augmentation de l'expression de cdk5 et p35 a aussi été démontrée dans un autre système hyperdopaminergique associé à la délétion génétique du transporteur à la dopamine chez la souris (Cyr *et coll.*, 2003). En plus d'induire l'activation du complexe cdk5/p35 par ck1, le glutamate induit la formation du complexe cdk5/p25 par l'activation des calpaïnes. Comme il a été décrit

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

auparavant, les calpaïnes clivent p35 en p25, ce qui a pour conséquence d'augmenter l'activité de cdk5 (Patrick *et coll.*, 1999; Kusakawa *et coll.*, 2000; Lee *et coll.*, 2000b). Contrairement au complexe cdk5/p35 qui est connu pour avoir des fonctions physiologiques, le complexe cdk5/p25 est essentiellement connu pour avoir une fonction pathologique associée à la mort neuronale (Cruz et Tsai, 2004; Smith *et coll.*, 2004a; Vosler *et coll.*, 2008). La formation du complexe cdk5/p25 étant dépendante de l'activation des calpaïnes, cdk5/p25 a été mis en évidence dans plusieurs désordes neurodégénératifs impliquant les calpaïnes comme les maladies d'Alzheimer, d'Huntington et de Parkinson (Cruz et Tsai, 2004; Smith *et coll.*, 2004a; Vosler *et coll.*, 2008). Toutefois, la présence de cdk5/p25 n'induit pas forcément la mort neuronale (Fischer *et coll.*, 2005; Meyer *et coll.*, 2008; Lebel *et coll.*, 2009). De plus, le complexe cdk5/p25 peut être impliqué dans des fonctions physiologiques telles que la plasticité synaptique et la signalisation dopaminergique. En effet, chez des souris transgéniques exprimant le cofacteur p25 de manière conditionnelle au niveau de l'hippocampe, il a été montré que l'expression de p25 pendant deux semaines favorise la plasticité synaptique et augmente le nombre de synapses et d'épines dentritiques (Fischer *et coll.*, 2005). Chez des souris, l'administration chronique d'amphétamine induit la formation transitoire du complexe cdk5/p25 au niveau des synaptosomes du striatum, ce qui est associée à une augmentation de la phosphorylation de Pak1, une protéine impliquée dans le fonctionnement du cytosquelette (Mlewski *et coll.*, 2008). Sur des tranches de striatum, la stimulation des récepteurs dopaminergiques D_1 induit l'activation des calpaïnes et la formation du complexe cdk5/p25 à la suite d'une augmentation de calcium (Lebel *et coll.*, 2009). Cdk5/p25 augmente la phosphorylation de Tau, une protéine associée aux microtubules, sans pour autant induire de mort neuronale (Lebel *et coll.*, 2009). En résumé, le glutamate active cdk5/p35 par l'activation de ck1 et induit la formation du complexe cdk5/p25 par l'activation des calpaïnes (Lee *et coll.*, 2000b; Liu *et coll.*, 2001; Liu *et coll.*, 2002; Meyer *et coll.*, 2008). D'un autre côté, la dopamine augmente l'expression de cdk5/p35 par l'activation de ΔFosB et induit la formation du complexe cdk5/p25 par l'activation des calpaïnes (Bibb *et coll.*, 2001; Cyr *et coll.*, 2003; Mlewski *et coll.*, 2008; Lebel *et coll.*, 2009). Il est aussi à mentionner que cdk5 phosphoryle divers substrats impliqués dans l'endocytose (Angelo *et coll.*, 2006; Su et Tsai, 2011).

Parmi ceux-ci, cdk5 phosphoryle la dynamine (Tan *et coll.*, 2003; Graham *et coll.*, 2007), une protéine impliquée dans l'endocytose par vésicules de clathrine, une voie majeure d'internalisation des récepteurs (Claing *et coll.*, 2002; Doherty et McMahon, 2009). La dynamine forme un anneau autour du cou de la vésicule et induit son détachement de la membrane plasmique (Claing *et coll.*, 2002; Doherty et McMahon, 2009).

L'augmentation de calcium à la suite de la stimulation des récepteurs glutamatergiques induit l'activation des protéines « extracellular signal-regulated kinases 1/2 » (ERK1/2) (Figure 1.6, p. 22) (Sgambato *et coll.*, 1998; Schwarzschild *et coll.*, 1999; Vanhoutte *et coll.*, 1999; Choe et Wang, 2001; Perkinton *et coll.*, 2002; Mao *et coll.*, 2004). L'activation d'ERK1/2 se fait par une cascade d'activation de protéines kinases, appelée la voie des « mitogen-activated protein kinases » (MAPK) (Valjent *et coll.*, 2001; Thomas et Huganir, 2004). L'augmentation de calcium induit l'activation de Ras. Les protéines Ras sont des petites protéines G liées au nucléotide guanine. Ras est activée par des facteurs d'échange du nucléotide guanine (Ras-GEF, pour Ras-guanine nucleotide exchange factors) qui catalysent la conversion du guanosine-5'-diphosphate (GDP) en guanosine-5'-triphosphate (GTP) sur Ras et elle est inactivée par des protéines activatrices des GTPases (Ras-GAP, pour Ras-GTPase-activating proteins) qui accélèrent l'hydrolyse du GTP en GDP par Ras. Une fois activée par sa liaison au GTP, Ras active la protéine kinase Raf, qui à son tour phosphoryle et active les « mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 » (MEK1/2). MEK1/2 phosphorylent et activent alors ERK1/2. Les mécanismes par lesquels l'augmentation de calcium induit l'activation de Ras sont encore peu connus, mais ils impliqueraient l'activation de CaMKII qui agirait sur les régulateurs de Ras (Choe et Wang, 2001; Thomas et Huganir, 2004; Wang *et coll.*, 2004). Lorsque ERK1/2 sont activées, elles sont à même d'aller phosphoryler une série de substrats, tant cytosoliques que nucléaires, comme des protéines du cytosquelette ou des facteurs de transcription. Entre autres, lorsque ERK1/2 migrent au noyau, elles induisent l'activation du facteur de transcription « cAMP-responsive element-binding protein » (CREB), menant ainsi à la transcription de plusieurs gènes comme ceux de la famille des fos (c-fos, ΔFosB/FosB) (Sgambato *et coll.*, 1998;

Vanhoutte *et coll.*, 1999; Choe et Wang, 2001; Valjent *et coll.*, 2001; Thomas et Huganir, 2004). Cette voie de signalisation est importante pour l'excitation neuronale et la plasticité synaptique. Son activation permet de réguler la transcription et la synthèse de protéines, la densité des récepteurs, la formation et la stabilisation des épines dendritiques ainsi que l'activation de canaux ioniques (Valjent *et coll.*, 2001; Sweatt, 2004; Thomas et Huganir, 2004; Shiflett et Balleine, 2011a).

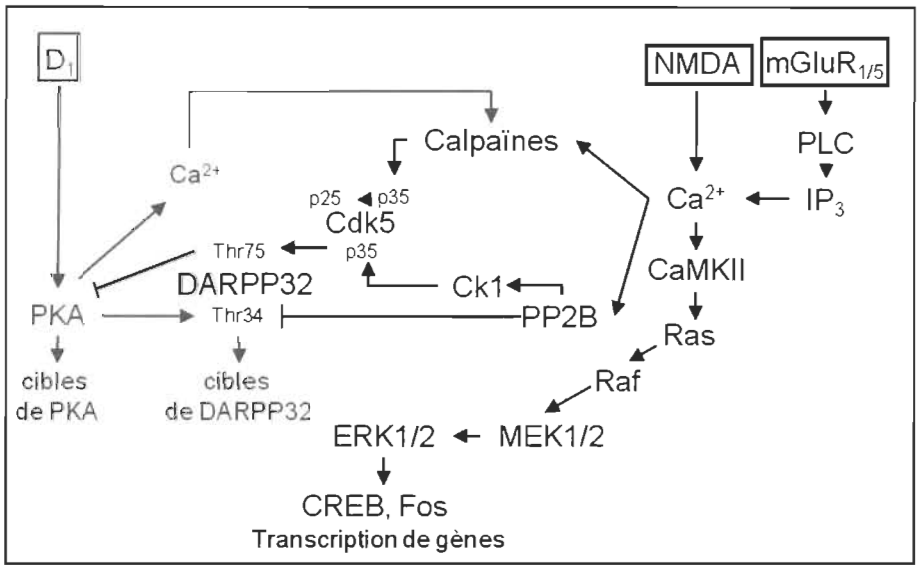


Figure 1.6 **Schéma des voies de signalisation glutamatergique.**
En noir sont représentées les voies de signalisation glutamatergique dans les neurones épineux du striatum. L'activation des récepteurs glutamatergiques induit la formation du complexe cdk5/p25 par l'activation des calpaïnes et active cdk5/p35 par ck1 ainsi que la voie des MAPK. La signalisation glutamatergique est à même d'interférer avec la voie de signalisation dopaminergique D_1, en grise, par DARPP32. Lorsque DARPP32 est phosphorylé sur la thréonine 75 (Thr75) par cdk5/p35, suite à l'activation des récepteurs glutamatergiques, elle devient un inhibiteur de PKA. La signalisation glutamatergique atténue aussi la signalisation D_1 en déphosphorylant DARPP32 sur la thréonine 34 (Thr 34) par PP2B. (Inspirée de Shiflett et Balleine, 2011b.)

1.2.5 L'afférence dopaminergique

1.2.5.1 La dopamine

La dopamine a été identifiée comme un neurotransmetteur à la fin des années 1950 par les travaux d'Arvid Carlsson, corécipiendaire avec Paul Greengard et Eric Kandel du prix Nobel de physiologie ou médecine en 2000 (Carlsson, 1959, 2001). La dopamine fait partie de la famille des catécholamines avec la noradrénaline et l'adrénaline (Figure 1.7, p. 24). Elle est synthétisée par les neurones dopaminergiques localisés principalement au niveau du mésencéphale, plus particulièrement au niveau de la SNc et de l'aire tegmentale ventrale. Les neurones dopaminergiques de la SNc se projettent au niveau du striatum dorsal (putamen et noyau caudé) et forment la voie nigrostriée (aussi nommée mésostriatale). Cette voie dopaminergique est impliquée dans la motricité. Par conséquent, une destruction de ces neurones dopaminergiques, comme c'est le cas dans la maladie de Parkinson, induira des troubles du mouvement. Les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale forment, quant à eux, deux voies : la voie mésolimbique et la voie mésocorticale. La voie mésolimbique est formée des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale qui se projettent sur des structures du système limbique comme le striatum ventral, l'amygdale et le cortex cingulaire. Cette voie joue un rôle important pour la motivation et les comportements associés à la récompense telle que la dépendance aux drogues. La voie mésocorticale est formée des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale qui se projettent au niveau du cortex préfrontal. Cette voie joue un rôle dans les processus cognitifs tels que la mémoire de travail. Il est aussi à mentionner une quatrième voie, la voie tubéro-infundibulaire qui part de l'hypothalamus et projette sur l'hypophyse. Cette voie joue un rôle dans la sécrétion de prolactine (Blumenfeld, 2010).

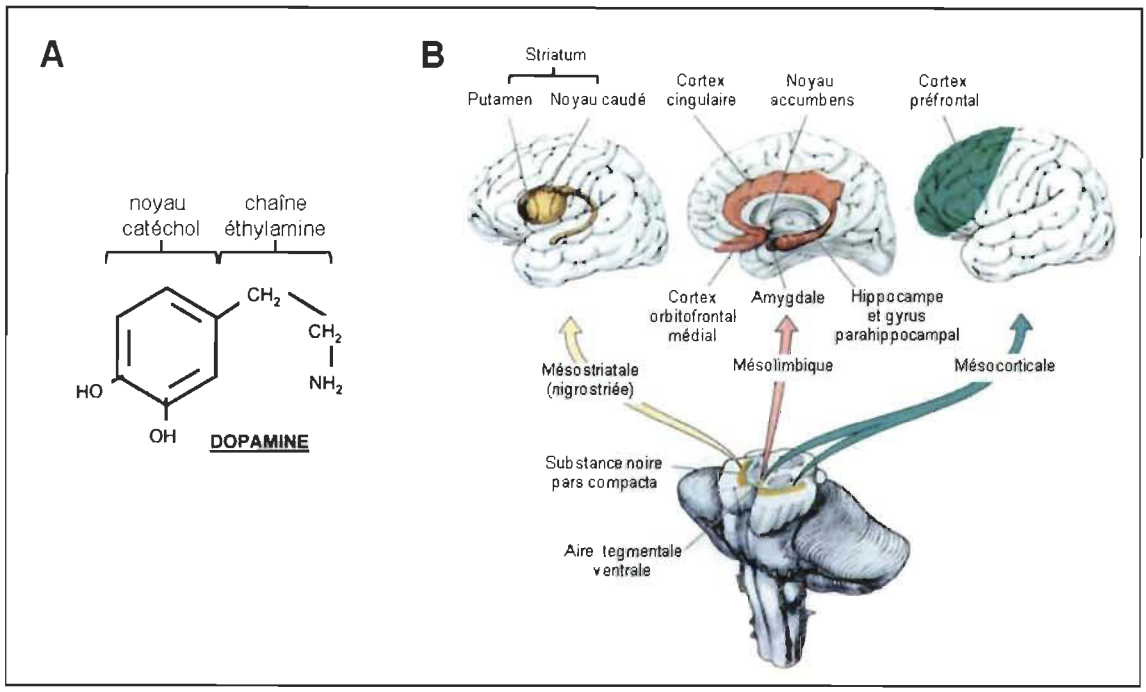


Figure 1.7 La dopamine.
(A) Structure chimique de la dopamine. La dopamine est formée d'un noyau cathécol et d'une chaîne éthylamine. (Adaptée de Fahn, 2008.) (B) Principales voies dopaminergiques. (Adaptée de Blumenfeld, 2010.)

La dopamine est synthétisée à partir de la tyrosine, un acide aminé essentiel (Figure 1.8, p. 25). La tyrosine est transformée en L-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) par la tyrosine hydroxylase (TH), qui représente l'enzyme limitante de la synthèse de dopamine. La L-DOPA est ensuite décarboxylée en dopamine par la DOPA-décarboxylase (DDC). La dopamine sera alors emmagasinée dans des vésicules de stockage par les transporteurs vésiculaires de monoamines de type 2 (VMAT2). Cet emmagasinage prévient la dégradation de la dopamine par les monoamines oxydases (MAO) intraneuronales et permet aussi de contrôler sa concentration. La dopamine est libérée en continu dans la fente synaptique par la décharge tonique des neurones dopaminergiques. Bien que la dopamine soit libérée en continu, dit de manière tonique, il n'en demeure pas moins qu'elle peut aussi être libérée de manière transitoire, dite phasique, suite à la décharge en bouffée des neurones dopaminergiques (Grace, 1995; Goto *et coll.*, 2007). Ce type de libération joue un rôle important dans les comportements associés à la récompense (Grace, 1995; Schultz, 2010). Une fois dans la fente synaptique, la dopamine activera les récepteurs dopaminergiques présents sur les

neurones du striatum pour permettre la transmission du message et moduler la transmission synaptique. Après avoir exercé son action, la dopamine sera soit recapturée par les neurones dopaminergiques par l'action du transporteur à la dopamine (DAT), soit dégradée en acide homovanillique (HVA) et en acide dihydroxyphénylacétique (DOPAC) par l'action de la catéchol-O-méthyltransférase (COMT) et des MAO (Landry et Gies, 2009).

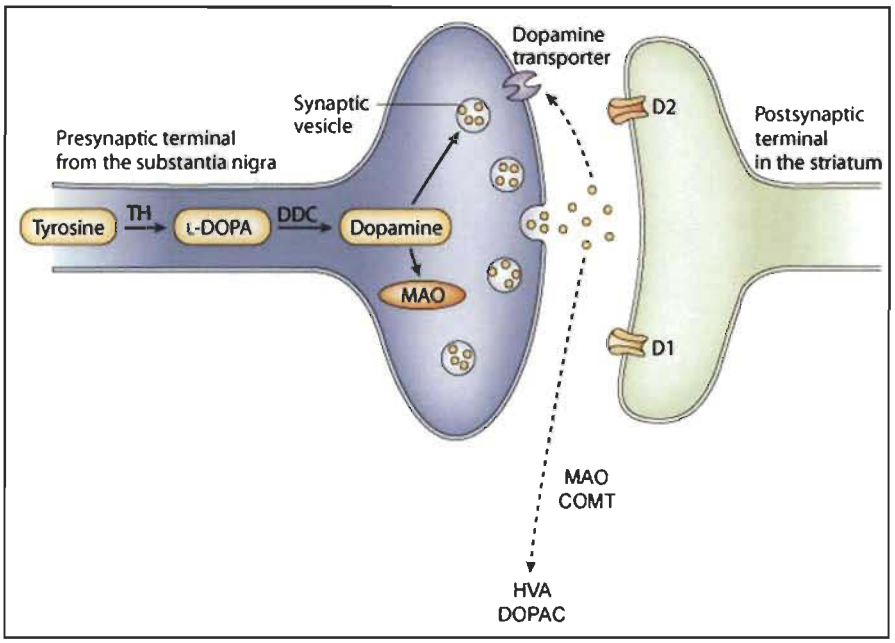


Figure 1.8 Schéma de la synthèse de la dopamine.
COMT, catéchol-O-méthyltransférase; DDC, DOPA-décarboxylase; DOPAC, acide dihydroxyphénylacétique; HVA, acide homovanillique L-DOPA, L-dihydroxyphénylalanine; MAO, monoamine oxydase; TH, tyrosine hydroxylase. (Adaptée de Youdim et Riederer, 2007.)

1.2.5.2 Les récepteurs dopaminergiques

Les effets physiologiques de la dopamine sont issus de l'activation des récepteurs dopaminergiques et des voies de signalisation qui en découlent. Les récepteurs dopaminergiques sont des récepteurs couplés aux protéines G et sont au nombre de cinq (D_1, D_2, D_3, D_4 et D_5). Ils sont classés en deux familles en fonction de leurs propriétés structurelles, biochimiques et pharmacologiques. La famille des récepteurs D1 inclut les récepteurs D_1 et D_5 et la famille des récepteurs D2 regroupe les récepteurs D_2, D_3 et D_4.

Les récepteurs de la famille D1 sont couplés à des protéines G stimulatrices ($G\alpha_{s/olf}$) qui activent l'adenylate cyclase (AC). Les récepteurs de la famille D2 ont un rôle opposé aux récepteurs de la famille D1. Ils sont couplés à des protéines G inhibitrices ($G\alpha_{i/o}$) qui inactivent l'AC. La localisation et la densité des récepteurs dopaminergiques, dans le cerveau, varient selon le sous-type (Beaulieu et Gainetdinov, 2011). Pour les besoins de cet ouvrage, seulement les récepteurs D_1 et D_2 seront décrits.

Les récepteurs dopaminergiques D_1 et D_2 sont fortement exprimés dans le striatum, où ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de la réponse des neurones épineux au glutamate. Les récepteurs D_1 sont exprimés au niveau des neurones épineux de la voie directe tandis que les récepteurs D_2 se situent sur les neurones épineux de la voie indirecte. Toutefois, les récepteurs D_1 et D_2 peuvent être colocalisés sur un faible pourcentage de neurones épineux (5 %). Les récepteurs D_2 sont aussi retrouvés au niveau présynaptique sur les terminaisons nerveuses dopaminergiques, où ils régulent la libération de la dopamine, jouant ainsi un rôle d'autorégulateur. Ils sont aussi exprimés sur les interneurones cholinergiques et les terminaisons nerveuses glutamatergiques, où ils régulent respectivement la libération d'acétylcholine et de glutamate. Dans ce cas, ils ont un rôle d'hétérorégulateur (Valjent *et coll.*, 2009; Beaulieu et Gainetdinov, 2011).

1.2.5.3 La voie dopaminergique D_1

Lorsque le récepteur D_1 est activé, la sous-unité α de la protéine G (Gα) se détache de ses deux autres sous-unités βγ (Gβγ) pour activer l'AC (Figure 1.9, p. 29). L'AC transformera alors l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en adénosine 3', 5'-monophosphate cyclique (AMPc), provoquant l'augmentation d'AMPc dans le neurone. L'AMPc servira de second messager pour transmettre l'information en activant PKA (Beaulieu et Gainetdinov, 2011). PKA est une holoenzyme tétramérique composée de deux sous-unités régulatrices liées à deux sous-unités catalytiques. Il existe quatre types de sous-unités régulatrices (RIα, RIβ, RIIα, RIIβ) et trois types de sous-unités catalytiques (Cα, Cβ, Cγ) permettant la formation de plusieurs isoformes. PKA est nommée de type I ou de type II lorsqu'elle est composée, respectivement, de sous-unités

RI ou RII. La liaison de l'AMPc à chacune des sous-unités régulatrices provoque la relâche des sous-unités catalytiques qui iront phosphoryler des résidus sérine et thréonine sur un grand nombre de substrats incluant des canaux ioniques, des récepteurs, des facteurs de transcription et des phosphoprotéines (Skalhegg et Tasken, 2000; Abel et Nguyen, 2008; Abrams, 2010). Parmi ceux-ci, PKA phosphoryle DARPP32 sur la thréonine 34 (Thr34), ce qui inhibe la protéine phosphatase 1 (PP1) (Hemmings *et coll.*, 1984; Greengard *et coll.*, 1999). DARPP32 par son action sur PP1 regule l'état de phosphorylation de plusieurs substrats permettant d'amplifier la signalisation (Greengard *et coll.*, 1999; Greengard, 2001). En autre, l'inhibition de PP1 par DARPP32 permet le maintien de la phosphorylation et l'inactivation de la protéine « striatal-enriched protein tyrosine phosphatase » (STEP), ce qui induit l'activation d'ERK1/2 (Valjent *et coll.*, 2005). L'activation d'ERK1/2 stimule les facteurs de transcription tels que CREB et c-fos (Sgambato *et coll.*, 1998; Zanassi *et coll.*, 2001). CREB peut aussi être activé à la suite de sa phosphorylation sur la sérine 133 par PKA (Gonzalez et Montminy, 1989; Das *et coll.*, 1997; Zanassi *et coll.*, 2001).

PKA agit aussi directement sur STEP (Figure 1.9, p. 29). STEP est une tyrosine phosphatase exprimée au niveau des neurones du système nerveux central. Il existe quatre isoformes de STEP ($STEP_{20}$, $STEP_{38}$, $STEP_{46}$ et $STEP_{61}$) dont seulement $STEP_{46}$ et $STEP_{61}$ possèdent un domaine catalytique. La fonction des isoformes inactives de STEP ($STEP_{20}$ et $STEP_{38}$) est inconnue. Ils pourraient jouer un rôle de dominant négatif en rentrant en compétition avec les formes actives ($STEP_{46}$ et $STEP_{61}$) pour la liaison aux substrats (Braithwaite *et coll.*, 2006b; Goebel-Goody *et coll.*, 2012). $STEP_{61}$ représente l'une des principales isoformes et elle est fortement exprimée dans le striatum et, dans un moindre degré, au niveau du néocortex et de l'hippocampe (Lombroso *et coll.*, 1991; Lombroso *et coll.*, 1993; Boulanger *et coll.*, 1995). L'activité de $STEP_{61}$ est entre autres régulée par sa phosphorylation. Il a été démontré, *in vitro*, sur des tranches et des homogénats de striatum que l'activation de PKA, à la suite de la stimulation des récepteurs dopaminergique D_1, induit la phosphorylation de $STEP_{61}$ sur la sérine 221 (Paul *et coll.*, 2000). La phosphorylation de $STEP_{61}$ par PKA diminue l'activité de $STEP_{61}$ en altérant son affinité pour ses substrats (Paul *et coll.*, 2000). Contrairement à la

Rapport-Gratuit.com

stimulation des récepteurs D_1 qui inactive $STEP_{61}$ à la suite de sa phosphorylation par PKA, la stimulation des récepteurs gluatmatergiques NMDA active $STEP_{61}$ à la suite de sa déphosphorylation par PP2B. En effet, il a été montré sur des cultures neuronales de striatum que l'activation de $STEP_{61}$ peut être favorisée par la signalisation glutamatergique (Paul *et coll.*, 2003). À la suite de la stimulation des récepteurs NMDA, l'activation de la phosphatase PP2B diminue la phosphorylation de $STEP_{61}$ et par conséquent augmente son activité (Paul *et coll.*, 2003). Dans ce contexte, $STEP_{61}$ agirait comme un rétrocontrôle négatif sur l'activation d'ERK1/2 induit par les récepteurs glutamatergiques NMDA et $mGluR_5$ (Paul *et coll.*, 2003; Venkitaramani *et coll.*, 2009; Paul et Connor, 2010). En plus de diminuer l'activation d'ERK1/2, il a été montré que STEP induit l'internalisation des récepteurs NMDA et AMPA par leur déphosphorylation (Braithwaite *et coll.*, 2006a; Zhang *et coll.*, 2008b; Kurup *et coll.*, 2010; Venkitaramani *et coll.*, 2011). STEP peut aussi réguler l'expression des récepteurs NMDA en inactivant les tyrosines kinases Fyn et Pyk2 (Nguyen *et coll.*, 2002; Venkitaramani *et coll.*, 2011; Xu *et coll.*, 2012). Le rôle actuel de STEP, proposé par la littérature, est que STEP agirait donc comme un frein au processus de plasticité synaptique et par conséquent altèrerait la mémoire (Pelkey *et coll.*, 2002; Venkitaramani *et coll.*, 2011; Goebel-Goody *et coll.*, 2012; Olausson *et coll.*, 2012). STEP est impliquée dans divers désordres neuropsychiatriques, par exemple la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie, le syndrome du X fragile, la perte de mémoire induite par l'alcool et l'abus de drogues (Fitzpatrick et Lombroso, 2011; Goebel-Goody *et coll.*, 2012).

En plus de jouer un rôle de médiateur, l'activation des récepteurs D_1 joue un rôle de modulateur sur la transmission glutamatergique. Les récepteurs D_1 se lient directement avec les récepteurs NMDA influençant l'internalisation, le trafic et l'efficacité des récepteurs (Cepeda et Levine, 2006). L'activation des récepteurs D_1 et de PKA augmente aussi l'expression membranaire et la réponse des récepteurs NMDA, par leur phosphorylation (Cepeda et Levine, 2006). De plus, l'activation de la voie de signalisation D_1 module la signalisation glutamatergique. Dans ce contexte, il a été démontré, *in vitro*, que l'activation de PKA, par la stimulation des récepteurs D_1, active

la voie calpaïnes/cdk5/p25, à la suite d'une augmentation de calcium (Lebel *et coll.*, 2009; Lebel et Cyr, 2011). La voie dopaminergique D_1 facilite aussi l'activation de la voie des MAPK, en empêchant la déphosphorylation de ses kinases par DARPP32/PP1 et en agissant positivement sur des protéines activatrices de la voie telles que « Ras-related protein 1 » (Rap1) ou « Ras-guanyl nucleotide-releasing factor 1 » (Ras-GRF1) (Grewal *et coll.*, 2000; Valjent *et coll.*, 2005; Fasano *et coll.*, 2009; Shiflett et Balleine, 2011b).

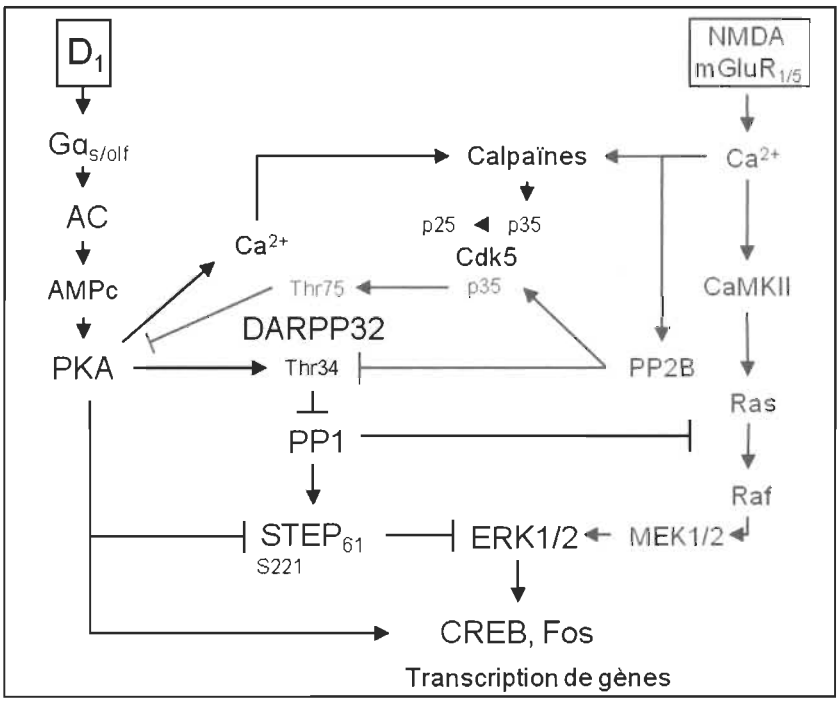


Figure 1.9 **Voies de signalisation dopaminergique D_1.**
En noir sont réprésentées les voies de signalisation dopaminergique D_1 dans les neurones épineux du striatum. L'activation de PKA, par la stimulation des récepteurs D_1, influence la signalisation glutamatergique, en grise. (Inspirée de Beaulieu et Gainetdinov, 2011; Shiflett et Balleine, 2011b.)

1.2.5.4 La voie dopaminergique D_2

Contrairement aux récepteurs D_1, les récepteurs D_2 sont couplés à des protéines G inhibitrices ($G\alpha_{i/o}$) qui inactivent l'AC et ainsi inhibent PKA. De plus, les récepteurs D_2 sont capables de moduler d'autres voies de signalisation et d'agir sur des canaux

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

ioniques grâce à la sous-unité Gβγ des protéines G. Par exemple, à la suite de l'activation des récepteurs D_2, la sous-unité Gβγ est à même de moduler les niveaux de calcium intracellulaire en agissant soit sur la relâche du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique par l'activation de la PLC, soit en inhibant des canaux calciques voltage-dépendants. De plus, la sous-unité Gβγ module les courants potassiques en activant les « G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels » (GIRK). Enfin, les récepteurs D_2 sont également impliqués dans une voie de signalisation indépendante des protéines G. À la suite de l'activation des récepteurs, la β-arrestine, la protéine phosphatase 2A (PP2A) et AKT forment un complexe, facilitant l'inactivation d'AKT par PP2A et menant ainsi à l'activation de la « glycogen synthase kinase 3 » (GSK3) (Figure 1.10, p 30) (Beaulieu et Gainetdinov, 2011).

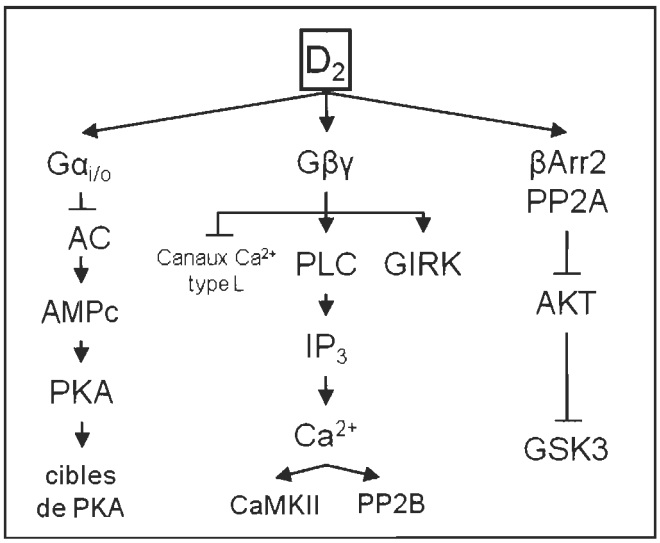


Figure 1.10 Voies de signalisation dopaminergique D_2.
L'activation des récepteurs D_2 dans les neurones épineux du striatum module plusieurs voies de signalisation qui peuvent être dépendantes des protéines G par l'activation de $G\alpha_{i/o}$ et Gβγ ou indépendantes des protéines G par la formation d'un complexe regroupant la β-arrestine 2 (βArr2), PP2A et AKT. (Beaulieu et Gainetdinov, 2011.)

Il est à mentionner que les récepteurs D_2 interagissent aussi physiquement avec d'autres récepteurs formant ainsi plusieurs complexes d'hétérorécepteurs (Ferraro *et coll.*, 2012; Fuxe *et coll.*, 2015). Entre autres, les récepteurs D_2 forment un complexe d'hétérorécepteurs avec les récepteurs A_{2A} (Hillion *et coll.*, 2002; Canals *et coll.*, 2003;

Ciruela *et coll.*, 2004; Trifilieff *et coll.*, 2011). L'interaction des récepteurs D_2-A_{2A} est de type antagoniste (Ferre *et coll.*, 1997; Fuxe *et coll.*, 2010; Ferraro *et coll.*, 2012; Fuxe *et coll.*, 2015). L'activation des récepteurs A_{2A} diminue l'affinité des récepteurs D_2 pour les agonistes dopaminergiques (Ferre *et coll.*, 1991; Dasgupta *et coll.*, 1996; Kull *et coll.*, 1999). Les récepteurs A_{2A} et D_2 étant respectivement couplés à des protéines $G\alpha_{s/olf}$ et $G\alpha_{i/o}$, ils s'opposent aussi au niveau de l'AC, ce qui peut moduler la signalisation intracellulaire (Ferre *et coll.*, 1997; Fuxe *et coll.*, 2010; Ferraro *et coll.*, 2012; Fuxe *et coll.*, 2015). L'effet antagoniste des récepteurs D_2 et A_{2A} a aussi été montré au niveau comportemental (Ferre *et coll.*, 1997; Mandhane *et coll.*, 1997; Rimondini *et coll.*, 1998; Fenu *et coll.*, 2000; Tanganelli *et coll.*, 2004; Fuxe *et coll.*, 2010). De plus, il existe un complexe D_2-A_{2A}-$mGluR_5$ où les récepteurs A_{2A} et $mGluR_5$ agissent ensemble et s'opposent aux récepteurs D_2 (Popoli *et coll.*, 2001; Cabello *et coll.*, 2009; Ferraro *et coll.*, 2012; Fuxe *et coll.*, 2015). Une étude a aussi montré que les récépteurs D_2 interagissent physiquement avec la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA, ce qui inhibe les courants NMDA (Liu *et coll.*, 2006).

1.2.6 Modulation de la transmission synaptique par le système dopaminergique

L'activation des récepteurs dopaminergiques au niveau du striatum module la transmission synaptique que ce soit au niveau de l'excitation des neurones épineux ou de la plasticité synaptique cortico-striatale.

1.2.6.1 Modulation de l'excitation des neurones épineux du striatum par le système dopaminergique

Les neurones épineux du striatum sont au repos dans un état éloigné du seuil de décharge, c'est-à-dire du seuil permettant l'induction d'un potentiel d'action qui est nécessaire à la transmission de l'information. Cet état, nommé « down-state », est dominé par des courants potassiques. La convergence spatiotemporelle du signal glutamatergique excitateur en provenance du cortex permet la fermeture des canaux potassiques et ainsi la dépolarisation des neurones épineux du striatum. Les neurones

épineux du striatum se retrouvent alors dans un état nommé « up-state », proche du seuil de décharge, et où les prochaines stimulations glutamatergiques permettront la décharge des neurones épineux et ainsi la formation d'un potentiel d'action. Dans ce contexte, la dopamine module la transition à l'état « up-state » et donc la décharge des neurones épineux du striatum. Cette modulation dépend de l'activation des récepteurs dopaminergiques. L'activation des récepteurs dopaminergiques D_2 atténue le passage à l'état « up-state » et diminue ainsi l'excitabilité des neurones épineux de la voie indirecte alors que l'activation des récepteurs D_1 favorise le passage à l'état « up-state » et facilite donc l'excitabilité de neurones épineux de la voie directe (Kreitzer, 2009; Surmeier *et coll.*, 2011a).

L'activation des récepteurs D_2 diminue l'excitabilité des neurones épineux du striatum, en agissant entre autres sur les canaux ioniques. L'activation des récepteurs D_2 augmente les courants potassiques et diminue les courants sodiques et calciques (Surmeier *et coll.*, 1992; Kitai et Surmeier, 1993; Greif *et coll.*, 1995; Hernandez-Lopez *et coll.*, 2000; Olson *et coll.*, 2005; Higley et Sabatini, 2010). De plus, l'activation des récepteurs D_2 diminue la relâche de glutamate. La diminution de la relâche de glutamate peut se faire directement à la suite de l'activation des récepteurs D_2 présynaptiques, présents sur les terminaisons nerveuses glutamatergiques (Hsu *et coll.*, 1995; Flores-Hernandez *et coll.*, 1997; Bamford *et coll.*, 2004). D'autre part, la diminution de la relâche de glutamate peut se faire indirectement, par la libération d'endocannabinoïdes, à la suite de l'activation des récepteurs D_2 postsynaptiques présents sur les neurones épineux du striatum (Giuffrida *et coll.*, 1999; Gerdeman et Lovinger, 2001; Yin et Lovinger, 2006; Andre *et coll.*, 2010). Dans ce cas, les endocannabinoïdes libérés par les neurones épineux agissent comme des messagers rétrogrades. Ils iront activer les récepteurs endocannabinoïdes présents sur les terminaisons nerveuses glutamatergiques afin de diminuer la relâche de glutamate (Giuffrida *et coll.*, 1999; Gerdeman et Lovinger, 2001; Yin et Lovinger, 2006; Andre *et coll.*, 2010). Les récepteurs D_2 agissent aussi de paire avec les récepteurs A_{2A} pour induire la relâche d'endocannabinoïdes (Tozzi *et coll.*, 2011). Enfin, l'activation des récepteurs D_2 atténue les courants

glutamatergiques associés aux récepteurs AMPA et NMDA (Cepeda *et coll.*, 1993; Hernandez-Echeagaray *et coll.*, 2004).

Contrairement aux récepteurs D_2, l'activation des récepteurs D_1 facilite l'excitabilité des neurones épineux en augmentant les courants calciques et en diminuant les courants potassiques (Kitai et Surmeier, 1993; Surmeier *et coll.*, 1995; Flores-Hernandez *et coll.*, 1997; Hernandez-Lopez *et coll.*, 1997). De plus, la stimulation des récepteurs D_1 et l'activation de PKA favorisent la transmission glutamatergique associée aux récepteurs NMDA et AMPA. En effet, l'activation des récepteurs D_1 et de PKA augmente l'expression membranaire et la réponse des récepteurs NMDA et AMPA (Cepeda *et coll.*, 1993; Blank *et coll.*, 1997; Banke *et coll.*, 2000; Snyder *et coll.*, 2000; Hallett *et coll.*, 2006).

1.2.6.2 Modulation de la plasticité synaptique par le système dopaminergique

La plasticité synaptique est le mécanisme moléculaire permettant l'apprentissage et la mémorisation des séquences motrices. C'est par ce mécanisme que les informations seront emmagasinées dans le cerveau afin de mémoriser la tâche motrice à long terme et de permettre son exécution rapide malgré une période prolongée sans pratique. La plasticité synaptique module l'efficacité de la transmission cortico-striatale en renforçant ou atténuant les connexions synaptiques entre le cortex et le striatum. La plasticité nommée potentialisation à long terme (LTP, pour long-term potentiation) permet de renfoncer les connexions synaptiques, alors que la plasticité nommée dépression à long terme (LTD, pour long-term depression) atténue les connexions synaptiques. De manière générale, le renforcement synaptique mène à l'augmentation de l'expression et de la conductance des récepteurs AMPA et implique PKA, mais aussi des protéines kinases calcium-dépendantes telles que CaMKII. L'affaiblissement des connexions synaptiques fait plutôt intervenir des phosphatases calcium-dépendantes telles que PP2B et PP1 et mène à l'internalisation des récepteurs AMPA. La plasticité synaptique à long terme induit la transcription de gène et la synthèse de protéines afin de modifier la

morphologie neuronale et la densité des récepteurs (Kandel, 2001; Malinow et Malenka, 2002; Kandel, 2012).

Au niveau du striatum, la plasticité synaptique est induite par la stimulation répétée des terminaisons nerveuses glutamatergiques corticales en association avec une dépolarisation des neurones épineux. La plasticité synaptique dans le striatum supporte donc le postulat de Hebb : « lorsque deux neurones sont actifs en même temps, la connexion synaptique entre ces neurones est renforcée ». L'induction de la LTP est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA, alors que l'induction de la LTD est assurée par l'activation des récepteurs métabotropes du groupe I ($mGluR_5$) et des canaux calciques de type L (Cav1.3) (Calabresi *et coll.*, 2007; Kreitzer et Malenka, 2008; Surmeier *et coll.*, 2011a). La dopamine et l'activation des récepteurs dopaminergiques jouent un rôle tout aussi essentiel à l'induction de la plasticité synaptique dans le striatum. En effet, aucune des deux formes de plasticité n'est induite dans le striatum à la suite d'une dégénérescence de neurones dopaminergiques (Calabresi *et coll.*, 1992; Centonze *et coll.*, 1999; Picconi *et coll.*, 2003; Shen *et coll.*, 2008; Picconi *et coll.*, 2011). Comme pour l'excitation des neurones épineux, l'activation des récepteurs dopaminergiques D_2 et D_1 participent différemment à l'induction de la plasticité synaptique.

L'induction de la LTD nécessite l'activation des récepteurs $mGuR_5$, des canaux calciques de type L (Cav1.3) et la relâche d'endocannabinoïdes par les neurones épineux du striatum (Calabresi *et coll.*, 2007; Kreitzer et Malenka, 2008; Surmeier *et coll.*, 2011a). Les endocannabinoïdes agiront comme messagers rétrogrades afin de diminuer la relâche de glutamate par les terminaisons nerveuses glutamatergiques (Gerdeman *et coll.*, 2002; Ronesi *et coll.*, 2004; Kreitzer et Malenka, 2005; Yin et Lovinger, 2006). De plus, l'induction de la LTD nécessite l'activation des récepteurs D_2 (Figure 1.11, p. 36). En effet, l'inhibition pharmacologique ou génétique des récepteurs D_2 bloque l'induction de la LTD dans le striatum alors que la stimulation des récepteurs D_2 induit la LTD (Calabresi *et coll.*, 1992; Calabresi *et coll.*, 1997; Shen *et coll.*, 2008). De plus, les récepteurs D_2 contrôlent négativement l'induction de LTP. En effet, l'inhibition des

récepteurs D_2 facilite l'induction de LTP alors que la stimulation des récepteurs D_2 l'empêche (Calabresi *et coll.*, 1992; Calabresi *et coll.*, 1997). Les mécanismes par lesquels les récepteurs D_2 influencent la LTD ne sont pas encore totalement élucidés. L'activation des récepteurs D_2 présents sur les neurones épineux de la voie indirecte participerait directement à la relâche des endocannabinoïdes, en favorisant la synthèse d'endocannabinoïdes (Giuffrida *et coll.*, 1999; Kreitzer et Malenka, 2005; Shen *et coll.*, 2008). Les récepteurs D_2 pourraient aussi favoriser la relâche d'endocannabinoïdes en bloquant la signalisation des récepteurs A_{2A} (Lerner *et coll.*, 2010; Lerner et Kreitzer, 2012). Cependant, les récepteurs D_2 ne sont pas exprimés sur les neurones épineux de la voie directe (Gerfen *et coll.*, 1990; Valjent *et coll.*, 2009). Dans ces circonstances, l'implication des récepteurs D_2 se ferait donc au niveau présynaptique. Une possibilité est que les récepteurs D_2 présents sur les interneurones cholinergiques agiraient indirectement sur la relâche d'endocannabinoïdes en diminuant la libération d'acétylcholine par les interneurones cholinergiques (Wang *et coll.*, 2006). La diminution de la relâche d'acétylcholine a pour conséquence de diminuer, au niveau des neurones épineux, l'activation des récepteurs muscariniques M_1, favorisant ainsi l'ouverture des canaux calciques de type L et la libération d'endocannabinoïdes (Wang *et coll.*, 2006). Il est toutefois à mentionner que les récepteurs dopaminergiques D_5 faisant partie de la famille D1 participeraient aussi à l'induction de la LTD en favorisant la libération d'oxyde nitrique par les interneurones GABAergiques (Centonze *et coll.*, 2003).

L'induction de la LTP est bien moins caractérisée. Contrairement à la LTD, la LTP nécessite l'activation des récepteurs NMDA (Calabresi *et coll.*, 2007; Kreitzer et Malenka, 2008; Surmeier *et coll.*, 2011a). De plus, l'induction de la LTP requiert l'activation des récepteurs D_1. En effet, l'inhibition pharmacologique ou génétique des récepteurs D_1 bloque la LTP dans le striatum et facilite l'induction de la LTD (Centonze *et coll.*, 1999; Kerr et Wickens, 2001; Centonze *et coll.*, 2003; Shen *et coll.*, 2008). Les neurones épineux de la voie indirecte n'exprimant pas le récepteur D_1, l'induction de la LTP dans ces neurones est indépendante de la dopamine et sera assurée par l'activation des récepteurs A_{2A} (Figure 1.11, p. 36) (Shen *et coll.*, 2008).

Bien que l'activation des récepteurs dopaminergiques soit nécessaire à la plasticité synaptique dans le striatum, les mécanismes moléculaires sous-jacents à l'activation de ces récepteurs sont encore loin d'être élucidés. Toutefois, il a été montré que PKA et DARPP32 participent à la plasticité cortico-striatale. En effet, l'inhibition pharmacologique PKA et la délétion génétique de DARPP32 empêchent l'induction de la LTD et la LTP (Calabresi *et coll.*, 2000; Centonze *et coll.*, 2003).

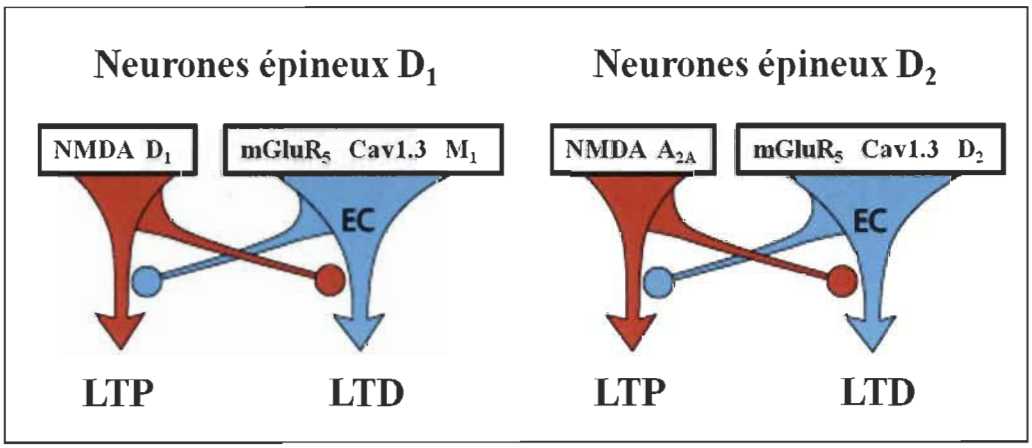


Figure 1.11 Schéma de l'induction de la plasticité synaptique au niveau des neurones épineux du striatum.
Au niveau des neurones épineux de la voie directe, la LTP est induite par les récepteurs NMDA et D_1 alors que la LTD est induite par les récepteurs mGluR$_5$, les canaux Cav1.3 et les récepteurs M_1. Dans l'induction de la plasticité, les récepteurs D_1 et mGluR$_5$ s'opposent mutuellement. Au niveau des neurones épineux de la voie indirecte, la LTP est induite par les récepteurs NMDA et A_{2A} alors que la LTD est induite par les récepteurs mGluR$_5$, les canaux Cav1.3 et les récepteurs D_2. Dans l'induction de la plasticité, les récepteurs D_2 et A_{2A} s'opposent mutuellement. L'induction de la LTD dans les deux populations de neurones épineux nécessite la relâche d'endocannabinoïdes. (Adaptée de Calabresi *et coll.*, 2007; Shen *et coll.*, 2008.)

Ainsi, la plasticité synaptique dans le striatum nécessite l'activation des récepteurs glutamatergiques et dopaminergiques. L'activation des récepteurs dopaminergiques influence le type de plasticité synaptique. Les récepteurs dopaminergiques D_2 participent à l'induction de la LTD et contrôlent négativement la LTP alors que les récepteurs D_1 participent à l'induction de la LTP et contrôlent négativement la LTD.

1.3 Exemple de trouble de l'exécution du mouvement : la maladie de Parkinson et les dyskinésies induites par la L-DOPA

Au niveau du striatum, un dérèglement de la transmission dopaminergique induit donc une mauvaise régulation de la transmission cortico-striatale qui se reflètera au niveau comportemental par des modifications dans l'exécution du mouvement. Un des très bons exemples de troubles de l'exécution associés à une mauvaise régulation de la voie dopaminergique est la maladie de Parkinson. Comme il le sera décrit en détail dans les prochaines sous-sections, chez les personnes atteintes de la maladie de Parkinson, la dégénérescence de neurones dopaminergiques induit une diminution des niveaux de dopamine dans le striatum qui se reflètera au niveau comportemental par des troubles hypokinétiques comme la perte de mouvements. L'utilisation de médicaments permettant de restaurer les niveaux de dopamine comme la L-DOPA (aussi nommée, lévodopa) permet d'améliorer les troubles moteurs chez les patients parkinsoniens. Toutefois, avec la progression de la maladie, il est observé à la suite de la prise de la L-DOPA une augmentation des niveaux de dopamine au-delà du seuil physiologique qui se traduira par l'apparition de troubles hyperkinétiques appelés dyskinésies induites par la L-DOPA. Donc, chez les patients parkinsoniens, il est possible d'observer, avant la prise de la L-DOPA, de terribles pertes motrices associées à une diminution des niveaux de dopamine et, à la suite de la prise de la L-DOPA, des excès de mouvements tout aussi invalidants associés à une augmentation non régulée des niveaux de dopamine. Dans ce contexte, la maladie de Parkinson et les dyskinésies induites par la L-DOPA offrent un cadre d'études aux processus moléculaires du striatum impliqués dans l'exécution du mouvement.

1.3.1 La maladie de Parkinson

C'est en 1817 que la maladie de Parkinson fut décrite pour la première fois par James Parkinson dans son essai intitulé « Essay on the Shaking Palsy ». Dans cet essai, il y décrivit les symptômes de six patients atteints de ce désordre neurologique, « la paralysie agitante ». Les patients présentaient des tremblements au repos ainsi que des incapacités motrices progressives. En 1872, la description des symptômes fut

Rapport-Gratuit.com

approfondie par les travaux de Jean-Martin Charcot, qui attribua le nom de la maladie de Parkinson à ce désordre neurologique (Goetz, 2011). Cent ans après la première description de la maladie, il fut démontré par Trétiakoff que cette maladie est associée à une dégénérescence des neurones de la SNc (Trétiakoff, 1919). À la fin des années 1950, les travaux de Carlsson établirent l'implication de la dopamine dans cette maladie (Carlsson *et coll.*, 1957; Carlsson, 1959) et au début des années 1960, les travaux d'Ehringer et Hornykiewicz démontrèrent que les patients parkinsoniens avaient un manque de dopamine au niveau du striatum (Ehringer et Hornykiewicz, 1960). De nos jours, il est bien établi que la maladie de Parkinson est caractérisée par une perte des neurones dopaminergiques de la SNc qui induit par conséquent une diminution de la relâche de dopamine au niveau du striatum. Au niveau comportemental, il en résulte l'apparition de troubles moteurs tels que les tremblements au repos, la bradykinésie, la rigidité musculaire et des troubles de la posture (Fahn, 2003; Jankovic, 2008; Goetz, 2011).

1.3.1.1 L'épidémiologie

La maladie de Parkinson est la maladie neurodégénérative la plus commune après la maladie d'Alzheimer. Sa prévalence est de 0,3 % dans la population générale et elle augmente jusqu'à 1 % chez les personnes âgées de plus de 60 ans. Son incidence est de 8 à 18 pour 100 000 personnes par an et elle augmente aussi après 60 ans (de Lau et Breteler, 2006). La maladie se développe généralement entre la fin de la cinquantaine et le milieu de la soixantaine et les hommes sont plus touchés que les femmes (de Lau et Breteler, 2006). Chez certaines personnes, les symptômes peuvent toutefois apparaître entre 21 et 40 ans, et même avant l'âge de 20 ans dans de rares formes juvéniles (Samii *et coll.*, 2004). Dans la plupart des cas, la maladie de Parkinson est sporadique et dite idiopathique, c'est-à-dire de causes inconnues, laissant suggérer une étiologie multifactorielle. Toutefois, les facteurs environnementaux et génétiques prédisposent à la maladie dans un faible pourcentage de cas (environ 10 %) (de Lau et Breteler, 2006; Surmeier *et coll.*, 2011b). Parmi les facteurs génétiques sont retrouvés, entre autres, des mutations sur les gènes de l'α-synucléine, LRRK2, PARKIN, PINK1 et DJ1. Les

facteurs environnementaux regroupent, entre autres, l'exposition aux pesticides et aux herbicides tels que la roténone et le paraquat. Les mécanismes par lesquels les agents chimiques et les facteurs génétiques agiraient sur la mort neuronale ne sont pas encore totalement définis, mais ils joueraient un rôle sur des facteurs menant à la mort neuronale tels que le stress oxydatif, la protéostasie et les dysfonctions mitochondriales (Gasser, 2005; Horowitz et Greenamyre, 2010; Surmeier *et coll.*, 2011b).

1.3.1.2 La physiopathologie

Au niveau biochimique, la maladie de Parkinson est caractérisée par une dégénérescence progressive et massive des neurones dopaminergiques de la SNc. La perte des neurones dopaminergiques induit donc une perte de la modulation exercée par la dopamine au niveau du striatum et l'apparition de symptômes moteurs. Au niveau du fonctionnement neuroanatomique, la perte des neurones dopaminergiques induit une diminution de l'effet excitateur de la dopamine sur la voie directe et une diminution de l'effet inhibiteur de la dopamine sur la voie indirecte. Par conséquent, il est observé une diminution de l'activation de la voie directe et une augmentation de l'activation de la voie indirecte, causant un déséquilibre en faveur de l'inhibition au niveau du thalamus (Figure 1.12, p. 40) (Cenci, 2007). D'autres structures peuvent aussi être affectées telles que le noyau basal de Meynert, le locus coeruleus et le noyau du raphé. L'atteinte de ces autres structures contribue à l'apparition des symptômes non moteurs de la maladie de Parkinson tels que la dépression et la démence (Lang et Lozano, 1998). Les mécanismes menant à la dégénérescence des neurones dopaminergiques sont loin d'être élucidés. Le stress oxydatif, les dysfonctions mitochondriales ou du système ubiquitine-protéasome et la neuro-inflammation sont autant de facteurs qui ont été proposés comme participant à la mort des neurones (Samii *et coll.*, 2004; Surmeier *et coll.*, 2011b). La perte des neurones dopaminergiques est accompagnée de la présence de corps de Lewy, une autre caractéristique neuropathologique de la maladie. Les corps de Lewy sont des inclusions éosinophiles intraneuronales formées d'agrégats protéiniques dont l'α-synucléine est le composant majeur. Ils sont retrouvés dans la SNc, mais aussi dans d'autres structures (Lang et Lozano, 1998; Braak *et coll.*, 2004; Samii *et coll.*, 2004).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

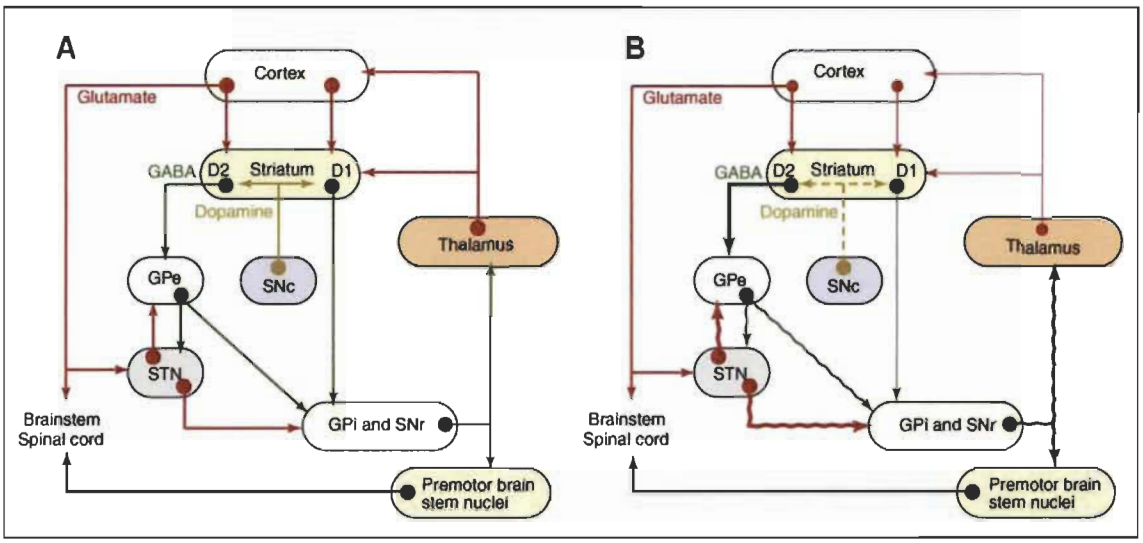


Figure 1.12 Représentation de l'effet de la perte de dopamine sur la boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale.
(A) Organisation des ganglions de la base dans un état sain et (B) dans un état parkinsonien. Chez les patients parkinsoniens, la perte en dopamine diminue l'activation de la voie directe et augmente l'activation de la voie indirecte, induisant l'inhibition du thalamus et l'apparition de troubles moteurs. GPe, globus pallidus externe; GPi, globus pallidus interne; SNc, substance noire pars compacta; SNr, substance noire pars reticulata; STN, noyau sous-thalamique. (Tirée de Cenci, 2007.)

1.3.1.3 Les symptômes

Au niveau comportemental, la maladie est caractérisée par une triade de symptômes moteurs incluant la bradykinésie, les tremblements aux repos et la rigidité musculaire auxquels s'ajoutent les troubles de la posture (Fahn, 2003; Samii *et coll.*, 2004; Jankovic, 2008; Bourdain *et coll.*, 2013). À partir de ces symptômes, un diagnostic peut être établi. La confirmation du diagnostic se fera si une amélioration des symptômes moteurs est notée à la suite de la prise de médicaments antiparkinsoniens. Les signes cliniques de la maladie apparaissent lorsque la dégénérescence des neurones de la SNc et la perte de dopamine dans le striatum atteignent, respectivement, 50 % et 80 % (Samii *et coll.*, 2004). Le fait que les symptômes moteurs apparaissent uniquement lorsque la moitié des neurones dopaminergiques sont dégénérés peut s'expliquer par le fait que des mécanismes adaptatifs peuvent compenser le manque de dopamine tels que l'augmentation de la synthèse et de la relâche de la dopamine (Fahn, 2003).

La bradykinésie correspond à une lenteur du mouvement et elle est le symptôme qui corrèle le mieux avec la perte de dopamine. Les patients ont de la difficulté à planifier, initier et exécuter un mouvement. Par exemple, lors de la marche, l'initiation est difficile et défectueuse, les pieds du patient semblent rester cloués au sol. Une fois la marche entreprise, elle est effectuée par des petits pas qui semblent courir derrière le centre de gravité. La marche est dite dans ce cas festinante. Lors de la marche, il est possible de retrouver des phases d'enrayage cinétique, dites « freezing », où les pieds sont soudainement figés. Ces phases d'enrayage cinétique sont notamment observées lors des demi-tours ou devant le franchissement d'obstacles. La bradykinésie englobe aussi de la difficulté à réaliser certaines tâches quotidiennes nécessitant un contrôle moteur fin comme boutonner sa chemise ou utiliser des ustensiles. La bradykinésie est aussi accompagnée d'une perte du mouvement, nommée akinésie. Par exemple, il est observé chez les patients une perte de la gestuelle et du balancement des bras lors de la marche ou du mouvement spontané. De plus, la voix est monotone et l'expression du visage est diminuée. La bradykinésie est influencée par l'état émotionnel du patient. Par exemple, lorsqu'excité, un patient est capable de réaliser des mouvements rapides comme attraper une balle. Ce phénomène est appelé akinésie paradoxale. Dans ce contexte, il a été suggéré que les programmes moteurs ne semblent pas être affectés, mais plutôt que les patients ont de la difficulté à y accéder sans stimuli externes (Samii *et coll.*, 2004; Jankovic, 2008; Bourdain *et coll.*, 2013).

Les tremblements au repos sont les symptômes les plus facilement identifiables et représentent le premier symptôme chez 70 % des patients. Ils sont unilatéraux et prédominent généralement dans la partie distale des extrémités, par exemple au niveau de la main. Ils sont aussi retrouvés au niveau des lèvres, du menton et de la jambe. Avec l'évolution de la maladie, les tremblements peuvent affecter l'autre côté du corps. Leur caractéristique est qu'ils disparaissent lors de l'exécution d'un mouvement ou pendant le sommeil (Samii *et coll.*, 2004; Jankovic, 2008; Bourdain *et coll.*, 2013).

La rigidité musculaire restreint le degré de liberté des articulations et par conséquent la fluidité du mouvement. Elle est responsable de la raideur du tronc, des

épaules, du cou, mais aussi des poignets et des chevilles. La rigidité musculaire est associée à la posture anormale observée chez les patients parkinsoniens. Les patients ont le dos courbé ainsi qu'une flexion du cou, des coudes et des genoux. La rigidité musculaire provoque souvent de la douleur chez le patient. En plus d'une posture anormale, voutée, il est observé plus tardivement une instabilité posturale chez les patients parkinsoniens. L'instabilité posturale se caractérise par la difficulté du patient à rétablir son équilibre une fois déstabilisé et conduit souvent à des chutes (Samii *et coll.*, 2004; Jankovic, 2008; Bourdain *et coll.*, 2013).

Les patients parkinsoniens développent aussi des symptômes non moteurs parmi lesquels sont retrouvés des troubles cognitifs comme la démence, la dépression, l'anxiété, l'apathie (Jankovic, 2008). Bien que n'étant pas considéré comme des symptômes cliniques, un nombre grandissant d'études montre que chez les patients parkinsoniens, l'apprentissage de séquences répétées, la consolidation et l'automatisation sont affectés (Harrington *et coll.*, 1990; Doyon *et coll.*, 1997; Doyon *et coll.*, 1998; Stefanova *et coll.*, 2000; Krebs *et coll.*, 2001; Mentis *et coll.*, 2003; Carbon et Eidelberg, 2006; Deroost *et coll.*, 2006; Siegert *et coll.*, 2006; Smith et McDowall, 2006; Wu et Lynch, 2006; Muslimovic *et coll.*, 2007; Marinelli *et coll.*, 2009; Carbon *et coll.*, 2010; Gamble *et coll.*, 2014). En lien avec ces études, l'apprentissage séquentiel chez l'humain est associé à une relâche de dopamine dans le striatum (Badgaiyan *et coll.*, 2007). De plus, quelques études, chez des modèles animaux, ont aussi montré que l'apprentissage des séquences motrices est affecté par la dégénérescence des neurones dopaminergiques (Ogura *et coll.*, 2005; Beeler *et coll.*, 2010; Eckart *et coll.*, 2010; Gambhir *et coll.*, 2011) ou par l'inhibition des récepteurs dopaminergiques D_1 et D_2 (Levesque *et coll.*, 2007; Willuhn et Steiner, 2008; Tremblay *et coll.*, 2009; Yin *et coll.*, 2009; Beeler *et coll.*, 2010). Toutefois, chez les patients parkinsoniens, un déficit d'apprentissage n'est pas toujours observé (Agostino *et coll.*, 1996; Smith *et coll.*, 2001b; Werheid *et coll.*, 2003; Deroost *et coll.*, 2006; Pendt *et coll.*, 2011). Il a été suggéré que la disparité des observations entre les études pourrait être due à des différences entre la méthodologie utilisée et les échantillons des patients (stade de la maladie, traitement) (Muslimovic *et coll.*, 2007; Doyon, 2008; Abbruzzese *et coll.*,

2009; Nieuwboer *et coll.*, 2009). Dans ce contexte, de plus amples études sont nécessaires à la compréhension des effets de la perte en dopamine sur l'apprentissage.

1.3.1.4 Les traitements

Il n'existe actuellement aucun traitement curatif de la maladie de Parkinson. Les traitements cherchent donc à atténuer les symptômes et préserver l'autonomie fonctionnelle des patients. On parle de traitements symptomatiques, appelés aussi traitements antiparkinsoniens. Les traitements des symptômes moteurs de la maladie peuvent être pharmacologiques et chirurgicaux (Tableau 1.1, p. 44). Ils dépendent de l'âge et du statut cognitif du patient, de la sévérité et des types de symptômes moteurs ainsi que de la réponse aux traitements déjà administrés (Chen et Swope, 2007; Jankovic et Poewe, 2012). Même si l'approche chirurgicale dans le traitement symptomatique de la maladie suscite un regain d'intérêt en raison des limites des traitements pharmacologiques et des progrès techniques, la pharmacothérapie représente toujours le premier recours thérapeutique (Jankovic et Poewe, 2012). Étant donné que les symptômes de la maladie résultent d'un manque de dopamine au niveau du striatum, les principaux médicaments antiparkinsoniens ont pour but de compenser ce manque. Ce sont les traitements dopaminergiques. Les modes d'action de ces traitements sont différents. Ils peuvent rétablir les niveaux de dopamine (L-DOPA), imiter l'action de la dopamine en agissant directement sur les récepteurs dopaminergiques (agonistes dopaminergiques) ou augmenter la disponibilité en dopamine dans la fente synaptique (inhibiteurs des MAO) (Chen et Swope, 2007; Jankovic et Poewe, 2012). Actuellement, de nouvelles thérapies pour le traitement des symptômes sont examinées et elles regroupent, entre autres, de nouvelles formulations qui prolongent l'effet de la L-DOPA ainsi que la thérapie génique et cellulaire (Poewe *et coll.*, 2012). Les travaux de recherche présentés dans cet ouvrage portant sur le modèle des dyskinésies induites par la L-DOPA, seul le traitement à la L-DOPA sera développé.

Tableau 1.1

Traitements symptomatiques utilisés pour la maladie de Parkinson

Traitements pharmacologiques
Médicaments dopaminergiques
Précurseur de la dopamine : L-DOPA (+ bensérazide ou carbidopa)
Agonistes dopaminergiques : apomorphine, pramipexole, ropinirole, rotigotine
Inhibiteurs des monoamines oxydases : sélégiline, rasagiline
Inhibiteurs des catéchol-O-méthyltransférases : entacapone
Médicaments non dopaminergiques
Antagonistes des récepteurs cholinergiques : benztropine, trihexyphenidyl
Antagonistes des récepteurs NMDA : amantadine
Traitements chirurgicaux
Lésion : pallidectomie, thalamotomie, sous-thalamotomie
Stimulation cérébrale profonde : pallidus, thalamus, noyau sous-thalamique

Adapté de (Rascol *et coll.*, 2003; Sprenger et Poewe, 2013).

1.3.2 La L-DOPA : de la perte à l'excès de mouvements

C'est en 1961 que Hornykiewicz et Birkmayer démontrèrent pour la première fois que l'injection intraveineuse de L-DOPA avait des effets efficaces et bénéfiques, notamment sur l'akinésie, chez des patients parkinsoniens (Birkmayer et Hornykiewicz, 1961). Six ans après ce premier essai clinique, soit en 1967, Cotzias introduisit définitivement la L-DOPA dans le traitement de la maladie de Parkinson par l'administration chronique et orale de fortes doses de L-DOPA (Cotzias *et coll.*, 1967). La L-DOPA représente, maintenant depuis plus de 40 ans, le traitement pharmacologique de choix de la maladie de Parkinson en raison de sa grande efficacité sur les symptômes moteurs de la maladie (Hornykiewicz, 2010).

La L-DOPA est le précurseur immédiat de la dopamine et contrairement à la dopamine, elle traverse la barrière hémato-encéphalique. La L-DOPA est absorbée

essentiellement au niveau du duodénum où elle pourra rejoindre la circulation sanguine, traverser la barrière hémato-encéphalique et être transformée en dopamine dans le cerveau. La L-DOPA passe les parois de l'intestin et la barrière hémato-encéphalique par un système de transport facilité saturable. La L-DOPA à un temps de demi-vie relativement court (90 minutes). Seulement 30 % de la dose ingérée pénètre dans la circulation sanguine et 1 % est retrouvé au niveau du cerveau (Jankovic, 2002). Plusieurs stratégies sont donc utilisées afin d'augmenter son temps de demi-vie et sa biodisponibilité. La principale stratégie consiste à empêcher sa dégradation périphérique. En effet, dans l'estomac et l'intestin, la L-DOPA peut être transformée en dopamine par la DDC périphérique (Figure 1.13, p. 46). Afin de prévenir ce catabolisme, des inhibiteurs de la DDC tels que la carbidopa ou le benserazide sont utilisés en combinaison avec la L-DOPA. Du fait que ces inhibiteurs ne passent pas la barrière hémato-encéphalique, seule la DDC périphérique est inhibée et la synthèse de dopamine au niveau du cerveau n'est pas affectée. Lorsque l'administration de la L-DOPA est combinée à un de ces inhibiteurs, la quantité de L-DOPA est respectivement doublée, voire triplée dans la circulation sanguine et multipliée par un facteur de dix dans le cerveau. Il est aussi important de mentionner que l'utilisation de ces inhibiteurs permet de diminuer les effets secondaires (troubles gastro-intestinaux et cardiovasculaires) qui sont induits par la dopamine synthétisée au niveau périphérique. De plus, la L-DOPA peut être catabolisée en 3-O-méthyldopa (3-OMD) par les COMT (Figure 1.13, p. 46). L'accumulation de 3-OMD interfère avec le passage de la L-DOPA à travers la barrière hémato-encéphalique, car ils utilisent le même système de transport. Afin de diminuer l'accumulation de 3-OMD et la dégradation de la L-DOPA, des inhibiteurs des COMT tels que l'entacapone et la tolcapone peuvent être utilisés. Enfin, la biodisponibilité de la L-DOPA peut aussi être optimisée en régulant d'autres facteurs tels que la vidange gastrique et l'alimentation. L'utilisation de la L-DOPA combinée aux inhibiteurs de la DDC périphérique et des COMT augmente la biodisponibilité de la L-DOPA, perrmettant ainsi de réduire sa dose et de prolonger son efficacité. Bien que plusieurs stratégies puissent être utilisées pour augmenter la biodisponibilité de la L-DOPA, elle doit tout de même être administrée de manière répétée au court d'une journée (Jankovic,

2002; Olanow *et coll.*, 2004; Chen et Swope, 2007; Fahn, 2008; Schapira *et coll.*, 2009; Muller, 2013; Salat et Tolosa, 2013).

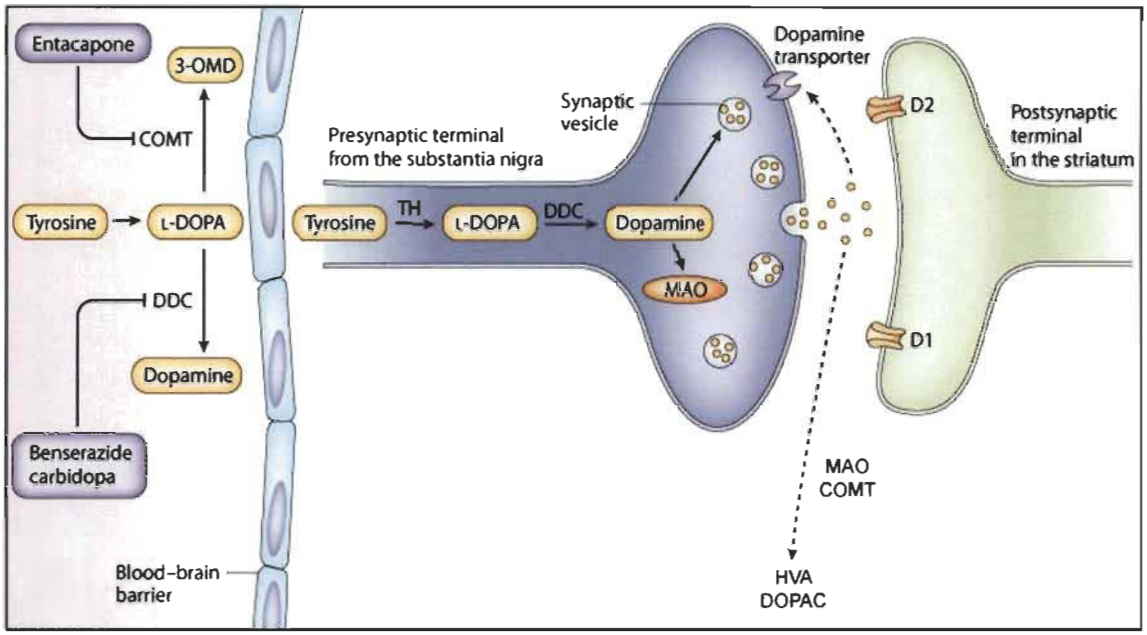


Figure 1.13 Traitements pour augmenter la biodisponibilité de la L-DOPA. Des inhibiteurs des COMT tels que l'entacapone et des inhibiteurs de la DDC périphérique tels que le bensérazide ou la carbidopa peuvent être utilisés pour augmenter la biodisponibilité de la L-DOPA. COMT, catéchol-O-méthyltransférase; DDC, DOPA-décarboxylase; DOPAC, acide dihydroxyphénylacétique; HVA, acide homovanillique; L-DOPA, L-dihydroxyphénylalanine; MAO, monoamine oxydase; TH, tyrosine hydroxylase; 3-OMD, 3-O-méthyldopa. (Adaptée de Youdim et Riederer, 2007.)

Après avoir traversé la barrière hémato-encéphalique, la L-DOPA sera captée par les neurones dopaminergiques n'ayant pas encore dégénéré. Dans les terminaisons nerveuses, la L-DOPA sera alors transformée en dopamine par la DDC puis emmagasinée dans les vésicules synaptiques par les VMAT2. La dopamine synthétisée sera libérée de manière continue dans la fente synaptique où elle activera les récepteurs dopaminergiques des neurones épineux du striatum afin de restaurer la transmission cortico-striatale et induire une amélioration des symptômes moteurs. Par la suite, la dopamine sera soit recyclée par les DAT ou soit dégradée par les MAO et les COMT. Au début de la maladie, la quantité de dopamine synthétisée ainsi que la capacité de

stockage et de recapture sont assez grandes pour maintenir des niveaux adéquats et constants de dopamine dans la fente synaptique. La concentration de dopamine extracellulaire au niveau du striatum n'est donc pas affectée par les variations plasmatiques de la L-DOPA qui sont dues à son administration répétée. Les symptômes moteurs sont alors nettement diminués et les patients retrouvent leur autonomie (Figure 1.14, p. 48). C'est la période pendant laquelle le traitement est le plus efficace. Cette période est appelée « lune de miel ». Cependant, avec la progression de la maladie, les neurones dopaminergiques continuent de dégénérer. La synthèse, le stockage et la recapture de la dopamine par les neurones dopaminergiques sont alors diminués. Le peu de neurones dopaminergiques restants ne peut plus tempérer les fluctuations plasmatiques de L-DOPA. Il en résulte une augmentation transitoire des niveaux de dopamine extracellulaire concomitante aux variations plasmatiques et aux cycles d'administration de la L-DOPA. Cette libération non physiologique de dopamine induit une stimulation pulsatile des récepteurs dopaminergiques qui ne moduleront plus de manière continue et efficace la transmission cortico-striatale. Il en résulte une diminution de la durée d'action de la L-DOPA sur les symptômes moteurs et l'apparition des complications motrices (Figure 1.14, p. 48) (Jankovic, 2002; Olanow *et coll.*, 2004; Chen et Swope, 2007; Fahn, 2008; Schapira *et coll.*, 2009; Muller, 2013; Salat et Tolosa, 2013).

Rapport-Gratuit.com

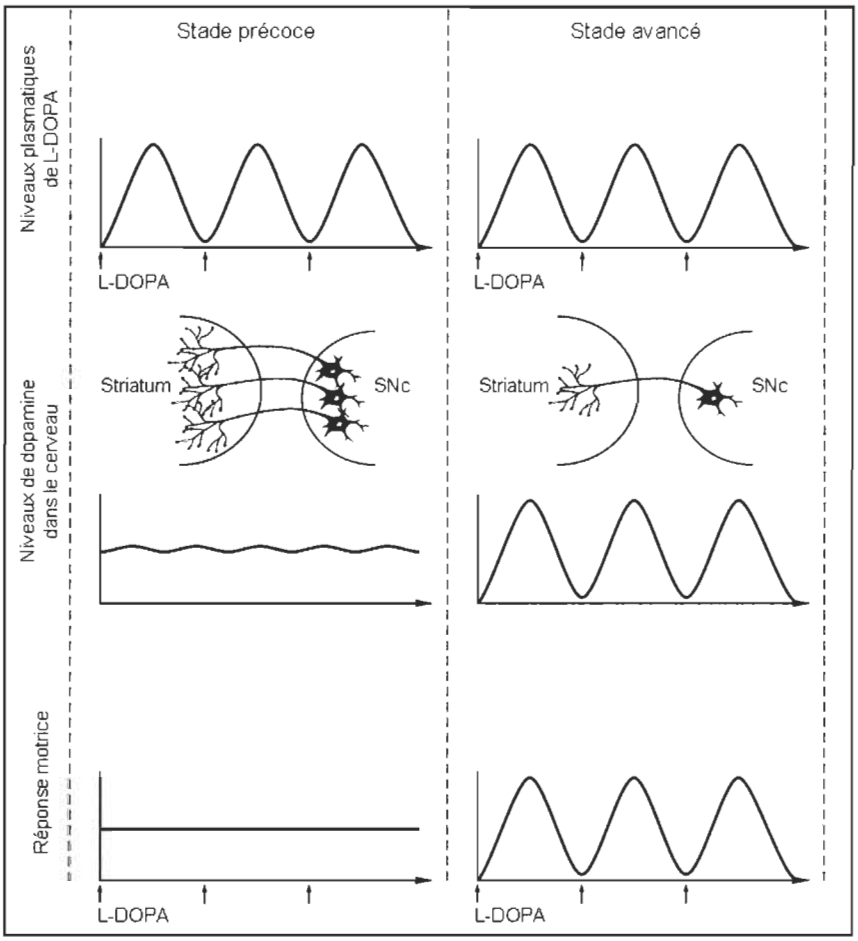


Figure 1.14 Schéma de l'effet de l'administration de la L-DOPA chez des patients parkinsoniens au stade précoce et au stade avancé.
Chez les patients parkinsoniens au stade précoce, la prise de la L-DOPA induit une relâche en continu de dopamine dans le striatum permettant d'obtenir une réponse motrice adéquate. Chez les patients parkinsoniens au stade avancé, le peu de neurones restants ne permet plus une relâche en continu de dopamine dans le striatum, à la suite de la prise de la L-DOPA. Il en résulte des fluctuations des niveaux de dopamine provoquant l'apparition de complications motrices. L-DOPA, L-dihydroxyphénylalanine; SNc, substance noire pars compacta. (Adaptée de Poewe *et coll.*, 2010.)

Il existe deux types de complications motrices : les fluctuations motrices et les dyskinésies. Les fluctuations motrices représentent des changements dans la fonction motrice et sont classées en deux catégories : les phénomènes « on-off » et le « wearing off ». Les périodes dites « on » sont des périodes pendant lesquelles les patients répondent bien à la L-DOPA et les mouvements sont réalisés de manière adéquate.

Les périodes dites « off » correspondent aux périodes durant lesquelles les symptômes parkinsoniens réapparaissent. Le phénomène « on-off » représente donc le passage rapide, soudain et imprévisible, d'un état « on » à « off ». Le « wearing off » correspond, quant à lui, à la réapparition des symptômes moteurs causés par l'épuisement de l'effet thérapeutique de la L-DOPA en fin de dose. Les dyskinésies sont une combinaison de mouvements choréiques et dystoniques. Elles affectent la tête, les membres et le tronc. Les dyskinésies sont classées en trois catégories : les dystonies « off », les dyskinésies diphasiques et les dyskinésies de milieu de dose (aussi nommées de type pic dose). Les dystonies « off » surviennent pendant les périodes « off » principalement le matin, avant la prise de la L-DOPA. Les dyskinésies diphasiques surviennent lors de l'augmentation ou de la diminution du taux plasmatique de L-DOPA. Les dyskinésies de milieu de dose sont les plus fréquentes et sont essentiellement de type choréique. Elles surviennent pendant les périodes « on » lorsque la concentration en dopamine est maximale. Il est à mentionner que les dyskinésies peuvent aussi être induites par l'administration d'agonistes dopaminergiques, cependant la sévérité des dyskinésies qu'ils induisent est bien inférieure à celle induite par la L-DOPA (Jankovic, 2002; Olanow *et coll.*, 2004; Chen et Swope, 2007; Fahn, 2008; Schapira *et coll.*, 2009; Jenner, 2013; Muller, 2013; Salat et Tolosa, 2013).

1.3.3 Les dyskinésies induites par la L-DOPA

Les dyskinésies sont très invalidantes pour les patients parkinsoniens et sont les complications les plus précoces et les plus communes produites par la L-DOPA (Rajput *et coll.*, 2002; Mazzella *et coll.*, 2005). Approximativement 30 % des patients parkinsoniens développent des dyskinésies après quatre à six ans de traitement et 90 % après neuf ans de traitement (Ahlskog et Muenter, 2001). L'âge précoce du début de la maladie, la sévérité et la durée de la maladie ainsi que l'utilisation de fortes doses et la durée du traitement sont autant de facteurs de risque de développer des dyskinésies (Cenci et Lundblad, 2006; Calabresi *et coll.*, 2010). De manière générale, la physiopathologie menant à l'apparition des dyskinésies peut être décrite comme suit. Avec la progression de la maladie, les neurones dopaminergiques continuent de

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

dégénérer. La diminution de la capacité de stockage et de recapture de la dopamine, causée par la perte des neurones dopaminergiques, combinée à l'administration répétée de la L-DOPA, provoque une augmentation transitoire des niveaux dopaminergiques extracellulaires. Ces fluctuations induisent une stimulation pulsatile des récepteurs dopaminergiques au niveau du striatum, qui n'exercent donc plus une modulation en continu et efficace de la transmission cortico-striatale. Il en résulte une augmentation de l'activation de la voie directe et une diminution de l'activation de la voie indirecte menant à un déséquilibre en faveur de l'activation du thalamus et l'apparition des dyskinésies (Figure 1.15, p. 50) (Cenci, 2007; Obeso *et coll.*, 2008).

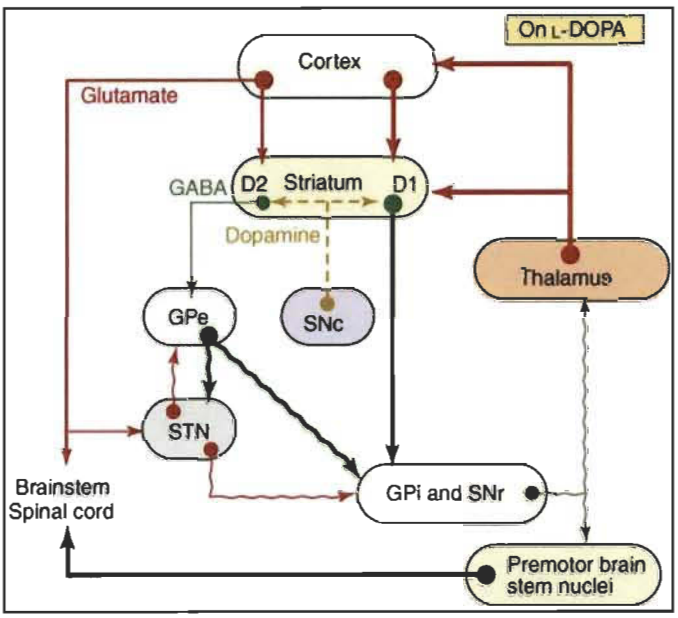


Figure 1.15 Schéma de la boucle cortico-ganglions de la base-thalamo-corticale chez les patients parkinsoniens dans un état dyskinétique.
GPe, globus pallidus externe; GPi, globus pallidus interne; SNc, substance noire pars compacta; SNr, substance noire pars reticulata; STN, noyau sous-thalamique. (Tirée de Cenci, 2007.)

Les dyskinésies sont donc causées par l'interaction de deux facteurs : la perte massive des neurones dopaminergiques et l'administration répétée de la L-DOPA. Cependant, les mécanismes précis menant au développement des dyskinésies induites par la L-DOPA (LID, pour L-DOPA-induced dyskinesia) ne sont pas totalement élucidés. Les recherches sur les modèles animaux des LID s'intéressent ainsi à

comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents aux dyskinésies. Ces recherches ont permis de mettre en évidence que la combinaison de la perte des neurones dopaminergiques avec l'administration répétée de la L-DOPA mène à des modifications pathologiques aux niveaux présynaptique et postsynaptique contribuant à l'apparition des LID (Cenci et Lundblad, 2006; Cenci, 2007; Calabresi *et coll.*, 2010; Cenci et Konradi, 2010).

1.3.3.1 Physiopathologie des dyskinésies : modifications présynaptiques

Au niveau présynaptique, la perte des neurones dopaminergiques, combinée à l'administration répétée de la L-DOPA, induit une augmentation transitoire des niveaux dopaminergiques extracellulaires (de la Fuente-Fernandez *et coll.*, 2004; Meissner *et coll.*, 2006; Pavese *et coll.*, 2006; Lindgren *et coll.*, 2010). Ces fluctuations sont les principaux facteurs physiopathologiques des dyskinésies. Bien qu'à la suite de la prise de L-DOPA, la perte des neurones dopaminergiques soit le principal déterminant induisant des fluctuations dopaminergiques extracellulaires, d'autres facteurs peuvent influencer les niveaux dopaminergiques. En effet, plusieurs études mettent en évidence l'implication des neurones sérotoninergiques. Il a été montré une augmentation de l'innervation des neurones sérotoninergiques au niveau du striatum autant chez les modèles animaux des LID que chez les patients parkinsoniens dyskinétiques (Rylander *et coll.*, 2010b; Zeng *et coll.*, 2010). Les neurones sérotoninergiques sont capables de transformer la L-DOPA en dopamine, de stocker la dopamine dans les vésicules synaptiques, et de la libérer conjointement avec la sérotonine. Cependant, ils ne possèdent pas la machinerie de recapture (DAT) ni d'autorégulation de la relâche de la dopamine (récepteurs dopaminergiques D_2). La dopamine sera donc libérée de manière non régulée dans la fente synaptique, contribuant ainsi à l'augmentation des niveaux de dopamine extracellulaires (Figure 1.16, p. 59) (Carta et Bezard, 2011; Carta et Tronci, 2014). Par conséquent, la réduction de l'activité sérotoninergique pourrait diminuer les dyskinésies. En accord avec cette hypothèse, des études précliniques ont démontré que l'utilisation d'agonistes 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} bloquant l'activité des neurones sérotoninergiques diminue les dyskinésies chez les modèles animaux de la maladie de

Parkinson (Bibbiani *et coll.*, 2001; Carta *et coll.*, 2007; Munoz *et coll.*, 2008; Munoz *et coll.*, 2009; Bezard *et coll.*, 2013a; Bezard *et coll.*, 2013b). Toutefois, l'effet thérapeutique de l'utilisation de l'agoniste 5-HT_{1A}, le sarizotan, n'a pas été confirmé chez les patients parkinsoniens dyskinétiques (Goetz *et coll.*, 2007). D'autres cellules ne possédant pas la machinerie de contrôle de l'homéostasie de la dopamine, mais la capacité de décarboxyler la L-DOPA, telles que les cellules gliales, peuvent aussi participer à la libération non régulée de la dopamine (Melamed *et coll.*, 1980; Sarre *et coll.*, 1994; Tsai et Lee, 1996; Asanuma *et coll.*, 2014). De plus, l'augmentation des niveaux dopaminergiques peut être exagérée par la diminution ou le dysfonctionnemt des DAT présents sur les neurones dopaminergiques restants (Miller et Abercrombie, 1999; Lee *et coll.*, 2008; Sossi *et coll.*, 2009), mais aussi par la diminution de l'activité des MAO (Wachtel et Abercrombie, 1994), l'angiogenèse et l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Westin *et coll.*, 2006).

1.3.3.2 Physiopathologie des dyskinésies : modifications postsynaptiques

Au niveau postsynaptique, la perte des neurones dopaminergiques augmente la sensibilité des récepteurs dopaminergiques pour la dopamine. En effet, il a été montré chez les patients parkinsoniens et les modèles animaux de la maladie de Parkinson que la perte des neurones dopaminergiques induit une augmentation de la liaison de la protéine G aux récepteurs dopaminergiques, une augmentation de l'expression de la protéine G_{olf} et une augmentation de l'activité de l'AC à la suite de la stimulation par la dopamine (Cai *et coll.*, 2002; Corvol *et coll.*, 2004; Tong *et coll.*, 2004; Aubert *et coll.*, 2005). Il est à mentionner que l'hypersensibilité des récepteurs n'est pas nécessairement liée à une augmentation de l'expression des récepteurs. En effet, la plupart des études réalisées chez les patients parkinsoniens montrent que l'expression des récepteurs D_1 reste inchangée (Hurley et Jenner, 2006). De plus, les études sur l'expression des récepteurs D_1 et de leurs acides ribonucléiques messagers (ARNm), chez les modèles animaux de la maladie de Parkinson, ne font pas consensus. L'expression des récepteurs D_1 est retrouvée inchangée (Alexander *et coll.*, 1993; Cai *et coll.*, 2002; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005), augmentée (Gagnon *et coll.*, 1990; Goulet *et coll.*, 2000)

ou diminuée (Marshall *et coll.*, 1989; Blunt *et coll.*, 1992; Morin *et coll.*, 2014b). L'expression des ARNm peut être inchangée (Guigoni *et coll.*, 2005; Morin *et coll.*, 2014b) ou diminuée (Gerfen *et coll.*, 1990; Morissette *et coll.*, 1996; Goulet *et coll.*, 2000; Aubert *et coll.*, 2005). Toutefois, la majorité des études réalisées chez les patients parkinsoniens s'accordent sur le fait que l'expression des récepteurs D_2 est augmentée au niveau du striatum, plus particulièrement au niveau du putamen (Hurley et Jenner, 2006). Chez les modèles animaux de la maladie de Parkinson, l'analyse de l'expression des récepteurs D_2 et de leurs ARNm montre des résultats similaires (Falardeau *et coll.*, 1988; Marshall *et coll.*, 1989; Gagnon *et coll.*, 1990; Gerfen *et coll.*, 1990; Blunt *et coll.*, 1992; Alexander *et coll.*, 1993; Herrero *et coll.*, 1996; Morissette *et coll.*, 1996; Cenci *et coll.*, 1998; Goulet *et coll.*, 2000; Cai *et coll.*, 2002; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005; Morin *et coll.*, 2014b). L'hypersensibilité des récepteurs dopaminergiques permet d'augmenter la transmission du signal et de compenser le manque de dopamine induit par la perte des neurones dopaminergiques (Bezard et Gross, 1998; Cai *et coll.*, 2002; Tong *et coll.*, 2004). Bien que l'hypersensibilité des récepteurs soit un mécanisme compensatoire afin de pallier le manque de dopamine, il n'en reste pas moins qu'elle pourrait prédisposer au développement des dyskinésies (Bezard *et coll.*, 2001; Cenci et Konradi, 2010). De nombreuses recherches se sont donc intéressées à l'implication des récepteurs dopaminergiques et de leurs voies de signalisation dans l'apparition des dyskinésies.

Les recherches supportent le rôle des récepteurs dopaminergiques D_1 et l'hyperactivation de leurs voies de signalisation dans l'apparition des dyskinésies (Figure 1.16, p. 59). En effet, l'utilisation d'agonistes des récepteurs D_1 est associée à l'apparition de dyskinésies (Blanchet *et coll.*, 1998; Boraud *et coll.*, 2001; Rascol *et coll.*, 2001; Calon *et coll.*, 2002; Blanchet *et coll.*, 2004; Carta *et coll.*, 2008). À l'inverse, l'inactivation génétique ou pharmacologique des récepteurs D_1 diminuent les dyskinésies (Westin *et coll.*, 2006; Darmopil *et coll.*, 2009). Chez les animaux dyskinétiques, il a été montré, par microscopie électronique, une augmentation de la présence des récepteurs D_1 au niveau de la membrane plasmique, ce qui est associé à un dérèglement de leur trafic intraneuronal (Guigoni *et coll.*, 2007; Berthet *et coll.*, 2009).

Chez les modèles animaux, la surexpression de la « G protein-coupled receptor kinase 6 » (GRK6), une protéine favorisant l'internalisation des récepteurs D_1, diminue les dyskinésies (Ahmed *et coll.*, 2010). De plus, les dyskinésies sont associées à une augmentation de l'expression et de l'activité des protéines G de la voie D_1 (Aubert *et coll.*, 2005; Alcacer *et coll.*, 2012). Cependant, les dyskinésies ne semblent pas être associées à une modulation de l'expression des récepteurs D_1. En effet, chez les patients parkinsoniens et les modèles animaux de la maladie de Parkinson, l'analyse de l'expression des récepteurs D_1 et de leurs ARNm, à la suite de la prise de L-DOPA, ne fait pas consensus. Chez les patients parkinsoniens traités avec la L-DOPA, l'expression des récepteurs D_1 peut être augmentée (Rinne *et coll.*, 1985; Hurley *et coll.*, 2001), inchangée (Shinotoh *et coll.*, 1993; Brooks *et coll.*, 2000) ou diminuée (Turjanski *et coll.*, 1997). Chez les animaux dyskinétiques, l'analyse de l'expression des récepteurs D_1 et de leurs ARNm montre des résultats similaires (Gagnon *et coll.*, 1990; Alexander *et coll.*, 1993; Morissette *et coll.*, 1996; Konradi *et coll.*, 2004; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005; Morin *et coll.*, 2014b). Dans ce contexte, il semblerait que les dyskinésies ne soit pas associées à une hypersensibilité des récepteurs D_1 provenant d'une augmentation de leur expression, mais plutôt d'un dérèglement dans leur internalisation et d'une augmentation de l'expression et de l'activité des protéines G (Guigoni *et coll.*, 2007; Berthet *et coll.*, 2009; Ahmed *et coll.*, 2010; Alcacer *et coll.*, 2012). À la suite de la prise de L-DOPA, la stimulation des récepteurs dopaminergiques D_1 hypersensibles induit une augmentation de la transmission dopaminergique D_1 qui se traduit par des changements durables de l'activité des protéines effectrices de la voie de signalisation PKA/DARPP32/ERK/FosB. En effet, chez les rongeurs et les singes dyskinétiques, il a été observé au niveau du striatum une augmentation de l'expression du facteur de transcription FosB/ΔFosB et de la phosphorylation d'ERK1/2 et de DARPP32 sur la thréonine 34 (Thr34) (Andersson *et coll.*, 1999; Cenci, 2002; Winkler *et coll.*, 2002; Picconi *et coll.*, 2003; Pavon *et coll.*, 2006; Santini *et coll.*, 2007; Westin *et coll.*, 2007). L'inhibition de FosB/ΔFosB, d'ERK1/2 ou de DARPP32 est associée à une diminution des dyskinésies (Andersson *et coll.*, 1999; Cenci, 2002; Santini *et coll.*, 2007). De plus, chez les animaux dyskinétiques, l'utilisation d'antagonistes D_1 ou l'inhibition pharmacologique de PKA

diminue l'expression de FosB/ΔFosB et la phosphorylation d'ERK1/2 et de DARPP32, ce qui est associé à une diminution des dyskinésies (St-Hilaire *et coll.*, 2005; Westin *et coll.*, 2006; Lebel *et coll.*, 2010). Il est maintenant donc bien établi que l'hyperactivation de la voie de signalisation D_1 participe à l'émergence des LID. La phosphorylation de DARPP32 sur la Thr34, l'activation d'ERK1/2 et l'augmentation d'expression de FosB/ΔFosB représentent des marqueurs biochimiques des LID (Cenci et Lundblad, 2006; Calabresi *et coll.*, 2007; Cenci, 2007; Cenci et Konradi, 2010).

Contrairement aux récepteurs D_1, l'implication des récepteurs D_2 est encore loin d'être élucidée. Chez les patients parkinsoniens, la plupart des études ont montré que l'augmentation de l'expression des récepteurs D_2 est normalisée à la suite de la prise de L-DOPA (Hurley et Jenner, 2006). Chez les modèles animaux de la maladie de Parkinson, l'expression des récepteurs D_2 et de leurs ARNm est aussi normalisée à la suite de l'administration de L-DOPA (Gagnon *et coll.*, 1990; Alexander *et coll.*, 1993; Herrero *et coll.*, 1996; Morissette *et coll.*, 1996; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005; Morin *et coll.*, 2014b). Certaines études n'ont toutefois pas observé d'effets sur l'expression des récepteurs D_2 (Cenci *et coll.*, 1998; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005). L'analyse de l'expression des récepteurs D_2 et de leurs ARNm entre les animaux dyskinétiques et non dyskinétiques ne fait pas forcément consensus. Certaines études ont observé une normalisation des niveaux d'expression de l'ARNm chez les animaux dyskinétiques (Herrero *et coll.*, 1996; Morin *et coll.*, 2014b) alors que d'autres non (Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005). Bien qu'une étude ait montré une corrélation négative entre l'expression des récepteurs D_2 et les dyskinésies (Morin *et coll.*, 2014b), d'autres études n'ont pas observé de différence entre l'expression des récepteurs D_2 chez les animaux non dyskinétiques et dyskinétiques (Cenci *et coll.*, 1998; Aubert *et coll.*, 2005; Guigoni *et coll.*, 2005). Les études cliniques ont démontré que l'incidence associée aux dyskinésies est diminuée chez les patients parkinsoniens traités en monothérapie avec des agonistes D_2 comparativement aux patients traités avec la L-DOPA (Poewe *et coll.*, 2010; Jenner, 2013). Il en est de même chez les rats modèles de la maladie de Parkinson (Bagetta *et coll.*, 2012). Bien que l'utilisation en monothérapie d'agonistes D_2 n'induise pas ou presque pas de dyskinésies, son utilisation

combinée ou à la suite d'un traitement à la L-DOPA, augmente les dyskinésies (Gomez-Mancilla et Bedard, 1991; Lundblad *et coll.*, 2002; Delfino *et coll.*, 2004; Monville *et coll.*, 2005; Carta *et coll.*, 2008; Brodsky *et coll.*, 2010). À l'inverse, il a été montré que l'utilisation de certains agonistes tels que la cabergoline diminue les dyskinésies (Hadj Tahar *et coll.*, 2000; Hadj Tahar *et coll.*, 2001; Calon *et coll.*, 2002; Samadi *et coll.*, 2008a; Ouattara *et coll.*, 2009; Morissette *et coll.*, 2010; Ouattara *et coll.*, 2010). Les effets bénéfiques de la cabergoline seraient associés à une modulation de la voie de signalisation AKT/GSK3 et des récepteurs glutamatergiques (Calon *et coll.*, 2002; Samadi *et coll.*, 2008a; Ouattara *et coll.*, 2009; Morissette *et coll.*, 2010; Ouattara *et coll.*, 2010). Les effets de l'inhibition des récepteurs D_2 sur les dyskinésies sont aussi variables. Il a été montré que la sévérité des dyskinésies est diminuée par l'inhibition pharmacologique des récepteurs D_2, ou par l'augmentation au niveau du striatum de l'expression de « regulator of G-protein signaling 9 » (RGS9), une protéine permettant l'inactivation des protéines G associées aux récepteurs D_2 (Monville *et coll.*, 2005; Taylor *et coll.*, 2005; Gold *et coll.*, 2007). Contrairement, les dyskinésies ne sont pas diminuées chez les souris ayant une délétion génétique des récepteurs D_2 (Darmopil *et coll.*, 2009). Dans ce contexte, les études proposent que les effets bénéfiques des agents dopaminergiques D_2 sur les dyskinésies soient associés à leur affinité pour d'autres récepteurs dopaminergiques de la famille D2, les récepteurs D_3, ainsi qu'à l'influence qu'ils exercent sur les récepteurs glutamatergiques (Bezard *et coll.*, 2001; Samadi *et coll.*, 2008a; Darmopil *et coll.*, 2009; Ouattara *et coll.*, 2009; Morissette *et coll.*, 2010; Ouattara *et coll.*, 2010; Bagetta *et coll.*, 2012).

Comme nous l'avons vu précédemment, la dopamine, par son action sur les récepteurs dopaminergiques, module la transmission glutamatergique. La recherche s'est donc intéressée au rôle de la transmission glutamatergique dans l'apparition des dyskinésies. Dans ce contexte, l'amantadine, un antagoniste non sélectif des récepteurs NMDA, est reconnu pour avoir un effet antidyskinétique chez les patients parkinsoniens. L'amantadine est actuellement le seul traitement pharmacologique clinique prescrit pour les LID (Sgambato-Faure et Cenci, 2012; Rascol *et coll.*, 2014). Toutefois, ce médicament étant non sélectif et son effet sur les dyskinésies étant modeste, les études

ont donc examiné l'implication des sous-unités des récepteurs NMDA dans les dyskinésies (Sgambato-Faure et Cenci, 2012; Rascol *et coll.*, 2014). Plusieurs études se sont intéressées à la sous-unité NR2B. Dans ce contexte, des études ont observé une augmentation de l'expression de NR2B chez les animaux dyskinétiques et les patients parkinsoniens ayant des complications motrices (« wearing off », dyskinésies) (Calon *et coll.*, 2003; Hurley *et coll.*, 2005; Ouattara *et coll.*, 2009). Toutefois, d'autres études ont montré uniquement une normalisation des niveaux de NR2B à la suite de la prise de L-DOPA (Dunah *et coll.*, 2000; Hallett *et coll.*, 2005). En lien avec ces observations, il a été suggéré que les dyskinésies ne seraient pas forcement associées à une altération des niveaux d'expression, mais plutôt à une délocalisation de NR2B de la membrane synaptique vers la membrane extrasynaptique (Fiorentini *et coll.*, 2006; Gardoni *et coll.*, 2006). La redistribution des récepteurs entre divers compartiments membranaires peut affecter la sensibilité des récepteurs, mais aussi leurs voies de signalisation (Gardoni *et coll.*, 2006). Les effets de l'administration d'antagonistes sélectifs de NR2B sur les dyskinésies ont été évalués chez les modèles animaux et les patients dyskinétiques. Dans ce contexte, bien que l'utilisation d'antagonistes sélectifs de NR2B combinée à l'administration de la L-DOPA n'induise aucun effet sur les dyskinésies chez le rat rendu parkinsonien (Rylander *et coll.*, 2009), il a été montré que chez les singes et les patients parkinsoniens, son utilisation diminue la sévérité des dyskinésies (Blanchet *et coll.*, 1999; Hadj Tahar *et coll.*, 2004; Morissette *et coll.*, 2006; Nutt *et coll.*, 2008; Ouattara *et coll.*, 2009). En plus de l'implication des récepteurs NMDA, de nombreuses recherches ont mis en évidence l'implication des récepteurs $mGluR_5$ dans les LID (Rascol *et coll.*, 2014). Dans ce contexte, les dyskinésies sont associées à une augmentation de l'expression des récepteurs $mGluR_5$ et de leurs ARNm dans le striatum chez les patients parkinsoniens et les modèles animaux de la maladie de Parkinson (Konradi *et coll.*, 2004; Samadi *et coll.*, 2008b; Ouattara *et coll.*, 2011). En accord avec ces observations, l'utilisation d'antagonistes des récepteurs $mGluR_5$, combinée au traitement à la L-DOPA, diminue la sévérité des dyskinésies chez les modèles animaux de la maladie de Parkinson (Dekundy *et coll.*, 2006; Mela *et coll.*, 2007; Rylander *et coll.*, 2009; Morin *et coll.*, 2010; Rylander *et coll.*, 2010a; Bezard *et coll.*, 2014; Morin *et coll.*, 2014b). Ces améliorations sont associées à une diminution des marqueurs des

Rapport-Gratuit.com

dyskinésies tels que FosB/ΔFosB et ERK1/2 (Rylander *et coll.*, 2010a; Morin *et coll.*, 2014b). De plus, l'utilisation d'un antagoniste des récepteurs $mGluR_5$ module la voie de signalisation AKT/GSK3 (Morin *et coll.*, 2014b). En effet, chez les singes dyskinétiques, il a été montré une augmentation de la phosphorylation d'AKT et de GSK3β (Morissette *et coll.*, 2010; Morin *et coll.*, 2014b). L'utilisation d'un antagoniste des récepteurs $mGluR_5$, combinée au traitement à la L-DOPA, normalise les niveaux de posphorylation d'AKT et de GSK3β (Morin *et coll.*, 2014b). Au niveau clinique, l'utilisation d'antagonistes des récepteurs $mGluR_5$, mavoglurant et dipraglurant, est associée à une réduction d'environ 30 % des dyskinésies (Rascol *et coll.*, 2014). Toutefois, deux études récentes sur le mavoglurant n'ont pu observer d'effets positifs. De plus amples études cliniques sont donc nécessaires afin d'établir le potentiel antidyskinétique des antagonistes des récepteurs $mGluR_5$ chez les patients parkinsoniens (Rascol *et coll.*, 2014). L'ensemble des recherches suggère donc que les LID sont associées à une augmentation de la transmission glutamatergique. La mauvaise régulation des récepteurs NMDA et $mGluR_5$ pourrait entraîner une augmentation de l'activation de la voie des MAPK (Figure 1.16, p. 59). En accord avec cette hypothèse, il a été montré que l'inactivation de Ras ou de MEK1/2 diminue les dyskinésies (Santini *et coll.*, 2007; Fasano *et coll.*, 2010; Cerovic *et coll.*, 2015). D'autres études se sont aussi intéressées aux récepteurs glutamatergiques AMPA et soutiennent l'implication d'une transmission glutamatergique augmentée (Calon *et coll.*, 2003; Ouattara *et coll.*, 2010; Silverdale *et coll.*, 2010).

La plasticité synaptique est aussi affectée à la suite de la perte des neurones dopaminergiques. En effet, chez les rongeurs modèles de la maladie de Parkinson, ni la LTP, ni la LTD sont induites (Calabresi *et coll.*, 1992; Centonze *et coll.*, 1999; Picconi *et coll.*, 2003; Picconi *et coll.*, 2008; Paille *et coll.*, 2010; Picconi *et coll.*, 2011). Le traitement à la L-DOPA restaure les deux formes de plasticité (Picconi *et coll.*, 2003; Picconi *et coll.*, 2008; Picconi *et coll.*, 2011). Toutefois, contrairement aux animaux non dyskinétiques, la LTD n'est pas restaurée chez les animaux dyskinétiques (Picconi *et coll.*, 2011). De plus, la dépotentialisation, un processus permettant d'augmenter l'efficacité du stockage d'informations en renversant le renforcement synaptique

provenant de la LTP, est aussi affectée chez les animaux dyskinétiques (Picconi *et coll.*, 2003; Di Filippo *et coll.*, 2008). En accord avec ces études antérieures, il a été démontré récemment que la plasticité bidirectionnelle des neurones épineux du striatum est perdue chez les souris modèles de la maladie de Parkinson (Thiele *et coll.*, 2014). En effet, à la suite de la perte des neurones dopaminergiques, les neurones épineux de la voie directe induisent uniquement la LTD et les neurones épineux de la voie indirecte induisent uniquement la LTP. Cette plasticité bidirectionnelle est restaurée à la suite du traitement à la L-DOPA. Toutefois, dans un état dyskinétique, la plasticité bidirectionnelle est aussi affectée, mais dans le sens opposé à l'état parkinsonien. Chez les animaux dyskinétiques, les neurones épineux de la voie directe expriment seulement la LTP et ceux de la voie indirecte expriment uniquement la LTD (Thiele *et coll.*, 2014).

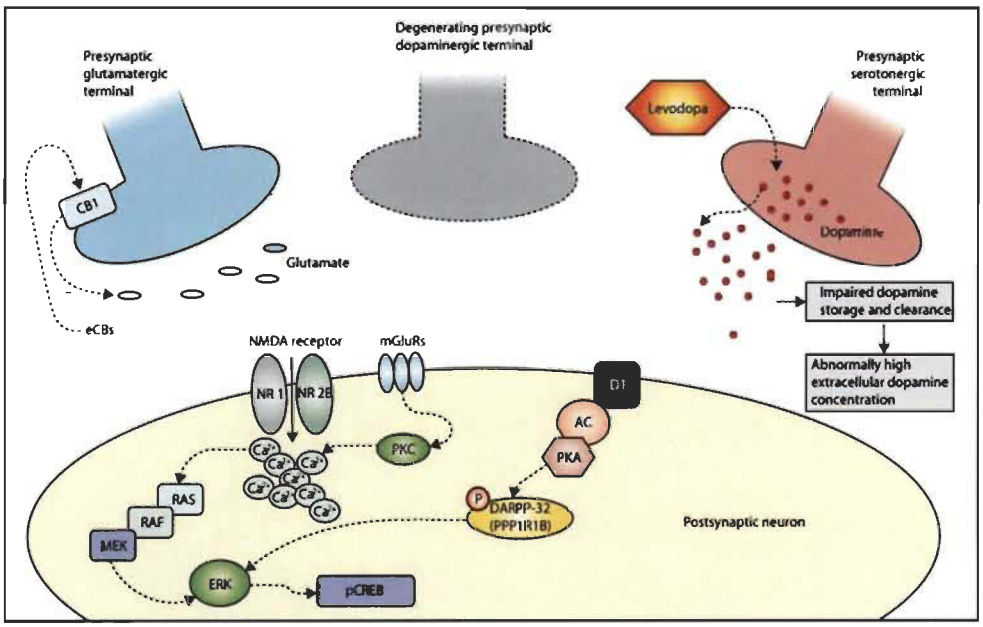


Figure 1.16 Schéma des modifications présynaptiques et postsynaptiques associées aux dyskinésies induites par la L-DOPA. (Tirée de Calabresi *et coll.*, 2007.)

Du fait que le striatum n'intègre pas uniquement des informations des systèmes dopaminergique et glutamatergique, la recherche sur la physiopathologie des dyskinésies s'intéresse aussi aux systèmes : opioïde, noradrénergique, cholinergique, adénosinergique et endocannabinoïde (Cenci et Lundblad, 2006; Calabresi *et coll.*, 2007;

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Morelli *et coll.*, 2007; Cenci et Konradi, 2010). Toutefois, il est bien établi que l'altération du système dopaminergique D_1 et glutamatergique joue un rôle central dans le développement et l'expression des dyskinésies. Une fois que les dyskinésies sont présentes, elles sont difficiles à traiter. Le seul traitement disponible pour diminuer les dyskinésies est l'amantadine. Toutefois, l'efficacité de ce médicament est modeste. Actuellement, la recherche clinique examine donc les effets d'autres médicaments, qui sont entre autres des agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} et des antagonistes des récepteurs $mGluR_5$ et A_{2A} (Poewe *et coll.*, 2012).

1.3.4 Les modèles animaux de la maladie de Parkinson

Les modèles animaux ont pour but de reproduire les changements neuropathologiques et comportementaux de la maladie de Parkinson. Ils sont généralement basés sur l'administration de toxines qui induisent la destruction des neurones dopaminergiques. Parmi les toxines les plus couramment utilisées, on retrouve le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP) et la 6-hydroxydopamine (6-OHDA).

Le MPTP fut découvert vers le début des années 1980 à la suite d'observations de plusieurs toxicomanes démontrant des symptômes moteurs très similaires à ceux de la maladie de Parkinson (Davis *et coll.*, 1979; Langston *et coll.*, 1983). Après investigations, il s'est avéré que le MPTP était produit par inadvertance, durant la synthèse d'un analogue du narcotique mépéridine, le 1-méthyl -4-phényl -4-propionoxypipéridine (MPPP) que les toxicomanes préparaient illicitement et s'injectaient (Davis *et coll.*, 1979; Langston *et coll.*, 1983). La dégénérescence des neurones de la SNc à la suite de l'administration de MPTP, fut confirmée par les études *post-mortem* (Davis *et coll.*, 1979; Langston *et coll.*, 1999). De nos jours, la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc et l'apparition des symptômes moteurs à la suite d'injections de MPTP ont été confirmées chez plusieurs espèces animales. Le singe et la souris MPTP sont les deux modèles animaux les plus couramment utilisés. Pour des raisons inconnues, le rat est résistant à l'injection de

MPTP. À la suite de l'injection systémique de MPTP, celui-ci passe la barrière hémato-encéphalique où il est converti en sa forme toxique, le 1-méthyl -4-pyridinium (MPP^+) par les MAO des astrocytes. Le MPP^+ relâché dans l'espace extracellulaire sera ensuite transporté à l'intérieur des neurones dopaminergiques par les DAT. Une fois à l'intérieur des neurones, le MPP^+ induira la mort des neurones en inhibant le complexe I de la chaîne mitochondriale, ce qui provoque la production de stress oxydatif nocif. Comme dans la maladie de Parkinson, d'autres structures peuvent être affectées par l'injection de MPTP, comme le locus coeruleus ou l'aire tegmentale ventrale. Contrairement à la souris, l'utilisation du singe est limitée par la nécessité d'installations adéquates et les frais coûteux qu'il génère. Chez la souris, il est possible d'utiliser différentes voies d'administration (intrapéritonéale et sous-cutanée) ainsi que différentes doses de MPTP pour induire différents degrés de destruction des neurones. Il est aussi à mentionner que la souche, le sexe, l'âge et le poids de l'animal influencent la sensibilité au MPTP et la reproductivité de la lésion (Blum *et coll.*, 2001; Jakowec et Petzinger, 2004; Bove *et coll.*, 2005; Jackson-Lewis et Przedborski, 2007; Blandini et Armentero, 2012; Blesa *et coll.*, 2012).

La 6-OHDA est un analogue hydroxylé de la dopamine. Les effets toxiques de la 6-OHDA furent découverts en 1963 lorsque Porter *et coll.* démontrèrent que la 6-OHDA était capable d'induire une perte de noradrénaline dans les nerfs sympathiques du cœur (Porter *et coll.*, 1963). Quelques années plus tard, en 1968, Ungersted démontra, chez le rat, que l'injection de 6-OHDA dans la SNc induisait la mort antérograde des neurones dopaminergiques, générant ainsi le premier modèle animal de la maladie de Parkinson : le rat 6-OHDA (Ungerstedt, 1968). De nos jours, la 6-OHDA est la toxine par excellence pour modéliser la maladie de Parkinson chez le rat. Il est possible d'injecter la 6-OHDA à des souris, mais compte tenu du haut taux de mortalité qui lui est associé, ce modèle reste peu utilisé. La 6-OHDA ne passe pas la barrière hémato-encéphalique. Ainsi, pour induire la dégénérescence des neurones dopaminergiques, elle doit être administrée directement dans le cerveau. Elle peut être injectée dans le striatum, la SNc et le faisceau médian du télencéphale (MFB, pour medial forebrain bundle) par où passent les axones dopaminergiques. Lorsque la 6-OHDA est injectée dans la SNc ou le MFB, elle induit

une destruction massive et rapide des neurones dopaminergiques. Lorsque la 6-OHDA est injectée de manière bilatérale, c'est-à-dire dans les deux hémisphères cérébraux, la dégénérescence excessive des neurones induit une forte mortalité chez les animaux. Par conséquent, la 6-OHDA est injectée de manière unilatérale et l'hémisphère cérébral controlatéral à la lésion est utilisé comme contrôle. Au niveau comportemental, la lésion unilatérale induit un comportement rotatoire chez le rat à la suite de l'injection de drogues stimulant le système dopaminergique telles que l'amphétamine ou l'apomorphine. Cette caractéristique est largement utilisée pour évaluer les niveaux de dégénérescence des neurones dopaminergiques. Contrairement à l'injection dans la SNc ou le MFB, l'injection de la 6-OHDA dans le striatum induit une perte rétrograde progressive et moins marquée des neurones dopaminergiques. Comparativement à l'injection dans le MFB, l'injection dans le striatum n'induit pas une destruction uniforme de la voie nigro-striée (Winkler *et coll.*, 2002). L'injection de 6-OHDA offre une très bonne reproductibilité en regard de la lésion obtenue. La polyvalence des sites d'injection permet aux chercheurs d'utiliser le modèle animal de 6-OHDA en fonction des besoins de leurs études. Par exemple, pour modéliser les dyskinésies chez les rats, l'injection dans le MFB sera utilisée préférentiellement à l'injection dans le striatum du fait que la perte massive et uniforme des neurones dopaminergiques est un facteur déterminant dans l'apparition des dyskinésies (Winkler *et coll.*, 2002). Lorsqu'injectée dans le cerveau, la 6-OHDA sera transportée à l'intérieur des neurones dopaminergiques par le DAT. Une fois à l'intérieur, elle s'auto-oxyde, induisant la production de dérivés réactifs de l'oxygène, menant au stress oxydatif et ainsi à la mort des neurones. La 6-OHDA peut aussi induire la mort des neurones en s'accumulant dans la mitochondrie, où elle bloque le complexe I de la chaîne respiratoire. En plus d'avoir une forte affinité pour le DAT, la 6-OHDA possède une forte affinité pour le transporteur à la noradrénaline. Par conséquent, elle peut rentrer dans les neurones noradrénergiques et causer leur mort. Afin de protéger le système noradrénergique, il est important d'utiliser un inhibiteur sélectif de la recapture de la noradrénaline, comme la désipramine, avec l'injection de 6-OHDA (Blum *et coll.*, 2001; Deumens *et coll.*, 2002; Bove *et coll.*, 2005; Blandini *et coll.*, 2008; Blandini et Armentero, 2012; Blesa *et coll.*, 2012).

En raison des considérations techniques liées à l'utilisation du singe MPTP, les travaux de recherche présentés dans cet ouvrage ont été effectués chez les rongeurs : les souris MPTP et les rats 6-OHDA. Chez les rongeurs, l'injection de la toxine induit au niveau comportemental des symptômes semblables à ceux de la maladie de Parkinson, comme l'akinésie, la bradykinésie, la rigidité musculaire et les troubles de la posture (Sedelis *et coll.*, 2001; Cenci *et coll.*, 2002; Deumens *et coll.*, 2002).

1.3.5 Modèle animal des dyskinésies induites par la L-DOPA : le rat 6-OHDA

Depuis une quinzaine d'années, le rat 6-OHDA est largement utilisé pour modéliser les dyskinésies chez les animaux. Comparativement aux singes MPTP et aux souris 6-OHDA, chez qui il est aussi possible d'induire des dyskinésies, le modèle de rat 6-OHDA offre des procédures techniques et des analyses comportementales facilitées. Comme nous l'avons vu précédemment, deux facteurs sont essentiels au développement des dyskinésies : la perte massive des neurones dopaminergiques et la prise répétée de la L-DOPA. Ainsi, pour modéliser les dyskinésies, les animaux sont tout d'abord sujets à une sévère dégénérescence des neurones dopaminergiques induite par l'injection unilatérale de 6-OHDA dans le MFB, puis traités de manière répétée avec la L-DOPA. Comme chez les patients parkinsoniens, le rat développe des mouvements anormaux involontaires de type pic-dose dyskinésies, incluant des mouvements dystoniques et hyperkinétiques qui interfèrent avec les activités motrices physiologiques. L'apparition des mouvements involontaires en fonction du temps est semblable à l'apparition des dyskinésies de type pic-dose observées chez les patients parkinsoniens. Chez le rat 6-OHDA, les mouvements anormaux involontaires sont diminués par des traitements antidyskinétiques ayant une efficacité chez les singes et les patients parkinsoniens. Les changements moléculaires, observés chez les rats 6-OHDA traités à la L-DOPA, sont semblables à ceux retrouvés chez les singes et les patients parkinsoniens ayant des complications motrices. Les rats développent quatre types de mouvements anormaux involontaires à la suite de l'administration répétée de la L-DOPA : orolinguale, axial, de la patte antérieure controlatérale à la lésion et locomoteur. Ces mouvements involontaires sont analysés en fonction d'une échelle de

notation permettant d'évaluer la distribution topographique, la fréquence, la persistance et l'amplitude des dyskinésies. Il est toutefois à mentionner que les mouvements involontaires de type locomoteur ne sont pas des caractéristiques des LID et sont donc évalués séparément des autres mouvements involontaires. Le modèle de rat 6-OHDA est couramment utilisé, en préclinique, afin de tester l'efficacité antidyskinétiques des traitements avant qu'ils soient utilisés chez les singes et les patients parkinsoniens (Cenci *et coll.*, 2002; Cenci et Ohlin, 2009; Morin *et coll.*, 2014a).

CHAPITRE II

HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

Comme décrit dans l'introduction, la transmission synaptique cortico-striatale permettant de transmettre les informations nécessaires à la réalisation d'activités motrices est induite par l'activation des récepteurs glutamatergiques et est modulée par l'activation des récepteurs dopaminergiques. Dans ce contexte, les molécules des voies de signalisation glutamatergique et dopaminergique, ainsi que celles qui sont autant activées par la dopamine que par le glutamate, sont susceptibles de jouer un rôle dans la réalisation d'activités motrices. La recherche *in vitro* ou *ex vivo* permet de mettre en évidence des schémas d'interactions moléculaires (Figure 2.1, p. 66). Toutefois, le rôle exact de ces molécules et les interactions qu'elles ont, au niveau comportemental (*in vivo*), sont encore loin d'être élucidés. De plus, comparativement aux effets de la dopamine sur le contrôle du mouvement, les effets de la dopamine sur l'apprentissage moteur sont encore peu compris. Dans ce contexte, les travaux de recherche présentés dans cet ouvrage se sont intéressés au rôle de trois protéines, PKA, les calpaïnes et cdk5, ainsi qu'à l'implication de l'afférence dopaminergique, au niveau du striatum, dans la réalisation d'activités motrices.

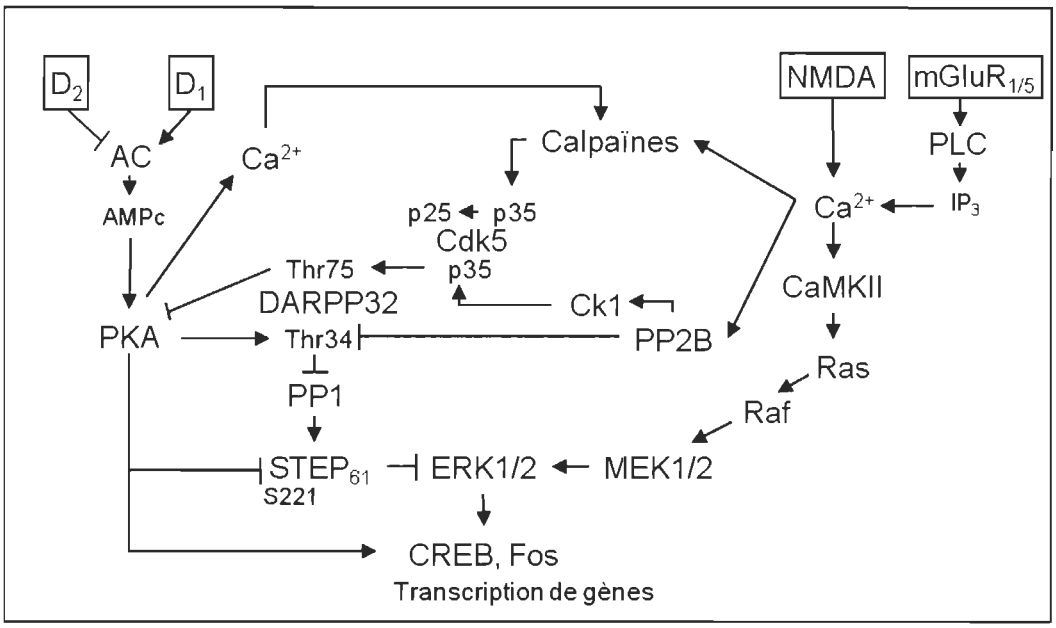


Figure 2.1 Schéma des interactions moléculaires au niveau du striatum. (Adaptée de Shiflett et Balleine, 2011b; Lebel *et coll.*, 2010.)

2.1 Est-ce que PKA par son action sur $STEP_{61}$ est impliquée dans l'apprentissage moteur?

Au niveau moléculaire, PKA participe à l'induction de la plasticité synaptique (Abel *et coll.*, 1997; Calabresi *et coll.*, 2000; Kandel, 2001; Centonze *et coll.*, 2003; Kandel, 2012). Au niveau comportemental, l'inhibition génétique ou pharmacologique de PKA induit des troubles de mémoire spatiale et de mémoire associée à la peur chez le rongeur (Abel *et coll.*, 1997; Schafe et LeDoux, 2000; Sharifzadeh *et coll.*, 2005; Isiegas *et coll.*, 2006). *In vitro*, il a été montré que PKA phosphoryle $STEP_{61}$ sur la sérine 221, ce qui diminue l'activité de $STEP_{61}$ (Paul *et coll.*, 2000). STEP est aussi impliquée dans la mémoire spatiale et la mémoire associée à la peur (Paul *et coll.*, 2007; Venkitaramani *et coll.*, 2011; Olausson *et coll.*, 2012) Le rôle actuel de STEP, proposé par la littérature, est que son activation s'opposerait au renforcement synaptique et par conséquent altèrerait la mémoire (Pelkey *et coll.*, 2002; Paul *et coll.*, 2007; Venkitaramani *et coll.*, 2011; Olausson *et coll.*, 2012). Bien que ces études aient démontré l'implication de PKA et de STEP dans la mémoire spatiale et dans la mémoire associée à la peur, le rôle de PKA et son influence sur STEP dans l'apprentissage moteur sont encore inconnus.

À la lumière de ces évidences, nous avons émis l'hypothèse que l'activation de PKA, au niveau du striatum dorsal, participait aux processus moléculaires permettant l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice complexe, en diminuant l'activité de $STEP_{61}$. Nous avons donc examiné, au niveau du striatum dorsal de souris, l'effet de l'inhibition de PKA sur l'apprentissage moteur et sur l'activation de $STEP_{61}$. De plus, la capacité motrice chez les souris a aussi été étudiée. Les résultats de cette étude sont présentés dans le premier article de cet ouvrage, au chapitre III.

2.2 Est-ce que l'innervation dopaminergique est nécessaire lors de l'apprentissage moteur?

Au niveau moléculaire, il a été démontré que la dopamine participe à l'induction de la plasticité cortico-striatale (Calabresi *et coll.*, 1992; Centonze *et coll.*, 1999; Shen *et coll.*, 2008). Au niveau comportemental, plusieurs études ont mis en évidence que chez les patients parkinsoniens, l'apprentissage de séquences répétées est affecté (Doyon *et coll.*, 1997; Doyon *et coll.*, 1998; Krebs *et coll.*, 2001; Carbon et Eidelberg, 2006; Deroost *et coll.*, 2006; Siegert *et coll.*, 2006; Smith et McDowall, 2006; Muslimovic *et coll.*, 2007; Gamble *et coll.*, 2014). Toutefois, un déficit d'apprentissage n'est pas toujours observé (Agostino *et coll.*, 1996; Smith *et coll.*, 2001b; Werheid *et coll.*, 2003; Deroost *et coll.*, 2006; Pendt *et coll.*, 2011). De plus, seulement quelques études chez les modèles animaux ont étudié l'implication de la dopamine dans l'apprentissage moteur (Ogura *et coll.*, 2005; Beeler *et coll.*, 2010; Eckart *et coll.*, 2010; Gambhir *et coll.*, 2011). Dans ce contexte, de plus amples études sont nécessaires à la compréhension des effets de la dopamine sur l'apprentissage moteur. De plus, savoir jusqu'à quel point l'innervation dopaminergique est nécessaire pour l'apprentissage moteur n'est pas défini. Ainsi, nous avons étudié quels sont les niveaux de dégénérescence des terminaisons nerveuses dopaminergiques qui affectent l'apprentissage moteur. Pour cela, nous avons induit différents niveaux de déplétion dopaminergique chez des souris, par l'utilisation de la neurotoxine MPTP, et nous avons vérifié l'intégrité de leurs processus d'apprentissage et de mémorisation lors de réalisation d'une tâche motrice complexe. La dopamine étant importante pour le contrôle moteur, cette étude inclut aussi l'évaluation

Rapport-Gratuit.com

de la capacité motrice chez les souris. Les résultats de cette étude sont présentés dans le deuxième article de cet ouvrage, au chapitre IV.

2.3 Est-ce que les calpaïnes et cdk5 sont impliquées dans le contrôle du mouvement?

Au niveau du cerveau *post-mortem* de patients parkinsoniens, il a été observé que la voie calpaïnes/cdk5/p25 est activée (Mouatt-Prigent *et coll.*, 1996; Crocker *et coll.*, 2003; Alvira *et coll.*, 2008). Chez les rongeurs modèles de la maladie de Parkinson, l'inhibition des calpaïnes ou de cdk5 prévient la mort des neurones dopaminergiques et empêche le développement de troubles moteurs (Crocker *et coll.*, 2003; Smith *et coll.*, 2003; Smith *et coll.*, 2006; Grant *et coll.*, 2009). Bien que ces dernières études démontrent que les calpaïnes et cdk5 sont impliquées dans la mort des neurones dopaminergiques, à savoir si les calpaïnes et cdk5, présentes au niveau du striatum, jouent un rôle dans le contrôle moteur n'est pas établi. Le contrôle du mouvement au niveau du striatum est régi par la transmission dopaminergique et glutamatergique. Des études ont mis en évidence que les afférences dopaminergique et glutamatergique influencent l'activité et/ou l'expression des calpaïnes et de cdk5 au niveau du striatum (Bibb *et coll.*, 2001; Liu *et coll.*, 2002; Cyr *et coll.*, 2003; Meyer *et coll.*, 2008; Mlewski *et coll.*, 2008; Lebel *et coll.*, 2009; Lebel et Cyr, 2011; Baudry *et coll.*, 2013). De plus, la perte du contrôle moteur observé dans les LID est associée à une augmentation des transmissions dopaminergique et glutamatergique (Calabresi *et coll.*, 2007; Cenci et Konradi, 2010; Morin et Di Paolo, 2014) et des évidences indirectes supportent le rôle de cdk5 et des protéines calcium-dépendantes dans l'apparition des LID (Konradi *et coll.*, 2004; Aubert *et coll.*, 2005; Blandini *et coll.*, 2009; Schuster *et coll.*, 2009; Kobylecki *et coll.*, 2010). Par exemple, les LID sont aussi associées à une augmentation de l'expression de ΔFosB (Andersson *et coll.*, 1999; Pavon *et coll.*, 2006; Lindgren *et coll.*, 2011), dont le gène de cdk5 est une des cibles (Bibb *et coll.*, 1999). L'expression des gènes impliqués dans la signalisation calcium-dépendante est augmentée chez les rats 6-OHDA en réponse à la L-DOPA (Konradi *et coll.*, 2004). Les dyskinésies sont

diminuées lorsque les canaux calciques ou les récepteurs AMPA perméables au calcium sont inhibés (Schuster *et coll.*, 2009; Kobylecki *et coll.*, 2010).

L'ensemble de ces évidences nous a permis d'émettre l'hypothèse que les calpaïnes et cdk5 présentes au niveau du striatum pourraient être impliquées dans le contrôle moteur. Afin de répondre à cet objectif, l'implication des calpaïnes et de cdk5 a été étudiée dans le contexte des LID. Pour cela, nous avons utilisé le rat 6-OHDA, traité avec la L-DOPA, en combinaison avec une infusion en continu dans le striatum dorsal d'un inhibiteur des calpaïnes ou d'un inhibiteur de cdk5. Les résultats de cette étude sont présentés dans le troisième article de cet ouvrage, au chapitre V.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

CHAPITRE III

REGULATION OF TYROSINE PHOSPHATASE STEP61 BY PROTEIN KINASE A DURING MOTOR SKILL LEARNING IN MICE

Le contenu de ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans la revue « PLoS One ». La référence de cet article est la suivante :

Chagniel L., Bergeron Y., Bureau G., Massicotte G. et Cyr M. (2014) « Regulation of tyrosine phosphatase STEP61 by protein kinase A during motor skill learning in mice », PLoS One 9: e86988.
DOI:10.1371/journal.pone.0086988

3.1 Contribution des auteurs

Les travaux présentés ont été réalisés par Laure Chagniel, sous la supervision de son directeur de recherche, le Dr Michel Cyr. La création du projet et des expériences ont été réalisées par Laure Chagniel sous l'expertise du Dr Michel Cyr. Les expériences ont été réalisées par Laure Chagniel avec l'aide technique pour les expériences *in vivo* de Yan Bergeron (étudiant au doctorat) et Geneviève Bureau (auxiliaire de recherche). Le matériel et les produits ont été fournis par les laboratoires des Drs Guy Massicotte et Michel Cyr. L'analyse et l'interprétation des résultats ont été réalisées par Laure Chagniel sous la supervision des Drs Guy Massicotte et Michel Cyr. Laure Chagniel a écrit le manuscrit en collaboration avec le Dr Michel Cyr.

3.2 Résumé

Récemment, la protéine STEP et sa protéine régulatrice, PKA, ont été suspectées pour jouer un rôle dans les mécanismes intracellulaires de la mémoire spatiale et de la mémoire associée au conditionnement par la peur. Cependant, leur contribution à

l'apprentissage et à la mémorisation des habiletés motrices est totalement inconnue. Dans cette étude, nous avons investigué le rôle de STEP et de PKA durant l'apprentissage des habiletés motrices associées au rotarod en accélération. Nous avons observé que les niveaux de phosphorylation de $STEP_{61}$ sur la sérine 221, un site directement régulé par PKA, sont différemment modulés dans l'hippocampe, le cortex moteur et le striatum, lors de l'apprentissage de la tâche motrice sur le rotarod. Dans une deuxième série d'expériences, nous avons inhibé PKA de manière pharmacologique, par l'injection du Rp-cAMPS, directement dans le striatum dorsal des souris, et ce, juste avant les entraînements sur le rotarod. La phosphorylation de STEP par PKA prévient la déphosphorylation des substrats de STEP tandis que l'inhibition de PKA favorise l'activation de STEP. L'inhibition de PKA au niveau du striatum altère, de manière dose dépendante, les performances des souris sur le rotarod. Les habiletés motrices générales ont été testées et les résultats montrent que le contrôle moteur est intact chez les souris traitées avec une dose de 5 et de 20 µg de Rp-cAMPS, mais pas chez les souris traitées avec la plus forte dose de 40 µg. Ces résultats suggèrent que l'apprentissage moteur est affecté de manière sélective par les plus faibles doses inhibant PKA. De plus, l'inhibition de PKA, au niveau du striatum, réduit les niveaux de phosphorylation de $STEP_{61}$ sur la sérine 221. Nos résultats supportent donc l'idée que l'inactivation de $STEP_{61}$ par PKA fait partie du processus moléculaire associé à l'apprentissage des habiletés motrices.

3.3 Premier article scientifique

Regulation of Tyrosine Phosphatase STEP61 by Protein Kinase A During Motor Skill Learning in Mice

Laure Chagniel, Yan Bergeron, Geneviève Bureau, Guy Massicotte and Michel Cyr

Groupe de recherche en Neurosciences, Département de biologie médicale,
Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada

Corresponding Author:
Michel Cyr, PhD
Neuroscience Research Group
Department of Medical Biology
Université du Québec à Trois-Rivières
3351, boul des Forges, C.P. 500
Trois-Rivières (QC) G9A 5H7
Canada
Tel: 819-376-5011 Ext. 3301
Fax: 819-376-5084
cyrmi@uqtr.ca

Abstract

Recently, striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) and its upstream regulator protein kinase A (PKA) have been suspected to play a role in the intracellular mechanisms of fear conditioning and spatial memory. However, whether they contribute to the learning and memory of motor skills is totally unknown. In this study, we have investigated the role of STEP and PKA activities during motor skill learning associated with the accelerating rotarod task. We observed that learning the rotarod task differentially modulated the levels of phosphorylated STEP61 at serine 221, a site directly regulated by PKA, in the hippocampus, motor cortex and striatum. In a second set of experiments, we have pharmacologically inhibited PKA by the injection of Rp-cAMPS directly into the dorsal striatum of mice before rotarod trainings. PKA phosphorylation of STEP prevents the dephosphorylation of STEP substrates, whereas inhibition of PKA promotes STEP activity. Striatal PKA inhibitions dose-dependently impaired mice performances on the accelerating rotarod task. General motor abilities testing revealed an intact motor control in mice treated with 5 and 20 μg of Rp-cAMPS, but not at the highest dose of 40 μg. This suggested that motor learning was selectively affected by PKA inhibition at lower doses. Most notably, striatal inhibition of PKA reduced the levels of phosphorylated STEP61 at serine 221. Our data support that inactivation of STEP61 by the PKA activity is part of the molecular process associated with motor skill learning.

Introduction

Motor skill learning refers to the process by which a complex movement sequence is encoded in the brain. Once memorised, a common task is performed without effort and is quickly executed despite a prolonged period of time without practice. The learning process associated with the acquisition of motor skills involves two stages (fast and slow learning stages) and brain areas including striatum, cerebellum, hippocampus and motor cortices regions [1,2]. Undeniably, motor learning processes are mediated by specific brain molecular changes. For instance, it has been demonstrated that motor skill learning induces novel expressions of important genes and proteins in the striatum and motor cortex [3-7]. However, only few studies have investigated motor learning at the level of proteins activity [6,8-11]. Additional investigations are definitely required to understand the molecular determinant of this type of learning.

Striatal-enriched protein tyrosine phosphatase of 61 kDa (STEP61) is brain-specific. It is expressed in brain area involved in motor learning that include the striatum, hippocampus and cortex [12-14]. It has been demonstrated in vitro that STEP61 activity is negatively regulated by protein kinase A (PKA). For instance, it is well accepted that PKA phosphorylation at the conserved serine residue 221 (Ser221) of STEP61 induced a reduction in STEP61 activity [15]. PKA is a ubiquitously expressed kinase that has been documented to play an important role in the synaptic plasticity of learning and memory [16,17]. Behavioral experiments demonstrate that intra-amygdala or intra-hippocampal pharmacological inhibition of PKA interfere respectively with fear conditioning consolidation [18] and spatial memory in a Morris water maze [19]. Transgenic mice expressing a dominant negative form of the regulatory subunit of PKA exhibit impaired spatial memory and long term memory for contextual fear conditioning [20,21]. It has also been demonstrated that STEP contributes to fear and spatial memories through the regulation of neuronal signaling [22-24]. Although STEP and PKA are implicated in spatial memory and fear conditioning consolidation; their role in motor skill learning is still uncovered.

The present study investigates the involvement of STEP and its relationship with PKA in motor skill learning processes associated with the accelerating rotarod task in mice. Our finding reveals that the levels of phosphorylated STEP61 are differentially modulated in the brain of mice during motor skill learning. Furthermore, in the dorsal striatum structure, we demonstrate that PKA activity influences the phosphorylation levels of STEP61 at Ser221 residue, and directly contributes to the acquisition of a complex motor task.

Materials and Methods

Ethics Statement

All experimental procedures were reviewed and approved by the UQTR Committee on Animal Care (Protocol Number: 2012-MIC.17), and were in accordance with ethical standards of the Canadian Council on Animal Care. Full efforts were made to minimize suffering and discomfort of the animals.

Animals

Male C57bl/6j mice (12 weeks-old) were obtained from Charles River (St-Constant, QC, Canada). Mice were housed in a climate-controlled room (14-h light/10-h dark cycle) with food and water available *ad libitum*.

Experimental Design

In order to determine the level of STEP phosphorylation during motor skill learning a cohort of drug naïve mice were trained on the accelerating rotarod and sacrificed immediately after the end of the last trial at each day of training (**Figure 1A**). Brain of trained (n=4 mice/training day) and untrained mice (n=4) were removed, carefully dissected, rapidly frozen on dried ice and preserved at -80°C until western blot analysis To examine the role of PKA, Rp-cAMPS or vehicle (saline) were injected

directly into both hemisphere of the dorsal striatum, 15 minutes prior to the first trial of each training days, in an independent cohort of mice (**Figure 1B**). The following group of mice were included: (1) vehicle-treated mice (control, *n*=7), (2) Rp-cAMPS-treated mice at dose 5 μg/side (*n*=4), (3) Rp-cAMPS-treated mice at dose 20 μg/side (*n*=4) and (4) Rp-cAMPS-treated mice at dose 40 μg/side (*n*=4). At the last rotarod training session, the pole, wire suspension and stepping tests were performed in all mice to test their motor abilities. To determine whether PKA mediate STEP phosphorylation in the striatum of trained mice, levels of STEP phosphorylation after Rp-cAMPS injections were measured in a third independent cohort of mice after two days of training. Mice received intrastriatal injections of vehicle (*n*=4) or 20 μg/side of Rp-cAMPS (*n*=4), 15 min prior to the first trial of each rotarod training day. Mice were sacrificed immediately after the last trial of the second training day. Brain were removed, rapidly frozen on dried ice and preserved at -80°C. A fourth cohort of mice was used to assess motor coordination on the rotarod following PKA inhibition (**Figure 1C**). Drug-naïve mice were trained on the accelerating rotarod during four consecutive days where performances reached a plateau, meaning the mice had fully learned the task. The day after, at their fifth day of training, mice received vehicle (*n*=4), 20 μg/side (*n*=4) or 40 μg/side (*n*=4) of Rp-cAMPS directly into the dorsal striatum, 15 minutes prior to the first rotarod trial.

Pharmacological Treatments

The PKA inhibitor Rp-cAMPS was purchased from Tocris Bioscience (Bristol, United Kingdom). Rp-cAMPS or vehicle (saline) was administered bilaterally into the dorsal striatum, 15 min before the first rotarod trial. Rp-cAMPS at the dose of 5, 20 or 40 μg in 1 μl/site (dissolved in saline) and vehicle were injected by microinjection at a constant rate of 0.5 μl/min. Injections were performed under the control of a micro injector pump (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA). Drug doses were chosen based on previous studies [25,26]. For the microinjections, a bilateral 26 gauge guide cannula (Plastics One, Roanoke, VA, USA) was implanted in mice under anesthesia with isoflurane, 7 days before the beginning of treatments. The precise localisation of

the gauge guide cannula in the dorsal striatum was made using a stereotaxic apparatus. The coordinates were AP: +0.86 mm; ML: ±1.50 mm; DV: -3.25 mm relative to Bregma, according to the atlas of Paxinos and Franklin [27].

Rotarod Test

The accelerating rotarod apparatus (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA) was consisting of a suspended rod that accelerates at a constant rate, from 4 to 40 rpm in 300 s. At each day of training, mice were trained on the rotarod throughout a session of 10 trials. A trial ends when the mouse falls off the rod or after reaching 300 s. Time was recorded for each trial. A resting time of 180 s was allowed between each trial.

Motor Ability Tests

General motor behaviour of mice was evaluated using the wire suspension, pole and stepping tests as we described previously [28,29]. At the fourth day of rotarod training, animals were pre-trained three times to ensure the tasks were fully learned. Afterward, Rp-cAMPS or vehicle solutions were injected. 15 min later, motor and rotarod tests were performed (**Figure 1B**). Briefly, the wire suspension test consisted to hang the animal with its paws on the middle of a wire fixed horizontally between two platforms (length: 80 cm, height: 25 cm). The time needed to reach one platform was recorded. For the pole test, mice were placed on the top of a pole (length: 50 cm, diameter: 1.5 cm), and the time taken to turn down and reach the floor was recorded. The maximal time allowed for the wire suspension and pole test was set at 120 s. The stepping test consists to lift up the animal's hind legs by pulling up the tail, leaving only the forepaws on the table. Then, the experimenter pulled the animal backward by the tail (1 m in 5-6 s), until the other edge of the table was reached. Each trial was recorded using a video camera, and for each the number of adjusting steps for both forepaws was calculated.

Rapport-Gratuit.com

Western Blotting

Immediately after each day of training, brains of drug naïve mice were removed and anterior cortex, striatum and hippocampus were carefully dissected, rapidly frozen on dried ice and preserved at -80°C until protein extraction. To measure STEP expression after Rp-cAMPS injection, a micro punch tissue was performed in both hemispheres of the striatum at the injection site [30]. To this end, a 1 mm thick slice of frozen brain containing the striatum (Bregma from 1.10 mm to 0.10 mm) was cut using Leica CM3050 cryostat (Leica Biosystems, Concord, ON, Canada). Bilateral punches were then collected from the dorsal striatum using a 2 mm punch (Stoelting, Wood Dale, IL, USA). All tissue samples were homogenized in RIPA buffer containing protease and phosphatase inhibitors cocktails (Roche, Indianapolis, IN, USA). Protein concentrations were quantified by Bradford assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). 40 μg of every protein sample was loaded on 10% SDS-PAGE gel electrophoresis and transferred on nitrocellulose membranes. The membranes were blocked in 5% BSA/TBS-Tween 0.1% for 1 hour at room temperature and incubated overnight at 4°C with the primary antibodies. The following primary antibodies were used: rabbit polyclonal antibody against phospho-STEP61 (Ser221) (1:1000; Millipore, Billerica, MA, USA), mouse monoclonal antibody against STEP (1:2000; Upstate-Millipore), rabbit polyclonal antibody against phospho-CREB Ser133 (1:1000; Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA) and rabbit polyclonal antibody against CREB (1:1000; Cell Signaling). Specificity of phospho-STEP and STEP antibodies was examined (**Figure S1A, B**). The membranes were washed in TBS-Tween 0.1% and incubated with appropriate horseradish peroxidise conjugated secondary antibody (1:5000; Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA). Mouse monoclonal antibody against GAPDH (1:10000; Abcam, Cambridge, MA, USA) served as a loading control. Chemiluminescence reactions (SuperSignal West Femto chemiluminescence kit, Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) were utilized to visualize proteins. Densitometric analyses were performed using the Vision work LS software (UVP Bioimaging, Upland, CA, USA) and data were expressed as relative optical density.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using the GraphPad Prism software (version 5.0, Graph Pad Software, San Diego, CA, USA). Data were subjected, as appropriate, to an unpaired t-test, one-way ANOVA followed by the Tukey *post hoc* test. Data were reported as the mean ± S.E.M. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Modulation of STEP61 Phosphorylation during Rotarod Training

As we and other have previously documented, drug naïve mice rapidly improved their performances on the rotarod task at the first day of training whereas at the second day, their scores improved slowly and reached a plateau at the third day (**Figure 2A**) [6]. In these trained mice, we investigated whether motor skill learning influenced STEP phosphorylation at Ser221 for STEP61. To this end, levels of phosphorylated STEP61 at Ser221 were measured, using western blot technique, at each training day (day 1, 2, 3 and 4). The brain regions considered were chosen based on their known implication in motor learning as well as the presence of STEP expression [12]. Note that the selectivity of STEP antibodies were evaluated (**Figure S1A**). In the hippocampus, we observed a decrease of 37% in p-STEP61 levels at the first day of training compared to untrained control mice. (**Figure 2B**; $F_{(4;19)} = 3.689$; $P < 0.05$; one-way ANOVA followed by the Tukey post-hoc). In the anterior cortex, levels of p-STEP61 were significantly increased by 54% at the third day (**Figure 2C**; $F_{(4;19)} = 4.597$; $P < 0.05$). In the striatum, a significant increase of 54% in the levels of p-STEP61 were observed at second day of training compared to untrained control mice (**Figure 2D**; $F_{(4;19)} = 10.150$; $P < 0.001$) Notably, levels of total STEP61 protein were unchanged during rotarod learning.

Striatal PKA Inhibition Impaired Rotarod Learning

It has been demonstrated that STEP61 is phosphorylated by PKA at Ser221 in striatal homogenates or in striatal slices [15]. Our result that phosphorylation of STEP61

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

at Ser221 is augmented in the striatum during rotarod training (**Figure 2C**) suggests an increased activation of PKA in this structure. To investigate whether striatal PKA activity play a role in motor skill learning, we injected directly into the dorsal striatum of mice a competitive inhibitor of PKA, Rp-cAMPS, 15 min before each accelerating rotarod training day. Three different doses of Rp-cAMPS were used: 5, 20 and 40 μg/side. We observed that Rp-cAMPS dose-dependently impaired rotarod performances across training days (**Figure 3A**). Statistical analysis using one-way ANOVA followed by the post hoc Tukey test was performed on the average of the two first trials (**Figure 3B**) and two last trials (**Figure 3C**) of every training session. Similar rotarod performances were observed in mice treated with either 5 μg/side of Rp-cAMPS or vehicle (**Figure 3B, C**). In contrast, mice treated with 20 or 40 μg/side of Rp-cAMPS demonstrated lower performances across training day compared to vehicle-treated mice (**Figure 3B**: day 1: $F_{(3;26)} = 0.358$, $P > 0.05$, day 2: $F_{(3;26)} = 8.283$, $P < 0.001$, day 3: $F_{(3;18)} = 3.991$, $P < 0.05$, day 4: $F_{(3;18)} = 3.795$, $P < 0.05$; **Figure 3C**: day 1: $F_{(3;26)} = 2.495$, $P > 0.05$, day 2: $F_{(3;26)} = 7.882$, $P < 0.001$, day 3: $F_{(3;18)} = 10.60$, $P < 0.001$, day 4: $F_{(3;18)} = 5.600$, $P < 0.01$). Inhibition of PKA with 20 μg/side of Rp-cAMPS resulted in reduced performances only at the second and third training days whereas the dose of 40 μg/side was associated with robust impaired performances at day 2, 3 and 4.

Integrity of Motor Abilities during Striatal PKA Inhibition

To verify that the effects of PKA inhibition on rotarod performances are not due to impaired general motor abilities of mice, we performed three well recognized motor execution tests: the pole, wire suspension and stepping tests. The pole test estimated bradykinesia and motor coordination; the wire suspension test analyzed the coordination and muscle strength of mice and the stepping test evaluated akinesia [31-34]. In order to remove the learning variables associated with these tests, mice were pre-trained. We tested motor capacities of mice after inhibition of PKA at the fourth day. No significant difference between vehicle-treated mice and mice treated with 5 or 20 μg/side of Rp-cAMPS was observed on these three tests (**Figure 4A-C**; ANOVA). Interestingly, motor capacity of mice treated with 40 μg/side was impaired in all tests

(pole test: $F_{(3;18)} = 3.944$, $P < 0.05$, wire suspension test: $F_{(3;18)} = 5.574$, $P < 0.01$, stepping test: $F_{(3;18)} = 4.174$, $P < 0.05$). Moreover, we investigated directly the effect of PKA inhibition on rotarod motor coordination. To this end, drug naïve mice were trained on the accelerating rotarod during 4 consecutive days. At the fifth training day, we injected 20 or 40 μg/side of Rp-cAMPS in the dorsal striatum and observed that PKA inhibition at both doses had no statistically significant effect on rotarod performances (**Figure 4D**, ANOVA; day 5: $F_{(2;11)} = 0.658$; $P > 0.05$).

PKA Activity Altered Striatal STEP61 Phosphorylation

Next, we investigated whether STEP61 phosphorylation in the striatum of trained mice is PKA dependant. An independent cohort of mice was trained on the accelerating rotarod and received 20μg/side of Rp-cAMPS, 15 minutes prior the first trial of each training day. Since we noticed an increase in striatal p-STEP61 level at the second day of learning, mice were sacrificed at the end of the last trial of day 2. Levels of p-STEP61 in the dorsal striatum were measured using the western blot technique. We demonstrated that intrastriatal PKA inhibition decreased by 30% the levels of p-STEP61 when compared to vehicle-treated mice (**Figure 5A**, Unpaired t test, $P < 0.001$). Moreover, inhibition of PKA was confirmed by quantification of the phosphorylation of a known substrate of PKA, the transcription factor cAMP response element-binding protein (CREB), at Serine 133 [35]. Intrastriatal inhibition of PKA decreased by 35% the levels of p-CREB (**Figure 5B**, Unpaired t test, $P < 0.001$).

Discussion

In this present study, we have investigated whether the activity of 61 kDa STEP isoform is modulated in the brain of mice that are learning a complex motor task, and whether PKA play a role in these processes. To assess the learning of a complex motor skill, we select the accelerating rotarod test, among many other tasks such as chaining of motor sequences, visuomotor skill acquisition, instrumental lever-pushing and serial reaction-time tests. The benefit of this test, in contrast to the other tasks, is its

association with clear dependent-adaptive responses memory. This test can be arbitrary divided into two stages in parallel to the general pattern of memory encoding that include: an early, fast learning stage, in which larger improvement of performance can be observe within a single training session (day 1) and a later, slow learning stage, in which incremental gains in performance can be observed across several sessions (day 2, 3 and 4). Moreover, it allows the investigation of motor skill learning in the absence of the associative and working memory components of other motor learning tasks. Motor abilities are distinguished from motor learning by assessing general motor capacities through the stepping, wire suspension, and pole tests.

Our findings propose that the learning processes associated with rotarod learning involve STEP61 activity. We demonstrate that at an early phase of learning, at the end of the first training day, levels of phosphorylated STEP61 are decreased in the hippocampus of trained mice, whereas they are comparable to untrained mice during later phases, after the second, third and fourth day of training. In the hippocampus, previous studies demonstrate that STEP deletion facilitated hippocampal-dependent learning [23]. Our data are therefore in contradiction with this study based on the current proposed molecular model that STEP activation acts as a tonic brake on synaptic transmission. Our observation of decreased levels of phosphorylated STEP would be associated with enhanced STEP activity, and therefore a reduction in the synaptic strength. One possibility is that STEP is behaving as an auto-regulator on this first day of training, to turn down and compensates the enhanced activity of proteins implicated in synaptic reorganisation processes. This may explain why these phosphorylation levels return to baseline levels in the following sessions (day 2, 3 and 4). We have indeed previously observed that markers of adaptive response to synaptic activation for newly learned events are activated in the hippocampus after the first day of learning, and return to basal levels in the following days of learning [6]. This finding indicates that the hippocampus might be engaged in the early learning phase. In contrast, in the anterior cortex and striatum, an increase in the levels of phosphorylated STEP is observed during later phases of motor skill training. We indeed noticed a punctual surge in STEP phosphorylation at the second day in the striatum and at the third day in the anterior

cortex. The second and third day of our rotarod training paradigms are reflecting the later phases of learning. The anterior cortex and striatum seems to be engaged in these periods specifically and this is in agreement with previous studies. It has been documented that both structures are further engaged when the range of gain of performance is much lower [2,6,36]. Altogether, our data demonstrated that STEP activity during motor skill learning is neuroanatomically defined and depends of the learning phases. Further experiments are definitively needed to understand this regional brain specificity of STEP activity during motor skill learning. However, although STEP has been linked previously to certain learning behaviours [22-24], to our knowledge, we are the first to report a brain differential modulation of STEP activity during motor skill learning.

Levels of phosphorylated STEP61 are modulated during rotarod learning at the Ser221 residue. STEP61 is known to be phosphorylated at this serine residue in vitro, in brain slices and striatal homogenates, by PKA activity [15]. Our data confirms in vivo, for the first time, a direct relationship between PKA activation and phosphorylation of STEP Ser221 residue. We indeed demonstrate that inhibition of PKA into the dorsal striatum of mice decreases phosphorylation levels of STEP61 at Ser221. Interestingly, PKA inhibition also reduces the phosphorylation levels of CREB, suggesting that PKA mediates genes activation during learning. This finding is in accord with our previous study demonstrating that motor learning induces genes expression [7]. The current proposed molecular model is that STEP activation acts as a tonic brake on synaptic transmission, which is associated with a decline in memory function [37-39]. Dephosphorylation of STEP increases its activity that will, in turn, inactivates key signaling molecules reinforcing synaptic plasticity, such as extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) or NR2B subunit of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) [23,40,41]. In accord with this contention, STEP inhibition in CA1 hippocampal neurons enhanced transmission and occluded LTP induction [42]. Genetic deletion of STEP in mice enhanced spatial memory and fear conditioning consolidation [22-24]. Our data demonstrate that during motor learning, phosphorylation of STEP61 in the striatum is PKA dependant. According to these previous evidences, this finding is crucial to the

rotarod learning and further demonstrates the importance of sustained inactivation of STEP during the learning of a complex motor skill.

We demonstrate that direct striatal infusion of a PKA inhibitor alters the acquisition of rotarod motor task. At high dose of Rp-cAMPS (40 μg/side), inhibition of PKA impairs considerably mice performances on the rotarod task. Our additional experiments looking at mice motor abilities suggest that this dose produces severe motor control deficits including bradykinesia, motor coordination troubles and akinesia, which are not observed at lower doses. Interestingly, however, when the rotarod task is fully learned, inhibition of PKA with 40 μg/side of Rp-cAMPS did not decreased rotarod performances. Once this particular task is learned, movements became automatically performed. This data suggest that PKA is not engage when movement is performed spontaneously, probably because these automatized movements do not require excessive skills or motor control. In mice lacking the RIIβ subunit of PKA, performances on the accelerating rotarod are slightly improved over two training days; but knockout mice never accomplish the same performances as wild type mice [43]. Even at a less challenging rate of acceleration, rotarod performances remain dramatically lower. In the striatum of these mice, PKA activity is reduced by 75%, which concur with our finding using high dose of PKA inhibitor. Our most compelling data are from the intermediate dose, 20 μg/side, for which treated-mice reached the maximal scores of performance at the fourth training day, whereas drug-naïve mice reach them at the last trials of the second day. Motor coordination and abilities are not altered at this dose. Therefore, unambiguously, the mice treated with 20 μg/side of Rp-cAMPS exhibited learning delays. The role of PKA in striatum-dependant motor learning paradigm is not clearly defined. Indirect evidence demonstrate that mice with genetic deletion of adenylyl cyclase 5, which is known to downregulate PKA activity through a reduction of cAMP levels, impairs the acquisition of striatum-dependant learning including response learning in the cross maze and motor skill learning associated with the accelerating rotarod [44]. We believe, based on these findings, that there is a ceiling effect of PKA inhibition in the striatum toward motor learning and that PKA inhibition is more vulnerable to motor skill leaning than motor control.

In conclusion, we report that attenuation of striatal STEP61 activity through PKA action is a crucial part of the molecular pathway leading to the automatization of a complex motor skill. Moreover, we highlight a regional brain variation in the levels of phosphorylated STEP61 at Ser221 during motor learning.

Supporting Information

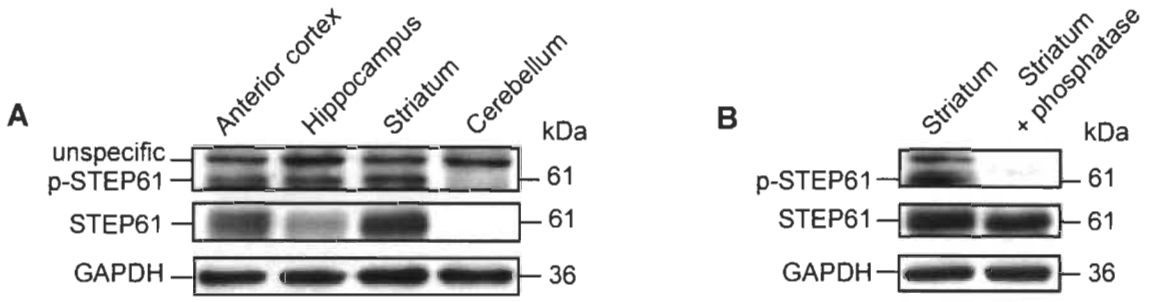


Figure S1 **STEP antibodies specificities.**
(**A**) Representative examples of phospho-STEP61 and total STEP61 expression in the anterior cortex, hippocampus, striatum and cerebellum of mice. Brain lysates were immunoblotted with phospho-STEP and STEP total antibodies. According to the literature, STEP61 was observed in the anterior cortex, hippocampus and striatum, but not in the cerebellum. It is noteworthy that highest STEP61 expression levels were noticed in the striatum. The phospho-STEP61 antibody revealed that the lower band corresponded selectively to phosphorylated STEP61 at Ser221. (**B**) Specificity of the phospho-STEP antibody using alkaline phosphatase treatment on striatum lysates. Striatum lysates were incubated with or without phosphatase alkaline (calf intestinal). Protein extracts were immunoblotted with phospho-STEP antibody. No labelling was observed with the phospho-STEP antibody after phosphatase treatment. Reprobing the same membrane with total STEP antibody confirmed the presence of STEP61.

References

1. Ungerleider LG, Doyon J, Karni A (2002) Imaging brain plasticity during motor skill learning. Neurobiol Learn Mem 78: 553-564.

2. Doyon J, Bellec P, Amsel R, Penhune V, Monchi O, et al. (2009) Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. Behav Brain Res 199: 61-75.

3. Luft AR, Buitrago MM, Ringer T, Dichgans J, Schulz JB (2004) Motor skill learning depends on protein synthesis in motor cortex after training. J Neurosci 24: 6515-6520.

4. Willuhn I, Steiner H (2006) Motor-skill learning-associated gene regulation in the striatum: effects of cocaine. Neuropsychopharmacology 31: 2669-2682.

5. Wachter T, Rohrich S, Frank A, Molina-Luna K, Pekanovic A, et al. (2010) Motor skill learning depends on protein synthesis in the dorsal striatum after training. Exp Brain Res 200: 319-323.

6. Bureau G, Carrier M, Lebel M, Cyr M (2010) Intrastriatal inhibition of extracellular signal-regulated kinases impaired the consolidation phase of motor skill learning. Neurobiol Learn Mem 94: 107-115.

7. D'Amours G, Bureau G, Boily MJ, Cyr M (2011) Differential gene expression profiling in the mouse brain during motor skill learning: focus on the striatum structure. Behav Brain Res 221: 108-117.

8. Seeds NW, Williams BL, Bickford PC (1995) Tissue plasminogen activator induction in Purkinje neurons after cerebellar motor learning. Science 270: 1992-1994.

9. Kleim JA, Lussnig E, Schwarz ER, Comery TA, Greenough WT (1996) Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. J Neurosci 16: 4529-4535.

10. Kleim JA, Vij K, Ballard DH, Greenough WT (1997) Learning-dependent synaptic modifications in the cerebellar cortex of the adult rat persist for at least four weeks. J Neurosci 17: 717-721.

11. Meyer DA, Richer E, Benkovic SA, Hayashi K, Kansy JW, et al. (2008) Striatal dysregulation of Cdk5 alters locomotor responses to cocaine, motor learning, and dendritic morphology. Proc Natl Acad Sci U S A 105: 18561-18566.

12. Lombroso PJ, Murdoch G, Lerner M (1991) Molecular characterization of a protein-tyrosine-phosphatase enriched in striatum. Proc Natl Acad Sci U S A 88: 7242-7246.

13. Lombroso PJ, Naegele JR, Sharma E, Lerner M (1993) A protein tyrosine phosphatase expressed within dopaminoceptive neurons of the basal ganglia and related structures. J Neurosci 13: 3064-3074.

14. Boulanger LM, Lombroso PJ, Raghunathan A, During MJ, Wahle P, et al. (1995) Cellular and molecular characterization of a brain-enriched protein tyrosine phosphatase. J Neurosci 15: 1532-1544.

15. Paul S, Snyder GL, Yokakura H, Picciotto MR, Nairn AC, et al. (2000) The Dopamine/D1 receptor mediates the phosphorylation and inactivation of the protein tyrosine phosphatase STEP via a PKA-dependent pathway. J Neurosci 20: 5630-5638.

16. Abel T, Nguyen PV (2008) Regulation of hippocampus-dependent memory by cyclic AMP-dependent protein kinase. Prog Brain Res 169: 97-115.

17. Abrams TW (2009) Cyclic AMP (cAMP) Role in Learning and Memory. In: Squire LR, editor. Encyclopedia of Neuroscience. Oxford: Academic press. pp. 265-277.

18. Schafe GE, LeDoux JE (2000) Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. J Neurosci 20: RC96.

19. Sharifzadeh M, Sharifzadeh K, Naghdi N, Ghahremani MH, Roghani A (2005) Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase AII inhibitor impairs spatial memory retention in rats. J Neurosci Res 79: 392-400.

20. Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, et al. (1997) Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. Cell 88: 615-626.

21. Isiegas C, Park A, Kandel ER, Abel T, Lattal KM (2006) Transgenic inhibition of neuronal protein kinase A activity facilitates fear extinction. J Neurosci 26: 12700-12707.

22. Paul S, Olausson P, Venkitaramani DV, Ruchkina I, Moran TD, et al. (2007) The striatal-enriched protein tyrosine phosphatase gates long-term potentiation and fear memory in the lateral amygdala. Biol Psychiatry 61: 1049-1061.

23. Venkitaramani DV, Moura PJ, Picciotto MR, Lombroso PJ (2011) Striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) knockout mice have enhanced hippocampal memory. Eur J Neurosci 33: 2288-2298.

24. Olausson P, Venkitaramani DV, Moran TD, Salter MW, Taylor JR, et al. (2012) The tyrosine phosphatase STEP constrains amygdala-dependent memory formation and neuroplasticity. Neuroscience 225: 1-8.

Rapport-Gratuit.com

25. Baldwin AE, Sadeghian K, Holahan MR, Kelley AE (2002) Appetitive instrumental learning is impaired by inhibition of cAMP-dependent protein kinase within the nucleus accumbens. Neurobiol Learn Mem 77: 44-62.

26. Gerdjikov TV, Giles AC, Swain SN, Beninger RJ (2007) Nucleus accumbens PKA inhibition blocks acquisition but enhances expression of amphetamine-produced conditioned activity in rats. Psychopharmacology (Berl) 190: 65-72.

27. Paxinos G, Francklin KBJ (2001) The mouse brain in stereotaxic coordinates: Academic Press.

28. Chagniel L, Robitaille C, Lacharite-Mueller C, Bureau G, Cyr M (2012) Partial dopamine depletion in MPTP-treated mice differentially altered motor skill learning and action control. Behav Brain Res 228: 9-15.

29. Lemay-Clermont J, Robitaille C, Auberson YP, Bureau G, Cyr M (2011) Blockade of NMDA receptors 2A subunit in the dorsal striatum impairs the learning of a complex motor skill. Behav Neurosci 125: 714-723.

30. Palkovits M, Brownstein, M. J. (1983) Microdissection of brain areas by the punch technique. In: Cuello AC, editor. Brain Microdissection Techniques. New York: Wiley. pp. 1-36.

31. Ogawa N, Mizukawa K, Hirose Y, Kajita S, Ohara S, et al. (1987) MPTP-induced parkinsonian model in mice: biochemistry, pharmacology and behavior. Eur Neurol 26 Suppl 1: 16-23.

32. Sedelis M, Hofele K, Auburger GW, Morgan S, Huston JP, et al. (2000) MPTP susceptibility in the mouse: behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences. Behav Genet 30: 171-182.

33. Sedelis M, Schwarting RK, Huston JP (2001) Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Behav Brain Res 125: 109-125.

34. Blume SR, Cass DK, Tseng KY (2009) Stepping test in mice: a reliable approach in determining forelimb akinesia in MPTP-induced Parkinsonism. Exp Neurol 219: 208-211.

35. Lebel M, Patenaude C, Allyson J, Massicotte G, Cyr M (2009) Dopamine D1 receptor activation induces tau phosphorylation via cdk5 and GSK3 signaling pathways. Neuropharmacology 57: 392-402.

36. Kleim JA, Hogg TM, VandenBerg PM, Cooper NR, Bruneau R, et al. (2004) Cortical synaptogenesis and motor map reorganization occur during late, but not early, phase of motor skill learning. J Neurosci 24: 628-633.

37. Braithwaite SP, Paul S, Nairn AC, Lombroso PJ (2006) Synaptic plasticity: one STEP at a time. Trends Neurosci 29: 452-458.

38. Fitzpatrick CJ, Lombroso PJ (2011) The Role of Striatal-Enriched Protein Tyrosine Phosphatase (STEP) in Cognition. Front Neuroanat 5: 47.

39. Goebel-Goody SM, Baum M, Paspalas CD, Fernandez SM, Carty NC, et al. (2012) Therapeutic implications for striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) in neuropsychiatric disorders. Pharmacol Rev 64: 65-87.

40. Paul S, Nairn AC, Wang P, Lombroso PJ (2003) NMDA-mediated activation of the tyrosine phosphatase STEP regulates the duration of ERK signaling. Nat Neurosci 6: 34-42.

41. Braithwaite SP, Adkisson M, Leung J, Nava A, Masterson B, et al. (2006) Regulation of NMDA receptor trafficking and function by striatal-enriched tyrosine phosphatase (STEP). Eur J Neurosci 23: 2847-2856.

42. Pelkey KA, Askalan R, Paul S, Kalia LV, Nguyen TH, et al. (2002) Tyrosine phosphatase STEP is a tonic brake on induction of long-term potentiation. Neuron 34: 127-138.

43. Brandon EP, Logue SF, Adams MR, Qi M, Sullivan SP, et al. (1998) Defective motor behavior and neural gene expression in RIIbeta-protein kinase A mutant mice. J Neurosci 18: 3639-3649.

44. Kheirbek MA, Britt JP, Beeler JA, Ishikawa Y, McGehee DS, et al. (2009) Adenylyl cyclase type 5 contributes to corticostriatal plasticity and striatum-dependent learning. J Neurosci 29: 12115-12124.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Figures

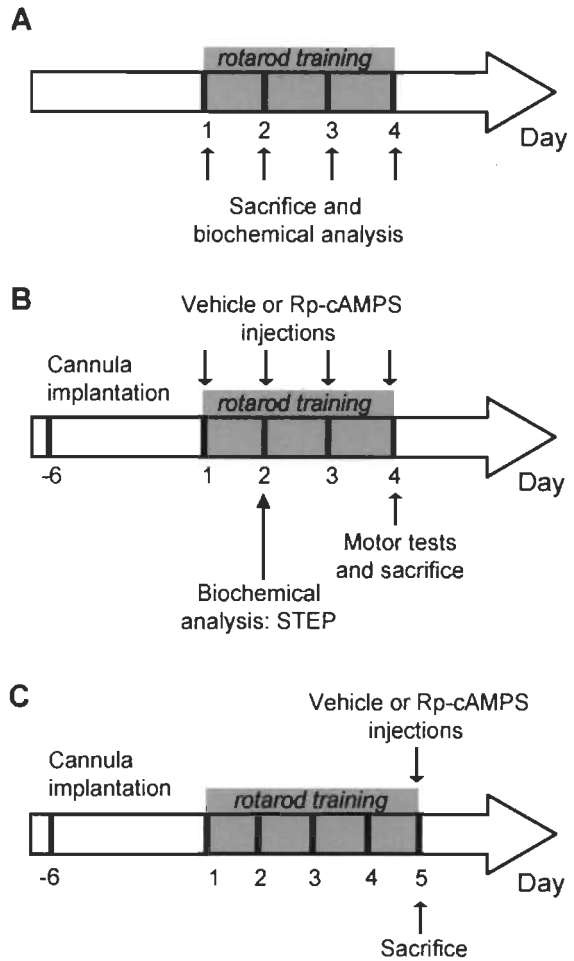


Figure 1 **Experimental design.**
(**A**) Analysis of STEP expression during motor skill learning. Drug naïve mice were trained on the accelerating rotarod and sacrificed immediately after the end of the last trial at each day of training (day 1, 2, 3 and 4). Levels of total and phosphorylated STEP proteins in selected brain regions were analyzed by western blot techniques. (**B**) Role of PKA in motor learning. A guide cannula was implanted into the dorsal striatum of mice 7 days before rotarod training. Rp-cAMPS or vehicle were injected directly into the dorsal striatum of mice before the first trial at each rotarod training day (day 1, 2, 3 and 4). At the fourth day of training, mice were also tested for their motor abilities. Another cohort of mice received Rp-cAMPS or vehicle before the first trial at each rotarod training day. Mice were sacrificed at the second training day to performed western blot experiments. (**C**) Role of PKA activity in the motor coordination requested during rotarod testing. A guide cannula was implanted into the dorsal striatum of mice 7 days before rotarod training. Mice were trained during four consecutive days and Rp-cAMPS or vehicle was injected before the first trial at the fifth training day.

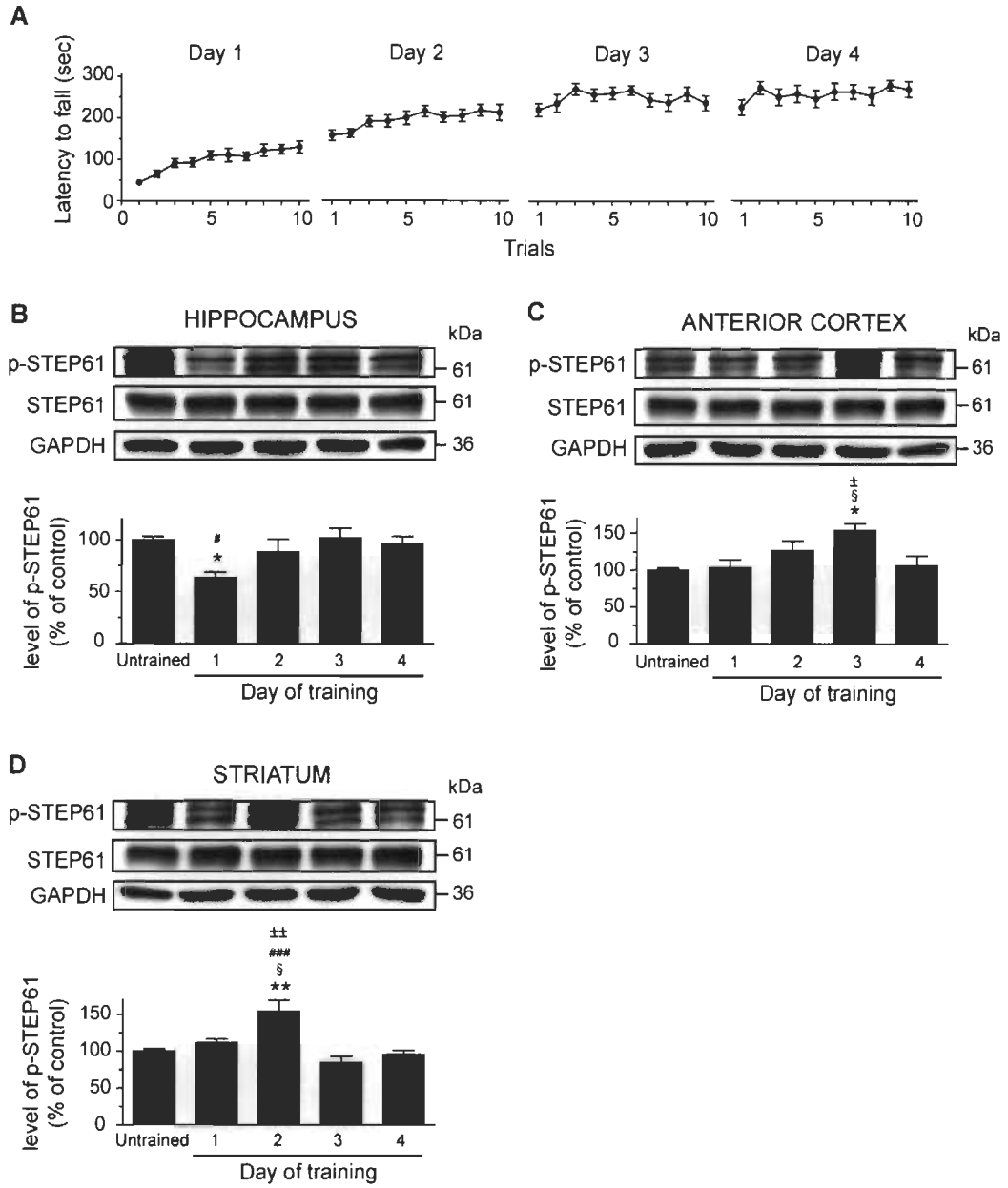


Figure 2 **Levels of phosphorylated STEP61 in the brain of mice during motor learning.**

(**A**) Drug-naïve mice were trained on the accelerating rotarod during 4 consecutive days and sacrificed at the end of each training day. Protein levels were evaluated by western blot. Proteins were extracted from selected brain regions of untrained or trained mice. Protein levels of phosphorylated STEP61 at Ser221, total STEP61 as well as GAPDH were measured in (**B**) hippocampus, (**C**) anterior cortex and (**D**) striatum. Data represent the mean of p-STEP61 relative optical density (expressed as a percentage of control values) ± S.E.M. Values are expressed relative to total STEP and are from triplicate experiments/animal, $n = 4$ mice/group. $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$ vs. untrained mice; $^{\S}p < 0.05$ vs day 1; $^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#\#}p < 0.001$ vs. day 3; $^{\pm}p < 0.05$, $^{\pm\pm}p < 0.01$ vs. day 4.

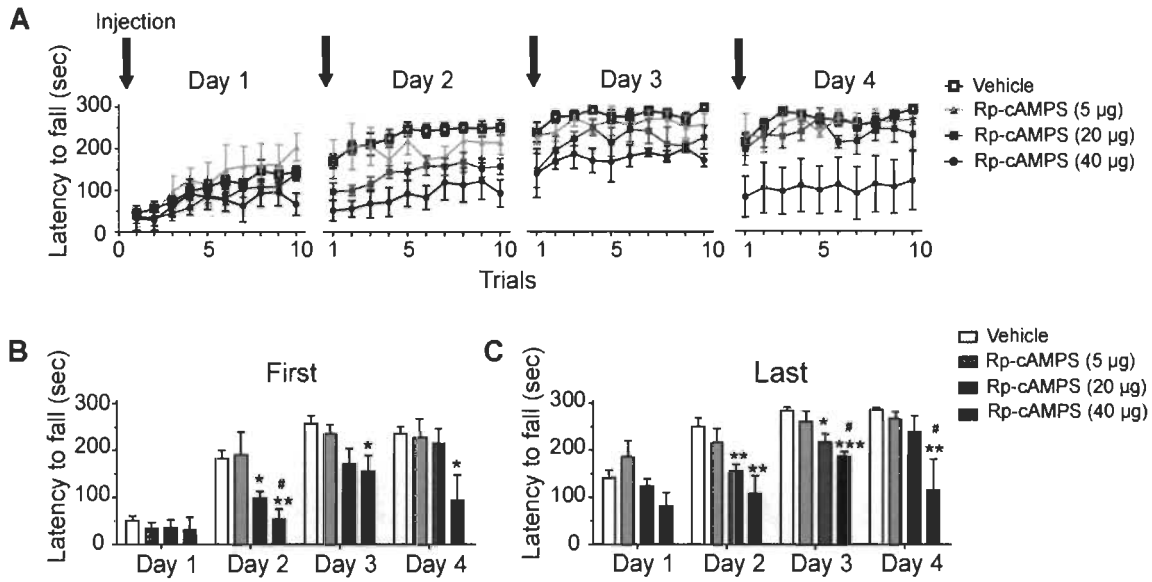


Figure 3 **Effect of intrastriatal inhibition of PKA in mice during rotarod training.**

(**A**) Time spent on the rod of the accelerating rotarod for every trial completed at days 1, 2, 3 and 4. Mice were treated directly into the dorsal striatum, 15 min before each training day, with vehicle (saline) or Rp-cAMPS at doses: 5, 20 or 40 µg/side. Data represent the mean of latency to fall per trial expressed for every training day ± S.E.M. Lower panels represent the average scores of (**B**) the two first trials and (**C**) the two last trials of each training day. Values represent the average mean latency to fall expressed in seconds ± S.E.M. n = 4 to 11 mice/group. $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$ $^{***}p < 0.001$ vs. respective vehicle-treated mice; $^{\#}p < 0.05$ vs. mice treated with 5 µg/side.

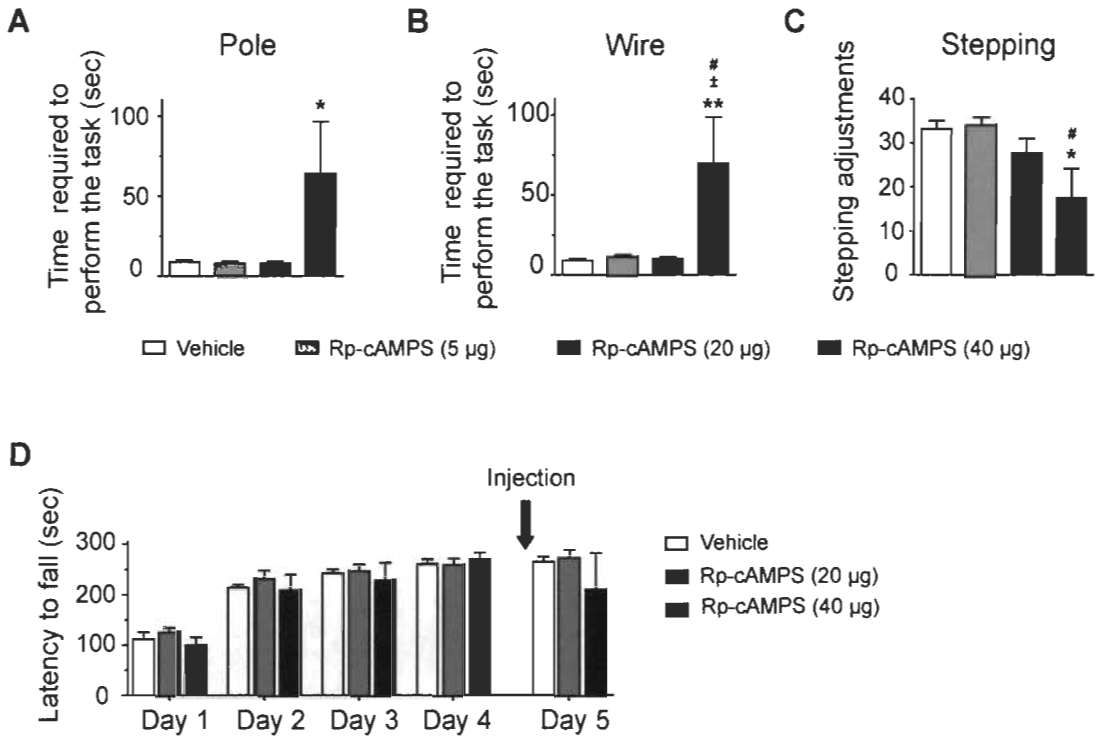


Figure 4 **Motor abilities in mice with intrastriatal inhibition of PKA.**

(**A**) Pole, (**B**) wire suspension and (**C**) stepping tests were performed to assess motor abilities in saline (vehicle)-treated mice as well as mice treated with 5, 20, or 40 µg/side of Rp-cAMPS into the dorsal striatum. Data represents the mean of time require to perform the test (pole and wire suspension test) and the mean of numbers of adjusting steps (stepping test) ± S.E.M. $n = 4$ to 7 mice/group. $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$ vs. respective vehicle-treated mice; $^{\#}p < 0.05$ vs. mice treated with 5 µg/side; $^{\pm}p < 0.05$ vs. mice treated with 20 µg/side. (**D**) Evaluation of motor coordination on the accelerating rotarod. Drug-naïve mice were trained on the accelerating rotarod during 4 consecutive days and treated into the dorsal striatum at the fifth day with vehicle (saline), 20 or 40 µg/side Rp-cAMPS. The total average latency to fall is shown at every training day in mice treated with vehicle or Rp-cAMPS. Data represent the means of all trials per training day ± S.E.M. $n = 4$ mice/group.

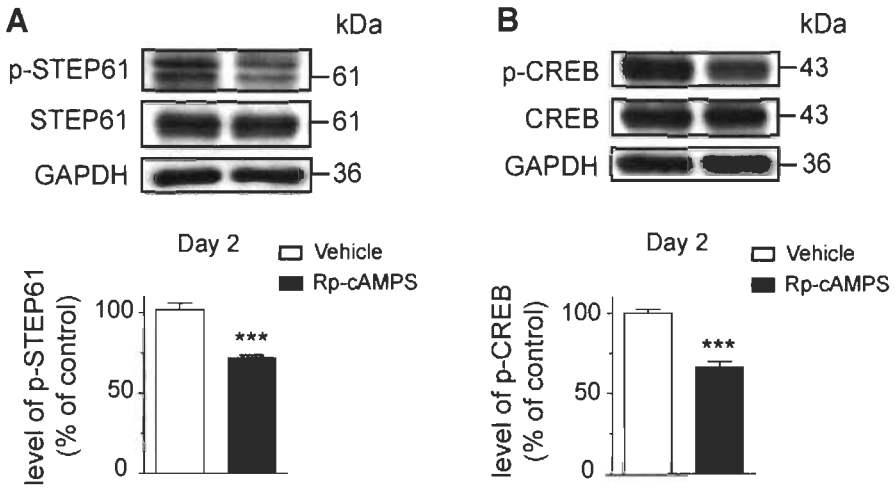


Figure 5 **Levels of phosphorylated STEP61 and CREB in mice with intrastriatal inhibition of PKA.**
(**A**) Levels of phosphorylated STEP61 at Ser221 and (**B**) phosphorylated CREB at Ser133 were evaluated in the dorsal striatum of trained mice injected with vehicle (saline) or Rp-cAMPS at the second day of training. Data represent the mean of relative optical density of phosphorylated STEP61 and phosphorylated CREB (expressed as a percentage of control values) ± S.E.M. Values are respectively expressed relative to total STEP and total CREB. Values are from triplicate experiments/animal, $n = 4$ mice/group. ***$p < 0.001$ vs. vehicle-treated mice.

CHAPITRE IV

PARTIAL DOPAMINE DEPLETION IN MPTP-TREATED MICE DIFFERENTIALLY ALTERED MOTOR SKILL LEARNING AND ACTION CONTROL

Le contenu de ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans la revue « Behavioural Brain Research ». La référence de cet article est la suivante :

Chagniel L., Robitaille C., Lacharite-Mueller C., Bureau G. et Cyr M. (2012) « Partial dopamine depletion in MPTP-treated mice differentially altered motor skill learning and action control », Behav Brain Res 228: 9-15.
DOI:10.1016/j.bbr.2011.11.019

4.1 Contribution des auteurs

Les travaux présentés ont été réalisés en majeure partie par Laure Chagniel, sous la supervision de son directeur de recherche, le Dr Michel Cyr. La création du projet et des expériences ont été réalisées par Laure Chagniel sous l'expertise du Dr Michel Cyr. Les expériences ont été réalisées par Laure Chagniel (80 %) ainsi que Christine Robitaille (20 %, ancienne étudiante à la maîtrise) avec l'aide technique pour les expériences *in vivo* de Christopher Lacharité-Muller (ancien stagiaire) et Geneviève Bureau (auxiliaire de recherche). L'analyse et l'interprétation des résultats ont été réalisées par Laure Chagniel sous la supervision du Dr Michel Cyr. Laure Chagniel a écrit le manuscrit en collaboration avec le Dr Michel Cyr.

4.2 Résumé

Les récentes évidences suggèrent que le neurotransmetteur dopamine joue un rôle dans le contrôle moteur et l'acquisition des habitudes et des habiletés. La plupart des

études sur les effets de la dopamine inclus souvent des souris ayant une forte réduction en dopamine. Par conséquent, isoler les effets de la dopamine sur l'apprentissage moteur de ceux sur le contrôle moteur reste un défi. En utilisant la neurotoxine MPTP, nous avons investigué, chez des souris, l'effet de différents niveaux d'épuisement en dopamine sur trois tests de comportement moteur : le rotarod en accélération, le « wire suspension test » et le « pole test ». Trois protocoles ont été réalisés afin de diminuer, selon des degrés différents, la synthèse de dopamine: 4 injections (i.p) de 9 mg/kg en 1 jour; 4 injections (i.p) de 15 mg/kg en 1 jour; ou 5 injections (s.c) de 30 mg/kg en 5 jours. La sévérité de la réduction en dopamine a été évaluée par la quantification des niveaux de la tyrosine hydroxylase (TH) et du transporteur à la dopamine dans le striatum des souris, en utilisant la technique de Western blot. Les souris ont alors été placées dans quatre groupes différents en fonction des niveaux d'expression de la TH : léger, modéré, marqué, sévère. Chez ces souris, la capacité motrice générale, comme la coordination, la vitesse de déplacement, et la force musculaire, sont relativement intactes alors que l'acquisition des habiletés est altérée chez les souris ayant une réduction marquée et sévère des niveaux de TH. En effet, les résultats sur le rotarod en accélération montrent que les souris ayant une réduction marquée et sévère des niveaux de dopamine ont des résultats inférieurs lors des premiers essais, au premier jour, ainsi qu'une progression plus lente des performances à travers les jours d'entraînement subséquents. En se basant sur ces résultats, nous concluons que comparativement au contrôle des activités motrices, l'apprentissage des habiletés est plus vulnérable à une réduction en dopamine.

4.3 Deuxième article scientifique

Partial dopamine depletion in MPTP-treated mice differentially altered motor skill learning and action control

Laure Chagniel, Christine Robitaille, Christopher Lacharité-Mueller, Geneviève Bureau and Michel Cyr

Groupe de recherche en Neurosciences, Département de Chimie-Biologie, Université du Québec à Trois-Rivières, 3351, Des Forges, C.P. 500, Trois-Rivières (QC), G9A 5H7

Corresponding Author:
Michel Cyr, PhD
Neuroscience Research Group
Department of Chemistry-Biology, Medical Biology Section
Université du Québec à Trois-Rivières
3351, boul des Forges, C.P. 500
Trois-Rivières (QC) G9A 5H7
Canada
Tel: 819-376-5011 Ext. 3301
Fax: 819-376-5084
cyrmi@uqtr.ca

Rapport-Gratuit.com

Abstract

Recent findings suggest that the neurotransmitter dopamine (DA) system plays a role in motor control and the acquisition of habits and skills. However, isolating DA-mediated motor learning from motor performance remains challenging as most studies include often severely DA-depleted mice. Using the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), we investigated the effect of various degrees of DA-depletion in mice on three tests of motor behaviors: the accelerating rotarod, wire suspension and pole tests. Three protocols were performed to decrease DA synthesis to various extents: 4 injections (i.p.) of 9 mg/kg in one day; 4 injections (i.p.) of 15 mg/kg in 1 day; or 5 injections (s.c.) of 30 mg/kg in 5 days. Severity of DA-depletion was assessed by the evaluation of tyrosine hydroxylase (TH) and dopamine transporter levels in the striatum using the Western blot technique. Mice were gathered into four different groups according their TH levels: mild, moderate, marked and severe. In these mice, the general motor abilities such as coordination, motion speed and muscular strength were relatively intact whereas impaired acquisition of skilled behavior occurred in mice with marked and severe reduction in TH levels. Marked and severely DA-depleted mice exhibited lower scores within the first trials of the first training day as well as a much slower progression in the following days on the accelerating rotarod. Based on these results, we conclude that the learning of a skilled behavior is more vulnerable to DA depletion than the DA-mediated control of motor activity.

Keywords

Accelerating rotarod, motor skill, learning, memory, consolidation, dopamine

Abbreviations

DA: dopamine; DAT: dopamine transporter; ERK: extracellular signal-regulated kinase; i.p: intraperitoneal; MPTP: 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; PD: Parkinson's disease; s.c: subcutaneous; TH: tyrosine hydroxylase.

Introduction

The neurotransmitter dopamine (DA) is recognized to be critical to the regulation of motor action, motor learning, and corticostriatal plasticity [1-4]. Animal models based on experimental depletion of forebrain DA have traditionally focussed on the simple and easy measure of motor impairments, and they reproduce well the bradykinesia, rigidity and impairments in the initiation and sequencing of voluntary goal-directed movement [5-9]. However, a more comprehensive analysis in more complex motor learning paradigms is mandatory. Besides, only few studies have investigated the possible involvement of impaired acquisition of skilled behavior in the motor disabilities in animal models of partial DA depletion [10-13]. Therefore, the relationship between motor performance and learning, and the role of DA in the mediation of them remains unclear.

In this study, we investigate the effect of various degrees of DA-depletion in mice on motor skill performance and learning. To this purpose, mice were treated with different treatments of a dopaminergic toxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), to induce various degrees of DA depletion. Next, we assessed a variety of behavioral tests, such as the accelerating rotarod test for the acquisition of skilled behavior, a pole test for bradykinesia, and a wire suspension test for muscle strength in DA-depleted mice. The accelerating rotarod is associated with clear dependent-adaptive responses memory that can be arbitrary divided into several stages in parallel to the general pattern of memory encoding that include acquisition and consolidation phases. Once consolidated, motor skills are carried out effortlessly and became automatized with extended practices [14-16]. These experiments will establish how much DA depletion affects the acquisition of skilled behaviors as opposed to the DA-mediated control of motor activity.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Materials and methods

Animals

The mice used in our experiments were C57bl/6j males of 12 weeks of age (Charles River Laboratories, St-Constant, QC, Canada). They were housed in a climate-controlled room (14-h light/10-h dark cycle) with food and water available *ad libitum*. All experiments, approved by the institutional animal care committee, were in accordance with ethical standards of the Canadian Council on Animal Care.

Treatments

To induce various dopaminergic depletions, four group of mice received different doses and regimens of the neurotoxin MPTP (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada). Acute treatments consisted of four intraperitoneal (i.p.) injections of 9, 15 or 20 mg/kg of MPTP at 2 h intervals within a day. The chronic treatment consisted of one subcutaneous (s.c.) injection of 30 mg/kg MPTP/day for 5 consecutive days. Separate control groups for acute or chronic MPTP treatment groups were used. Control mice received an equivalent volume of saline. The experimental design is described in Fig. 1.

Rotarod test

One week after the last MPTP injection, mice performances on the rod were evaluated on the accelerating rotarod apparatus (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA). The test consisted of a suspended rod (diameter: 3 cm) that accelerates at a constant rate, from 4 to 40 rpm in 300 s. Mice were trained 3 consecutive days and at each day of training, they were placed on the rod for a session of 10 trials. Time was recorded for each trial. A trial ended when the mouse fell off the rotarod or after reaching 300 s. A resting time of 180 s was allowed between each trial.

Wire suspension test

The wire suspension test verified the coordination and muscle strength of mice [17]. Briefly, the wire (length: 80 cm, height: 25 cm) was fixed horizontally between two platforms. Each animal was hung with its paws on the middle of the wire and the time needed to reach one platform was recorded. The maximal time allowed was set at 120 s. We performed this test at days 1, 2 and 3 before the initiation of rotarod trainings. Note that mice were pre-trained by completing four trials before the beginning of testing.

Pole test

The pole test was assessed to estimate bradykinesia and motor coordination [17-19]. The structure consisted in a vertical gauze-taped wooden cylinder (length: 50 cm, diameter: 1.5 cm) with a tennis ball fixed at the top. Mice were placed head upward below the ball. The time taken to turn down and reach the floor was recorded. The maximal time allowed for the test was set at 120 s. Mice were pre-trained four consecutive times at the first day of training and the test was performed at days 1, 2 and 3 before the rotarod trainings.

Western blotting

Mice were sacrificed at the end of the last trial of the rotarod training and brains were immediately removed. The striatum structures (that included the dorsal and ventral parts without the nucleus accumbens) of both hemispheres of every mouse brain were carefully dissected, pooled together, rapidly frozen on dried ice and preserved at -80°C until protein extraction. Tissue samples were homogenized in RIPA buffer containing protease and phosphatase inhibitors cocktails (Roche, Indianapolis, IN, USA). Protein concentrations were quantified by Bradford assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). 30 μg of every protein sample was loaded on 10% SDS-PAGE gel electrophoresis and transferred on nitrocellulose membranes. The membranes were blocked in 5% BSA/TBS-Tween 0.1% for 1 hour at room temperature and incubated overnight at 4°C

with the primary antibodies raised against tyrosine hydroxylase (TH; 1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA), DA transporter (DAT; 1:1000; Chemicon, Temecula, CA, USA) and GAPDH (1:1000; Abcam). GAPDH was used as a loading control. Membranes were washed in TBS-Tween 0.1% and incubated with the corresponding anti-rabbit, anti-mouse (1:5000, Thermo scientific, Ottawa, ON, Canada) or anti-rat (2:5000, Jackson Immunoresearch, West Grove, PA, USA) secondary horseradish peroxidase antibodies. Chemiluminescence reactions (SuperSignal West Femto chemiluminescence kit, Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) were utilized to visualize proteins and densitometric analyses were performed using the Vision work LS software (UVP Bioimaging, Upland, CA, USA). Densitometric analyses were expressed as relative optical density.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the GraphPad Prism software (version 5.0, Graph Pad Software, San Diego, CA, USA). Data were subjected, as appropriate, to an unpaired t-test, one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls *post hoc* test or two-way repeated-measures ANOVA followed by the *post hoc* Bonferroni test. Note that saline-treated mice of acute and chronic treatments were pooled for motor tests analysis. Data were reported as the mean ± S.E.M.. Statistical significance was set at $p<0.05$

Results

MPTP treatment-induced striatal DA depletion

The extent of MPTP-induced nigrostriatal DA denervation was estimated by the quantification in the striatum of two well-known markers of DA neurons, the TH and the DAT [20, 21]. It is noteworthy that TH levels are known to correlate with DA levels [22, 23]. As described before [21, 24], we observed that in our experiments, both markers decrease similarly according to the MPTP treatment (Fig. 2), hence we will use the

TH levels as an indicator of the severity of DA depletion. Diverse MPTP-dosing regimens were administered in mice to obtain various degrees of DA-depletion (Fig. 2). Statistical analyses were performed to compare the acute treatments using one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls *post hoc* test (Fig. 2A). It is noteworthy that statistical analyses were not performed between TH and DAT levels as their comparisons were without interest. Mice treated with 9 mg/kg of MPTP demonstrated a significant reduction of 31.5±3.2% in TH levels whereas a decrease of 50.3±5.6% was observed in the striatum of mice treated with 15 mg/kg (TH, $F_{(2,16)} = 50.2$, $P < 0.001$; DAT, $F_{(2,16)} = 26.2$, $P < 0.001$; Fig. 2A). A dose of 20 mg/kg of MPTP was also administered in mice. However, a high degree of mortality occurred and mice were sacrificed before the protocol ends as severe symptoms such as tremors, posture instability and weight loss were observed. We assessed striatal TH levels by Western blot and observed a reduction of more than 95% in these mice compared to control mice (data not shown). Consequently, to obtain a higher degree of DA-depletion, we performed a chronic treatment of 30 mg/kg/day for 5 consecutive days as previously described [8, 25]. We observed a decrease of 83.8±5.0% in TH levels on average in MPTP-treated mice compared to saline-treated mice (unpaired t-test, $P < 0.001$; Fig. 2B). It is interesting to note that in this last group, we were able to discriminate two groups of mice, one with a reduction of 76.4±4.2% in TH levels and another with 91.3±4.0%. Considering that our interest was to verify the effect of various DA-depletion on motor learning, we separated MPTP-treated mice into four different groups according to their striatal TH levels: mild (71.2% - 63.9%, n=5), moderate (59.5% - 35.4%, n=8), marked (26.3% - 19.5%, n=4) and severe (10.5% - 6.7%, n=4) (Fig. 2C). Statistical analysis (one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls *post hoc* test) confirmed that these groups have significantly different TH levels ($F_{(3,20)} = 85.4$, $P < 0.001$). Note that the mild and moderate groups were from mice receiving the acute MPTP treatment whereas marked and severe groups were from those receiving the chronic treatment.

DA depletion influenced rotarod performances

Rotarod performances were assessed 7 days after the last MPTP or saline treatment. We evaluated the time spent on the rod for every trial at days 1, 2 and 3 in DA-depleted mice and saline-treated mice (Fig. 3). To investigate the influence of DA-depletion on the latency to fall of MPTP-treated mice, we first analyzed the average of all trials per session and performed statistical analysis using two-way repeated measures ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test. This analysis revealed an effect of DA-depletion ($F_{(4,48)} = 4.7$, $P < 0.01$), a main effect of time ($F_{(2,48)} = 80.5$, $P < 0.001$) and a significant interaction between DA-depletion and days of training ($F_{(8,48)} = 2.8$, $P < 0.05$). Saline-treated mice as well as mild and moderate DA-depleted mice significantly increased their performances over training days whereas marked and severely DA-depleted mice displayed much lower improvements (Fig. 3). In fact, the scores of latency to fall at days 2 and 3 decreased in relation to the severity of DA-depletion.

Analysis of the accelerating rotarod highlight the different phases of the general pattern of memory encoding that include: a consolidation phase with a gain of performance across sessions (intersession days 1-2 and 2-3) and an acquisition phase with a gain of performance within session (intrasession) [14-16, 26]. The acquisition phase includes a faster learning stage (intrasession, day 1) and a slower learning stage (intrasession, days 2 and 3). In accord with these previous studies, we observed that saline-treated mice improved rapidly their performances on the first day of training whereas on the second and third day, mice still improved their scores but to a much lower extent, and their performances reached a plateau (Fig. 4A-C, upper panels). To investigate the effects of DA-depletion on the different phases of rotarod learning, we calculated the average means of the two first trials and the two last trials for every training session and performed statistical analysis using a two-way repeated measures ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test (Fig. 4A-C, lower panels). Saline-treated mice are characterized by rapid improvement in performances within the first training day (early learning phase) while intrasession improvement was lower in the following days of training (later learning phase), which likely represents that the task is

fully learned and becomes automatic. Rotarod performances of mice with mild (data not shown) or moderate (Fig. 4A) DA-depletions were not different from those of saline-treated mice (day 1: interaction between treatments and trials $F_{(1,14)} = 0.4$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,14)} = 3.4$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,14)} = 47.8$, $P < 0.001$. Day 2: interaction between treatments and trials $F_{(1,14)} = 1.5$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,14)} = 0.002$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,14)} = 19.6$, $P < 0.001$. Day 3: interaction between treatments and trials $F_{(1,14)} = 0.3$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,14)} = 0.3$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,14)} = 10.1$, $P < 0.01$). Mice with marked DA-depletion displayed a slight deficiency in rotarod performances. At every training session, mice increased their performances to a lower extent than those of saline-treated mice. In support to this observation, the latency to fall of the last trials was significantly different from those of the saline-treated mice at day 2 (Fig. 4B, lower panel) (day 1: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 17.6$, $P < 0.01$; treatments effect $F_{(1,10)} = 0.1$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 9.5$, $P < 0.05$. Day 2: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 2.3$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,10)} = 8.4$, $P < 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 10.8$, $P < 0.01$. Day 3: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 0.1$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,10)} = 3.1$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 4.1$, $P > 0.05$). Mice with severe DA-depletion demonstrated significantly impaired rotarod performances (Fig. 4C) (day 1: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 6.1$, $P < 0.05$; treatments effect $F_{(1,10)} = 3.9$, $P > 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 24.9$, $P < 0.001$. Day 2: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 1.3$, $P > 0.05$; treatment effect $F_{(1,10)} = 8.2$, $P < 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 9.4$, $P < 0.05$. Day 3: interaction between treatments and trials $F_{(1,10)} = 2.7$, $P > 0.05$; treatments effect $F_{(1,10)} = 9.5$, $P < 0.05$; trials effect $F_{(1,10)} = 34.5$, $P < 0.001$). It is noteworthy that the latency to fall of the first trials were lower than the one observed in the saline-treated mice at days 2 and 3; reaching statistical significance at day 3 (Fig. 4C, lower panel). In addition, the latency to fall was significantly lower in the last trials of every session. Thus, in mice with marked dopamine depletion there was an increase of latency to fall across training days without significant performances improvement within sessions, whereas in severely DA-depleted mice, there was no significant increase of latency to fall within and across days.

Motor abilities were not affected by DA depletion

We investigated motor capacities of these DA-depleted-mice using the wire suspension and pole tests (Fig. 5). Wire suspension test analyzed the coordination and muscle strength of mice whereas the pole test estimated bradykinesia and motor coordination [17, 18]. In order to remove the learning variables associated to these tests, the mice were pre-trained. Statistical analysis using one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls *post hoc* test was performed at every training day. It is noteworthy that we did not perform statistical analyses between training days as their comparisons were without interest. No difference between MPTP and saline-treated mice were observed at every day of training in both tests (Fig. 5A and B) (stepping test: day 1 $F_{(1,15)} = 0.2$, $P > 0.05$, day 2 $F_{(1,15)} = 0.3$, $P > 0.05$, day 3 $F_{(1,15)} = 2.5$, $P > 0.05$; Wire suspension test: day 1 $F_{(1,15)} = 1.0$, $P > 0.05$, day 2 $F_{(1,15)} = 1.2$, $P > 0.05$, day 3 $F_{(1,15)} = 0.5$, $P > 0.05$).

Discussion

The present study demonstrates that impaired learning of a complex motor skill occurs in mice with a marked to severe DA-depletion. The degrees of DA-depletion are established by the evaluation of TH levels, the rate-limiting enzyme for DA synthesis, which is widely used as a marker of dopaminergic depletion [20-23]. Previous studies testing rotarod performances in MPTP-intoxicated mice did not assess the memorisation of the task per se but rather evaluate the maximal motor capacities of animals [5-8]. For instance, these rotarod studies consist of only 2 - 4 trials per training session, one session per day, during 1 - 4 days (10 trials per session are included in our experiments, one session per day, during 3 days). Our results clearly indicate that 4 trials are insufficient to allow the evaluation of the faster phase of learning. In this context, our experimental design is unique and it is difficult to compare our study to previous observations. For example, one recent study has demonstrated that chronic injections of MPTP (30mg/kg/day, once daily, 5 days) in mice do not affect rotarod performances when 4 trials per session during 4 days were considered [8]. On the other hand, a study assessing rotarod performance (5 trials per session during 6 days) on the PITx3 deficient

mice exhibiting 90% reduction in dorsal striatal DA-depletion demonstrates an impaired acquisition of the rotarod task comparable to our observations obtained from the severely DA-depleted mice [10].

Interestingly, our data demonstrate that the slower phase of acquisition is slightly impaired in the marked DA-depleted mice whereas the faster phase, observable on the first session (day 1) of rotarod training, is unaffected. In contrast, in the severely DA-depleted mice, both phases are impaired. Therefore, DA-depletion affects the slower phase of acquisition before the faster phase, which highlights the importance of DA in the long-term memory (consolidation or automatization) phase of motor skill learning. A variety of studies indicate that the neural mechanisms, in particular the corticostriatal subcircuits, involved in the initial acquisition of actions and skills differ from those involved in their automatization or in the formation of habits [2, 15, 26-29]. For example, we have demonstrated recently that the extracellular signal-regulated kinase (ERK), a known marker of long-term memory stabilization, is activated in the cerebellum, the anterior cortex and the hippocampus of mice during the early acquisition phase of learning [15]. In contrast, in the striatum structure, activation of ERK occurs preferentially in the later phase of motor skill learning. Obviously, despite that the nigrostriatal pathway is primarily affected in the brain, the MPTP treatments will also have impact on extrastriatal DA levels in our experiments. For instance, DA depletion in the motor cortex is associated with motor skill learning deficit [30, 31]. Further experiments would need to be performed in order to isolate the effects of striatal versus extrastriatal DA-depletion on motor learning. Nevertheless, our study underlies the role of DA in the relationship between motor performance and the different phases of motor learning.

It is noteworthy that the rotarod performances of mice, even at the highest DA-depletion, are not completely blocked. This could indicate that only a restricted number of DA neurons contribute to rotarod learning. Besides, the DA system of neurotransmission is not the only neurotransmitter involved in learning [32-34]. For example, we have demonstrated that the NR2A subunit of the NMDAR in the dorsal

Rapport-Gratuit.com

striatum directly contributes to motor skill learning, especially during the slow acquisition phase [16]. Interestingly, even if their performances are inferior to those of control mice, severely DA-depleted mice still improve slightly their time spent on the rotarod within one session, but always begin at lower scores at the next session. This suggests that there are marginal consolidations between sessions in mice. It also suggests that there are no floor effects.

Our experiments on the wire suspension and pole tests are suggesting that the effects induced by DA-depletion relate specifically to learning and memory deficits rather than an influence on the motor capacity of mice. Indeed, we demonstrate that even higher degrees of DA-depletions have no effects on general motor abilities such as motor coordination, muscular strength and motion speed. These data concur with other studies demonstrating that more than 80% depletion in DA levels following MPTP treatment is not associated with impaired pole test performances in mice [17, 35]. Nevertheless, this is somewhat surprising as, intuitively, we would have expected an impairment of motor performance in severely DA-depleted mice. One limitation of the wire suspension and pole tests is that they do not examine specifically thin and complex movements. Consequently, we were concerned about an insufficient sensitivity of these tests. However, after considering carefully the literature on more sensitive tests of action performance, we understood that this point is highly controversial considering numerous MPTP doses, mode of administration, animal species as well as motor behavioural tests settings utilized. Besides, many studies do not assess the degree of DA-depletion after MPTP injection which makes the results difficult to interpret [8, 36, 37]. For example, studies using comparable paradigm of MPTP treatment demonstrated conflicting results in a wheel running test [37, 38]. One study, which did not assessed the degree of DA-depletion, demonstrated a significant wheel drop following high doses of MPTP treatment [37] whereas the second study showed that a depletion of 90% in striatal DA levels did not affect wheel running performance [38]. Therefore, we believe our data are sound and that impaired acquisition of skilled behavior rather than deficits of general motor functions predominantly occurred in mice with a high degree DA-depletion.

In general, clinical studies demonstrate that PD patients display attenuation rather than abolition of the implicit procedural learning as well as an impaired translation of sequence knowledge during rapid motor performance [39, 40]. For example, Muslimovic et al. have observed, using the serial reaction time task, that PD patient with advanced clinical symptoms exhibit worse performance [39]. In fact, it is observed that PD patients, even with severe clinical symptoms, are able to ameliorate their motor performance through adaptative locomotor behaviour improvement [41-43]. These clinical data are in agreement with our study. We demonstrate that rotarod performances are not completely blocked in DA-depleted mice and that these mice are able to ameliorate their motor performances with training.

In this study, we investigate the effect of DA withdrawal in relation to the different phases of motor skill learning. Our findings demonstrate that beyond a given degree of DA-depletion, impaired learning can be observed during the slower acquisition phase whereas the faster acquisition phase is altered as the loss of DA neurons progress. These impaired learning abilities are not associated with motor capacities alterations. Therefore, we demonstrate that the acquisition of motor skill learning is more vulnerable to DA depletion than DA-mediated motor control. Moreover, interestingly, our data suggest that only few dopaminergic neurons are critical to the acquisition of motor skill learning as well as the control of motor activity.

Acknowledgements

We thank François Labarre for technical support. This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (Grant 311763-07) and the Canada Research Chair in Molecular Neuropharmacology. C.R. was the holder of an undergraduate student research awards from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

References

[1] Costa RM, Cohen D, Nicolelis MA. Differential corticostriatal plasticity during fast and slow motor skill learning in mice. Curr Biol. 2004; 14: 1124-34.

[2] Wachter T, Rohrich S, Frank A, Molina-Luna K, Pekanovic A, Hertler B, et al. Motor skill learning depends on protein synthesis in the dorsal striatum after training. Exp Brain Res. 2010; 200: 319-23.

[3] Yin HH, Mulcare SP, Hilario MR, Clouse E, Holloway T, Davis MI, et al. Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. Nat Neurosci. 2009; 12: 333-41.

[4] Costa RM. Plastic corticostriatal circuits for action learning: what's dopamine got to do with it? Ann N Y Acad Sci. 2007; 1104: 172-91.

[5] Rozas G, Lopez-Martin E, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. The overall rod performance test in the MPTP-treated-mouse model of Parkinsonism. J Neurosci Methods. 1998; 83: 165-75.

[6] Keshet GI, Tolwani RJ, Trejo A, Kraft P, Doyonnas R, Clayberger C, et al. Increased host neuronal survival and motor function in BMT Parkinsonian mice: involvement of immunosuppression. J Comp Neurol. 2007; 504: 690-701.

[7] Hutter-Saunders JA, Gendelman HE, Mosley RL. Murine Motor and Behavior Functional Evaluations for Acute 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine (MPTP) Intoxication. J Neuroimmune Pharmacol. 2011.

[8] Shiotsuki H, Yoshimi K, Shimo Y, Funayama M, Takamatsu Y, Ikeda K, et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. J Neurosci Methods. 2010; 189: 180-5.

[9] Dunnett SB, Lelos M. Behavioral analysis of motor and non-motor symptoms in rodent models of Parkinson's disease. Prog Brain Res. 2010;184: 35-51.

[10] Beeler JA, Cao ZF, Kheirbek MA, Ding Y, Koranda J, Murakami M, et al. Dopamine-dependent motor learning: insight into levodopa's long-duration response. Ann Neurol. 2010; 67: 639-47.

[11] Ogura T, Ogata M, Akita H, Jitsuki S, Akiba L, Noda K, et al. Impaired acquisition of skilled behavior in rotarod task by moderate depletion of striatal dopamine in a pre-symptomatic stage model of Parkinson's disease. Neurosci Res. 2005; 51: 299-308.

[12] Eckart MT, Huelse-Matia MC, Loer D, Schwarting RK. Acquisition and performance in a rat sequential reaction time task is not affected by subtotal ventral striatal 6-OHDA lesions. Neurosci Lett. 2010; 476: 27-31.

[13] Gambhir H, Mathur R, Behari M. Progressive impairment in motor skill learning at 12 and 20 weeks post 6-OHDA- SNc lesion in rats. Parkinsonism Relat Disord. 2011.

[14] Buitrago MM, Schulz JB, Dichgans J, Luft AR. Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. Neurobiol Learn Mem. 2004; 81: 211-6.

[15] Bureau G, Carrier M, Lebel M, Cyr M. Intrastriatal inhibition of extracellular signal-regulated kinases impaired the consolidation phase of motor skill learning. Neurobiol Learn Mem. 2010; 94: 107-15.

[16] Lemay-Clermont J, Robitaille C, Auberson YP, Bureau G, Cyr M. Blockade of NMDA receptors 2A subunit in the dorsal striatum impairs the learning of a complex motor skill. Behav Neurosci. 2011.

[17] Sedelis M, Hofele K, Auburger GW, Morgan S, Huston JP, Schwarting RK. MPTP susceptibility in the mouse: behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences. Behav Genet. 2000; 30: 171-82.

[18] Sedelis M, Schwarting RK, Huston JP. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Behav Brain Res. 2001; 125: 109-25.

[19] Ogawa N, Mizukawa K, Hirose Y, Kajita S, Ohara S, Watanabe Y. MPTP-induced parkinsonian model in mice: biochemistry, pharmacology and behavior. Eur Neurol. 1987; 26 Suppl 1:16-23.

[20] Stephenson DT, Childs MA, Li Q, Carvajal-Gonzalez S, Opsahl A, Tengowski M, et al. Differential loss of presynaptic dopaminergic markers in Parkinsonian monkeys. Cell Transplant. 2007; 16: 229-44.

[21] Chen PC, Vargas MR, Pani AK, Smeyne RJ, Johnson DA, Kan YW, et al. Nrf2-mediated neuroprotection in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: Critical role for the astrocyte. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106: 2933-8.

[22] Hefti F, Melamed E, Wurtman RJ. Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: biochemical characterization. Brain Res. 1980; 195: 123-37.

[23] Jakowec MW, Nixon K, Hogg E, McNeill T, Petzinger GM. Tyrosine hydroxylase and dopamine transporter expression following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurodegeneration of the mouse nigrostriatal pathway. J Neurosci Res. 2004; 76: 539-50.

[24] Goldberg NR, Haack AK, Lim NS, Janson OK, Meshul CK. Dopaminergic and behavioral correlates of progressive lesioning of the nigrostriatal pathway with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Neuroscience. 2011; 180: 256-71.

[25] Jackson-Lewis V, Przedborski S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. Nat Protoc. 2007; 2: 141-51.

[26] D'Amours G, Bureau G, Boily MJ, Cyr M. Differential gene expression profiling in the mouse brain during motor skill learning: focus on the striatum structure. Behav Brain Res. 2011; 221: 108-17.

[27] Packard MG, McGaugh JL. Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. Neurobiol Learn Mem. 1996; 65: 65-72.

[28] Packard MG, Knowlton BJ. Learning and memory functions of the Basal Ganglia. Annu Rev Neurosci. 2002; 25:563-93.

[29] Luft AR, Buitrago MM, Ringer T, Dichgans J, Schulz JB. Motor skill learning depends on protein synthesis in motor cortex after training. J Neurosci. 2004; 24: 6515-20.

[30] Molina-Luna K, Pekanovic A, Rohrich S, Hertler B, Schubring-Giese M, Rioult-Pedotti MS, et al. Dopamine in motor cortex is necessary for skill learning and synaptic plasticity. PLoS One. 2009; 4:e7082.

[31] Hosp JA, Pekanovic A, Rioult-Pedotti MS, Luft AR. Dopaminergic projections from midbrain to primary motor cortex mediate motor skill learning. J Neurosci. 2011; 31: 2481-7.

[32] Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW. Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. Eur J Neurosci. 2005; 22: 505-12.

[33] Hilario MR, Clouse E, Yin HH, Costa RM. Endocannabinoid signaling is critical for habit formation. Front Integr Neurosci. 2007; 1: 6.

[34] Yu C, Gupta J, Chen JF, Yin HH. Genetic deletion of A2A adenosine receptors in the striatum selectively impairs habit formation. J Neurosci. 2009; 29: 15100-3.

[35] Kurosaki R, Muramatsu Y, Kato H, Araki T. Biochemical, behavioral and immunohistochemical alterations in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease. Pharmacol Biochem Behav. 2004; 78: 143-53.

[36] Amende I, Kale A, McCue S, Glazier S, Morgan JP, Hampton TG. Gait dynamics in mouse models of Parkinson's disease and Huntington's disease. J Neuroeng Rehabil. 2005; 2: 20.

[37] Liebetanz D, Baier PC, Paulus W, Meuer K, Bahr M, Weishaupt JH. A highly sensitive automated complex running wheel test to detect latent motor deficits in the mouse MPTP model of Parkinson's disease. Exp Neurol. 2007; 205: 207-13.

[38] Leng A, Mura A, Hengerer B, Feldon J, Ferger B. Effects of blocking the dopamine biosynthesis and of neurotoxic dopamine depletion with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) on voluntary wheel running in mice. Behav Brain Res. 2004; 154: 375-83.

[39] Muslimovic D, Post B, Speelman JD, Schmand B. Motor procedural learning in Parkinson's disease. Brain. 2007; 130: 2887-97.

[40] Seidler RD, Tuite P, Ashe J. Selective impairments in implicit learning in Parkinson's disease. Brain Res. 2007; 1137: 104-10.

[41] Soliveri P, Brown RG, Jahanshahi M, Marsden CD. Effect of practice on performance of a skilled motor task in patients with Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1992; 55: 454-60.

[42] Agostino R, Curra A, Soldati G, Dinapoli L, Chiacchiari L, Modugno N, et al. Prolonged practice is of scarce benefit in improving motor performance in Parkinson's disease. Mov Disord. 2004; 19: 1285-93.

[43] van Hedel HJ, Waldvogel D, Dietz V. Learning a high-precision locomotor task in patients with Parkinson's disease. Mov Disord. 2006; 21: 406-11.

Figures

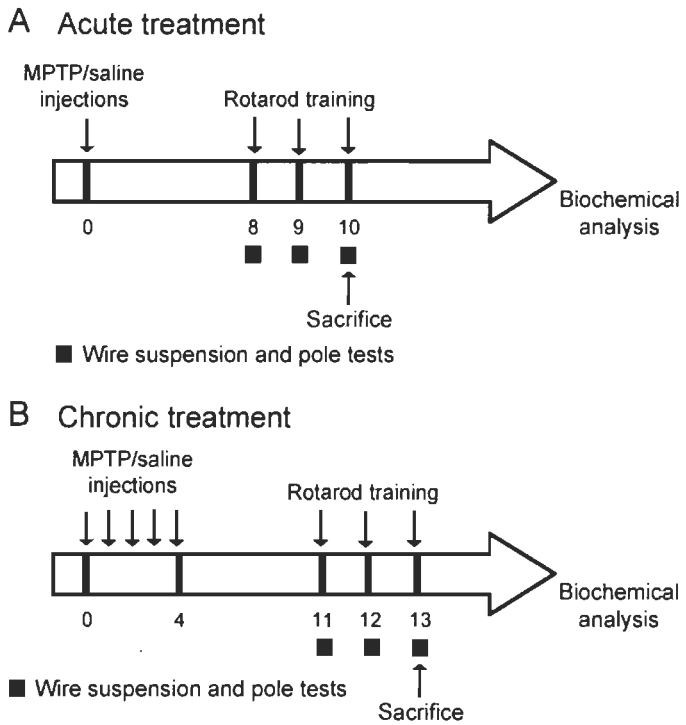


Figure 1 **Experimental design.**
Three groups of mice received acute MPTP treatments (4 injections i.p. within 1 day) at the doses of 9, 15, and 20 mg/kg (A). One group of mice received a chronic treatment consisting of 1 injection (s.c.) of 30 mg/kg/day for 5 days (B). Separate control groups (i.e. saline treated mice) for acute or chronic MPTP treatment groups were used. After the last MPTP or saline injection, a resting period of 7 days was allowed. Then, mice were trained on the rotarod test during 3 consecutive days. Before the initiation of rotarod trainings mice were tested for motor abilities using the wire suspension and pole tests. Note that mice were pre-trained by completing four trials before the test. Mice were sacrificed at the end of the last trial of rotarod training and their striatum were rapidly removed for DA denervation evaluation. The experimental set involved 6 groups: (1) control acute treatment, n=4; (2) MPTP 9 mg/kg, n=4; (3) MPTP 15 mg/kg, n=9; (4) MPTP 20 mg/kg, n=8; (5) control chronic treatment n=4; (6) MPTP 30 mg/kg, n=8.

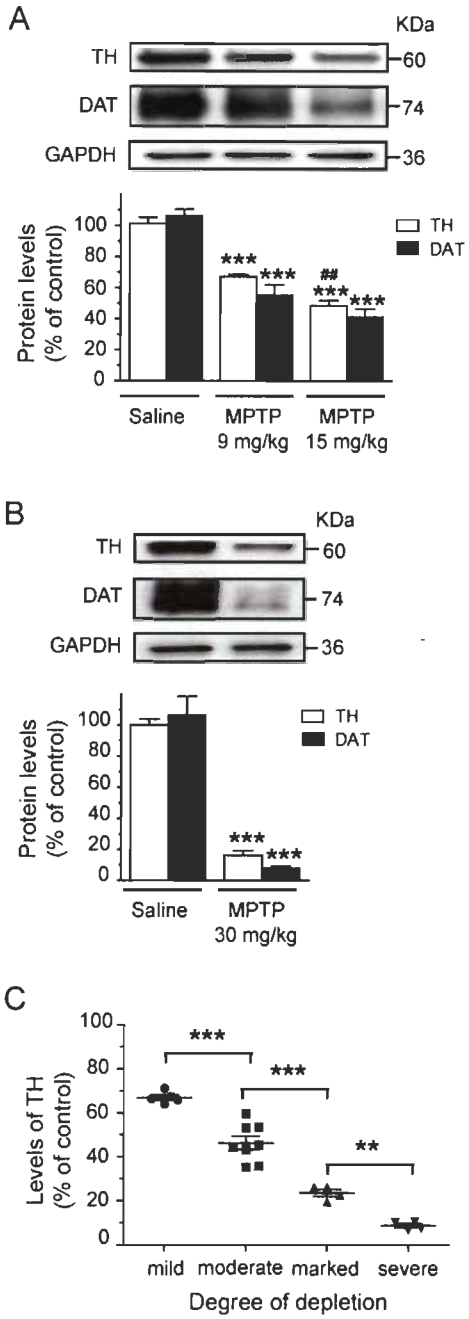


Figure 2 **Evaluation of striatal DA depletion in MPTP-treated mice.**
Levels of TH and DAT proteins were assessed by the Western blot technique in mice receiving (A) an acute (4 x 9 or 15 mg/kg in 1 day) or (B) a chronic MPTP treatment (1x 30 mg/kg on 5 days). (C) These data revealed four distinct clusters of TH levels corresponding to a mild, moderate, marked or severe degree of depletion. Data are expressed relative to GAPDH levels and represent the mean of relative optical density (expressed as a percentage of control values, i.e. saline-treated mice) ± S.E.M. n=4-9 mice/treatment. Values are from triplicate experiments/animal. $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$ vs respective control; $^{\#\#}p<0.01$ vs TH levels of mice treated with 9 mg/kg of MPTP.

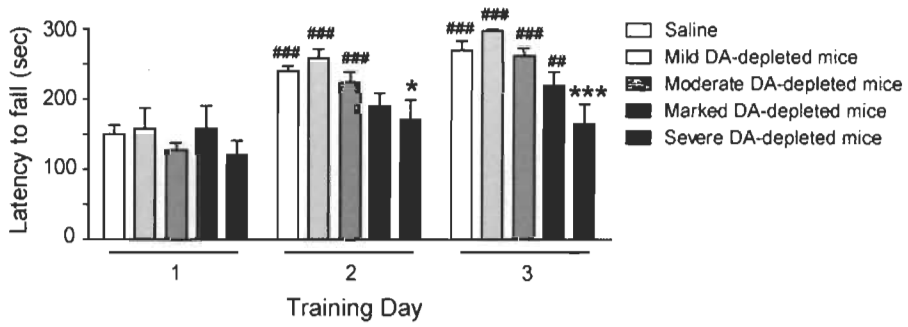
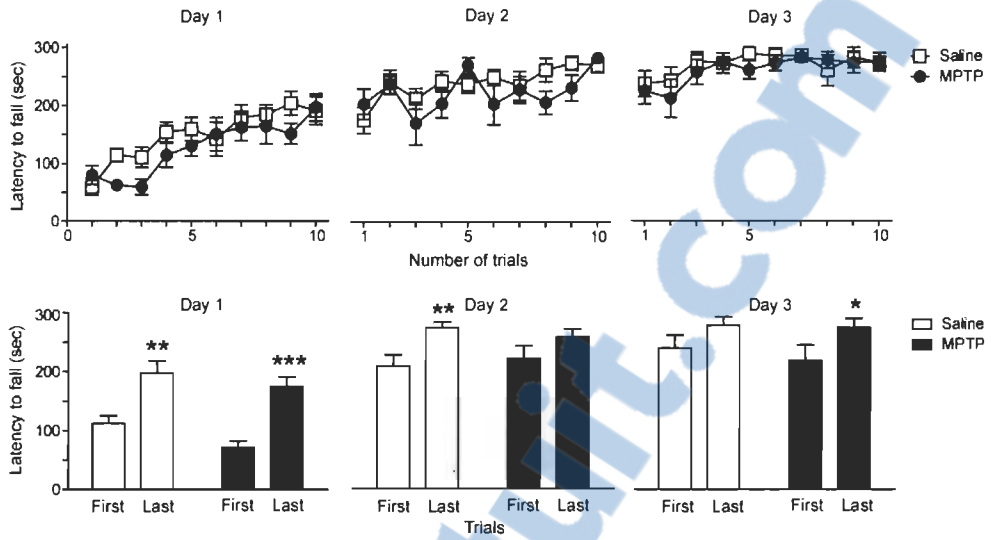
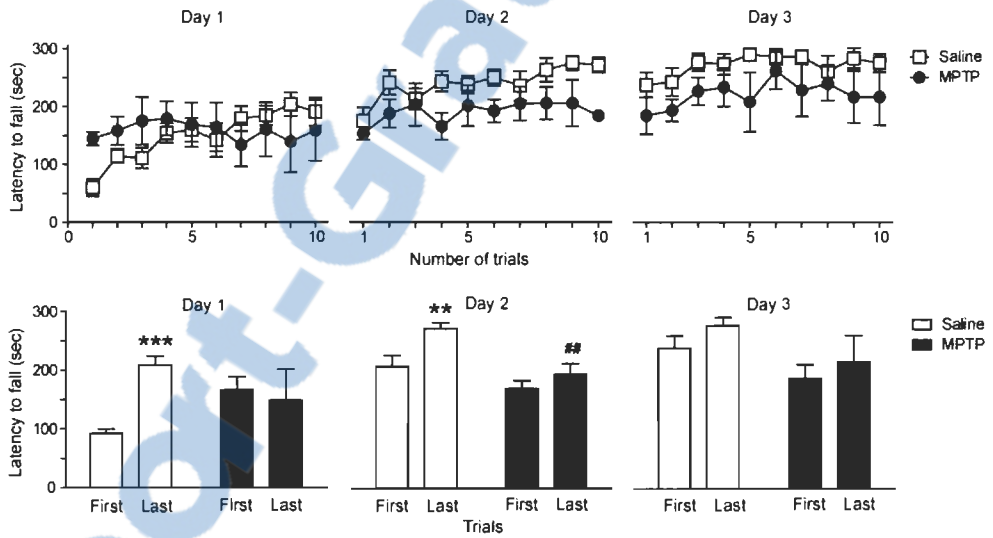


Figure 3 **The degree of DA-depletion altered the latency to fall in MPTP mice.** Total average latency to fall in every session was evaluated in saline-treated mice as well as the mild, moderate, marked and severely DA-depleted mice. Note that the saline group includes saline treated mice of both acute and chronic treatments. Data represent the mean of all trials per training day ± S.E.M., n=4-8 mice. *p<0.05, ***p<0.001 vs saline-treated mice; $^{\#}p$<0.05, $^{\#\#}p$<0.01, $^{\#\#\#}p$<0.001 vs respective group of day 1.

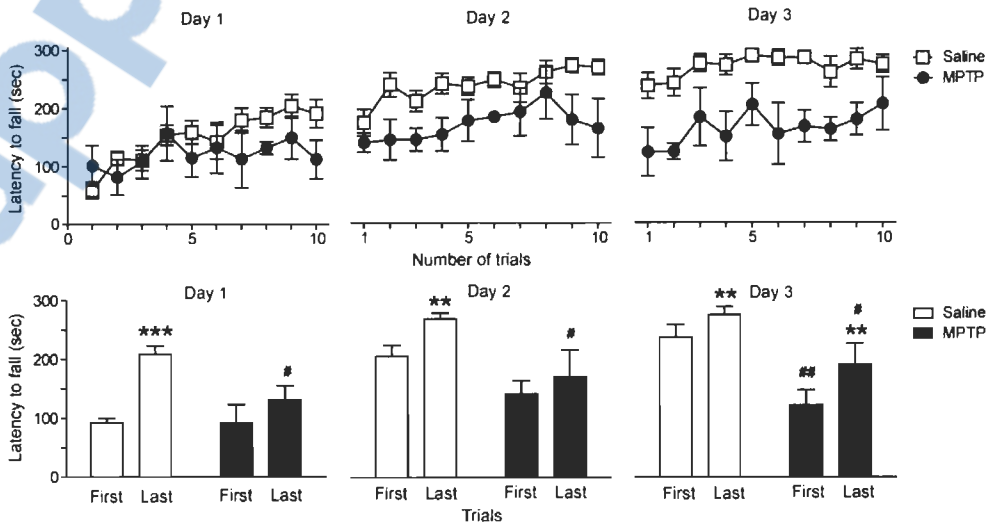
A Moderate DA-depleted mice



B Marked DA-depleted mice



C Severe DA-depleted mice



Rapport-Gratuit.com

Figure 4 **Rotarod performances were impaired in severely DA-depleted mice.** Motor skill learning was evaluated on MPTP mice using the accelerating rotarod task. Are shown the rotarod performances obtained from (A) moderate, (B) marked and (C) severely DA-depleted mice. Note that the saline group includes saline treated mice of both acute and chronic treatments. Upper panels represent the time spent on the rod of the accelerating rotarod for every trial completed at days 1, 2 and 3. Data represent the mean of latency to fall per trial expressed for every training session ± S.E.M. Lower panels represent the average scores of the two first and the two last trials of each session. Values represent the average mean latency to fall expressed in seconds ± S.E.M. n=4-8 mice/group. $^{*}p<0.05$, $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$ vs respective first trials; $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$ vs respective saline-treated mice.

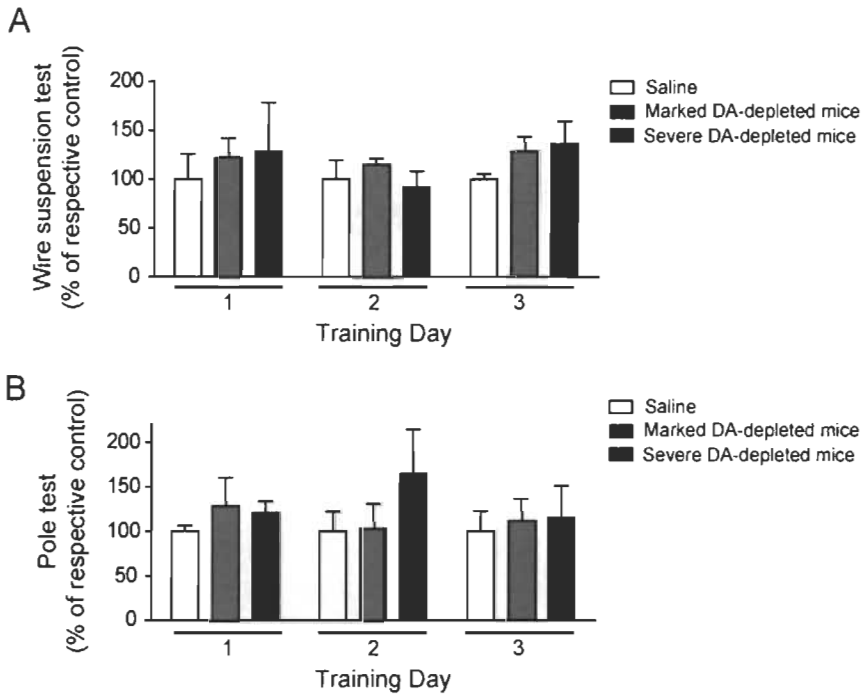


Figure 5 **DA-depleted mice displayed normal motor abilities.**
(A) The wire suspension and (B) pole tests were performed to assess motor abilities in saline-treated mice as well as marked and severely DA-depleted mice. Note that the saline group includes saline treated mice of both acute and chronic treatments. Data represent the mean of time required to perform the test per testing day (expressed as a percentage of saline values) ± S.E.M. n=4-8 mice.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

CHAPITRE V

STRIATAL INHIBITION OF CALPAINS PREVENTS LEVODOPA-INDUCED NEUROCHEMICAL CHANGES AND ABNORMAL INVOLUNTARY MOVEMENTS IN HEMIPARKINSONIAN RAT MODEL

Le contenu de ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans la revue « Neurobiology of Disease ». La référence de cet article est la suivante :

Chagniel L., Robitaille C., Lebel M. et Cyr M. (2012) « Striatal inhibition of calpains prevents levodopa-induced neurochemical changes and abnormal involuntary movements in the hemiparkinsonian rat model », Neurobiol Dis 45: 645-655. DOI:10.1016/j.nbd.2011.10.011

5.1 Contribution des auteurs

Les travaux présentés ont été réalisés en majeure partie par Laure Chagniel, sous la supervision de son directeur de recherche, le Dr Michel Cyr. La création du projet et des expériences ont été réalisées par Laure Chagniel sous l'expertise du Dr Michel Cyr. La majorité des expériences ont été réalisées par Laure Chagniel. Christine Robitaille, ancienne étudiante à la maîtrise, a réalisé les expériences d'immunofluorescence. Manon Lebel, ancienne étudiante au doctorat, a contribué aux chirurgies et à l'analyse comportementale de certaines dyskinésies. L'analyse et l'interprétation des résultats ont été réalisées par Laure Chagniel sous la supervision du Dr Michel Cyr. Laure Chagniel a écrit le manuscrit en collaboration avec le Dr Michel Cyr.

5.2 Résumé

Le remplacement pharmacologique de la dopamine par la L-DOPA reste l'approche la plus efficace pour traiter les symptômes moteurs de la maladie de

Parkinson. Cependant, lors de la progression de la maladie, la réponse thérapeutique à la L-DOPA devient graduellement erratique et elle est associée à l'émergence de dyskinésies chez la majorité des patients. La pathogénèse des dyskinésies induites par la L-DOPA reste encore inconnue. Dans cette étude, en utilisant le rat 6-OHDA, modèle de la maladie de Parkinson, nous avons démontré que les protéines calcium-dépendantes du striatum, calpaïnes et cdk5, jouent un rôle crucial dans les changements moléculaires et comportementaux induits par le traitement à la L-DOPA. Tout d'abord, nous avons confirmé que la L-DOPA atténue bien les symptômes parkinsoniens, en utilisant le « cylinder test », le « stepping test » et le « vibrissae-elicited reaching test », et qu'elle induit de robustes mouvements anormaux involontaires. L'infusion intrastriatale d'un inhibiteur des calpaïnes, le MDL28170, et dans une moindre mesure l'infusion de l'inhibiteur de cdk5, la roscovitine, réduit la sévérité et l'amplitude des mouvements anormaux involontaires, sans affecter l'effet antiparkinsonien de la L-DOPA. Notamment, les inhibiteurs des calpaïnes et de cdk5 renversent les changements moléculaires du striatum attribués au traitement à la L-DOPA comme la phosphorylation d'ERK1/2 et de dynamine. Une autre observation fascinante est que le traitement à la L-DOPA combiné à l'infusion intrastriatale du MDL28170 augmente les niveaux d'expression de la tyrosine hydroxylase dans le striatum des rats lésés, sans affecter le nombre de neurones dopaminergiques dans la substance noire. Ces résultats révèlent un nouveau mécanisme sous-jacent aux changements inadaptés induits par le traitement à la L-DOPA, chez le rat 6-OHDA, modèle de la maladie de Parkinson.

5.3 Troisième article scientifique

Striatal inhibition of calpains prevents levodopa-induced neurochemical changes and abnormal involuntary movements in the hemiparkinsonian rat model

Laure Chagniel, Christine Robitaille, Manon Lebel and Michel Cyr

Groupe de recherche en neurosciences, Département de chimie-biologie,
Université du Québec à Trois-Rivières, 3351, boul. des Forges, C.P. 500,
Trois-Rivières (QC), Canada G9A 5H7

Corresponding author:
Michel Cyr, PhD
Neuroscience Research Group
Université du Québec à Trois-Rivières
3351, boul des Forges, C.P. 500
Trois-Rivières (QC) Canada G9A 5H7
Telephone: 819-376-5011 Extension 3301
Fax: 819-376-5084
cyrmi@uqtr.ca

Abstract

Pharmacological dopamine replacement with L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) remains the most effective approach to treat the motor symptoms of Parkinson's disease (PD). However, as the disease progresses, the therapeutic response to L-DOPA gradually becomes erratic and is associated with the emergence of dyskinesia in the majority of patients. The pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia (LID) is still unknown. In the current study, using the 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rat model of PD, we demonstrated that the calcium-dependent proteins calpains and cdk5 of the striatum play a critical role in the behavioral and molecular changes evoked by L-DOPA therapy. We first confirmed that L-DOPA reversed PD symptoms, assessed by the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests in this animal model, and elicited robust abnormal involuntary movements (AIMs) reminiscent of LID. Interestingly, intrastriatal infusion of the calpains inhibitor MDL28170, and to a lower extent the cdk5 inhibitor roscovitine, reduced the severity and amplitude of AIMs without affecting L-DOPA's antiparkinsonian effects. Notably, the calpains and cdk5 inhibitors totally reversed the striatal molecular changes attributed to L-DOPA therapy, such as ERK1/2 and dynamin phosphorylation. Another fascinating observation was that L-DOPA therapy, in combination with intrastriatal infusion of MDL28170, augmented tyrosine hydroxylase levels in the striatum of lesioned rats without affecting the number of dopaminergic cells in the substantia nigra. These findings disclose a novel mechanism underlying the maladaptive alterations induced by L-DOPA therapy in the 6-OHDA rat model of PD.

Keywords: Parkinson's disease, 6-hydroxydopamine, levodopa, dyskinesia, caudate-putamen, cdk5, calpains

Introduction

Severe degeneration of nigrostriatal dopamine-producing neurons is associated with pathological features of typical Parkinson's disease (PD) motor syndrome (akinesia, rigidity, tremor, postural imbalance), leading to diagnosis and treatment (Braak et al., 2004; Gelb et al., 1999). The dopamine synthesis precursor, L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), produces mild to remarkable reduction of these PD symptoms. Disease management with L-DOPA remains effective for several years without substantial fluctuations in the clinical response. As the disease progresses, however, the pool of surviving dopaminergic neurons has difficulty managing exogenous L-DOPA, the consequence of which is irregular dopamine release, resulting in motor fluctuations that will eventually be accompanied by excessive abnormal involuntary movements (AIMs) termed L-DOPA-induced dyskinesias (LID). A review of the literature shows that approximately 30% of PD patients experience LID after 4-6 years of treatment, and close to 90% of patients suffer from this complication after 9 years (Ahlskog and Muenter, 2001).

Animal models have demonstrated that LID are paralleled by increased signal transduction and significant changes in striatal protein expression (Aubert et al., 2005; Brotchie, 1998; Cenci, 2002; Doucet et al., 1996; Gerfen et al., 2002). Basically, the most recognized molecular markers of LID are elevation of ΔFosB, phosphorylation of dopamine, cAMP-regulated phosphoprotein of 32 kDa (DARPP-32) at threonine 34, and activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (ERK1/2) (Andersson et al., 1999; Cenci, 2002; Gerfen et al., 2002; Pavon et al., 2006; Picconi et al., 2003; Santini et al., 2007; Westin et al., 2007; Winkler et al., 2002). In addition, several experiments on animal models of LID have implicated overactive glutamate and dopamine receptor transmission in striatal neurons, known to affect calcium fluxes across the plasma membrane and between intracellular compartments (Cenci and Konradi, 2010; Chase and Oh, 2000; Jenner, 2008; Rylander et al., 2009; Schuster et al., 2009). Indeed, indirect evidence argues for a role of calcium-dependent proteins in LID emergence (Blandini et al., 2009; Guan et al., 2010; Kobylecki et al., 2010; Konradi et al., 2004). For instance, a DNA microarray study has revealed striking up-regulation of genes

involved in calcium homeostasis and in calcium-dependent signaling in rats that developed a dyskinetic motor response to L-DOPA (Konradi et al., 2004). Chronic co-treatment for 21 days with an inhibitor of calcium-permeable α-amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate (AMPA) receptors reduced the induction of AIMs by L-DOPA in 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rats (Kobylecki et al., 2010). Alterations in the regulation of intracellular calcium homeostasis have been reported in the peripheral blood lymphocytes of LID patients (Blandini et al., 2009). However, whether calcium-dependent proteins participate in the emergence of LID has never been directly investigated.

Calpains, calcium-dependent proteases that are widely expressed in the central nervous system, are essential for many physiological neuronal functions (Liu et al., 2008). Activated calpains, among many molecular targets, cleave the protein p35 to p25. This truncated form of p35 leads to hyperactivation of serine/threonine kinase cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) (Kusakawa et al., 2000; Lee et al., 2000b). The calpains/cdk5 pathway regulates dynamin phosphorylation at serine 774 (Graham et al., 2007). Dynamin is implicated at the fission step of synaptic vesicles endocytosis by its spontaneous self-assembly into rings around the neck of clathrin-coated pits and its phosphorylation is known to be involved in receptor-mediated endocytosis. Dysregulation of cdk5, by its association with p25, could affect neuronal function and is linked with several neurological disorders (Dhavan and Tsai, 2001; Smith et al., 2001; Wei and Tomizawa, 2007). It was recently reported that inhibition of calpains and cdk5 prevents the degeneration of dopamine neurons in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse and 6-OHDA rat models of PD (Crocker et al., 2003; Grant et al., 2009; Smith et al., 2003; Smith et al., 2006). These data concur with *post-mortem* studies demonstrating elevated calpains and cdk5 activities in human PD brains (Alvira et al., 2008; Crocker et al., 2003; Mouatt-Prigent et al., 1996; Nakamura et al., 1997). However, whether these PD patients exhibited symptoms of LID is not defined. Consequently, the role of calpains and cdk5 in LID emergence remains completely unknown. In the present investigation, we examine the behavioral effects as well as the cellular and neurochemical mechanisms of continuous intrastriatal inhibition

of calpains or cdk5 during L-DOPA-induced maladaptive changes in the 6-OHDA-lesioned rat model of PD.

Materials and Methods

Animals

Sixty-six adult male Sprague-Dawley rats (200-250 g, Charles River Laboratories, St-Constant, QC, Canada) were housed in pairs in a climate-controlled room (14-h light/10-h dark cycle) with food and water available *ad libitum*. All experiments, approved by the institutional animal care committee, were in accordance with ethics standards of the Canadian Council on Animal Care.

Experimental design

The experimental design is detailed in Figure 1A. All rats (n=66) were injected unilaterally with saline (n=8, sham) or 6-OHDA (n=58) in the right medial forebrain bundle. To assess the efficacy of the 6-OHDA lesion, all animals were tested for apomorphine-induced rotational behavior, 10 days after exposure to 6-OHDA. Rats showing pronounced rotational behavior after apomorphine challenge (>5 contralateral turns/min) were selected. To confirm that these rats exhibited parkinsonian-like motor deficits, we performed a series of forelimb placement tests, such as the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests, 11 days after the lesion. Based on their apomorphine and forelimb placement scores, the rats were divided into different groups, so that there was no significant difference between groups on all tests. Twenty-five days after lesioning, 1 group of 6-OHDA-lesioned rats was sacrificed whereas the other groups received continuous intrastriatal infusion of the calpains inhibitor MDL28170, or the cdk5 inhibitor roscovitine via mini-pump implantation, until the end of the experiment. Three days after mini-pump implantation, the animals were injected subcutaneously (s.c.) twice daily with either saline or L-DOPA for 21 days. Locomotive, axial, forelimb and orolingual AIMs were assessed during L-DOPA therapy on days 1,

7, 14 and 21. The antiparkinsonian effects of the drugs were evaluated by the stepping and vibrissae-elicited reaching tests 180 min after L-DOPA or saline injections on days 1, 11 and 20. The animals were sacrificed 1 h after the last L-DOPA or saline injection. Two independent sets of experiments were conducted, one to quantify protein levels by Western blotting and the other to measure immunofluorescence. The first experimental set involved 7 groups: (1) sham, *n*=4; (2) 6-OHDA+saline, *n*=6; (3) 6-OHDA+L-DOPA, *n*=4; (4) 6-OHDA+saline+MDL28170, *n*=4; (5) 6-OHDA+L-DOPA+MDL28170, *n*=4; (6) 6-OHDA+saline+roscovitine, *n*=4; and (7) 6-OHDA+L-DOPA+roscovitine; *n*=4. The second experimental set comprised 4 groups: (1) sham, *n*=4; (2) 6-OHDA, *n*=4; (3) 6-OHDA+L-DOPA+vehicle, *n*=4; and (4) 6-OHDA+L-DOPA+MDL28170, *n*=4.

6-OHDA lesions

Under isoflurane anesthesia, rats were injected unilaterally in the right medial forebrain bundle (MFB) (antero-posterior (AP): -4.3 mm, and medial-lateral (ML): 1.7 mm from the bregma; dorso-ventral (DV): 8.2 mm from the dura (Paxinos and Watson, 2007) with either saline (sham group) or 6-OHDA (2.5 µl, 5 mg/ml free base in 0.1% ascorbic acid; Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) at a rate of 0.5 µl/min. Thirty minutes prior to intracranial injection, they received s.c. injection of desipramine hydrochloride (15 mg/kg; Sigma-Aldrich) to protect noradrenergic neurons.

Intrastriatal inhibition of calpains and cdk5

Rats were anesthetized under isoflurane and a cannula was positioned in the striatum at the following stereotaxic coordinates: AP: 0.8 mm and ML: 2.80 mm from the bregma; DV: 5 mm from the dura (Paxinos and Watson, 2007). It was kept in place with Loctite instant adhesive. An osmotic mini-pump (Model 2004: 0.25 µl/h, 28 days; Alzet, Cupertino, CA, USA) was inserted surgically s.c. between the scapulae and connected to the cannula via plastic tubing (brain infusion kit 2; Alzet). The rats received continuous intrastriatal infusion of either roscovitine, a cdk5 inhibitor (84.6 nmol/day, Enzo Life Sciences, Plymouth, PA, USA), or MDL28170, a calpains

Rapport-Gratuit.com

inhibitor (1.92 nmol/day, Enzo Life Sciences). MDL28170 was diluted in saline solution containing 10% (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin (Sigma-Aldrich) from a 20 mM stock solution dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO; Lab Mat, Quebec, QC, Canada). Roscovitine was prepared in saline solution from a 28.3 mM stock solution in DMSO. We selected these doses based on previous studies (Crocker et al., 2003; Zhang et al., 2004a).

L-DOPA treatment

6-OHDA-lesioned rats were given s.c. injections of L-DOPA (25 mg/kg; Sigma-Aldrich) combined with benserazide hydrochloride (6.25 mg/kg; Sigma-Aldrich) twice a day for 21 consecutive days. Control animals received s.c. injections of saline solution twice a day for 21 consecutive days. Note that the volume of saline was similar to the L-DOPA volume injected.

Apomorphine test

Rat turning behavior was estimated for 30 min, after R(-) apomorphine hydrochloride hemihydrate injection (1 mg/kg, s.c.; Sigma-Aldrich). Only those showing pronounced rotational behavior (≥5 contralateral turns/min) were selected for study. It has been demonstrated that rats manifesting this circling behavior display more than 90% depletion of striatal dopamine (Papa et al., 1994; Schwarting and Huston, 1996).

Analysis of the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests

The following tests were undertaken as detailed previously (Grant et al., 2009). Note that asymmetry percentages between the ipsilateral and contralateral sides of the lesion were calculated as 100x(ipsilateral-contralateral)/(ipsilateral+contralateral). According to these measures, equal use of both forelimbs would score 0%, whereas total neglect of the forelimb contralateral to the lesion would score 100%. Further utilization of the forelimb contralateral to the lesion compared to the ispsilateral forelimb gave

negative values. *Cylinder test*: Rats were placed in a transparent cylinder with bottom bedding (25 cm high, 19 cm diameter) for 10 min, and the number of supporting wall contacts during vertical exploration (left, right, or both forelimbs simultaneously) was counted. The cylinder was cleaned and bedding was replaced prior to each trial. *Stepping test*: This test consisted of holding the rats, lifting their hindlimbs and 1 forelimb but allowing the unrestrained paw to make contact with the table. The rats were moved sideways across the table for 10 s, and the number of adjusting steps that the animals needed to take was recorded. The procedure was repeated for the other forelimb. *Vibrissae-elicited reaching test*: This test consisted of holding the rats by their torsos so that 1 forelimb was allowed to hang free. The vibrissae on one side of the animals were brushed against the corner of a table and the number of table contacts from the ipsilateral forelimb was counted. The procedure was repeated 10 times for each forelimb.

Analysis of AIMs

AIMs were scored during L-DOPA treatment on days 1, 7, 14 and 21 according to a rat dyskinesia scale (Cenci et al., 2002; Lebel et al., 2010; Winkler et al., 2002). The rats were placed individually in transparent plastic cages and scored every 20 min, for 1-min sessions, through 180 min, after a single dose of either saline or L-DOPA. Locomotor, axial, orolingual and limb AIMs, as defined previously (Lebel et al., 2010), were rated on a severity scale from 1 to 4 based on their duration and persistence: 1=occasional; 2=frequent; 3=continuous but interrupted by sensory distraction; and 4=continuous but not interrupted by sensory distraction. Enhanced manifestations of normal behaviors, such as grooming, sniffing and gnawing, were not included in the rating. In addition, axial and limb AIMs amplitudes were assessed. Amplitudes were scored from 0 to 4 as described previously (Lundblad et al., 2002; Winkler et al., 2002). AIMs scores per testing day were analyzed for each animal and expressed as locomotive AIMs and as the sum of axial, forelimb and orolingual AIMs. As shown previously, locomotive AIMs do not represent a specific measure of dyskinetic motor features (Lundblad et al., 2002). However, we decided to preserve locomotive AIMs in our rating

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

scale in compliance with the description of the rat AIMs model (Cenci, 2002; Lebel et al., 2010; Winkler et al., 2002).

Western blotting analysis

One hour after the last saline or L-DOPA injection, the animals were killed by decapitation, and their brains rapidly removed for dissection. Striatum biopsies were immediately frozen on powdered dry ice and stored at -80°C until protein extraction. Samples were homogenized in ice-cold RIPA lysis buffer containing protease and phosphatase inhibitor cocktails (Roche, Indianapolis, IN, USA). Protein concentrations were quantified by Bradford assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Western blot analyses were performed with equal amounts of protein (40 μg), separated on SDS/PAGE, transferred onto nitrocellulose membranes, and immunoblotted overnight with primary antibody. The following primary antibodies were deployed: rabbit polyclonal antibody against tyrosine hydroxylase (TH; 1:1000; Chemicon, Temecula, CA, USA), sheep polyclonal antibody against phosphorylated-dynamin I (ser774) (1:1000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), rabbit polyclonal antibody against dynamin (1:1000; Santa Cruz Biotechnology), rabbit polyclonal antibody against phospho-p44/42 MAPK (ERK1/2; Thr202/Tyr204; 1:1000; Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA), and mouse monoclonal antibody against p44/42 MAPK (ERK1/2; 1:1000; Cell Signaling Technology). The membranes were washed in TBS-Tween 0.1% and incubated with appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody (1:5000; Thermo Scientific, Ottawa, ON, Canada). Rabbit polyclonal antibody against GAPDH (1:1000; Abcam, Cambridge, MA, USA) served as a loading control. Chemiluminescence reactions (SuperSignal West Femto chemiluminescence kit, Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) visualized protein bands, and band immunoreactivity was analyzed quantitatively by Vision Work LS software (UVP Bioimaging, Upland, CA, USA). Densitometry was expressed as relative optical density.

Immunofluorescence analysis

Immunofluorescence experiments were performed as described previously (Lebel et al., 2010). Briefly, rats were deeply anesthetized with chloral hydrate (800 mg/kg, i.p.) and perfused transcardially with paraformaldehyde 4% (wt/vol) in PBS. Their brains were removed and post-fixed overnight in the same solution and for a few hours in 10% sucrose/4% paraformaldehyde (wt/vol) in PBS. They were rapidly frozen in isopentane and stored at -80°C until used. Coronal sections (60 μm) were sliced with a Leica CM3050S cryostat (Leica, Richmond Hill, ON, Canada), kept at 4°C in PBS and processed for free-floating immunofluorescence. Sections were pre-incubated for 1 h at room temperature in blocking solution containing 10% NGS in PBS and incubated overnight at 4°C with mouse monoclonal anti-TH primary antibody (1:1000; Millipore, Billerica, MA, USA) diluted in a solution containing 0.3% Triton X-100 and 2% NGS in PBS. The secondary antibody was goat anti-mouse conjugated with FITC (1:500; Jackson Immunoresearch Laboratories, West Grove, PA, USA). We also employed the nuclear marker Hoescht 33342 (1:10000/PBS, Invitrogen, Burlington, ON, Canada). Sections were mounted in Vectashield medium (Vector Laboratories, Burlington, ON, Canada) on Superfrost slides for visualization under a confocal spinning disk microscope (MBF Bioscience, Williston, VT, USA). TH-positive cell numbers of the substantia nigra pars compacta (SNc) were determined by unbiased stereological quantification with Stereoinvestigator software (MBF Bioscience) as described previously (Lebel et al., 2010). Three coronal sections that included the SNc were considered per animal: -4.80, -5.04 and -5.28 mm from the bregma (Paxinos and Watson, 2007). Borders of the SNc were defined by TH immunostaining from a random starting point with 2X objective. Cells were counted with a 60X PlanApo oil-immersion objective and 1.4 numerical aperture attached to an Olympus BX51 microscope. Counts were recorded at predetermined intervals (x = 250, y = 150), and a counting frame (50x50μm) was superimposed on the live image of each tissue section. Average section thickness was 60 μm with a range of 57.9-62.5 μm, and dissector height was set at 50 μm. Immunoreactive neurons were counted only if the first recognizable profile came into focus within the counting frame. This method allowed for a uniform, systematic, and random design. Focusing through the z-axis revealed that TH antibodies penetrated

the full depth of each section. TH-positive cell counts were expressed as percentages of the non-lesioned side of each rat. TH immunofluorescence analysis of striatum structure was also conducted. The non-specific staining was evaluated by using IgG's (Millipore) at a concentration of 1μg/ml that is the same concentration utilized for the mouse monoclonal anti-TH antibody (Millipore). Totally, 7 coronal sections were considered – +1.08, +0.84, +0.60, +0.36, +0.12, -0.12 and -0.36 mm from the bregma (Paxinos and Watson, 2007) – and images were captured bilaterally with 2X objective. The whole striatum structure (without the nucleus accumbens) was delineated and analyzed with IPLab 3.0.6 software (Scanalytics, Fairfax, VA, USA). Relative density measurements were expressed as percentages of the non-lesioned side of each animal.

Data analysis

The data were analyzed with GraphPad Prism software (version 5.0, GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Data of the stepping or vibrissae-elicited reaching tests were analyzed by 2-way repeated-measures ANOVA, followed by the *post hoc* Bonferroni test. However, no interaction between time factor (testing day) and group category (treatment) was found. Therefore, each individual testing session were analyzed using the 1-way ANOVA followed by the Newman-Keuls *post hoc* test. Effect of time within group was also verified by 1-way repeated-measures ANOVA, followed by the Newman-Keuls *post hoc* test. AIMs scores per testing day during the chronic drug treatment periods were analyzed by Kruskal-Wallis non parametric ANOVA followed by *post hoc* Dunns test. Effect of time within group was verified using Friedman's non-parametric ANOVA followed by *post hoc* Dunns test. All others data were analyzed by 1-way ANOVA followed by the Newman-Keuls *post hoc*. The data are reported as mean ± SEM. Statistical significance was set at $P<0.05$.

Results

Validation of the unilateral 6-OHDA-lesioned rat model

Ten days after 6-OHDA injection, the severity of dopaminergic depletion was verified by assessing the contraversive rotation response to apomorphine (Fig. 1B). Although sham-operated rats (intrastriatal saline injection) did not exhibit any rotating behaviors, apomorphine treatments induced low (<1 turn/min, n=20) to severe (>5 turns/min, n=38) contralateral turning in 6-OHDA-injected rats (Fig. 1B; ANOVA, $F_{(8,65)}$=22.6, P<0.001). Animals in the latter group were selected for further study. Before the beginning of drug treatments, forelimb akinesia and postural imbalance were evaluated with the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests (Fig. 1C). 6-OHDA-lesioned rats demonstrated severe sensorimotor deficits in these 3 tests whereas low responders to apomorphine treatment (<1 turn/min) and sham controls exhibited virtually equal forelimb utilization (Fig. 1C; ANOVA; cylinder test: $F_{(8,65)}$=14.0, P<0.001; stepping test: $F_{(8,65)}$=12.8, P<0.001; vibrissae-elicited reaching test: $F_{(8,65)}$=16.3, P<0.001). 6-OHDA-lesioned rats were allocated to different groups based on their performance in the apomorphine, cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests so there were no significant differences between groups on all tests. TH, the rate-limiting enzyme for dopamine synthesis, is a widely known marker of dopaminergic depletion in the 6-OHDA rat model (Lebel et al., 2010; Winkler et al., 2002). We, therefore, conducted Western blot experiments to assess TH levels in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats and saw a decrease of more than 95% (Fig. 1D; ANOVA, $F_{(2,19)}$=94.2, P<0.001). Notably, low responders to apomorphine treatment displayed similar striatal TH levels as sham controls (Fig. 1D).

Calpains and cdk5 inhibitors did not alter the antiparkinsonian effect of L-DOPA

Chronic L-DOPA treatment is recognized to improve the sensorimotor deficits observed in the 6-OHDA rat model (Lundblad et al., 2002; Winkler et al., 2002). To verify this antiparkinsonian effect of L-DOPA, we assessed scores on the stepping (Fig. 2A) and vibrissae-elicited reaching (Fig. 2B) tests in 6-OHDA-lesioned rats on

days 1, 11 and 20 during L-DOPA treatment. Statistical analyses demonstrated a significant deficit in contralateral forelimb utilization by 6-OHDA-lesioned rats in both tests (Figs. 2À and B; ANOVA; stepping test: day 1 $F_{(2,21)}$=13.7, P<0.001, day 11 $F_{(2,21)}$=25.3, P<0.001, day 20 $F_{(2,21)}$=32.2, P<0.001; vibrissae-elicited reaching test: day 1 $F_{(2,21)}$=17.2, P<0.001, day 11 $F_{(2,21)}$=13.9, P<0.001, day 20 $F_{(2,21)}$=32.7, P<0.001). L-DOPA overturned the sensorimotor deficits as early as the first day of treatment and constantly improved them with time (Figs. 2À and B; repeated-measures ANOVA; stepping test: $F_{(2,23)}$= 3.4, P>0.05; vibrissae-elicited reaching test: $F_{(2,23)}$=12.1, P<0.001).

We assessed the effect of adding the calpains inhibitor MDL28170 or the cdk5 inhibitor roscovitine to L-DOPA treatment on the sensorimotor deficits observed in 6-OHDA-lesioned rats (Figs. 2C and D). Note that these inhibitors were infused continuously in the dorsal striatum of 6-OHDA-lesioned rats via mini-pump during L-DOPA treatment. Statistical analysis revealed no differences in the percentage of asymmetry between rats treated with L-DOPA alone or in combination with either inhibitor in the stepping and vibrissae-elicited reaching tests (Figs. 2C and D; ANOVA; stepping test: day 1 $F_{(2,19)}$=0.3, P>0.05, day 11 $F_{(2,19)}$=2.6, P>0.05, day 20 $F_{(2,19)}$=1.2, P>0.05; vibrissae-elicited reaching test: day 1 $F_{(2,19)}$=1.3, P>0.05, day 11 $F_{(2,19)}$=0.4, P>0.05, day 20 $F_{(2,19)}$=0.1, P>0.05). These data demonstrated that MDL28170 and roscovitine had no influence in the antiparkinsonian effect of L-DOPA. Moreover, animal treated with L-DOPA constantly improved their sensorimotor deficits with time (repeated-measures ANOVA; stepping test: 6-OHDA+L-DOPA $F_{(2,23)}$=3.4, P>0.05, 6-OHDA+L-DOPA+MDL28170 $F_{(2,23)}$=6.4, P<0.05, 6-OHDA+L-DOPA+roscovitine $F_{(2,11)}$=41.0, P<0.001; vibrissae-elicited reaching test: 6-OHDA+L-DOPA $F_{(2,23)}$=12.1, P<0.001, 6-OHDA+L-DOPA+MDL28170 $F_{(2,23)}$=3.6, P>0.05, 6-OHDA+L-DOPA+roscovitine $F_{(2,11)}$=1.1, P>0.05). Besides, treatments of 6-OHDA-lesioned rats with MDL28170 or roscovitine alone did not affect the percentages of asymmetry in both the stepping and vibrissae-elicited reaching tests (Figs. 2E and F; ANOVA; stepping test: day 1 $F_{(2,13)}$=2.3, P>0.05, day 11 $F_{(2,13)}$=0.3, P>0.05, day 20 $F_{(2,13)}$=2.3, P>0.05; vibrissae-elicited reaching test: day 1 $F_{(2,13)}$=0.5, P>0.05, day 11 $F_{(2,13)}$=0.7, P>0.05, day 20 $F_{(2,13)}$=0.4, P>0.05). It is noteworthy that due to the intrinsic nature of

the stepping test, we observed that rats not receiving L-DOPA treatment were able to improve their performances over time, which simply reflected normal task learning (repeated-measures ANOVA; stepping test: 6-OHDA+saline $F_{(2,17)}=5.1$, $P<0.05$, 6-OHDA+saline+MDL28170 $F_{(2,11)}=2.5$, $P>0.05$, 6-OHDA+saline+roscovitine $F_{(2,11)}=7.0$, $P<0.05$; vibrissae-elicited reaching test: 6-OHDA+saline $F_{(2,17)}=1.4$, $P>0.05$, 6-OHDA+saline+MDL28170 $F_{(2,11)}=2.2$, $P>0.05$, 6-OHDA+saline+roscovitine $F_{(2,11)}=1.0$, $P>0.05$).

L-DOPA combined with MDL28170 increased TH levels in 6-OHDA-lesioned rats

Striatal TH levels were evaluated by Western blotting in drug-treated, 6-OHDA-lesioned rats (Fig. 3A). Densitometric analysis of immunoblots revealed that TH values were not different between the 2 brain hemispheres of the sham group and between the intact sides of the animals (data not reported). To put lesion efficacy into context, we compared the lesioned side of sham controls (98.9% of the contralateral side ± 4.0) and the lesioned side of 6-OHDA rats treated with saline (5.4% of the contralateral side ± 0.71), and we noted robustly decreased TH levels (unpaired t-test, $P<0.001$). On the 6-OHDA-lesioned side of rats, treatment with L-DOPA alone or L-DOPA combined with roscovitine had no significant effect on striatal TH (Fig. 3B; ANOVA, $F_{(3,17)}=7.4$, $P<0.01$). In contrast, these experiments disclosed that concomitant treatment with L-DOPA and MDL28170 increased TH levels in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. As mentioned above, TH is a widely used marker of dopaminergic depletion, but its loss does not necessarily indicate dopamine cell death. We, therefore, performed a second set of experiments to obtain fixed brains and assessed striatal TH-positive fiber density and numbers of TH-positive cells of the SNc by TH immunofluorescence. These experiments did not include roscovitine treatment as we did not observe any significant effect of this drug on striatal TH levels.

Rats included in the 6-OHDA-lesioned group were sacrificed 25 days after 6-OHDA injection to investigate striatal TH-positive fiber densities and SNc-positive cell numbers before the beginning of drug treatment. Densitometric analysis of striatal

TH staining revealed that TH-positive fiber densities were not different between the 2 brain hemispheres of the sham group (data not included). Besides, TH-positive fiber densities on the intact side of the animals were not different between groups (data not reported). In lesioned rats, the density of striatal TH-positive fibers was robustly decreased, and L-DOPA plus vehicle treatments did not induce significant changes (Fig. 4A, ANOVA, $F_{(2,10)}=17.0$, $P<0.01$). On the other hand, TH-positive fiber densities in rats treated with L-DOPA and MDL28170 combination were significantly higher than in animals given L-DOPA and vehicle. These results were in accord with striatal TH levels evaluated by Western blotting. One very interesting finding in the immunofluorescence study was that TH immunostaining in every 6-OHDA-lesioned rat treated with L-DOPA and MDL28170 combination was very high in the dorsal striatum (Fig. 4B). In fact, this location corresponded to the area underneath the cannula insertion site. The non-specific staining presumably associated to the injection site is negligible as shown by using IgG's at the same concentration as the TH antibody (Fig. 4C).

The second set of analysis was carried out in the SNc, and the number of TH-positive neurons was computed by a strict stereological technique. TH cell numbers were not different between the intact and lesioned sides of sham rats as well as on the intact side of animals (data not shown). TH cell numbers were robustly decreased in the SNc of lesioned rats (Figs. 5A and B). This result concurs with previous studies (Deumens et al., 2002; Sauer and Oertel, 1994) and confirmed that 6-OHDA injection into the MFB evoked massive death of dopamine-producing neurons. Interestingly, the decrease of TH-positive neurons was slightly greater, but not statistically significant, in 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA and vehicle (Fig. 5A; ANOVA, $F_{(2,10)}=3.2$, $P>0.05$). In 6-OHDA rats given L-DOPA and MDL28170 combination, the number of TH-positive neurons was comparable to that in 6-OHDA-lesioned rats exposed to L-DOPA and vehicle (Figs. 5A and B). One striking observation in these immunofluorescence experiments was that TH-positive neurons from 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA and MDL28170 combination displayed a larger nucleus and a much higher number of discernible varicosities than rats subjected to L-DOPA and vehicle (Fig. 5C). Further morphological studies are necessary to draw conclusions on

these qualitative findings. However, they suggested that the increased TH levels demonstrated in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA and MDL28170 combination were rather associated with elevated TH levels in dopamine cell terminals, as opposed to augmented numbers of dopamine cells.

Striatal biochemical modifications induced by calpains or cdk5 inhibition

Phosphorylated (p) and total dynamin and ERK1/2 levels were quantified by Western blotting of tissue lysates of sham and treated rats. Antibodies directed against dynamin phosphorylated at serine 774, ERK1 phosphorylated at threonine 202/tyrosine 204 and ERK2 at threonine 185/tyrosine 187 were used. Densitometric analysis revealed that total dynamin levels were unaffected between groups (Fig. 6A). On the other hand, p-dynamin levels were increased in 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA compared to 6-OHDA-lesioned rats treated with saline or sham (Fig. 6A; ANOVA, $F_{(4,19)}=4.7$, $P<0.05$). L-DOPA treatments combined with either MDL28170 or roscovitine totally prevented the increase in p-dynamin levels induced by L-DOPA alone (Fig. 6A). p-Dynamin values were not statistically different between rats treated with MDL28170 (81.8 ± 6.9) or roscovitine (72.3 ± 5.9) alone and sham. p-ERK1 and ERK2 levels were slightly elevated in 6-OHDA-lesioned rats but did not reach statistical significance (Fig. 6B; ANOVA; ERK1: $F_{(4,19)}= 3.6$, $P<0.05$; ERK2: $F_{(4,19)}=6.1$, $P<0.01$). L-DOPA treatments induced a significant rise in p-ERK1 or ERK2 levels that was prevented by the addition of MDL28170 or roscovitine. Total ERK1 and ERK2 levels were unaffected among groups. p-ERK1 and ERK2 levels were not statistically different between rats treated with MDL28170 (ERK1: 121.8 ± 8.0; ERK2: 108.0 ± 16.9) or roscovitine (ERK1: 123.3 ± 16.3; ERK2: 120.5 ± 21.9) alone and sham.

Intrastriatal inhibition of calpains or cdk5 prevented AIMs emergence induced by L-DOPA

To determine whether intrastriatal inhibition of calpains or cdk5 prior to L-DOPA treatment modulated the emergence of motor complications, AIMs were quantified and scored according to a rat dyskinesia scale as described previously (Lebel et al., 2010).

Rapport-Gratuit.com

Non-parametric analysis of locomotive scores at each testing day revealed a significant effect of treatment group on day 1 (Fig 7A; Kruskal-Wallis statistic; H=20.7, $P<0.001$), day 7 (H=21, $P<0.001$), day 14 (H=16.4, $P<0.001$) and day 21 (H=19.2, $P<0.001$). Analysis of axial, orolingual and limb AIMs scores showed a significant effect of treatment whatever the testing day (Fig. 7B; day 1: H=16.2, $P<0.01$; day 7: H=20.8, $P<0.001$; day 14: H=18.3, $P<0.001$; day 21: H=21.8, $P<0.001$). Analysis of dyskinetic amplitude disclosed an effect of treatment at each testing day (Fig. 7C; day 1: H=20.9, $P<0.001$; day 7: H=19, $P<0.001$; day 14: H=20.4, $P<0.001$; day 21: H=21.4, $P<0.001$). These analyses revealed that 6-OHDA-lesioned rats receiving saline, MDL28170 or roscovitine alone did not exhibit locomotive, axial, orolingual or limb AIMs (data not included). As we described previously (Lebel et al., 2010), 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA developed significant locomotive AIMs (Fig. 7A), severe axial, limb and orolingual AIMs (Fig. 7B), and wider dyskinetic movements affecting the forelimbs, head, neck and trunk (Fig. 7C). We observed that turning behavior was virtually unchanged over time, or slightly decreased, whereas the other AIMs were increased. 6-OHDA-lesioned rats receiving intrastriatal MDL28170 or roscovitine infusions in combination with L-DOPA treatment exhibited lower overall AIMs and dyskinetic amplitudes compared to L-DOPA alone (Figs. 7A-C). Notably, rats given MDL28170 showed dramatically reduced dyskinetic behavior, and the severity and frequency of AIMs in this group were not statistically different from those in rats administered saline (Figs. 7A-C). Moreover, the AIMs scores of 6-OHDA-lesioned rats receiving L-DOPA plus intrastriatal MDL28170 infusion were constant over time, whereas those of animals on roscovitine were increased (Figs. 7B and C).

Discussion

The dopamine precursor L-DOPA remains the gold standard regarding symptomatic efficacy in the drug treatment of PD since more than 40 years (Poewe et al., 2010). However, the intermittent activation of intracellular signaling pathways induced by each dose of L-DOPA leads to abnormal cellular plasticity, high bioenergetic expenditure, and motor complications (including dyskinesia) in about 80% of patients

(Brown et al., 2002; Cenci and Konradi, 2010). Our study, in a 6-OHDA rat model of PD, demonstrates that the striatal calpains/cdk5 pathway, in which calpains activation has a greater influence, is crucial in the regulation of TH and p-ERK expression. At the behavioral level, intrastriatal inhibition of these 2 calcium-dependent proteins reduces the severity and amplitude of AIMs induced by L-DOPA therapy. For instance, calpains inhibition decreases up to ~60% of L-DOPA side-effects. Interestingly, the inhibitors we tested, MDL28170 and roscovitine, had no impact on the antiparkinsonian properties of L-DOPA.

Antiparkinsonian effects of L-DOPA are not altered by calpains or cdk5 inhibition

It is well-recognized that the 6-OHDA-lesioned rat model replicates, to some extent, different aspects of PD symptoms that are improved or reversed by L-DOPA, such as weight-shifting impairments, altered sensorimotor and proprioceptive capacities as well as akinesia (Fleming et al., 2005; Lundblad et al., 2002; Schallert et al., 2000; Winkler et al., 2002). In the present investigation, we confirmed the emergence of forelimb asymmetries after 6-OHDA lesion in rats by 3 independent sensorimotor tests: the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests (Grant et al., 2009). Also in accord with previous studies, the ability of L-DOPA to reverse these motor symptoms in 6-OHDA rats was observed. Notably, our experiments revealed, for the first time, that inhibition of calpains or cdk5 activity did not alter the beneficial effects of L-DOPA, whereas none of them exhibited antiparkinsonian effects by itself. These treatments were initiated after complete dopaminergic depletion and, consequently, their neuroprotective potential was not assessed in our experiments. Therefore, the results indicate that MDL28170 or roscovitine treatment is not associated with any apparent central side-effects and could possibly be investigated in clinically relevant studies.

The calpains inhibitor selected for the present study, MDL28170, has high affinity for calpains I and II (Ki = 8 nM). It shows inhibitory activity against calpains and cathepsin B but essentially no activity against other proteases. It is among the best calpains inhibitors that readily penetrate cells and the blood brain barrier. This explains

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

why it is widely used to assess the neuroprotective effects of calpain inhibition (Markgraf et al., 1998; Thompson et al., 2010; Yu and Geddes, 2007). The dose selected in our study (160 μM) has been reported to prevent the loss of nigral dopamine neurons in the MPTP mouse model of PD (Crocker et al., 2003). Roscovitine is one of the most frequently employed cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors. It is a cell-permeable reversible inhibitor of CDKs, acting preferentially on CDK1, 2, and 5 and possibly CDK7 and 9 (Meijer et al., 1997). We selected roscovitine because of its superior clinical potential (Guzi, 2004). Several studies have divulged a positive effect of single intracranial roscovitine injection at a dose level between 10 and 80 nmol (Guan et al., 2010; Hilton et al., 2008; Taylor et al., 2005). One experiments demonstrated that intracerebroventricular roscovitine infusion at concentrations of 72, 144 or 300 nmol/day for 2 weeks (we used 85 nmol/day for 3 weeks) attenuated hyperphosphorylation of the neurofilament tau, reduced the number of spheroids, modulated Purkinje neuron death, and ameliorated motor defects in the Niemann-Pick Type C mouse model (Zhang et al., 2004a). Their study reported that roscovitine above 600 nmoles/day in wild-type mice caused tremor, malaise and weight loss. Based on the evidence stated above, we feel the doses we selected are suitable and in agreement with numerous previous works on the effects of calpains and cdk5 inhibition.

Inhibition of calpains and cdk5 activities prevents LID emergence

In our study, we administered relatively large doses of L-DOPA (25 mg/kg, twice daily) to induce severe body AIMs and rotational behavior, in accordance with the findings of other groups (Lee et al., 2000a; Lindgren et al., 2007; Marin et al., 2006; Pinna et al., 2006). However, we clearly demonstrated that body AIMs and rotations could be distinguished after L-DOPA therapy, which was also described by Lindgren et al. (Lindgren et al., 2007). For instance, our data revealed that L-DOPA therapy produced significant rotational behavior as well as orolingual, limb and axial AIMs. Moreover, we observed that turning behavior declined with time whereas these AIMs were slightly amplified. We showed that chronic intrastriatal inhibition of calpains or cdk5 activity significantly reduced the severity and amplitude of LID. However,

intrastriatal inhibition of cdk5 activity was considerably less effective than calpains inhibition. cdk5 inhibition decreased AIMs emergence by 23% whereas calpains inhibition reduced them by 70%. At the biochemical level, striatal ERK1/2 activation is one of the most recognized molecular markers of LID (Cenci and Lundblad, 2006; Pavon et al., 2006; Santini et al., 2007; Westin et al., 2007). In accord with these previous studies, we confirmed that animals with severe AIMs induced by L-DOPA exhibit increased p-ERK1/2 level in the striatum. This effect is totally prevented by MDL28170 and roscovotine, suggesting that inhibition of calpains and cdk5 modulates, to some extent, the ERK1/2 pathway. Understanding the underlying mechanisms of LID represents an important challenge, and whether calcium-dependent proteins play a role in AIMs emergence has never been investigated. A recent study examined whether a single intrastriatal injection of roscovitine could influence the severity of AIMs in 6-OHDA-lesioned rats treated for 21 days with L-DOPA (Guan et al., 2010). However, the results are difficult to interpret as the sole injection of a low roscovitine dose (10 nmol/μl) was administered 4 h prior to the last L-DOPA injection. Moreover, the study contained several major deficiencies: the degree of dopamine depletion was not considered, several data were in contradiction with the literature, and the behavioral abnormalities included in their AIMs scores were not specified. Our experiments represent the first demonstration that pharmacological inhibitors of calcium-dependent protein activities reverse the behavioral and biochemical maladaptive changes induced by L-DOPA.

It is well-recognized that brain dopamine depletion results in the enhanced responsiveness of striatal neurons after intermittent L-DOPA administration. In fact, animal models have demonstrated that LID is paralleled by increased signal transduction and significant changes in protein expression (Aubert et al., 2005; Cenci, 2002; Doucet et al., 1996; Gerfen et al., 2002; Lebel et al., 2010). Our study determined that L-DOPA enhances striatal levels of dynamin phosphorylated at serine 774, an effect that is prevented by calpains or cdk5 inhibition. Serine 774 is a dynamin phosphorylation site known to be intimately regulated by the calpains/cdk5 pathway (Graham et al., 2007). For that reason, we believe these experiments confirm the ability of our MDL28170 or

roscovitine injections to inhibit the activity of this pathway in 6-OHDA rats treated with L-DOPA. It is noteworthy, however, that calpains are widely expressed in the central nervous system and are essential for many physiological neuronal functions other than abnormally-enhanced cdk5 activity (Kusakawa et al., 2000; Lee et al., 2000b; Liu et al., 2008). Not surprisingly, calpains inhibition had a greater impact than cdk5 inhibition in our experiments. For instance, animals receiving the calpains inhibitor presented a larger reduction in the amplitude and severity of AIMs induced by L-DOPA as well as much larger increases in striatal TH levels compared to those given the cdk5 inhibitor. Although the exact relationship between the calpains/cdk5 pathway and LID requires further experimentation, our data are highly relevant as they concur with *post-mortem* studies demonstrating elevated calpains and cdk5 activities in the human PD brain (Alvira et al., 2008; Crocker et al., 2003; Mouatt-Prigent et al., 1996; Nakamura et al., 1997).

Calpains activity influences the TH levels of dopamine neurons

6-OHDA injection in the MFB of rats is associated with a robust decline in the number of dopamine neurons (Lebel et al., 2010; Winkler et al., 2002), confirmed in the present investigation. At the striatum level, we showed that calpains inhibition and, to a much lower extent cdk5 inhibition, induced an increase of TH levels in lesioned rats treated with L-DOPA. Further immunofluorescence studies, with another variety of TH antibodies, confirmed TH elevation in the striatum after calpains inhibition and documented that the number of dopamine neurons at the SNc was not significantly affected. Interestingly, in rodent models of PD, it has been determined that inhibition of calpains and cdk5 activities prevents the degeneration of dopamine neurons in MPTP mice and 6-OHDA rats (Crocker et al., 2003; Grant et al., 2009; Smith et al., 2003; Smith et al., 2006). These observations raise the possibility that dopamine neurons of the SNc could have been protected by MDL28170 or roscovitine during the 21 days of L-DOPA therapy. However, we believe that this possibility is unlikely since we noted a robust decrease of about 95% in TH-positive cell number in every 6-OHDA-lesioned rat at the end of treatment (49 days). In addition, one of our experiments showed that

25 days after 6-OHDA injection, the numbers of TH-positive cells in the SNc was already decreased by 95%. On the other hand, interestingly, these experiments also confirm that L-DOPA is not toxic to mesencephalic dopaminergic neurons. It has been demonstrated that chronic administration of L-DOPA does not cause overt neurodegenerative changes in 6-OHDA-lesioned rats (Camp et al., 2000; Lindgren et al., 2007; Murer et al., 1998). Clinical trials in PD patients also provide no convincing proof of direct neurotoxic effects of levodopa on the progression of neurodegeneration (Fahn, 2006). In conclusion, we believe that the effects of calpains inhibition on TH are at the level of dopaminergic terminals in the striatum structure, in the area surrounding the injection site.

Our data suggest that striatal TH levels are a critical determinant of LID induction and maintenance. In fact, we observed that an increase of ~30% in striatal TH levels, induced by combined MDL28170 and L-DOPA treatment, was sufficient to virtually circumvent AIMs emergence in totality. It has been demonstrated that L-DOPA therapy fails to elicit AIMs in the 6-OHDA rat model in which TH and dopamine extracellular levels are reduced by ~60% and ~70%, respectively (Ulusoy et al., 2010). Winkler et al. (Winkler et al., 2002) documented the relationship between the extent of dopamine denervation and LID severity in 6-OHDA-lesioned rats. Their study shows that axial, limb and orolingual AIMs are not observed in animals with a number of TH-positive cells or dopamine fibers above 20%. In addition to that study, striatal TH expression, increased by gene therapy in 6-OHDA rats, resolves behavioral impairment (Castaneda et al., 2005; Fan et al., 1998; Segovia et al., 1998; Shen et al., 2000; Zhang et al., 2004b). These findings underscore the role of presynaptic TH activity in the induction of AIMs after intermittent L-DOPA administration.

Concluding remarks

Our results reveal that dopamine depletion and chronic L-DOPA administration have profound regulatory influences on a specific calcium-dependent regulating pathway, namely, calpains/cdk5. They suggest, in addition, that inhibition of striatal

calpains activity prevents LID emergence by acting on TH levels at pre-synaptic terminals as well as on ERK and dynamin protein activity in post-synaptic striatal neurons. Attenuation of the calpains/cdk5 signaling pathway may have interesting clinical implications for LID treatments in PD patients as they exhibit a strong capacity to reduce AIMs, without affecting the antiparkinsonian efficacy of L-DOPA.

Acknowledgments

We thank Geneviève Bureau for her invaluable help with the surgical procedures and manuscript preparation. This work was supported by the Parkinson Society of Canada (MC) and the Canada Research Chair in Molecular Neuropharmacology (MC).

References

Ahlskog, J. E., Muenter, M. D., 2001. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. Mov Disord. 16, 448-58.

Alvira, D., et al., 2008. Activation of the calpain/cdk5/p25 pathway in the girus cinguli in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 14, 309-13.

Andersson, M., et al., 1999. Striatal fosB expression is causally linked with l-DOPA-induced abnormal involuntary movements and the associated upregulation of striatal prodynorphin mRNA in a rat model of Parkinson's disease. Neurobiol Dis. 6, 461-74.

Aubert, I., et al., 2005. Increased D1 dopamine receptor signaling in levodopa-induced dyskinesia. Ann Neurol. 57, 17-26.

Blandini, F., et al., 2009. Calcium homeostasis is dysregulated in parkinsonian patients with L-DOPA-induced dyskinesias. Clin Neuropharmacol. 32, 133-9.

Braak, H., et al., 2004. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. Cell Tissue Res. 318, 121-34.

Brotchie, J. M., 1998. Adjuncts to dopamine replacement: a pragmatic approach to reducing the problem of dyskinesia in Parkinson's disease. Mov Disord. 13, 871-6.

Brown, T., et al., 2002. Recent advances in the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia. IDrugs. 5, 454-68.

Camp, D. M., et al., 2000. L-DOPA does not enhance hydroxyl radical formation in the nigrostriatal dopamine system of rats with a unilateral 6-hydroxydopamine lesion. J Neurochem. 74, 1229-40.

Castaneda, E., et al., 2005. Assessment of recovery in the hemiparkinson rat: drug-induced rotation is inadequate. Physiol Behav. 84, 525-35.

Cenci, M. A., 2002. Transcription factors involved in the pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. Amino Acids. 23, 105-9.

Cenci, M. A., Konradi, C., 2010. Maladaptive striatal plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. Prog Brain Res. 183, 209-33.

Cenci, M. A., Lundblad, M., 2006. Post- versus presynaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. J Neurochem. 99, 381-92.

Cenci, M. A., et al., 2002. Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? Nat Rev Neurosci. 3, 574-9.

Chase, T. N., Oh, J. D., 2000. Striatal dopamine- and glutamate-mediated dysregulation in experimental parkinsonism. Trends Neurosci. 23, S86-91.

Crocker, S. J., et al., 2003. Inhibition of calpains prevents neuronal and behavioral deficits in an MPTP mouse model of Parkinson's disease. J Neurosci. 23, 4081-91.

Deumens, R., et al., 2002. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. Exp Neurol. 175, 303-17.

Dhavan, R., Tsai, L. H., 2001. A decade of CDK5. Nat Rev Mol Cell Biol. 2, 749-59.

Doucet, J. P., et al., 1996. Chronic alterations in dopaminergic neurotransmission produce a persistent elevation of deltaFosB-like protein(s) in both the rodent and primate striatum. Eur J Neurosci. 8, 365-81.

Fahn, S., 2006. A new look at levodopa based on the ELLDOPA study. J Neural Transm Suppl. 419-26.

Fan, D. S., et al., 1998. Behavioral recovery in 6-hydroxydopamine-lesioned rats by cotransduction of striatum with tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase genes using two separate adeno-associated virus vectors. Hum Gene Ther. 9, 2527-35.

Fleming, S. M., et al., 2005. An intermittent, controlled-rate, slow progressive degeneration model of Parkinson's disease: antiparkinson effects of Sinemet and protective effects of methylphenidate. Behav Brain Res. 156, 201-13.

Gelb, D. J., et al., 1999. Diagnostic criteria for Parkinson disease. Arch Neurol. 56, 33-9.

Gerfen, C. R., et al., 2002. D1 dopamine receptor supersensitivity in the dopamine-depleted striatum results from a switch in the regulation of ERK1/2/MAP kinase. J Neurosci. 22, 5042-54.

Graham, M. E., et al., 2007. The in vivo phosphorylation sites of rat brain dynamin I. J Biol Chem. 282, 14695-707.

Grant, R. J., et al., 2009. Effects of calpain inhibition on dopaminergic markers and motor function following intrastriatal 6-hydroxydopamine administration in rats. Neuroscience. 158, 558-69.

Guan, Q., et al., 2010. Effect of cdk5 antagonist on L-dopa-induced dyskinesias in a rat model of Parkinson's disease. Int J Neurosci. 120, 421-7.

Guzi, T., 2004. CYC-202 Cyclacel. Curr Opin Investig Drugs. 5, 1311-8.

Hilton, G. D., et al., 2008. Roscovitine reduces neuronal loss, glial activation, and neurologic deficits after brain trauma. J Cereb Blood Flow Metab. 28, 1845-59.

Jenner, P., 2008. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. Nat Rev Neurosci. 9, 665-77.

Kobylecki, C., et al., 2010. Calcium-permeable AMPA receptors are involved in the induction and expression of l-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease. J Neurochem. 114, 499-511.

Konradi, C., et al., 2004. Transcriptome analysis in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia. Neurobiol Dis. 17, 219-36.

Kusakawa, G., et al., 2000. Calpain-dependent proteolytic cleavage of the p35 cyclin-dependent kinase 5 activator to p25. J Biol Chem. 275, 17166-72.

Lebel, M., et al., 2010. Striatal inhibition of PKA prevents levodopa-induced behavioural and molecular changes in the hemiparkinsonian rat. Neurobiol Dis. 38, 59-67.

Lee, C. S., et al., 2000a. Embryonic ventral mesencephalic grafts improve levodopa-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. Brain. 123 (Pt 7), 1365-79.

Lee, M. S., et al., 2000b. Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain. Nature. 405, 360-4.

Lindgren, H. S., et al., 2007. The "motor complication syndrome" in rats with 6-OHDA lesions treated chronically with L-DOPA: relation to dose and route of administration. Behav Brain Res. 177, 150-9.

Liu, J., et al., 2008. Calpain in the CNS: from synaptic function to neurotoxicity. Sci Signal. 1, re1.

Lundblad, M., et al., 2002. Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. Eur J Neurosci. 15, 120-32.

Marin, C., et al., 2006. Motor complications in Parkinson's disease and the clinical significance of rotational behavior in the rat: have we wasted our time? Exp Neurol. 197, 269-74.

Markgraf, C. G., et al., 1998. Six-hour window of opportunity for calpain inhibition in focal cerebral ischemia in rats. Stroke. 29, 152-8.

Meijer, L., et al., 1997. Biochemical and cellular effects of roscovitine, a potent and selective inhibitor of the cyclin-dependent kinases cdc2, cdk2 and cdk5. Eur J Biochem. 243, 527-36.

Rapport-Gratuit.com

Mouatt-Prigent, A., et al., 1996. Increased M-calpain expression in the mesencephalon of patients with Parkinson's disease but not in other neurodegenerative disorders involving the mesencephalon: a role in nerve cell death? Neuroscience. 73, 979-87.

Murer, M. G., et al., 1998. Chronic levodopa is not toxic for remaining dopamine neurons, but instead promotes their recovery, in rats with moderate nigrostriatal lesions. Ann Neurol. 43, 561-75.

Nakamura, S., et al., 1997. p35nck5a and cyclin-dependent kinase 5 colocalize in Lewy bodies of brains with Parkinson's disease. Acta Neuropathol. 94, 153-7.

Papa, S. M., et al., 1994. Motor fluctuations in levodopa treated parkinsonian rats: relation to lesion extent and treatment duration. Brain Res. 662, 69-74.

Pavon, N., et al., 2006. ERK phosphorylation and FosB expression are associated with L-DOPA-induced dyskinesia in hemiparkinsonian mice. Biol Psychiatry. 59, 64-74.

Paxinos, G., Watson, C., 2007. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Amsterdam.

Picconi, B., et al., 2003. Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. Nat Neurosci. 6, 501-6.

Pinna, A., et al., 2006. Expression of dyskinetic movements and turning behaviour in subchronic L-DOPA 6-hydroxydopamine-treated rats is influenced by the testing environment. Behav Brain Res. 171, 175-8.

Poewe, W., et al., 2010. Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: an old drug still going strong. Clin Interv Aging. 5, 229-38.

Rylander, D., et al., 2009. Pharmacological modulation of glutamate transmission in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia: effects on motor behavior and striatal nuclear signaling. J Pharmacol Exp Ther. 330, 227-35.

Santini, E., et al., 2007. Critical involvement of cAMP/DARPP-32 and extracellular signal-regulated protein kinase signaling in L-DOPA-induced dyskinesia. J Neurosci. 27, 6995-7005.

Sauer, H., Oertel, W. H., 1994. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: a combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat. Neuroscience. 59, 401-15.

Schallert, T., et al., 2000. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. Neuropharmacology. 39, 777-87.

Schuster, S., et al., 2009. Antagonizing L-type Ca2+ channel reduces development of abnormal involuntary movement in the rat model of L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia. Biol Psychiatry. 65, 518-26.

Schwarting, R. K., Huston, J. P., 1996. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. Prog Neurobiol. 50, 275-331.

Segovia, J., et al., 1998. Astrocyte-specific expression of tyrosine hydroxylase after intracerebral gene transfer induces behavioral recovery in experimental parkinsonism. Gene Ther. 5, 1650-5.

Shen, Y., et al., 2000. Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic-L-amino-acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. Hum Gene Ther. 11, 1509-19.

Smith, D. S., et al., 2001. Cdk5 on the brain. Cell Growth Differ. 12, 277-83.

Smith, P. D., et al., 2003. Cyclin-dependent kinase 5 is a mediator of dopaminergic neuron loss in a mouse model of Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 100, 13650-5.

Smith, P. D., et al., 2006. Calpain-regulated p35/cdk5 plays a central role in dopaminergic neuron death through modulation of the transcription factor myocyte enhancer factor 2. J Neurosci. 26, 440-7.

Taylor, J. L., et al., 2005. Dopamine D1 and D2 receptor contributions to L-DOPA-induced dyskinesia in the dopamine-depleted rat. Pharmacol Biochem Behav. 81, 887-93.

Thompson, S. N., et al., 2010. A pharmacological analysis of the neuroprotective efficacy of the brain- and cell-permeable calpain inhibitor MDL-28170 in the mouse controlled cortical impact traumatic brain injury model. J Neurotrauma. 27, 2233-43.

Ulusoy, A., et al., 2010. Presynaptic dopaminergic compartment determines the susceptibility to L-DOPA-induced dyskinesia in rats. Proc Natl Acad Sci U S A. 107, 13159-64.

Wei, F. Y., Tomizawa, K., 2007. Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5): a potential therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases and diabetes mellitus. Mini Rev Med Chem. 7, 1070-4.

Westin, J. E., et al., 2007. Spatiotemporal pattern of striatal ERK1/2 phosphorylation in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia and the role of dopamine D1 receptors. Biol Psychiatry. 62, 800-10.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Winkler, C., et al., 2002. L-DOPA-induced dyskinesia in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of parkinson's disease: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function. Neurobiol Dis. 10, 165-86.

Yu, C. G., Geddes, J. W., 2007. Sustained calpain inhibition improves locomotor function and tissue sparing following contusive spinal cord injury. Neurochem Res. 32, 2046-53.

Zhang, M., et al., 2004a. Cyclin-dependent kinase inhibitors attenuate protein hyperphosphorylation, cytoskeletal lesion formation, and motor defects in Niemann-Pick Type C mice. Am J Pathol. 165, 843-53.

Zhang, Y., et al., 2004b. Normalization of striatal tyrosine hydroxylase and reversal of motor impairment in experimental parkinsonism with intravenous nonviral gene therapy and a brain-specific promoter. Hum Gene Ther. 15, 339-50.

Figures

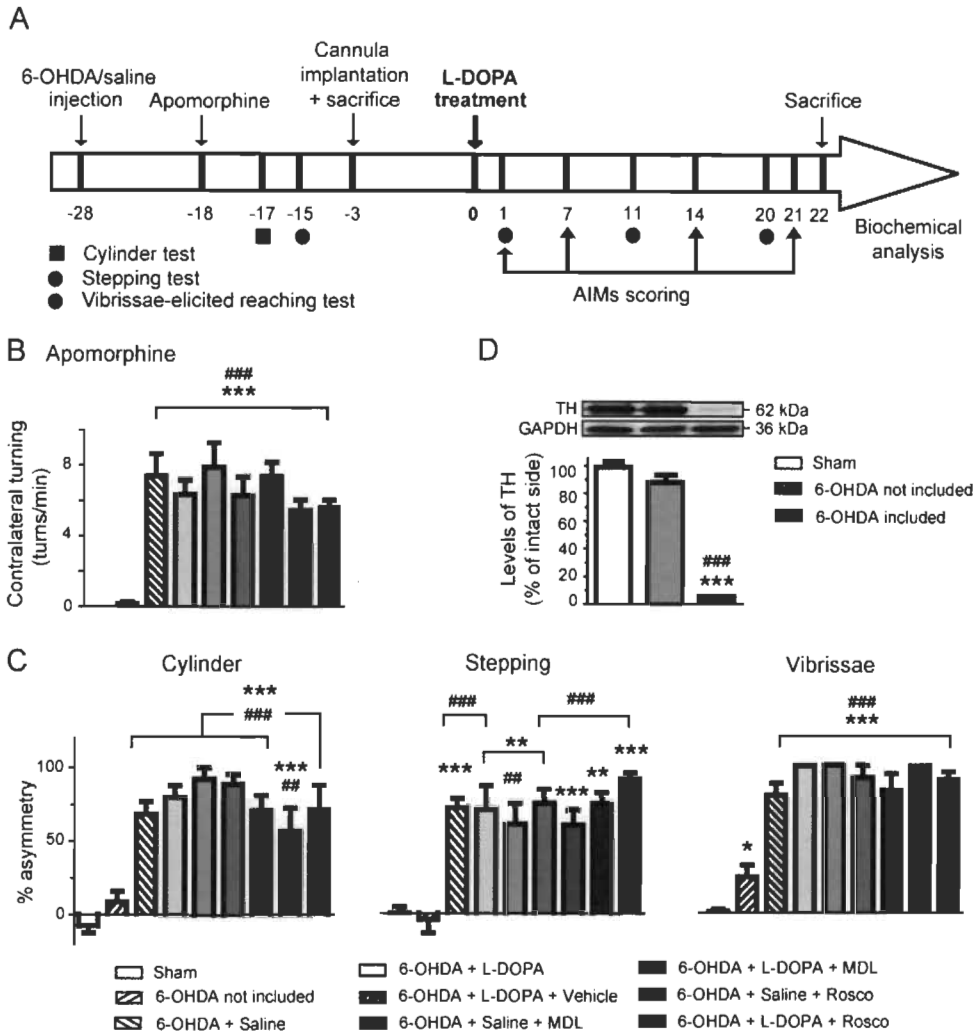


Figure 1 **Experimental design and verification of dopaminergic denervation induced by 6-OHDA.**
(A) Experimental design. (B) Numbers of contralateral rotations after apomorphine treatment in sham (saline-injected rats, n=8) and 6-OHDA-injected rats not included (≤5 turns/min, n=20) or included (>5 turns/min, n=38) in the study. The data represent the mean of turns/min ± SEM. (C) Degree of contralateral sensorimotor neglect in sham and 6-OHDA-lesioned rats not included or included and assessed by the cylinder, stepping and vibrissae-elicited reaching tests. The data represent the mean of asymmetry percentage between the ipsilateral and contralateral sides of the lesion ± SEM. (D) TH levels evaluated by Western blotting of proteins extracted from the striatum of the rat brain. The data, expressed relative to GAPDH levels, represent the mean of relative optical density (expressed as a percentage of the striatum-intact side) ± SEM; values are from triplicate experiments/animal. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs. sham; $^{\#\#}p$<0.01, $^{\#\#\#}p$<0.001 vs. 6-OHDA-lesioned rats not included.

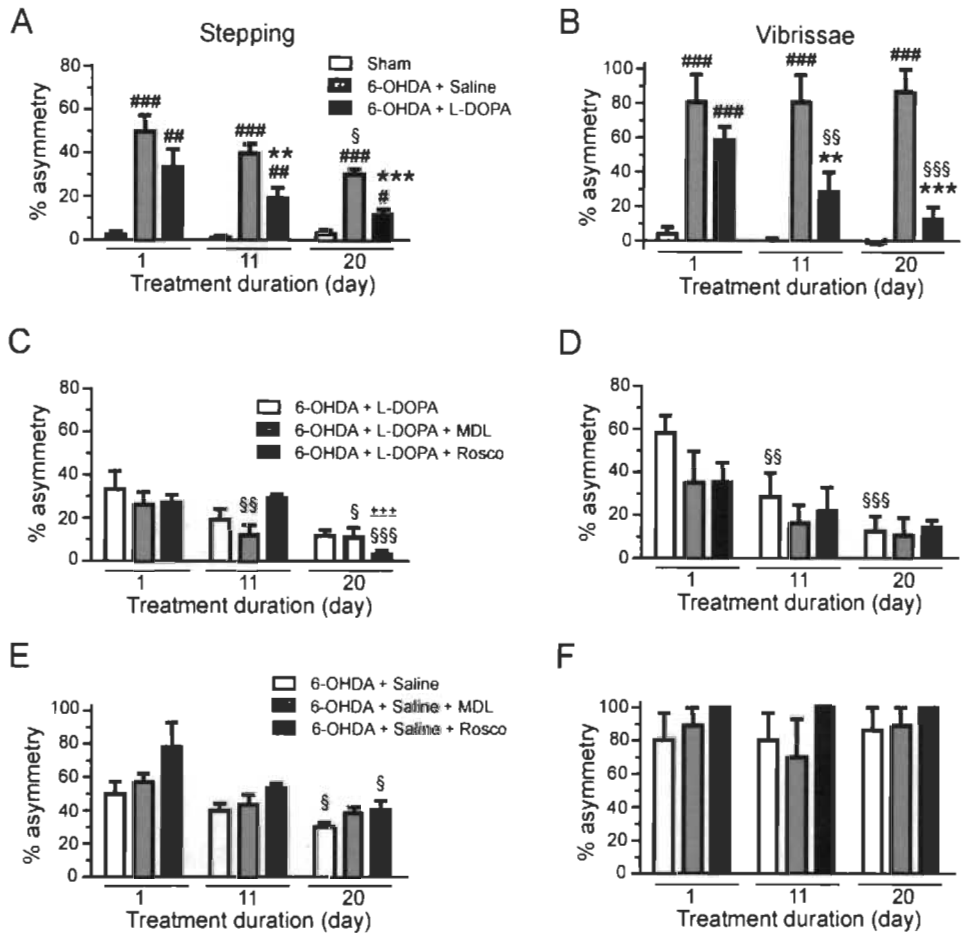


Figure 2 **The antiparkinsonian effects of L-DOPA were not altered by striatal inhibition of calpains or cdk5.**

Shown are the numbers of adjusting steps that the animal needed to take during the stepping test and the numbers of table contacts with the ipsilateral forelimb in the vibrissae-elicited reaching test. (A, B) The percentages of asymmetry were assessed in sham rats (n=8) as well as in 6-OHDA-lesioned rats treated with saline (n=6) or L-DOPA (n=8) during the (A) stepping and (B) vibrissae-elicited reaching tests at 1, 11 and 20 days of treatment. (C, D) The effects of concomitant treatment with L-DOPA and MDL28170 (n=8) or roscovitine (n=4) were compared to 6-OHDA-lesioned rats administered L-DOPA alone (n=8) in both tests. (E, F) Furthermore, the effects of MDL28170 (n=4) and roscovitine (n=4) treatments alone were compared to 6-OHDA-lesioned rats treated with saline (n=6). The data represent the mean of asymmetry percentage between the ipsilateral and contralateral sides of the lesion per testing day ± SEM in each test. $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$, $^{\#\#\#}p<0.001$ vs. sham; $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$ vs. 6-OHDA-lesioned rats treated with saline; $^{\pm\pm\pm}p<0.001$ vs. respective day 11; $^{\S}p<0.05$, $^{\S\S}p<0.01$, $^{\S\S\S}p<0.001$ vs. respective day 1.

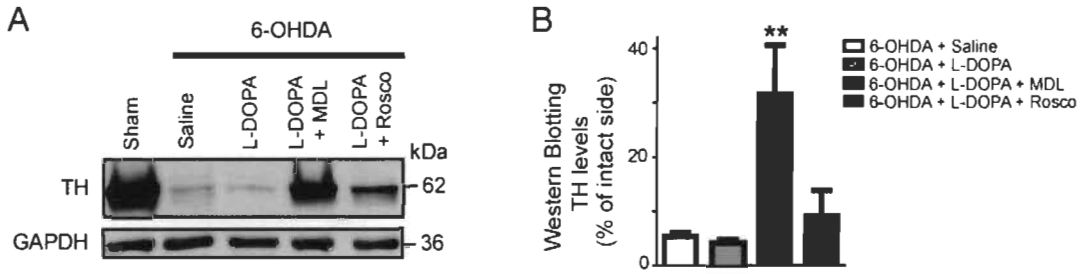


Figure 3 **TH levels were increased in the striatum of lesioned rats treated with L-DOPA and MDL28170 combination.**
(A) Representative examples of striatal TH levels assessed by Western blotting. GAPDH was the loading control. (B) Densitometric analysis revealed striatal TH levels of 6-OHDA-lesioned rats treated with saline, L-DOPA or concomitantly with L-DOPA and MDL28170 or roscovitine. The data, expressed relative to GAPDH levels, represent the mean of relative optical density (expressed as a percentage of the striatum-intact side) ± SEM; n=4 rats/group; values are from triplicate experiments/animal. $^{**}p<0.01$ vs. every other group.

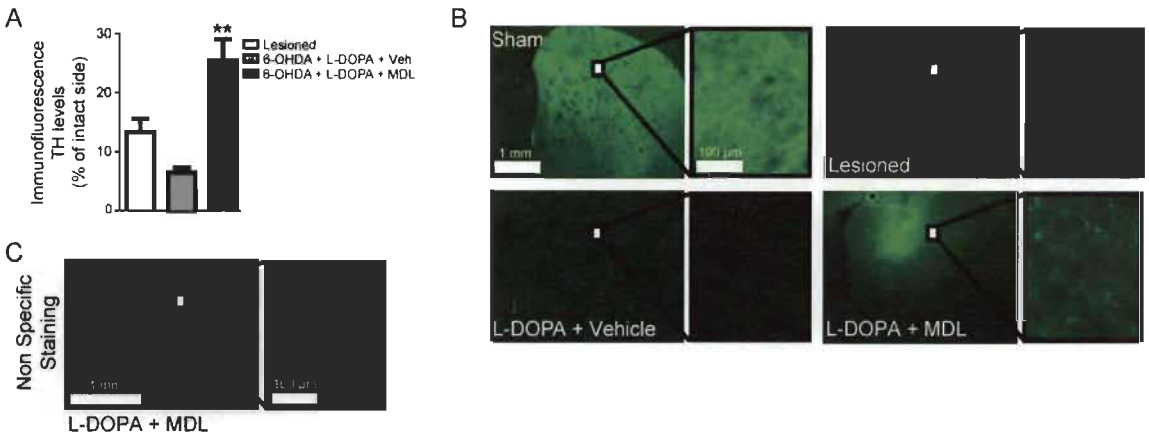


Figure 4 **TH immunoreactivity was increased in the striatum of lesioned rats treated with L-DOPA and MDL28170 combination.**
(A) Semiquantitative optical densitometry measurements of TH-positive fibers in the striatum of 6-OHDA-lesioned rats. The data, expressed as a percentage of the intact side, represent the mean of relative density measurements of striatal TH-positive fibers ± SEM; n=4 rats/group; a total of 7 coronal sections were considered: +1.08, +0.84, +0.60, +0.36, +0.12, -0.12 and -0.36 mm from the bregma (Paxinos and Watson, 2007). $^{**}p<0.01$ vs. every other group. (B) Examples of immunofluorescence images showing TH-positive fibers in the striatum-injected side of sham rats, 6-OHDA-lesioned rats sacrificed 25 days after lesioning and 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA alone or combined with MDL28170 (sacrificed 49 days after lesioning). (C) The non-specific staining was determined by using IgG's at the same concentration as TH antibody. Images are from brain coronal sections at +0.36 mm from the bregma (Paxinos and Watson, 2007).

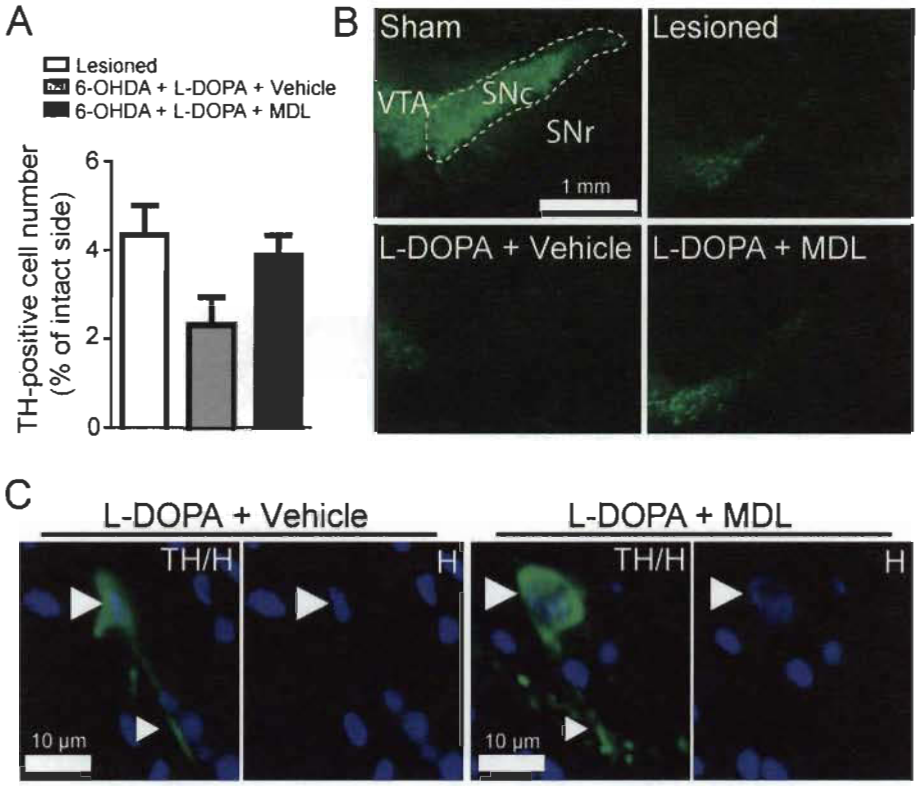


Figure 5 **Combination of L-DOPA and MDL28170 treatment did not alter the number of TH-positive cells in the substantia nigra of lesioned rats.** (A) Numbers of TH-positive neurons in the SNc of 6-OHDA-lesioned rats sacrificed 25 days after lesioning and 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA alone or combined with MDL28170 (sacrificed 49 days after lesioning). The data, expressed as a percentage of the intact side, represent the number of TH-positive neurons ± SEM; n=4 rats/group; 3 coronal brain sections were considered per animal: -4.80, -5.04 and -5.28 mm from the bregma (Paxinos and Watson, 2007). (B) Examples of immunofluorescence images showing TH-positive neurons in the SNc of sham rats, lesioned rats and 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA alone or combined with MDL28170. (C) Representative examples of TH-positive cells (green) and Hoechst 33342-positive nuclei (blue) in the SNc of 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA alone or combined with MDL28170. Larger arrowheads show the nuclei of TH-positive cells, and smaller arrowheads illustrate varicosities. *H: Hoescht 33342; SNc: Substantia Nigra pars compacta; SNr: Substantia Nigra pars reticulata; VTA: Ventral Tegmental Area; and TH: Tyrosine Hydroxylase.*

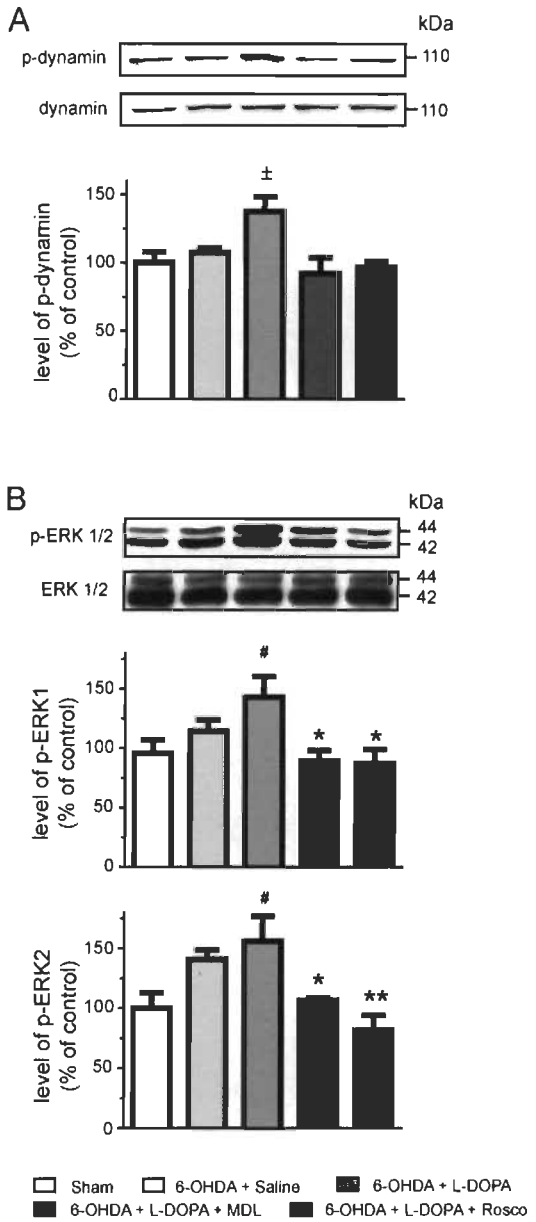


Figure 6 **Intrastriatal inhibition of calpains and cdk5 altered phosphorylation of dynamin and ERK1/2.**

Protein levels were evaluated by Western blotting of extracts from the striatum of sham rats or 6-OHDA-lesioned rats treated with saline, L-DOPA or concomitantly with L-DOPA and MDL28170 or roscovitine. (A) Phosphorylated (p) dynamin levels at serine 774 were expressed relative to total dynamin. (B) ERK2 levels at threonine 185/tyrosine 187 and ERK1 levels at threonine 202/tyrosine 204 were expressed, respectively, to total ERK2 or ERK1 levels. The data, expressed as a percentage of control values, represent the mean of relative optical density ± SEM; n=4 rats/group; values are from triplicate experiments/animal. *p<0.05, **p<0.01 vs. 6-OHDA-lesioned rats treated with L-DOPA alone; $^{\#}p$<0.05 vs. sham; $^{\pm}p$<0.05 vs. all other groups.

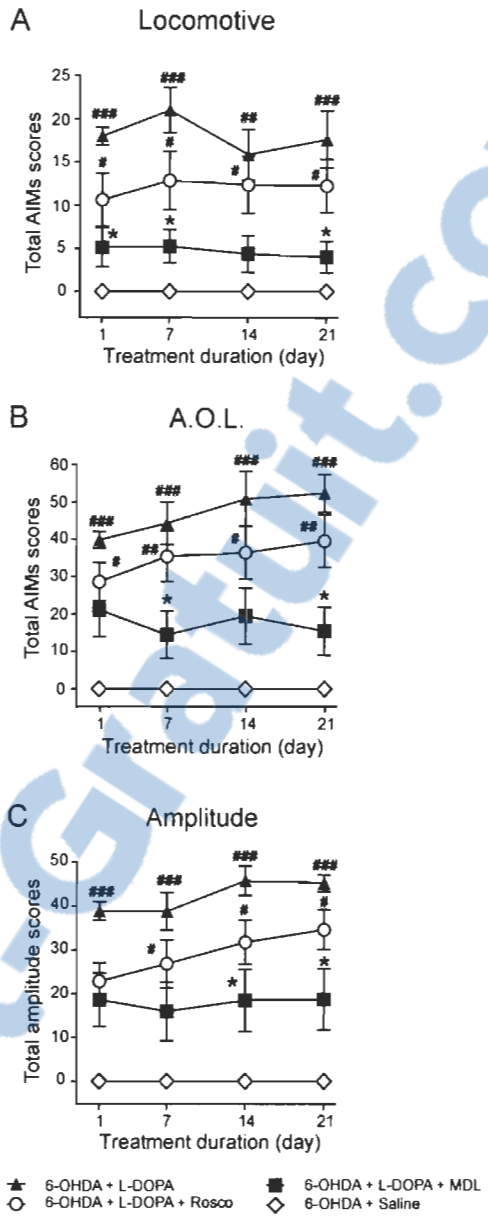


Figure 7 Effect of intrastriatal calpains or cdk5 inhibition on L-DOPA induced abnormal involuntary movements (AIMs).

AIMs scores were assessed at days 1, 7, 14 and 21 in 6-OHDA-lesioned rats receiving saline, L-DOPA alone or in combination with intrastriatal MDL28170 or roscovitine infusion. (A) Time course of total locomotive AIMs scores. The data represent the mean of total locomotive ratings per testing day ± SEM. (B) Time course of total axial, orolingual and limb (A.O.L.) AIMs scores. The data are presented as the mean of the sum of axial, limb, and orolingual ratings per testing day ± SEM. (C) Time course of total amplitude scores of axial and limb AIMs. The data represent the mean of the sum of axial and forelimb amplitude scores per testing day. n=4-8 rats/group. $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$, $^{\#\#\#}p<0.001$ vs. 6-OHDA-lesioned rats receiving saline; $^{*}p<0.05$, vs. 6-OHDA-lesioned rats receiving L-DOPA alone.

Rapport-Gratuit.com

CHAPITRE VI

DISCUSSION GÉNÉRALE

Certains mécanismes moléculaires permettant la réalisation d'activités motrices ont été étudiés dans cette thèse. Plus particulièrement, les travaux de recherche présentés dans cet ouvrage se sont intéressés à l'implication de PKA et de l'afférence dopaminergique dans l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice ainsi qu'aux rôles des calpaïnes et de cdk5 dans le contrôle du mouvement. Ces travaux ont été présentés sous forme de trois articles aux chapitres III, IV et V.

6.1 Est-ce que PKA par son action sur $STEP_{61}$ est impliquée dans l'apprentissage moteur?

Dans la première étude présentée au chapitre III, l'implication de PKA et son interaction avec $STEP_{61}$ dans l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice complexe ont été étudiées. Dans cette étude, PKA a été inhibée de manière pharmacologique dans le striatum dorsal de souris par l'utilisation du Rp-cAMPS, et les capacités d'apprentissage et d'exécution des souris ont été examinées.

6.1.1 PKA est impliquée dans l'apprentissage moteur

Les résultats de cette étude démontrent que PKA, au niveau du striatum, participe à l'apprentissage et à la mémorisation d'une tâche motrice complexe. En effet, l'apprentissage moteur, évalué par le test rotarod, est affecté par l'inhibition pharmacologique de PKA dans le striatum, et ce, de manière dose-dépendante. Plus particulièrement, l'inhibition de PKA, par l'injection du Rp-cAMPS, provoque un retard d'apprentissage chez les souris. Bien que le rôle de PKA dans l'apprentissage moteur n'ait pas été défini, il a été montré, au niveau moléculaire, que PKA participe à

l'induction de la plasticité cortico-striatale, mais aussi à la dépotentialisation, un processus permettant d'augmenter l'efficacité du stockage d'informations en renversant le renforcement synaptique (Calabresi *et coll.*, 2000; Centonze *et coll.*, 2003; Picconi *et coll.*, 2003). Au niveau comportemental, en accord avec nos résultats, une étude a montré que la délétion génétique de l'adenylate cyclase 5 (AC5), connue pour diminuer indirectement l'activité de PKA, induit un retard d'apprentissage, chez des souris, lors de la réalisation d'un test de comportement associé au striatum, le « water cross maze » (Kheirbek *et coll.*, 2009). Cette étude montre aussi que les souris AC5 « knock-out » sont incapables d'apprendre une tâche motrice complexe. En effet, les performances des souris AC5 « knock-out » sur le rotarod restent significativement diminuées à chaque séance d'entraînement et elles ne s'améliorent pas avec les séances d'entraînement (Kheirbek *et coll.*, 2009). Le fait qu'un retard d'apprentissage moteur lors du test rotarod n'ait pu être observé dans l'étude de Kheirbek *et coll.* pourrait s'expliquer, entre autres, par le degré de réduction de l'activité de PKA causé par la délétion génétique de l'AC5. En effet, nos résultats montrent que les souris traitées avec une dose modérée de Rp-cAMPS sont capables d'atteindre des performances maximales à la dernière journée d'entraînement alors que les performances des souris traitées avec une forte dose de Rp-cAMPS restent significativement diminuées. Dans ce contexte, les résultats de Kheirbek *et coll.* s'apparentent à nos résultats obtenus chez les souris traitées avec la plus forte dose de Rp-cAMPS. Ce profil de performances a aussi été retrouvé dans d'autres études utilisant des souris AC5 « knock-out » (Iwamoto *et coll.*, 2003), des souris où la sous-unité régulatrice RIIβ de PKA a été supprimée génétiquement (RIIβ-PKA « knock out ») (Brandon *et coll.*, 1998) et des souris exprimant la forme dominante négative de la sous-unité RIαβ de PKA (RIαβ-PKA DN) (Yang *et coll.*, 2014). Il est aussi à mentionner, en accord avec Iwamoto *et coll.* et Yang *et coll.*, que les faibles performances sur le rotarod peuvent être associées à l'apparition de troubles moteurs. En effet, contrairement aux souris traitées avec une dose modérée de Rp-cAMPS, les souris traitées avec la plus forte dose de Rp-cAMPS sont atteintes de bradykinésie et d'akinésie. Ainsi, en regard de l'ensemble des résultats, l'inhibition de PKA induit un retard d'apprentissage moteur. Lors de l'apprentissage d'une tâche

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

motrice complexe, des troubles moteurs induits par une forte inhibition de PKA peuvent interférer avec la capacité d'apprentissage.

Le Rp-cAMPS est un analogue de l'AMPc qui agit comme un inhibiteur compétitif de PKA (Rothermel et Parker Botelho, 1988; Dostmann, 1995). Le Rp-cAMPS se fixe aux sous-unités régulatrices de PKA, ce qui empêche la libération des sous-unités catalytiques et par conséquent l'activation de PKA (Rothermel et Parker Botelho, 1988; Dostmann, 1995). Comparativement au H89, un autre inhibiteur de PKA couramment aussi utilisé, le Rp-cAMPS apparaît pour être un meilleur inhibiteur de PKA (Lochner et Moolman, 2006). Bien que le Rp-cAMPS est largement utilisé pour inhiber de manière spécifique PKA, il a été mis en évidence qu'il représente un faible inhibiteur de la protéine « exchange protein directly activated by cAMP » (Epac) (Christensen *et coll.*, 2003; Brown *et coll.*, 2014). La protéine Epac est facteur d'échange du nucléotide guanine qui est activée par l'AMPc et qui active, entre autres, les protéines Rap et Ras (Schmidt *et coll.*, 2013). Elle est fortement exprimée au niveau du striatum (Kawasaki *et coll.*, 1998). Dans ce contexte, il se pourrait que la forte dose de Rp-cAMPS utilisée dans notre étude module aussi la signalisation d'Epac, ce qui pourrait contribuer aux effets comportementaux observés chez les souris. Toutefois, le rôle d'Epac au niveau du striatum est peu connu. Il a été mis en évidence que l'activation d'Epac au niveau du noyau accumbens interfère avec un apprentissage associé au système de la récompense (Park *et coll.*, 2014). Dans ce contexte, de plus amples expériences seraient nécessaires afin de déterminer l'implication d'Epac dans la fonction motrice associée au striatum dorsal et si l'effet dose-dépendante observé dans notre étude pourrait aussi être associé à une modulation de l'activité d'Epac. De plus, l'utilisation du Rp-cAMPS dans notre étude ne permet pas de discriminer l'implication des différentes isoformes de PKA dans l'apprentissage moteur et l'exécution du mouvement. L'affinité du RP-cAMPS pour PKA de type I et PKA de type II n'étant pas significativement différente (Rothermel et Parker Botelho, 1988), l'effet dose-dépendante ne semble donc pas être associé à un effet sur les différents types de PKA. Toutefois, il a été montré que les performances sur le rotarod sont diminuées chez les souris RIIβ-PKA « knock out » et les souris RIαβ-PKA DN, alors que l'activité

locomotrice est affectée seulement chez les souris RIαβ-PKA DN (Brandon *et coll.*, 1998; Yang *et coll.*, 2014). Dans ce contexte, il se pourrait que PKA de type I et de type II soient respectivement impliquées dans le contrôle du mouvement et l'apprentissage moteur. Cependant, dans ces deux dernières études, le peu d'essais sur le rotarod ainsi que l'absence de plusieurs tests spécifiques au contrôle moteur ne permettent pas de discriminer de manière optimale l'implication de PKA de type I ou de type II dans l'apprentissage moteur et l'exécution du mouvement (Brandon *et coll.*, 1998; Yang *et coll.*, 2014). De plus, chez les souris RIIβ-PKA « knock out », les performances ne sont pas améliorées lorsque le rotarod est plus facile à exécuter, laissant peut-être entrevoir des problèmes moteurs chez ces souris (Brandon *et coll.*, 1998). Dans ce contexte, d'autres études seraient nécessaires pour déterminer le rôle des différentes isoformes de PKA dans la fonction motrice.

Plus particulièrement, les résultats de cette étude mettent en évidence que PKA participe aux processus moléculaires du striatum impliqués dans l'apprentissage moteur en diminuant l'activation de la protéine $STEP_{61}$. En effet, lors de l'apprentissage, la phosphorylation de $STEP_{61}$ sur la sérine 221 est augmentée dans le striatum et l'inhibition de PKA dans cette structure diminue cette phosphorylation. Ce résultat est en accord avec le rôle actuel de STEP proposé par la littérature montrant que STEP agirait comme un frein au processus de mémorisation en s'opposant au renforcement synaptique par son action sur ERK1/2 et les récepteurs NMDA et AMPA (Pelkey *et coll.*, 2002; Braithwaite *et coll.*, 2006a; Paul *et coll.*, 2007; Zhang *et coll.*, 2008b; Venkitaramani *et coll.*, 2011; Olausson *et coll.*, 2012). Plus particulièrement, les résultats mettent en évidence que l'activation de la voie PKA/$STEP_{61}$, au niveau du striatum, est un processus engagé dans la phase lente d'apprentissage. En effet, l'inhibition de PKA affecte la phase lente d'apprentissage et la phosphorylation de $STEP_{61}$ est augmentée dans cette phase. Dans ce contexte, la voie PKA/$STEP_{61}$ au niveau striatum participerait au processus permettant le maintien à long terme et l'automatisation des séquences motrices. Il est à mentionner que contrairement à nos résultats, les performances sur le rotarod sont affectées dès les premiers essais chez les souris AC5 « knock-out » et les souris RIIβ-PKA « knock-out » (Brandon *et coll.*, 1998;

Kheirbek *et coll.*, 2009). Toutefois, contrairement à une inhibition pharmacologique ciblée, la délétion génétique peut induire des changements physiologiques lors du développement qui peuvent interférer avec le phénotype observé. De plus, la délétion génétique n'étant pas tissus spécifique, il se peut que la perte de l'AC5 et de PKA dans d'autres structures importantes pour l'apprentissage moteur influence les résultats. Nos résultats concordent cependant avec les évidences indirectes montrant que l'afférence dopaminergique ainsi que les substrats de $STEP_{61}$ tels que les récepteurs NMDA et ERK1/2, au niveau du striatum, sont impliqués dans la phase lente d'apprentissage (article chapitre IV) (Bureau *et coll.*, 2010; Lemay-Clermont *et coll.*, 2011). Dans ce contexte, il se pourrait que l'activation de la voie PKA/$STEP_{61}$ au niveau du striatum permette de stabiliser à long terme les séquences motrices en facilitant le renforcement synaptique par l'activation d'ERK1/2 et la modulation des récepteurs NMDA. Toutefois, de plus amples expériences sont nécessaires pour établir ce point.

Il est bien établi que la formation de la mémoire à long terme nécessite l'activation de gènes afin d'induire la synthèse de nouvelles protéines permettant la modulation des connexions neuronales (Kandel, 2012). Les travaux d'Eric Kandel et ses collaborateurs, sur l'aplysie, établirent que PKA participe à ce processus en activant l'expression de gènes par l'induction du facteur de transcription CREB (Kandel, 2012). En accord avec ce principe, la mémorisation d'une tâche motrice complexe induit l'activation d'un patron de gènes (D'Amours *et coll.*, 2011). Nos résultats suggèrent que PKA pourrait participer à l'activation de ce patron de gènes. En effet, l'inhibition de PKA dans le striatum diminue la phosphorylation et par conséquent l'activation de CREB lors de l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice complexe chez la souris.

6.1.2 L'activité de $STEP_{61}$ est modulée durant l'apprentissage moteur

Bien que de plus amples expériences soient nécessaires pour démontrer l'implication de $STEP_{61}$ dans l'apprentissage moteur, les résultats de cette étude montrent que durant l'apprentissage moteur, l'activité de $STEP_{61}$ varie en fonction des phases d'apprentissage et des structures cérébrales. En effet, durant l'apprentissage

moteur, la phosphorylation de $STEP_{61}$ est diminuée dans l'hippocampe lors de la phase d'apprentissage rapide (jour 1) alors qu'elle est augmentée lors de la phase d'apprentissage lente (jour 2 et plus) dans le cortex et le striatum. Bien que les protéines soient exprimées à travers plusieurs régions cérébrales, il devient apparent qu'il existe des différences dans les niveaux d'expression et les interactions protéiniques entre les structures (Baucum *et coll.*, 2013).

Chez l'humain, l'hippocampe est activé pendant la phase de consolidation, ayant lieu après une première séance d'entraînement, plus particulièrement lors du sommeil. Toutefois, il apparaît que l'hippocampe est aussi activé rapidement lors de la séance d'apprentissage initiale (Albouy *et coll.*, 2013). Le recrutement rapide de l'hippocampe servirait probablement à la création d'un patron de représentation spatiale de la séquence de mouvement (Albouy *et coll.*, 2013). De plus, il a été mis en évidence que le recrutement précoce de l'hippocampe prédit le gain de performance observé après une nuit de sommeil et semblerait donc influencer la consolidation nocturne des mémoires motrices (Albouy *et coll.*, 2008). Les auteurs de cette étude ont proposé que le recrutement de l'hippocampe lors de la séance initiale d'entraînement permette de baliser les populations de neurones qui seraient à nouveau activées lors des processus de consolidation. Cette proposition est supportée par le fait qu'au niveau de l'hippocampe, il y a une réactivation d'un patron d'activité neuronale lors de la consolidation nocturne d'expériences dépendantes de l'hippocampe (Albouy *et coll.*, 2013). En accord avec le recrutement précoce de l'hippocampe chez l'humain, nos résultats ainsi que les travaux de recherche de notre laboratoire mettent en évidence l'activation de $STEP_{61}$, ERK1/2 (Bureau *et coll.*, 2010) et mTor (Bergeron *et coll.*, 2014) au niveau de l'hippocampe à la fin de la première journée d'entraînement, et leur activation retourne à un niveau basal les jours suivants. Ces résultats suggèrent qu'il y aurait au niveau de l'hippocampe la formation d'un processus moléculaire spécifique à la première séance d'entraînement. L'activation de $STEP_{61}$ à la fin de la première journée d'entraînement pourrait permettre l'extinction de ce processus en inactivant des protéines impliquées dans la réorganisation synaptique. En effet, il a été montré que STEP agit comme rétrocontrôle négatif afin de

limiter la durée d'activation d'ERK1/2 (Paul *et coll.*, 2003; Venkitaramani *et coll.*, 2009; Paul et Connor, 2010).

Contrairement à l'hippocampe, les résultats montrent une augmentation de la phosphorylation de $STEP_{61}$ et donc une inactivation lors de la phase lente d'apprentissage, au niveau du cortex et du striatum. Ceci est en accord avec le fait que le striatum et le cortex sont plus activés lorsque les performances atteignent une asymptote (Kleim *et coll.*, 2004; Doyon *et coll.*, 2009; Bureau *et coll.*, 2010). L'implication du réseau cortico-striatal dans la phase lente joue un rôle dans le maintien à long terme et l'automatisation de la tâche motrice. Dans ce contexte, l'inactivation de $STEP_{61}$ pourrait faciliter la plasticité synaptique nécessaire au stockage de l'information. Les résultats montrent que la phosphorylation de $STEP_{61}$ retourne à un niveau basal lors du 4e jour d'entraînement. Au 4e jour, les performances sur le rotarod sont maximales et la tâche est effectuée de manière automatique. Une explication possible est que lorsque la tâche devient automatique et spontanée, PKA ne serait plus activée. En effet, nos résultats montrent que lorsque la tâche motrice est complètement apprise, l'inhibition de PKA dans le striatum n'affecte pas les performances sur le rotarod. De plus, il a été montré chez les animaux qu'une fois la tâche motrice apprise, l'injection de 6-OHDA au niveau du cortex ou l'inhibition systémique des récepteurs D_1 n'affectent pas l'exécution de la tâche (Molina-Luna *et coll.*, 2009; Yin *et coll.*, 2009). Le fait que l'exécution devient indépendante des récepteurs D_1 à la suite d'une pratique répétée a aussi été démontré dans un autre type de tâche associée à une réponse conditionnée par la nourriture, le « head-entry reponse to a cue signaling food delivery » (Choi *et coll.*, 2005). Par conséquent, la déphosphorylation de $STEP_{61}$ au 4e jour pourrait s'expliquer par la perte d'activation de la voie D_1/PKA lorsque la tâche motrice est effectuée de manière automatique. De plus amples expériences seraient nécessaires afin de définir l'implication de $STEP_{61}$ au niveau des différentes structures cérébrales lors de l'apprentissage moteur. Toutefois, les résultats montrent que durant l'apprentissage moteur, l'activité de $STEP_{61}$ est neuroanatomiquement définie et dépend des phases d'apprentissage.

6.1.3 PKA est impliquée dans l'exécution du mouvement

Enfin, les résultats de cette étude démontrent qu'une forte inhibition de PKA dans le striatum affecte l'exécution du mouvement. En effet, les souris traitées avec la plus forte dose d'inhibiteur ont des troubles de coordination et sont atteintes d'akinésie/bradykinésie. Au niveau moléculaire, PKA facilite l'excitation des neurones épineux du striatum en modulant, entre autres, les courants NMDA, $GABA_A$ et calciques (Colwell et Levine, 1995; Surmeier *et coll.*, 1995; Blank *et coll.*, 1997; Gao *et coll.*, 1997; Hernandez-Lopez *et coll.*, 1997; Flores-Hernandez *et coll.*, 2000; Surmeier *et coll.*, 2011a). Au niveau comportemental, nous avions déjà mis en évidence qu'un dérèglement de l'activité de PKA est associé à une perte de contrôle de mouvement (Lebel *et coll.*, 2010). Plus particulièrement, cette dernière étude montre que la suractivation de PKA est associée à l'apparition de mouvements hyperkinétiques (Lebel *et coll.*, 2010). En regard de ces évidences, il était donc attendu que l'inhibition de PKA induise des troubles moteurs de type hypokinétique. Ce résultat est en accord avec le fait que bloquer la signalisation propre aux récepteurs D_1 ou supprimer génétiquement l'AC induit des troubles hypokinétiques (Meyer *et coll.*, 1993; Jackson et Westlind-Danielsson, 1994; Iwamoto *et coll.*, 2003). Une forte inhibition de l'activité de PKA au niveau du striatum est donc à même d'induire des troubles de l'exécution du mouvement. Par contre, nos résultats mettent en évidence qu'une inhibition modérée de l'activité de PKA au niveau du striatum affecte uniquement l'apprentissage moteur. En effet, nos résultats démontrent que l'inhibition de PKA avec une dose moyenne de Rp-cAMPS affecte l'apprentissage sans affecter l'exécution motrice. Ainsi, ces résultats suggèrent qu'au niveau du striatum, PKA aurait un seuil d'activité optimal et que les processus moléculaires engagés dans l'apprentissage moteur sont plus sensibles à une modulation de son activité que ceux engagés lors de l'exécution motrice (Figure 6.1, p. 166).

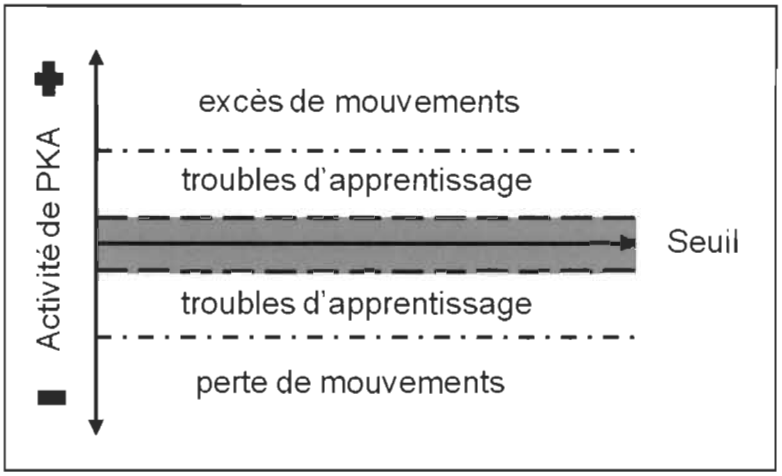


Figure 6.1 La modulation de l'activité de PKA dans le striatum induit des troubles dans la réalisation d'activités motrices.
Au niveau du striatum, PKA aurait un seuil d'activité optimal (en gris), où une faible modulation de son activité n'interfère pas avec la réalisation d'activité motrice. L'augmentation ou la diminution de son activité altèrerait l'apprentissage moteur sans induire de sévères troubles moteurs. La suractivation ou la surinhibition de PKA induirait des troubles du mouvement, respectivement, hyperkinétiques ou hypokinétiques.

Ainsi, cette étude met en évidence que PKA participe au processus d'apprentissage moteur et que l'un des mécanismes engagé par PKA est l'inactivation de $STEP_{61}$. PKA régule aussi l'apprentissage moteur en agissant sur le facteur de transcription CREB. De plus, cette étude démontre que PKA joue aussi un rôle dans l'exécution du mouvement. Dans ce contexte, les résultats montrent que les processus d'apprentissage sont plus sensibles à une perte d'activité de PKA que ceux engagés dans l'exécution du mouvement.

6.2 Est-ce que l'innervation dopaminergique est nécessaire lors de l'apprentissage moteur?

Dans la deuxième étude présentée au chapitre IV, l'implication de l'innervation dopaminergique dans l'apprentissage moteur a été étudiée. Afin de réaliser cette étude, différents niveaux de déplétion en dopamine ont été induits chez des souris, par l'utilisation de la neurotoxine MPTP, et l'intégrité des processus de mémorisation ainsi que la capacité d'exécution des souris ont été examinées.

Les résultats de cette étude démontrent que la perte d'innervation dopaminergique au niveau du striatum affecte les processus d'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice. Ceci concorde avec le fait qu'au niveau moléculaire, la dégénérescence des neurones dopaminergiques bloque l'induction de plasticité synaptique cortico-striatale (Calabresi *et coll.*, 2000). Ce résultat est aussi en accord avec les études réalisées chez l'humain et le rongeur montrant que la perte de dopamine affecte l'apprentissage des habiletés motrices (Harrington *et coll.*, 1990; Doyon *et coll.*, 1997; Doyon *et coll.*, 1998; Krebs *et coll.*, 2001; Carbon et Eidelberg, 2006; Siegert *et coll.*, 2006; Muslimovic *et coll.*, 2007). Plus particulièrement, nos résultats mettent en évidence que seulement une faible afférence dopaminergique est suffisante pour permettre l'apprentissage des habiletés motrices. En effet, l'apprentissage moteur est affecté lorsque les niveaux de la TH, un marqueur des neurones dopaminergiques, sont diminués de plus de 80 % dans le striatum. Le fait que les troubles d'apprentissage apparaissent seulement en présence d'une forte déplétion dopaminergique pourrait s'expliquer par la mise en place de mécanismes de compensation. En effet, il a été montré que la perte des neurones dopaminergiques est associée à la mise en place de mécanismes adaptatifs afin de pallier au manque de dopamine (Zigmond *et coll.*, 1990; Zigmond, 1997; Bezard et Gross, 1998; Pifl et Hornykiewicz, 2006). L'augmentation de la relâche de dopamine reflétée par l'augmentation de son « turn over » (Bernheimer *et coll.*, 1973; Hefti *et coll.*, 1980; Zigmond *et coll.*, 1984; Altar *et coll.*, 1987; Sossi *et coll.*, 2004), la diminution de l'expression et de l'affinité du transport à la dopamine (DAT) permettant d'augmenter la disponibilité extracellulaire en dopamine (Lee *et coll.*, 2000a; Sossi *et coll.*, 2007; Sossi *et coll.*, 2009; Afonso-Oramas *et coll.*, 2010) ainsi que l'augmentation de l'expression des récepteurs D_2 favorisant la transmission signalétique (Creese et Snyder, 1979; Chritin *et coll.*, 1992; Radja *et coll.*, 1993), sont autant de mécanismes adapatifs retrouvés chez les patients parkinsoniens et les rongeurs modèles de la maladie de Parkinson. De plus, les résultats de cette étude montrent que les troubles d'apprentissage moteur s'accentuent avec la perte d'afférence dopaminergique. En effet, le trouble d'apprentissage est plus sévère lorsque la perte en TH atteint plus de 90 % au niveau du striatum. Ce résultat concorde avec les observations faites chez les patients parkinsoniens montrant que la sévérité de la maladie influence l'apprentissage

Rapport-Gratuit.com

de séquences répétées (Harrington *et coll.*, 1990; Doyon *et coll.*, 1997; Smith et McDowall, 2006; Muslimovic *et coll.*, 2007). Ainsi, les résultats de cette étude mettent en évidence que la sévérité de la perte d'afférence dopaminergique influence les processus moléculaires de mémorisation.

Il est à mentionner que la diminution de l'expression de la TH et du DAT à la suite de l'injection de MPTP à tendance à être réversible chez les souris (Ho et Blum, 1998; Mitsumoto *et coll.*, 1998; Bezard *et coll.*, 2000; Jakowec *et coll.*, 2004). En effet, chez les souris C57bl/6j, l'analyse du marquage de la TH en fonction du temps à la suite de l'injection de MPTP montre qu'au niveau de la substance noire pars compacta, la perte des neurones immunoréactifs pour la TH est équivalente à la perte neuronale sept jours après l'injection de MPTP. Cette équivalence reste stable jusqu'à 30 jours après l'injection de MPTP (Jackson-Lewis *et coll.*, 1995; Jakowec *et coll.*, 2004). Au niveau du striatum, l'expression de la TH et du DAT mesurée par western blot augmente 30 jours après l'injection de MPTP (Jakowec *et coll.*, 2004). Bien que la TH et le DAT soient des marqueurs des neurones dopaminergiques, ces résultats mettent en évidence que le marquage de la TH et du DAT n'est pas nécessairement équivalent à la perte des neurones dopaminergiques (Jackson-Lewis *et coll.*, 1995; Jakowec *et coll.*, 2004). L'augmentation de l'expression de la TH peut provenir de la capacité des neurones restants à augmenter la synthèse de la TH ou à régénérer spontanément des axones (Jakowec *et coll.*, 2004). En accord avec Jakowec *et coll.*, il a été observé de manière qualitative une augmentation de la densité de fibres TH-positives dans le striatum des souris C57bl/6j à partir du 14e jour après l'injection de MPTP (Ho et Blum, 1998). L'analyse quantitative réalisée par d'autres études montre une augmentation significative de la densité de fibres TH-positives 24 jours après l'injection de MPTP chez les souris C57bl/6j (Mitsumoto *et coll.*, 1998) et cinq mois après l'injection de MPTP chez les souris OF1 (Bezard *et coll.*, 2000). Ce phénomène a aussi été observé chez les singes un mois après l'injection de MPTP (Song et Haber, 2000) ainsi que chez les rats quatre à sept mois après l'injection de 6-OHDA lors d'une dégénérescence partielle des neurones dopaminergiques (< 70 % de perte des neurones dopaminergiques) (Blanchard *et coll.*, 1995; Blanchard *et coll.*, 1996; Finkelstein *et*

coll., 2000; Stanic *et coll.*, 2003). Toutefois, afin que nos résultats ne soient pas biaisés par l'augmentation de l'expression de la TH observée suite à l'injection de MPTP, les tests comportementaux ont été réalisés sept jours après l'injection de MPTP, c'est-à-dire lorsque la perte des neurones dopaminergiques est établie, et les souris ont été sacrifiées de suite après l'entraînement sur le rotarod, soit dix jours après l'injection de MPTP. De plus, du fait que chez le rongeur le DAT peut être régulé à la baisse afin de servir de mécanisme de compensation à la suite de la perte des neurones dopaminergiques (Stachowiak *et coll.*, 1987; Snyder *et coll.*, 1990; Sossi *et coll.*, 2009; Afonso-Oramas *et coll.*, 2010) et que la TH est l'enzyme limitante dans la synthèse de dopamine (Levitt *et coll.*, 1965), les souris ont été regroupées en fonction de l'expression de la TH afin d'évaluer l'implication de l'afférence dopaminergique dans l'apprentissage moteur.

De plus, les résultats de cette étude mettent en évidence que la phase lente d'apprentissage, incluant la consolidation, est particulièrement affectée par la perte d'afférence dopaminergique. En effet, à la suite de la déplétion dopaminergique, l'apprentissage moteur est d'abord affecté dans la phase lente d'apprentissage et les effets sur cette phase s'accentuent avec la progression de la perte en TH. La phase lente et la consolidation permettent de stabiliser et maintenir durablement les séquences motrices afin de permettre l'automatisation du mouvement (Doyon *et coll.*, 2009). Chez les patients parkinsoniens, la phase lente d'apprentissage, la consolidation et l'automatisation sont aussi affectées (Harrington *et coll.*, 1990; Doyon *et coll.*, 1997; Doyon *et coll.*, 1998; Wu et Lynch, 2006; Marinelli *et coll.*, 2009; Gamble *et coll.*, 2014). De plus, des études ont mis en évidence que les récepteurs D_1 et D_2 sont impliqués dans la consolidation et la phase lente d'apprentissage (Levesque *et coll.*, 2007; Willuhn et Steiner, 2008; Tremblay *et coll.*, 2009; Yin *et coll.*, 2009; Beeler *et coll.*, 2010). Du fait que les récepteurs D_1 ont moins d'affinité pour la dopamine (Richfield *et coll.*, 1989) et que l'inhibition de PKA affecte aussi la phase lente d'apprentissage (article chapitre III), il est possible qu'à la suite de la perte d'innervation dopaminergique, la phase lente d'apprentissage soit affectée en premier par une perte d'activation des récepteurs D_1. Cette suggestion est appuyée par le fait qu'une perte de TH d'environ 75 % dans le striatum empêche l'induction de la LTP, un processus

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

associé aux récepteurs D1, alors que la perte de TH de plus de 90 % empêche l'induction des deux formes de plasticité : la LTP et LTD (Paille *et coll.*, 2010). Toutefois, de plus amples expériences seraient nécessaires afin de déterminer l'implication des récepteurs dopaminergiques et l'influence qu'exerce la perte d'innervation dopaminergique sur ces récepteurs lors des différentes phases d'apprentissage.

Il est aussi à mentionner que d'autres facteurs peuvent participer aux troubles d'apprentissage. D'une part, il est connu que la perte des neurones dopaminergiques induit des modifications moléculaires associées aux systèmes de neurotransmission non dopaminergique tels que le système glutamatergique (Ouattara *et coll.*, 2009; Morin et Di Paolo, 2014). Or, ce système participe à l'induction de la plasticité synaptique cortico-striatale (Calabresi *et coll.*, 2007; Kreitzer et Malenka, 2008; Surmeier *et coll.*, 2011a) et il a été montré que l'inhibition pharmacologique des récepteurs NMDA ou de la protéine de signalisation glutamatergique MEK1/2 affecte l'apprentissage moteur, plus particulièrement dans la phase lente et la consolidation (Bureau *et coll.*, 2010; Lemay-Clermont *et coll.*, 2011). D'autre part, l'activité corticale est affectée chez les patients parkinsoniens (Carbon et Eidelberg, 2006; Dagher et Nagano-Saito, 2007; Carbon *et coll.*, 2010) et la perte en dopamine au niveau du cortex affecte l'apprentissage moteur chez le rongeur (Molina-Luna *et coll.*, 2009; Hosp *et coll.*, 2011). De plus, la perte des neurones dopaminergiques est à même d'influencer la plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe (Zhu *et coll.*, 2011). Dans ce contexte, il se pourrait que les modifications des systèmes non dopaminergiques ainsi que la perte en dopamine extrastriatale participent aux effets observés et de plus amples expériences seraient nécessaires pour vérifier leur contribution.

Enfin, les résultats de cette étude montrent que la perte d'afférence dopaminergique est à même d'affecter l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice sans toutefois induire de sévères pertes motrices. En effet, les souris MPTP ayant une perte de 80 % et plus en TH ont des difficultés d'apprentissage et de mémorisation, mais pas de problèmes de capacité motrice. À ce niveau de déplétion dopaminergique, nous nous attendions toutefois à observer des troubles d'exécution.

Dans ce contexte, il se pourrait que les souris MPTP soient atteintes de troubles moteurs qui ne sont pas mis en évidence par les tests d'exécution utilisés. En effet, chez les patients parkinsoniens, la perte en dopamine est bien connue pour induire des troubles de motricité fine et de la difficulté à initier volontairement le mouvement. Toutefois, nos résultats concordent avec d'autres études chez le rongeur, montrant que la perte de dopamine affecte l'apprentissage moteur sans induire des troubles de la motricité générale (Ogura *et coll.*, 2005; Kheirbek *et coll.*, 2009; Eckart *et coll.*, 2010). De plus, des études chez les patients parkinsoniens ont mis en évidence que l'apprentissage peut être affecté dès le stade précoce de la maladie (Stefanova *et coll.*, 2000; Mentis *et coll.*, 2003; Carbon et Eidelberg, 2006; Marinelli *et coll.*, 2009; Carbon *et coll.*, 2010). Les résultats suggèrent donc que les troubles de mémorisation précèdent les sévères pertes motrices induites par la perte en dopamine.

Ainsi, les résultats de cette étude mettent en évidence que l'innervation dopaminergique participe au processus permettant l'apprentissage et la mémorisation de nouvelles habiletés motrices. Plus particulièrement, cette étude démontre qu'une faible afférence dopaminergique au niveau striatum, correspondante à des niveaux d'expression de la TH d'environ 20 %, est suffisante pour permettre l'apprentissage moteur et que cette afférence participe au processus permettant la stabilisation à long terme des séquences motrices. Enfin, cette étude suggère que les processus d'apprentissage des habiletés motrices sont plus sensibles à une perte de dopamine que les processus régissant l'exécution du mouvement.

6.3 Est-ce que les calpaïnes et cdk5 sont impliquées dans le contrôle du mouvement?

Dans la troisième étude présentée au chapitre V, l'implication des calpaïnes et de cdk5 dans le contrôle du mouvement a été étudiée. Rappelons que les calpaïnes sont des protéines calcium-dépendantes qui sont autant activées par la dopamine que le glutamate (Goll *et coll.*, 2003; Wu et Lynch, 2006; Cowan *et coll.*, 2008; Del Rio *et coll.*, 2008; Meyer *et coll.*, 2008; Lebel *et coll.*, 2009; Lebel et Cyr, 2011; Baudry *et coll.*, 2013) et

dont l'activation provoque le clivage du cofacteur de cdk5, p35 en p25, induisant l'augmentation de l'activité de cdk5 (Patrick *et coll.*, 1999; Kusakawa *et coll.*, 2000; Lee *et coll.*, 2000b). Cette étude a été réalisée dans un contexte pathologique associé à une perte du contrôle du mouvement : les dyskinésies induites par la L-DOPA (LID). Pour réaliser cette étude, les calpaïnes et cdk5 ont été inhibées de manière pharmacologique par l'infusion en continu de leurs inhibiteurs respectifs, le MDL28170 et la roscovitine, au niveau du striatum dorsal de rats 6-OHDA traités avec la L-DOPA. Les résultats démontrent que les calpaïnes et cdk5 participent au contrôle du mouvement. En effet, l'inhibition des calpaïnes et dans une moindre mesure, l'inhibition de cdk5, diminuent les mouvements anormaux involontaires induits par la L-DOPA chez le rat 6-OHDA, modèle de la maladie de Parkinson. Ce résultat est en accord avec une étude mettant en évidence que les souris surexprimant le cofacteur de cdk5, p25, démontrent des troubles de coordination (Meyer *et coll.*, 2008).

Le rôle des calpaïnes et de cdk5 dans la fonction motrice n'étant pas connu, leur implication dans un contexte parkinsonien, c'est-à-dire associé uniquement à la dégénérescence des neurones dopaminergiques, a aussi été étudiée dans cette étude. Les résultats démontrent que l'inhibition des calpaïnes et de cdk5 n'a pas d'effets antiparkinsoniens sur l'akinésie/bradykinésie chez les animaux traités à la 6-OHDA, modèles de la maladie de Parkinson. En accord avec la littérature, l'administration de la L-DOPA améliore les symptômes parkinsoniens chez les rats 6-OHDA. L'administration de l'inhibiteur des calpaïnes, le MDL28170, ou de l'inhibiteur de cdk5, la roscovitine, n'influence pas les effets bénéfiques de la L-DOPA, que ce soit positivement ou négativement. Toutefois, il a été montré que lorsque des souris saines sont traitées de manière chronique avec la cocaïne, l'administration de la roscovitine augmente les effets locomoteurs induits par la cocaïne chez les souris (Bibb *et coll.*, 2001). Dans notre étude, le modèle animal a été choisi pour observer les dyskinésies induites par la L-dopa. Les animaux présentent une forte dégénérescence des neurones dopaminergiques (> 95 %) et ils sont traités avec une forte dose de L-DOPA afin d'induire rapidement d'importantes dyskinésies. Dans ce contexte, il est possible que la forte dégénérescence et la haute dose de L-DOPA empêchent d'observer les effets

bénéfiques que pourrait avoir la roscovitine sur les symptômes parkinsoniens et/ou induisent des modifications dans la fonction de cdk5. Dans ce contexte, de plus amples études utilisant un modèle animal avec une faible dégénérescence (stade précoce de la maladie de Parkinson) et traité avec de faibles doses de L-DOPA seraient nécessaires. Toutefois, nos résultats démontrent que dans un stade avancé de la maladie de Parkinson, l'inhibition des calpaïnes et de cdk5 n'améliore pas les symptômes parkinsoniens. L'administration de la L-DOPA améliore les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson et ces effets bénéfiques ne sont pas bloqués par l'inhibition des calpaïnes et de cdk5.

6.3.1 Les calpaïnes et cdk5 dans les dyskinésies induites par la L-DOPA

Les dyskinésies induites par la L-DOPA sont causées, entre autres, par des modifications moléculaires durables au niveau du striatum, à la suite de la dégénérescence massive des neurones dopaminergiques et l'administration répétée de la L-DOPA. Il est bien établi que les dyskinésies sont associées à l'activation des récepteurs dopaminergiques D_1 et glutamatergiques tels que NMDA et $mGluR_5$ (Cenci et Lundblad, 2006; Calabresi *et coll.*, 2007; Cenci, 2007; Cenci et Konradi, 2010; Morin et Di Paolo, 2014). Au niveau de la signalisation, il est établi que la voie dopaminergique D_1 PKA/DARPP32Thr34/ERK/ΔFosB ainsi que la voie glutamatergique Ras/MEK/ERK/ΔFosB participent à l'émergence des dyskinésies (Cenci et Lundblad, 2006; Calabresi *et coll.*, 2007; Cenci, 2007; Cenci et Konradi, 2010). Dans ce contexte, notre étude ajoute l'implication de deux nouvelles protéines dans les dyskinésies : les calpaïnes et cdk5. En effet, les résultats démontrent que l'inhibition des calpaïnes et l'inhibition de cdk5, chez les rats 6-OHDA traités avec la L-DOPA, diminue la sévérité des dyskinésies, respectivement, de 23 % et 70 %. Dans la littérature, des évidences indirectes montrent l'implication de cdk5 et des protéines calcium-dépendantes dans les LID. Il a été démontré que les LID sont associées à une augmentation de l'expression de cdk5 (Aubert *et coll.*, 2005) et de son facteur de transcription FosB (Andersson *et coll.*, 1999; Cenci, 2002; Pavon *et coll.*, 2006; Lindgren *et coll.*, 2011). L'inactivation génétique de FosB diminue les dyskinésies

(Andersson *et coll.*, 1999; Cenci, 2002). Une forte altération dans l'expression des protéines calcium-dépendantes a été retrouvée chez les rats dyskinétiques (Konradi *et coll.*, 2004). Chez les rats et les singes dyskinétiques, l'inhibition des récepteurs AMPA perméables au calcium diminue de 75 % les dyskinésies (Kobylecki *et coll.*, 2010). Ainsi, en accord avec ces évidences indirectes, nos résultats démontrent que cdk5, et plus particulièrement les protéines calcium-dépendantes calpaïnes, jouent un rôle dans les LID.

Les études précédentes ont mis en évidence que l'inhibition des protéines de la voie de signalisation des récepteurs D_1 du striatum telles que PKA et DARPP32 diminue les dyskinésies sans toutefois les abolir (~50 %) (Santini *et coll.*, 2007; Lebel *et coll.*, 2010). De plus, il a été montré que les dyskinésies sont associées à une augmentation de l'expression de la protéine $G\alpha_{olf}$ (Alcacer *et coll.*, 2012). Toutefois, bien qu'une réduction partielle de la protéine $G\alpha_{olf}$ normalise les niveaux de DARPP32 phosphorylé sur la thréonine 34, elle n'est pas à même de réduire la sévérité des dyskinésies (Alcacer *et coll.*, 2012). D'autre part, l'inactivation génétique de ras-GRF1, l'activateur de ras dans la voie de signalisation Ras/ERK, diminue aussi les dyskinésies sans les abolir (~50 %) (Fasano *et coll.*, 2010). Ces études suggèrent que bien que l'activation de la voie D_1 et des MAPK soient permissives aux dyskinésies, les dyskinésies sont le résultat d'une mauvaise intégration de différents signaux. En accord avec cette suggestion, nos résultats démontrent que l'inhibition des calpaïnes, qui sont autant activées par les récepteurs D_1 que glutamatergiques, diminue significativement la sévérité des dyskinésies (70 %). Chez les animaux traités avec la L-DOPA en combinaison avec l'inhibiteur des calpaïnes, la fréquence et l'amplitude des mouvements anormaux involontaires sont si fortement diminuées qu'il n'existe plus de différence significative avec les animaux ne développant pas de dyskinésies. Ce résultat met en évidence que l'inhibition des protéines, qui sont autant activées par la dopamine que par le glutamate, est à même d'avoir un impact sur la sévérité des dyskinésies.

6.3.2 Mécanismes moléculaires du striatum par lesquels les calpaïnes et cdk5 jouent un rôle dans les dyskinésies induites par la L-DOPA

Ces résultats mettent en évidence que les calpaïnes et cdk5 participent à l'émergence des dyskinésies en régulant au moins deux mécanismes : la phosphorylation de dynamine et celle de ERK1/2. De plus, les calpaïnes influencent l'expression de TH.

6.3.2.1 La phosphorylation de dynamine

La dynamine est une protéine impliquée dans la formation des vésicules d'endocytose à clathrine, une voie d'internalisation des récepteurs couplés aux protéines G (Claing *et coll.*, 2002). Elle est nommée déphosphine avec d'autres protéines, car son statut de phosphorylation régule les cycles d'endocytose (Samuels et Tsai, 2003). Brièvement, au repos, la dynamine est dans un état phosphorylé. Lors de l'endocytose, la dynamine est déphosphorylée, permettant sa formation en anneaux au cou de la vésicule et l'induction de la fission. Puis, la dynamine est à nouveau phosphorylée par cdk5 pour permettre d'autres cycles d'endocytose (Samuels et Tsai, 2003). Cdk5 phosphoryle la dynamine sur la sérine 774 (Tan *et coll.*, 2003; Graham *et coll.*, 2007). La phosphorylation de dynamine par cdk5 empêche la dynamine de se lier aux phospholipides et/ou à d'autres déphosphines (Slepnev *et coll.*, 1998; Tan *et coll.*, 2003). Une phosphorylation adéquate de dynamine est donc essentielle au bon fonctionnement de l'endocytose (Tan *et coll.*, 2003). Nos résultats montrent une augmentation anormale de la phosphorylation de dynamine chez les rats dyskinétiques. Ceci suggère que les dyskinésies sont associées à un dérèglement de l'endocytose et par conséquent à des problèmes d'internalisation des récepteurs couplés aux protéines G. En accord avec cette suggestion, d'autres études ont souligné que les dyskinésies sont associées à des problèmes d'internalisation des récepteurs D_1 (Guigoni *et coll.*, 2007; Berthet *et coll.*, 2009; Ahmed *et coll.*, 2010). En effet, chez les animaux dyskinétiques, il a été montré, par microscopie éléctronique, une augmentation de la présence des récepteurs D_1 au niveau de la membrane plasmique, ce qui est associée à un dérèglement de leur trafic intraneuronal (Guigoni *et coll.*, 2007; Berthet *et coll.*, 2009). Faciliter l'internalisation des récepteurs D_1 par la surexpression de GRK6 diminue les dyskinésies

alors qu'à l'inverse, diminuer l'expression de GRK6 exacerbe les dyskinésies (Ahmed *et coll.*, 2010). De plus, nos résultats montrent que chez les animaux traités avec la L-DOPA, l'inhibition des calpaïnes ou de cdk5 normalise les niveaux de phosphorylation de dynamine et diminue les dyskinésies. Il a déjà été démontré que les calpaïnes augmentent l'activité de cdk5 (Patrick *et coll.*, 1999; Kusakawa *et coll.*, 2000; Lee *et coll.*, 2000b) et que la phosphorylation de dynamine est diminuée lorsque l'activité de cdk5 est réduite (Tan *et coll.*, 2003). En accord avec ces observations, nos résultats montrent que de diminuer l'activité de cdk5, soit directement par l'infusion de roscovitine, soit indirectement par l'inhibition des calpaïnes, diminue la phosphorylation de dynamine. Ces résultats confirment d'un point de vue biochimique l'inhibition des calpaïnes et cdk5. De plus, ils démontrent que chez les animaux dyskinétiques, l'augmentation de la phosphorylation de dynamine est causée par l'activation de la voie calpaïnes/cdk5. De plus amples expériences seraient nécessaires pour comprendre l'implication de la dynamine dans les dyskinésies. Toutefois, ces résultats mettent en évidence un nouveau mécanisme moléculaire associé à l'apparition des dyskinésies.

6.3.2.2 La phosphorylation d'ERK1/2

Il est bien connu que la phosphorylation d'ERK1/2 représente un marqueur biochimique des LID (Pavon *et coll.*, 2006; Santini *et coll.*, 2007; Westin *et coll.*, 2007; Cenci et Konradi, 2010; Lebel *et coll.*, 2010; Santini *et coll.*, 2012). En accord avec la littérature, les résultats de cette étude démontrent que la phosphorylation d'ERK1/2 est augmentée chez les animaux dyskinétiques et que l'inhibition des calpaïnes et de cdk5 diminue la phosphorylation d'ERK1/2, ce qui est associé à une diminution des dyskinésies chez les animaux.

Dans un autre modèle hyperdopaminergique associé à l'administration chronique de cocaïne, il a été montré que l'activation de cdk5/p35 augmente la phosphorylation de DARPP32 sur la thréonine 75 (Thr75), transformant DARPP32 en un inhibiteur de PKA (Bibb *et coll.*, 2001). Dans ce contexte, cdk5/p35 joue un rôle de rétrocontrôle négatif sur l'augmentation de l'activité dopaminergique à la suite de l'administration de cocaïne

(Bibb *et coll.*, 2001). Toutefois, dans les dyskinésies induites par la L-DOPA, il a été montré que la phosphorylation de DARPP32 sur la Thr75 n'est pas modulée (Santini *et coll.*, 2012). Dans le contexte des LID, cdk5 n'agirait donc plus sur la phosphorylation de DARPP32 sur la Thr75. Cette observation est en accord avec la théorie des LID, montrant que les dyskinésies sont associées à une augmentation de l'activation de la voie dopaminergique D_1 et de la phosphorylation de DARPP32 sur la Thr34 menant à l'augmentation d'ERK1/2. Les études portant sur cdk5 mettent en évidence que la fonction de cdk5 peut varier en fonction de la structure ainsi que du type, de la quantité et du temps d'expression des cofacteurs de cdk5 (Cyr *et coll.*, 2003; Fischer *et coll.*, 2005; Hawasli et Bibb, 2007; Meyer *et coll.*, 2008). Dans ce contexte, les complexes cdk5/p35 et cdk5/p25 ne partageraient pas totalement les mêmes substrats. En effet, il a été montré que lorsque cdk5 est liée à p25, cdk5 n'augmente pas la phosphorylation de DARPP32 sur la Thr75. Au contraire, la phosphorylation est diminuée (Meyer *et coll.*, 2008). L'ensemble de ces recherches suggère donc que dans le contexte des LID, la perte de la phosphorylation de DARPP32 sur la Thr75 pourrait être causée par la formation du complexe cdk5/p25 à la suite de l'activation des calpaïnes, contribuant ainsi à l'augmentation de l'activation de la voie D_1 et la phosphorylation d'ERK1/2.

La phosphorylation d'ERK1/2 est aussi induite par la stimulation des récepteurs glutamatergiques (Sgambato *et coll.*, 1998; Schwarzschild *et coll.*, 1999; Vanhoutte *et coll.*, 1999; Choe et Wang, 2001; Perkinton *et coll.*, 2002; Mao *et coll.*, 2004). La liaison de p25 à cdk5 augmente la phosphorylation de la sous-unité GluR1 des récepteurs AMPA sur la sérine 845 ainsi que la phosphorylation de la sous-unité NR2A sur la sérine 1232 (Fischer *et coll.*, 2005; Meyer *et coll.*, 2008). La phosphorylation à ces sites augmente la conductance des récepteurs AMPA et NMDA (Roche *et coll.*, 1996; Banke *et coll.*, 2000; Wang *et coll.*, 2003). Chez les animaux dyskinétiques, il a été montré une augmentation de la phosphorylation des récepteurs AMPA sur la sérine 845 (Santini *et coll.*, 2007; Santini *et coll.*, 2012). L'utilisation d'antagonistes des récepteurs AMPA diminue les dyskinésies chez les rats 6-OHDA et les singes MPTP traités avec la L-DOPA (Konitsiotis *et coll.*, 2000; Kobylecki *et coll.*, 2010). Chez les rats 6-OHDA, le traitement à la L-DOPA augmente la phosphorylation des sérines de la sous-unité NR2A

Rapport-Gratuit.com

(Oh *et coll.*, 1999). Diminuer l'expression de NR2A réduit les dyskinésies chez les rats 6-OHDA traités avec la L-DOPA (Gardoni *et coll.*, 2012). En regard de ces évidences, il est possible que chez les animaux dyskinétiques, l'activation des calpaïnes et de cdk5 contribue à la phosphorylation d'ERK1/2 en augmentant la conductance des récepteurs AMPA et NMDA par la phosphorylation de leur sous-unité GluR1 et NR2A.

Comme il a été décrit dans l'introduction, plusieurs études ont mis en évidence l'implication de la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA dans les LID (Blanchet *et coll.*, 1999; Hadj Tahar *et coll.*, 2004; Morissette *et coll.*, 2006; Nutt *et coll.*, 2008; Ouattara *et coll.*, 2009). Les calpaïnes et cdk5 peuvent aussi moduler l'expression de la sous-unité NR2B. En effet, il a été montré au niveau de l'hippocampe que cdk5 phosphoryle la sous-unité NR2B sur la sérine 1116, ce qui empêche son expression (Plattner *et coll.*, 2014). De plus, il a été mis en évidence *in vitro* que cdk5 empêche la phosphorylation de la sous-unité NR2B sur la tyrosine 1472, ce qui facilite son internalisation (Zhang *et coll.*, 2008a). Toutefois, dans les LID, la phosphorylation de la sous-unité NR2B sur les sérines ou sur la tyrosine 1472 est inchangée au niveau du striatum (Oh *et coll.*, 1999; Gardoni *et coll.*, 2006). Chez des souris cdk5 « knock-out », la délétion de cdk5 augmente l'expression synaptique de NR2B au niveau de l'hippocampe (Hawasli *et coll.*, 2007). Bien que cette étude soit en accord avec les précédentes études montrant que cdk5 atténue l'expression de NR2B, il semblerait que ce rôle soit neuroanatomiquement défini. En effet, suite à la délétion génétique de cdk5, aucune augmentation d'expression de la sous-unité NR2B n'est observée au niveau des synaptosomes provenant d'un mélange de cortex et de striatum (Hawasli *et coll.*, 2007, informations supplémentaires). Les calpaïnes sont capables de cliver les récepteurs glutamatergiques, cependant les conséquences de ce clivage sont encore peu connues (Baudry *et coll.*, 2013). Par exemple, au niveau de l'hippocampe, cdk5 atténue l'expression synaptique de NR2B en favorisant sa dégradation par les calpaïnes (Hawasli *et coll.*, 2007). D'un autre côté, au niveau du striatum, l'activation pathologique des calpaïnes induit le clivage NR2B, ce qui augmente son expression extrasynaptique (Gladding *et coll.*, 2012). Dans les LID il a été mis en évidence que les dyskinésies ne seraient pas associées à une altération des niveaux d'expression de la

sous-unité NR2B, mais plutôt à une délocalisation de NR2B de la membrane synaptique vers la membrane extrasynaptique (Fiorentini *et coll.*, 2006; Gardoni *et coll.*, 2006). Dans ce contexte, de plus amples études seraient nécessaires afin de définir si dans les LID les calpaïnes et cdk5 pourraient moduler l'expression ou la localisation de la sous-unité NR2B afin d'augmenter la phosphorylation d'ERK1/2.

Bien que de plus amples études soient nécessaires pour établir les mécanismes par lesquels la voie calpaïnes/cdk5 influence la phosphorylation d'ERK1/2, nos résultats démontrent, en accord avec la littérature, que de diminuer des marqueurs des dyskinésies tels qu'ERK1/2 diminue la sévérité des mouvements involontaires.

6.3.2.3 L'augmentation de l'expression de la tyrosine hydroxylase

Comparativement à l'inhibition de cdk5 qui diminue faiblement la sévérité des dyskinésies, l'inhibition des calpaïnes diminue drastiquement la sévérité des mouvements anormaux involontaires. Un des mécanismes mis en évidence dans notre étude est que l'inhibition des calpaïnes augmente l'expression de la TH au niveau du striatum chez les rats lésés traités à la L-DOPA.

À la suite de l'injection de la neurotoxine 6-OHDA, les tests comportementaux montrent que les animaux présentent des symptômes moteurs parkinsoniens et indiquent qu'ils ont une perte en dopamine supérieure à 90 %. En accord avec les résultats comportementaux, 25 jours après l'injection de 6-OHDA, les animaux présentent une diminution du nombre de neurones et des terminaisons dopaminergiques de plus de 90 %. Ces résultats confirment qu'avant le début des traitements pharmacologiques, les animaux ont bien une perte massive des neurones dopaminergiques et de leurs terminaisons nerveuses. À la suite des traitements pharmacologiques, le nombre de neurones dopaminergiques dans la SNc reste inchangé (< 5 %). Toutefois, les résultats démontrent que le traitement à la L-DOPA combinée au MDL28170 augmente significativement l'expression de la TH au niveau du striatum chez les rats 6-OHDA. Le niveau d'expression de la TH dans le striatum des rats 6-ODHA traités avec la

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

L-DOPA en combinaison avec le MDL28170 atteint environ 25 % alors qu'il est inférieur à 10 % chez les autres groupes d'animaux lésés. Dans ce contexte, les résultats indiquent que l'augmentation de l'expression de la TH dans le striatum n'est pas due à l'effet neuroprotecteur qu'exerce l'inhibition des calpaïnes sur les neurones dopaminergiques (Crocker *et coll.*, 2003).

Les mécanismes par lesquels les calpaïnes sont capables d'augmenter l'expression de la TH au niveau du striatum ne sont pas connus. Deux mécanismes peuvent toutefois être envisagés. D'une part, il est possible que l'inhibition des calpaïnes augmente la formation des terminaisons axonales. En effet, il a été démontré *in vitro* et *in vivo* que l'inhibition des calpaïnes induit la formation de neurites dans l'hippocampe (Mingorance-Le Meur et O'Connor, 2009). De plus, une étude réalisée sur des cellules ayant un phénotype neuronal dopaminergique a montré que les calpaïnes sont localisées au niveau des varicosités (Mingorance-Le Meur *et coll.*, 2009). En lien avec ces études, nous avons observé, chez les rats 6-OHDA traités en combinaison avec la L-DOPA et l'inhibiteur des calpaïnes, un plus grand nombre de varicosités au niveau des neurones dopaminergiques restants. Il est donc possible que l'augmentation de TH au niveau du striatum soit le reflet d'une augmentation des terminaisons axonales ou des varicosités provenant des neurones dopaminergiques restants. D'autre part, les études chez l'humain (Cossette *et coll.*, 2004; Cossette *et coll.*, 2005a; Cossette *et coll.*, 2005b) ainsi que chez le singe et le rongeur (Dubach *et coll.*, 1987; Tashiro *et coll.*, 1989; Betarbet *et coll.*, 1997; Palfi *et coll.*, 2002; Tande *et coll.*, 2006) ont mis en évidence la présence de cellules exprimant la TH au niveau du striatum. Ces cellules sont aussi retrouvées chez les patients parkinsoniens et les animaux modèles de la maladie de Parkinson traités ou non à la L-DOPA (Mura *et coll.*, 1995; Betarbet *et coll.*, 1997; Meredith *et coll.*, 1999; Porritt *et coll.*, 2000; Palfi *et coll.*, 2002; Lopez-Real *et coll.*, 2003; Jollivet *et coll.*, 2004; Tande *et coll.*, 2006; Darmopil *et coll.*, 2008). Il est donc possible que l'augmentation de TH soit due à une augmentation du nombre de cellules exprimant la TH au niveau du striatum. Nous avons donc décidé de vérifier la possibilité de ce deuxième mécanisme après la publication de l'article. L'observation qualitative à plus fort grossissement des tranches de striatum a mis en évidence la présence en grand

nombre de cellules TH-positives chez les rats traités en combinaison avec la L-DOPA et le MDL28170 (Figure 6.2, p. 181). Cette observation montre que l'inhibition des calpaïnes par le MDL 28170 pourrait augmenter le nombre de neurones exprimant la TH, au niveau du striatum, chez les rats modèles de la maladie de Parkinson traités avec la L-DOPA. Cette observation, bien que non exhaustive, offre une prémisse à la réalisation d'une étude intéressante.

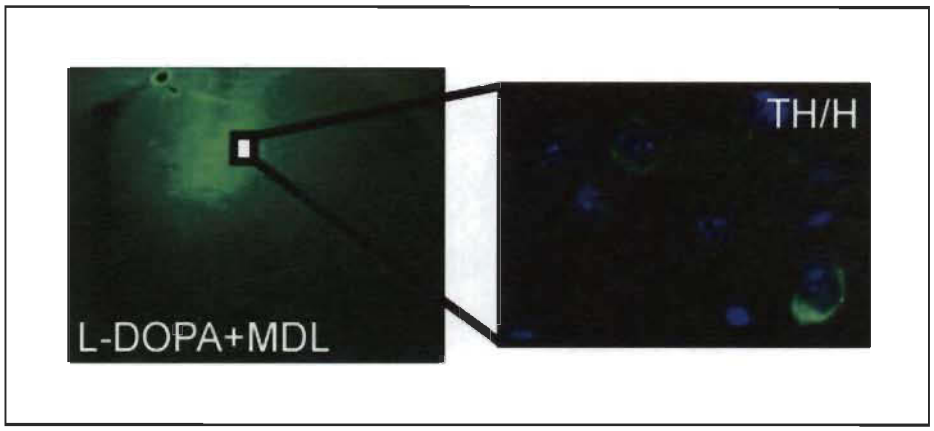


Figure 6.2 Exemple représentatif de cellules TH-positives retrouvées dans le striatum de rats 6-OHDA traités à la L-DOPA en combinaison avec l'inhibiteur des calpaïnes.
Les cellules ont un cytoplasme immunoréactif pour la tyrosine hydroxylase (TH, en vert) ainsi qu'un noyau immunoréactif pour le Hoechst 33342 (H, en bleu). Elles sont observées majoritairement alentour du site d'injection de l'inhibiteur.

Bien que les mécanismes par lesquels les calpaïnes influencent l'expression de la TH ne soient pas clairement établis, nos résultats démontrent que de restaurer l'expression de la TH, au niveau du striatum de plus de 20 %, est suffisant pour diminuer drastiquement la fréquence et l'amplitude des dyskinésies. Ce résultat est en accord avec la littérature. En effet, il a été montré une association entre les niveaux de dégénérescence dopaminergique et la sévérité des dyskinésies. Les mouvements anormaux involontaires ne sont pas induits lorsque le nombre de cellules TH-positives dans la SNC ou la quantité de fibres dopaminergiques sont supérieurs à 20 % (Winkler *et coll.*, 2002). De plus, la L-DOPA n'induit pas de dyskinésies chez des rats injectés avec un petit ARN en épingle à cheveux induisant une réduction de l'expression de la

TH d'environ 60 % au niveau du striatum (Ulusoy *et coll.*, 2010). Chez des patients atteints d'un désordre autosomique récessif induisant une déficience en TH, le traitement à la L-DOPA induit des dyskinésies (Pons *et coll.*, 2013). Chez les rats et les singes modèles de la maladie de Parkinson, la thérapie génique permettant d'augmenter l'expression de la TH au niveau du striatum prévient les dyskinésies et diminue drastiquement celles déjà induites (Fan *et coll.*, 1998; Shen *et coll.*, 2000; Azzouz *et coll.*, 2002; Kirik *et coll.*, 2002; Carlsson *et coll.*, 2005; Jarraya *et coll.*, 2009; Bjorklund *et coll.*, 2010).

Ainsi, les résultats de cette étude, présentée au chapitre V, démontrent que cdk5 et les calpaïnes présentes au niveau du striatum dorsal participent aux processus moléculaires régissant le contrôle du mouvement. Cette étude a été réalisée dans un contexte pathologique associé à l'apparition de mouvements involontaires induit par la L-DOPA. Dans ce contexte, les résultats démontrent que cdk5 et les calpaïnes participent au contrôle moteur en agissant sur la phosphorylation de dynamine et d'ERK1/2. De plus, les calpaïnes interagissent avec l'expression de la TH. Du fait que cette étude mette en évidence l'implication de cdk5 et des calpaïnes dans le contrôle du mouvement, il serait intéressant d'examiner leur implication dans d'autres contextes pathologiques associés à un dérèglement moteur tels que les dyskinésies tardives.

6.4 Conclusion générale

Les travaux présentés dans cette thèse ont pu mettre en évidence certains mécanismes moléculaires impliqués dans la réalisation d'activités motrices, plus particulièrement dans l'exécution et l'apprentissage moteur.

Tout d'abord, ces travaux de recherche démontrent que la protéine PKA au niveau du striatum est une enzyme clé dans la réalisation d'activités motrices. D'une part, elle participe aux processus moléculaires permettant l'exécution du mouvement. En effet, dans un contexte sain, une forte inhibition de PKA entraine une perte d'exécution motrice (article chapitre III). Dans un contexte pathologique associé à l'apparition de

mouvements anormaux involontaires, l'inhibition de PKA améliore le contrôle du mouvement (Lebel *et coll.*, 2010). D'autre part, PKA participe aux processus moléculaires d'apprentissage et de mémorisation d'une tâche motrice complexe. En effet, l'inhibition de PKA induit un retard d'apprentissage moteur (article chapitre III). Dans ce contexte, les travaux montrent que les processus d'apprentissage et de mémorisation d'une tâche motrice sont plus sensibles aux variations de l'activité de PKA que ceux engagés dans l'exécution motrice.

De plus, ces travaux de recherche démontrent qu'une faible innervation dopaminergique au niveau du striatum est suffisante pour permettre l'apprentissage moteur. Plus particulièrement, les travaux révèlent qu'au niveau du striatum, une faible quantité de tyrosine hydroxylase (TH), l'enzyme limitante de la synthèse de dopamine, est suffisante pour maintenir un apprentissage et un contrôle moteur satisfaisant. En effet, l'expression de la TH supérieure à 20 % est nécessaire pour permettre l'apprentissage moteur (article chapitre IV). Restaurer les niveaux d'expression de la TH de plus de 20 % diminue drastiquement l'apparition de mouvements anormaux involontaires (article chapitre V). La maladie de Parkinson induit la mort des neurones dopaminergiques exprimant la TH et par conséquent la perte de l'afférence dopaminergique dans le striatum. Chez les patients parkinsoniens, l'apprentissage et l'exécution motrice sont affectés. Dans ce contexte, les travaux de recherche présentés dans cette thèse suggèrent que d'augmenter l'expression de la TH au niveau du striatum aurait des effets bénéfiques chez les patients parkinsoniens. En accord avec cette suggestion, une des thérapies géniques actuellement en phase clinique démontre que d'augmenter l'expression et l'activité de la TH améliore les symptômes parkinsoniens (Palfi *et coll.*, 2014).

Enfin, ces résultats mettent en évidence de nouveaux mécanismes moléculaires ayant lieu au niveau du striatum et qui sont importants pour la réalisation d'activités motrices. D'une part, ils démontrent que PKA est à même de phosphoryler $STEP_{61}$ et CREB et que ce mécanisme participe à l'apprentissage moteur (article du chapitre III). D'autre part, ils démontrent l'implication de deux nouvelles molécules dans le contrôle

du mouvement : les calpaïnes et cdk5 (article chapitre V). Dans ce contexte, les résultats montrent que l'activation de la voie calpaïnes/cdk5 augmente la phosphorylation de dynamine et d'ERK1/2. De plus, ils montrent que les calpaïnes influencent l'expression de la tyrosine hydroxylase.

Ainsi, l'ensemble des résultats contribue aux connaissances des mécanismes moléculaires du striatum qui sont impliqués dans la réalisation d'activités motrices, plus particulièrement dans l'exécution et l'apprentissage moteur (Figure 6.3, p. 185). Ils mettent aussi en évidence que l'inhibition des calpaïnes pourrait avoir des implications cliniques intéressantes chez les patients parkinsoniens. En effet, l'inhibition des calpaïnes diminue drastiquement les mouvements anormaux involontaires induits par la L-DOPA sans affecter l'effet antiparkinsonien de la L-DOPA. De plus, un traitement à la L-DOPA combiné à l'inhibiteur des calpaïnes est à même d'augmenter l'expression de la tyrosine hydroxylase, l'enzyme limitante de la synthèse dans la dopamine. L'inhibition des calpaïnes serait d'autant plus bénéfique pour la maladie de Parkinson qu'il a été montré que l'activation des calpaïnes est augmentée dans le cerveau *post-mortem* des patients parkinsoniens (Mouatt-Prigent *et coll.*, 1996; Crocker *et coll.*, 2003; Alvira *et coll.*, 2008) et que leur inhibition a un effet neuroprotecteur sur la mort des neurones dopaminergiques, chez les animaux modèles de la maladie de Parkinson (Crocker *et coll.*, 2003).

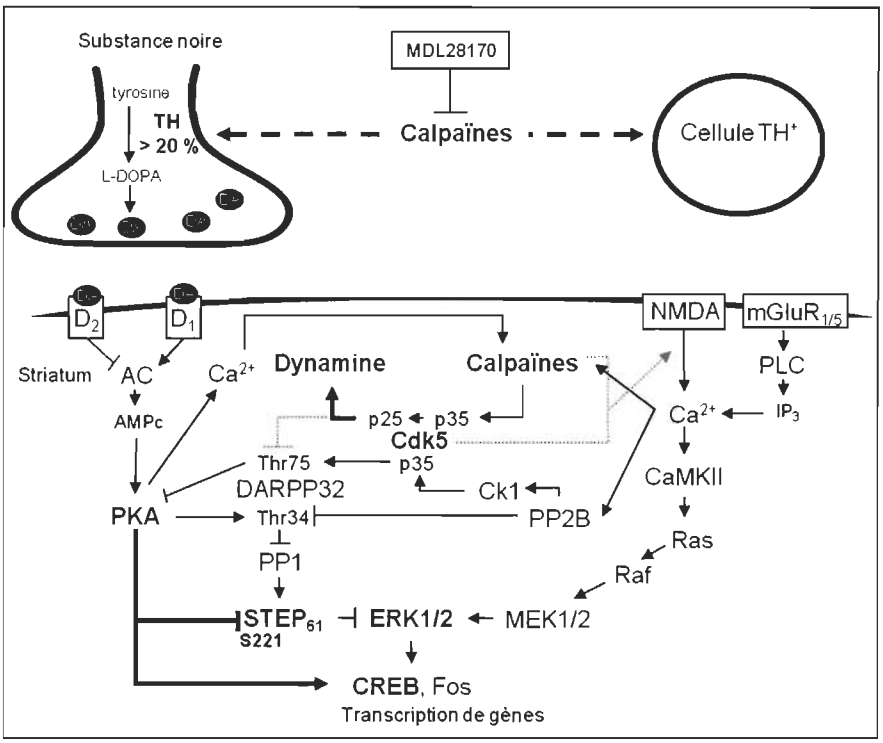


Figure 6.3 **Schéma récapitulatif des résultats des travaux de recherche.**
Les travaux démontrent qu'au niveau du striatum dorsal, PKA joue un rôle dans les processus moléculaires permettant l'apprentissage moteur. L'un des mécanismes engagé par PKA durant l'apprentissage moteur est l'inhibition de $STEP_{61}$ par sa phosphorylation sur la sérine 211. En plus d'agir sur $STEP_{61}$, PKA phosphoryle CREB. PKA participe aussi aux processus moléculaires permettant l'exécution du mouvement. Les mécanismes impliqués lors de l'apprentissage moteur sont plus sensibles aux variations de l'activité de PKA que ceux engagés dans l'exécution motrice. De plus, les résultats montrent que seulement une faible innervation dopaminergique est suffisante pour réaliser un apprentissage moteur. Une expression de tyrosine hydroxylase (TH) supérieure à 20 % est nécessaire pour permettre cet apprentissage. Enfin, les résultats mettent en évidence que les calpaïnes et cdk5 jouent un rôle dans le contrôle du mouvement. La voie calpaïnes/cdk5 augmente la phosphorylation de dynamine et d'ERK1/2. Les mécanismes par lesquels la voie calpaïnes/cdk5 participe à la phosphorylation d'ERK1/2 ne sont pas connus, mais l'activation de cette voie pourrait favoriser la voie de signalisation dopaminergique D_1 ou moduler la signalisation glutamatergique (pointillé gris). Enfin, les travaux démontrent que dans le contexte pathologique des dyskinésies induites par la L-DOPA, l'inhibition des calpaïnes augmente l'expression de la TH au niveau du striatum dorsal ce qui diminue significativement les dyskinésies. Dans ce contexte, l'inhibition des calpaïnes pourrait augmenter l'expression de la TH dans les neurones dopaminergiques ou favoriser la présence de cellules TH-postives (pointillé noir). DA, dopamine

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbruzzese G., Trompetto C. et Marinelli L. (2009) "The rationale for motor learning in Parkinson's disease", Eur J Phys Rehabil Med 45: 209-214.

Abel T. et Nguyen P. V. (2008) "Regulation of hippocampus-dependent memory by cyclic AMP-dependent protein kinase", Prog Brain Res 169: 97-115.

Abel T., Nguyen P. V., Barad M., Deuel T. A., Kandel E. R. et Bourtchouladze R. (1997) "Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory", Cell 88: 615-626.

Abrams T. W. (2010) Cyclic AMP (cAMP) Role in learning and Memory. In: Encyclopedia of Neuroscience (Squire L. R., ed), pp 265-277 Oxford: Academic press.

Afonso-Oramas D., Cruz-Muros I., Barroso-Chinea P., Alvarez de la Rosa D., Castro-Hernandez J., Salas-Hernandez J., Giraldez T. et Gonzalez-Hernandez T. (2010) "The dopamine transporter is differentially regulated after dopaminergic lesion", Neurobiol Dis 40: 518-530.

Agostino R., Sanes J. N. et Hallett M. (1996) "Motor skill learning in Parkinson's disease", J Neurol Sci 139: 218-226.

Ahlskog J. E. et Muenter M. D. (2001) "Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature", Mov Disord 16: 448-458.

Ahmed M. R., Berthet A., Bychkov E., Porras G., Li Q., Bioulac B. H., Carl Y. T., Bloch B., Kook S., Aubert I., *et coll.* (2010) "Lentiviral overexpression of GRK6 alleviates L-dopa-induced dyskinesia in experimental Parkinson's disease", Sci Transl Med 2: 28ra28.

Alagarsamy S., Marino M. J., Rouse S. T., Gereau R. W. t., Heinemann S. F. et Conn P. J. (1999) "Activation of NMDA receptors reverses desensitization of mGluR5 in native and recombinant systems", Nat Neurosci 2: 234-240.

Alagarsamy S., Rouse S. T., Junge C., Hubert G. W., Gutman D., Smith Y. et Conn P. J. (2002) "NMDA-induced phosphorylation and regulation of mGluR5", Pharmacol Biochem Behav 73: 299-306.

Albouy G., King B. R., Maquet P. et Doyon J. (2013) "Hippocampus and striatum: dynamics and interaction during acquisition and sleep-related motor sequence memory consolidation", Hippocampus 23: 985-1004.

Albouy G., Sterpenich V., Balteau E., Vandewalle G., Desseilles M., Dang-Vu T., Darsaud A., Ruby P., Luppi P. H., Degueldre C., *et coll.* (2008) "Both the hippocampus and striatum are involved in consolidation of motor sequence memory", Neuron 58: 261-272.

Alcacer C., Santini E., Valjent E., Gaven F., Girault J. A. et Herve D. (2012) "Galpha(olf) mutation allows parsing the role of cAMP-dependent and extracellular signal-regulated kinase-dependent signaling in L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia", J Neurosci 32: 5900-5910.

Alexander G. E., DeLong M. R. et Strick P. L. (1986) "Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex", Annu Rev Neurosci 9: 357-381.

Alexander G. M., Schwartzman R. J., Grothusen J. R., Brainard L. et Gordon S. W. (1993) "Changes in brain dopamine receptors in MPTP parkinsonian monkeys following L-dopa treatment", Brain Res 625: 276-282.

Altar C. A., Marien M. R. et Marshall J. F. (1987) "Time course of adaptations in dopamine biosynthesis, metabolism, and release following nigrostriatal lesions: implications for behavioral recovery from brain injury", J Neurochem 48: 390-399.

Alvira D., Ferrer I., Gutierrez-Cuesta J., Garcia-Castro B., Pallas M. et Camins A. (2008) "Activation of the calpain/cdk5/p25 pathway in the girus cinguli in Parkinson's disease", Parkinsonism Relat Disord 14: 309-313.

Andersson M., Hilbertson A. et Cenci M. A. (1999) "Striatal fosB expression is causally linked with l-DOPA-induced abnormal involuntary movements and the associated upregulation of striatal prodynorphin mRNA in a rat model of Parkinson's disease", Neurobiol Dis 6: 461-474.

Andre V. M., Cepeda C., Cummings D. M., Jocoy E. L., Fisher Y. E., William Yang X. et 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.

Angelo M., Plattner F. et Giese K. P. (2006) "Cyclin-dependent kinase 5 in synaptic plasticity, learning and memory", J Neurochem 99: 353-370.

Rapport-Gratuit.com

Asanuma M., Miyazaki I., Murakami S., Diaz-Corrales F. J. et Ogawa N. (2014) "Striatal astrocytes act as a reservoir for L-DOPA", PLoS One 9: e106362.

Ascher P. et Nowak L. (1988) "The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture", J Physiol 399: 247-266.

Aubert I., Guigoni C., Hakansson K., Li Q., Dovero S., Barthe N., Bioulac B. H., Gross C. E., Fisone G., Bloch B., *et coll.* (2005) "Increased D1 dopamine receptor signaling in levodopa-induced dyskinesia", Ann Neurol 57: 17-26.

Azzouz M., Martin-Rendon E., Barber R. D., Mitrophanous K. A., Carter E. E., Rohll J. B., Kingsman S. M., Kingsman A. J. et Mazarakis N. D. (2002) "Multicistronic lentiviral vector-mediated striatal gene transfer of aromatic L-amino acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase, and GTP cyclohydrolase I induces sustained transgene expression, dopamine production, and functional improvement in a rat model of Parkinson's disease", J Neurosci 22: 10302-10312.

Badgaiyan R. D., Fischman A. J. et Alpert N. M. (2007) "Striatal dopamine release in sequential learning", Neuroimage 38: 549-556.

Bagetta V., Sgobio C., Pendolino V., Del Papa G., Tozzi A., Ghiglieri V., Giampa C., Zianni E., Gardoni F., Calabresi P., *et coll.* (2012) "Rebalance of striatal NMDA/AMPA receptor ratio underlies the reduced emergence of dyskinesia during D2-like dopamine agonist treatment in experimental Parkinson's disease", J Neurosci 32: 17921-17931.

Balleine B. W. et O'Doherty J. P. (2010) "Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action", Neuropsychopharmacology 35: 48-69.

Bamford N. S., Zhang H., Schmitz Y., Wu N. P., Cepeda C., Levine M. S., Schmauss C., Zakharenko S. S., Zablow L. et Sulzer D. (2004) "Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals", Neuron 42: 653-663.

Banke T. G., Bowie D., Lee H., Huganir R. L., Schousboe A. et Traynelis S. F. (2000) "Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase", J Neurosci 20: 89-102.

Baucum A. J., 2nd, Brown A. M. et Colbran R. J. (2013) "Differential association of postsynaptic signaling protein complexes in striatum and hippocampus", J Neurochem 124: 490-501.

Baudry M. et Bi X. (2013) "Learning and memory: an emergent property of cell motility", Neurobiol Learn Mem 104: 64-72.

Baudry M., Chou M. M. et Bi X. (2013) "Targeting calpain in synaptic plasticity", Expert Opin Ther Targets 17: 579-592.

Beaulieu J. M. et Gainetdinov R. R. (2011) "The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors", Pharmacol Rev 63: 182-217.

Beeler J. A., Cao Z. F., Kheirbek M. A., Ding Y., Koranda J., Murakami M., Kang U. J. et Zhuang X. (2010) "Dopamine-dependent motor learning: insight into levodopa's long-duration response", Ann Neurol 67: 639-647.

Bergeron Y., Chagniel L., Bureau G., Massicotte G. et Cyr M. (2014) "mTOR signaling contributes to motor skill learning in mice", Front Mol Neurosci 7: 26.

Bernheimer H., Birkmayer W., Hornykiewicz O., Jellinger K. et Seitelberger F. (1973) "Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations", J Neurol Sci 20: 415-455.

Berthet A., Porras G., Doudnikoff E., Stark H., Cador M., Bezard E. et Bloch B. (2009) "Pharmacological analysis demonstrates dramatic alteration of D1 dopamine receptor neuronal distribution in the rat analog of L-DOPA-induced dyskinesia", J Neurosci 29: 4829-4835.

Bertran-Gonzalez J., Bosch C., Maroteaux M., Matamales M., Herve D., Valjent E. et Girault J. A. (2008) "Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol", J Neurosci 28: 5671-5685.

Betarbet R., Turner R., Chockkan V., DeLong M. R., Allers K. A., Walters J., Levey A. I. et Greenamyre J. T. (1997) "Dopaminergic neurons intrinsic to the primate striatum", J Neurosci 17: 6761-6768.

Bezard E., Brotchie J. M. et Gross C. E. (2001) "Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies", Nat Rev Neurosci 2: 577-588.

Bezard E., Dovero S., Imbert C., Boraud T. et Gross C. E. (2000) "Spontaneous long-term compensatory dopaminergic sprouting in MPTP-treated mice", Synapse 38: 363-368.

Bezard E. et Gross C. E. (1998) "Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism: towards a dynamic approach", Prog Neurobiol 55: 93-116.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Bezard E., Munoz A., Tronci E., Pioli E. Y., Li Q., Porras G., Bjorklund A. et Carta M. (2013a) "Anti-dyskinetic effect of anpirtoline in animal models of L-DOPA-induced dyskinesia", Neurosci Res 77: 242-246.

Bezard E., Pioli E. Y., Li Q., Girard F., Mutel V., Keywood C., Tison F., Rascol O. et Poli S. M. (2014) "The mGluR5 negative allosteric modulator dipraglurant reduces dyskinesia in the MPTP macaque model", Mov Disord 29: 1074-1079.

Bezard E., Tronci E., Pioli E. Y., Li Q., Porras G., Bjorklund A. et Carta M. (2013b) "Study of the antidyskinetic effect of eltoprazine in animal models of levodopa-induced dyskinesia", Mov Disord 28: 1088-1096.

Bibb J. A. (2003) "Role of Cdk5 in neuronal signaling, plasticity, and drug abuse", Neurosignals 12: 191-199.

Bibb J. A., Chen J., Taylor J. R., Svenningsson P., Nishi A., Snyder G. L., Yan Z., Sagawa Z. K., Ouimet C. C., Nairn A. C., *et coll.* (2001) "Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5", Nature 410: 376-380.

Bibb J. A., Snyder G. L., Nishi A., Yan Z., Meijer L., Fienberg A. A., Tsai L. H., Kwon Y. T., Girault J. A., Czernik A. J., *et coll.* (1999) "Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons", Nature 402: 669-671.

Bibbiani F., Oh J. D. et Chase T. N. (2001) "Serotonin 5-HT1A agonist improves motor complications in rodent and primate parkinsonian models", Neurology 57: 1829-1834.

Birkmayer W. et Hornykiewicz O. (1961) "[The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia]", Wien Klin Wochenschr 73: 787-788.

Bjorklund T., Carlsson T., Cederfjall E. A., Carta M. et Kirik D. (2010) "Optimized adeno-associated viral vector-mediated striatal DOPA delivery restores sensorimotor function and prevents dyskinesias in a model of advanced Parkinson's disease", Brain 133: 496-511.

Blanchard V., Anglade P., Dziewczapolski G., Savasta M., Agid Y. et Raisman-Vozari R. (1996) "Dopaminergic sprouting in the rat striatum after partial lesion of the substantia nigra", Brain Res 709: 319-325.

Blanchard V., Chritin M., Vyas S., Savasta M., Feuerstein C., Agid Y., Javoy-Agid F. et Raisman-Vozari R. (1995) "Long-term induction of tyrosine hydroxylase expression: compensatory response to partial degeneration of the dopaminergic nigrostriatal system in the rat brain", J Neurochem 64: 1669-1679.

Blanchet P. J., Calon F., Morissette M., Hadj Tahar A., Belanger N., Samadi P., Grondin R., Gregoire L., Meltzer L., Di Paolo T., *et coll.* (2004) "Relevance of the MPTP primate model in the study of dyskinesia priming mechanisms", Parkinsonism Relat Disord 10: 297-304.

Blanchet P. J., Fang J., Gillespie M., Sabounjian L., Locke K. W., Gammans R., Mouradian M. M. et Chase T. N. (1998) "Effects of the full dopamine D1 receptor agonist dihydrexidine in Parkinson's disease", Clin Neuropharmacol 21: 339-343.

Blanchet P. J., Konitsiotis S., Whittemore E. R., Zhou Z. L., Woodward R. M. et Chase T. N. (1999) "Differing effects of N-methyl-D-aspartate receptor subtype selective antagonists on dyskinesias in levodopa-treated 1-methyl-4-phenyl-tetrahydropyridine monkeys", J Pharmacol Exp Ther 290: 1034-1040.

Blandini F. et Armentero M. T. (2012) "Animal models of Parkinson's disease", FEBS J 279: 1156-1166.

Blandini F., Armentero M. T. et Martignoni E. (2008) "The 6-hydroxydopamine model: news from the past", Parkinsonism Relat Disord 14 Suppl 2: S124-129.

Blandini F., Bazzini E., Marino F., Saporiti F., Armentero M. T., Pacchetti C., Zangaglia R., Martignoni E., Lecchini S., Nappi G., *et coll.* (2009) "Calcium homeostasis is dysregulated in parkinsonian patients with L-DOPA-induced dyskinesias", Clin Neuropharmacol 32: 133-139.

Blank T., Nijholt I., Teichert U., Kugler H., Behrsing H., Fienberg A., Greengard P. et Spiess J. (1997) "The phosphoprotein DARPP-32 mediates cAMP-dependent potentiation of striatal N-methyl-D-aspartate responses", Proc Natl Acad Sci U S A 94: 14859-14864.

Blesa J., Phani S., Jackson-Lewis V. et Przedborski S. (2012) "Classic and new animal models of Parkinson's disease", J Biomed Biotechnol 2012: 845618.

Blum D., Torch S., Lambeng N., Nissou M., Benabid A. L., Sadoul R. et Verna J. M. (2001) "Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease", Prog Neurobiol 65: 135-172.

Blumenfeld H. (2010) "Neuroanatomy through Clinical Cases" (2e éd.). Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Blunt S. B., Jenner P. et Marsden C. D. (1992) "Autoradiographic study of striatal D1 and D2 dopamine receptors in 6-OHDA-lesioned rats receiving foetal ventral mesencephalic grafts and chronic treatment with L-dopa and carbidopa", Brain Res 582: 299-311.

Boraud T., Bezard E., Bioulac B. et Gross C. E. (2001) "Dopamine agonist-induced dyskinesias are correlated to both firing pattern and frequency alterations of pallidal neurones in the MPTP-treated monkey", Brain 124: 546-557.

Boulanger L. M., Lombroso P. J., Raghunathan A., During M. J., Wahle P. et Naegele J. R. (1995) "Cellular and molecular characterization of a brain-enriched protein tyrosine phosphatase", J Neurosci 15: 1532-1544.

Bourdain F., Tir M. et Trocello J. M. (2013) "[Parkinsonian disorders: from clinical manifestations to diagnostic classification]", Rev Med Interne 34: 528-537.

Bove J., Prou D., Perier C. et Przedborski S. (2005) "Toxin-induced models of Parkinson's disease", NeuroRx 2: 484-494.

Braak H., Ghebremedhin E., Rub U., Bratzke H. et Del Tredici K. (2004) "Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology", Cell Tissue Res 318: 121-134.

Braithwaite S. P., Adkisson M., Leung J., Nava A., Masterson B., Urfer R., Oksenberg D. et Nikolich K. (2006a) "Regulation of NMDA receptor trafficking and function by striatal-enriched tyrosine phosphatase (STEP)", Eur J Neurosci 23: 2847-2856.

Braithwaite S. P., Paul S., Nairn A. C. et Lombroso P. J. (2006b) "Synaptic plasticity: one STEP at a time", Trends Neurosci 29: 452-458.

Brandon E. P., Logue S. F., Adams M. R., Qi M., Sullivan S. P., Matsumoto A. M., Dorsa D. M., Wehner J. M., McKnight G. S. et Idzerda R. L. (1998) "Defective motor behavior and neural gene expression in RIIbeta-protein kinase A mutant mice", J Neurosci 18: 3639-3649.

Brichta L., Greengard P. et Flajolet M. (2013) "Advances in the pharmacological treatment of Parkinson's disease: targeting neurotransmitter systems", Trends Neurosci 36: 543-554.

Brodsky M. A., Park B. S. et Nutt J. G. (2010) "Effects of a dopamine agonist on the pharmacodynamics of levodopa in Parkinson disease", Arch Neurol 67: 27-32.

Brooks D. J., Piccini P., Turjanski N. et Samuel M. (2000) "Neuroimaging of dyskinesia", Ann Neurol 47: S154-158; discussion S158-159.

Brotchie J. M. (2005) "Nondopaminergic mechanisms in levodopa-induced dyskinesia", Mov Disord 20: 919-931.

Brown L. M., Rogers K. E., McCammon J. A. et Insel P. A. (2014) "Identification and validation of modulators of exchange protein activated by cAMP (Epac) activity: structure-function implications for Epac activation and inhibition", J Biol Chem 289: 8217-8230.

Bureau G., Carrier M., Lebel M. et Cyr M. (2010) "Intrastriatal inhibition of extracellular signal-regulated kinases impaired the consolidation phase of motor skill learning", Neurobiol Learn Mem 94: 107-115.

Cabello N., Gandia J., Bertarelli D. C., Watanabe M., Lluis C., Franco R., Ferre S., Lujan R. et Ciruela F. (2009) "Metabotropic glutamate type 5, dopamine D2 and adenosine A2a receptors form higher-order oligomers in living cells", J Neurochem 109: 1497-1507.

Cai G., Wang H. Y. et Friedman E. (2002) "Increased dopamine receptor signaling and dopamine receptor-G protein coupling in denervated striatum", J Pharmacol Exp Ther 302: 1105-1112.

Calabresi P., Di Filippo M., Ghiglieri V., Tambasco N. et Picconi B. (2010) "Levodopa-induced dyskinesias in patients with Parkinson's disease: filling the bench-to-bedside gap", Lancet Neurol 9: 1106-1117.

Calabresi P., Gubellini P., Centonze D., Picconi B., Bernardi G., Chergui K., Svenningsson P., Fienberg A. A. et Greengard P. (2000) "Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein 32 kDa controls both striatal long-term depression and long-term potentiation, opposing forms of synaptic plasticity", J Neurosci 20: 8443-8451.

Calabresi P., Maj R., Pisani A., Mercuri N. B. et Bernardi G. (1992) "Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization", J Neurosci 12: 4224-4233.

Calabresi P., Picconi B., Tozzi A. et Di Filippo M. (2007) "Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity", Trends Neurosci 30: 211-219.

Calabresi P., Saiardi A., Pisani A., Baik J. H., Centonze D., Mercuri N. B., Bernardi G. et Borrelli E. (1997) "Abnormal synaptic plasticity in the striatum of mice lacking dopamine D2 receptors", J Neurosci 17: 4536-4544.

Calon F., Morissette M., Ghribi O., Goulet M., Grondin R., Blanchet P. J., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2002) "Alteration of glutamate receptors in the striatum of dyskinetic 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated monkeys following dopamine agonist treatment", Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 26: 127-138.

Calon F., Rajput A. H., Hornykiewicz O., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2003) "Levodopa-induced motor complications are associated with alterations of glutamate receptors in Parkinson's disease", Neurobiol Dis 14: 404-416.

Canals M., Marcellino D., Fanelli F., Ciruela F., de Benedetti P., Goldberg S. R., Neve K., Fuxe K., Agnati L. F., Woods A. S., *et coll.* (2003) "Adenosine A2A-dopamine D2 receptor-receptor heteromerization: qualitative and quantitative assessment by fluorescence and bioluminescence energy transfer", J Biol Chem 278: 46741-46749.

Carbon M. et Eidelberg D. (2006) "Functional imaging of sequence learning in Parkinson's disease", J Neurol Sci 248: 72-77.

Carbon M., Reetz K., Ghilardi M. F., Dhawan V. et Eidelberg D. (2010) "Early Parkinson's disease: longitudinal changes in brain activity during sequence learning", Neurobiol Dis 37: 455-460.

Carlsson A. (1959) "The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system", Pharmacol Rev 11: 490-493.

Carlsson A. (2001) "A half-century of neurotransmitter research: impact on neurology and psychiatry. Nobel lecture", Biosci Rep 21: 691-710.

Carlsson A., Lindqvist M. et Magnusson T. (1957) "3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists", Nature 180: 1200.

Carlsson T., Winkler C., Burger C., Muzyczka N., Mandel R. J., Cenci A., Bjorklund A. et Kirik D. (2005) "Reversal of dyskinesias in an animal model of Parkinson's disease by continuous L-DOPA delivery using rAAV vectors", Brain 128: 559-569.

Carta A. R., Frau L., Pinna A., Pontis S., Simola N., Schintu N. et Morelli M. (2008) "Behavioral and biochemical correlates of the dyskinetic potential of dopaminergic agonists in the 6-OHDA lesioned rat", Synapse 62: 524-533.

Carta M. et Bezard E. (2011) "Contribution of pre-synaptic mechanisms to L-DOPA-induced dyskinesia", Neuroscience 198: 245-251.

Carta M., Carlsson T., Kirik D. et Bjorklund A. (2007) "Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats", Brain 130: 1819-1833.

Carta M. et Tronci E. (2014) "Serotonin System Implication in l-DOPA-Induced Dyskinesia: From Animal Models to Clinical Investigations", Front Neurol 5: 78.

Cenci M. A. (2002) "Transcription factors involved in the pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease", Amino Acids 23: 105-109.

Cenci M. A. (2007) "Dopamine dysregulation of movement control in L-DOPA-induced dyskinesia", Trends Neurosci 30: 236-243.

Cenci M. A. et Konradi C. (2010) "Maladaptive striatal plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia", Prog Brain Res 183: 209-233.

Cenci M. A., Lee C. S. et Bjorklund A. (1998) "L-DOPA-induced dyskinesia in the rat is associated with striatal overexpression of prodynorphin- and glutamic acid decarboxylase mRNA", Eur J Neurosci 10: 2694-2706.

Cenci M. A. et Lundblad M. (2006) "Post- versus presynaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia", J Neurochem 99: 381-392.

Cenci M. A. et Ohlin K. E. (2009) "Rodent models of treatment-induced motor complications in Parkinson's disease", Parkinsonism Relat Disord 15 Suppl 4: S13-17.

Cenci M. A., Whishaw I. Q. et Schallert T. (2002) "Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat?", Nat Rev Neurosci 3: 574-579.

Centonze D., Grande C., Saulle E., Martin A. B., Gubellini P., Pavon N., Pisani A., Bernardi G., Moratalla R. et Calabresi P. (2003) "Distinct roles of D1 and D5 dopamine receptors in motor activity and striatal synaptic plasticity", J Neurosci 23: 8506-8512.

Centonze D., Gubellini P., Picconi B., Calabresi P., Giacomini P. et Bernardi G. (1999) "Unilateral dopamine denervation blocks corticostriatal LTP", J Neurophysiol 82: 3575-3579.

Cepeda C., Buchwald N. A. et Levine M. S. (1993) "Neuromodulatory actions of dopamine in the neostriatum are dependent upon the excitatory amino acid receptor subtypes activated", Proc Natl Acad Sci U S A 90: 9576-9580.

Cepeda C. et Levine M. S. (2006) "Where do you think you are going? The NMDA-D1 receptor trap", Sci STKE 2006: pe20.

Cerovic M., Bagetta V., Pendolino V., Ghiglieri V., Fasano S., Morella I., Hardingham N., Heuer A., Papale A., Marchisella F., *et coll.* (2015) "Derangement of Ras-Guanine Nucleotide-Releasing Factor 1 (Ras-GRF1) and Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) Dependent Striatal Plasticity in L-DOPA-Induced Dyskinesia", Biol Psychiatry 77: 106-115.

Chen J. J. et Swope D. M. (2007) "Pharmacotherapy for Parkinson's disease", Pharmacotherapy 27: 161S-173S.

Choe E. S., Shin E. H. et Wang J. Q. (2006) "Regulation of phosphorylation of NMDA receptor NR1 subunits in the rat neostriatum by group I metabotropic glutamate receptors in vivo", Neurosci Lett 394: 246-251.

Choe E. S. et Wang J. Q. (2001) "Group I metabotropic glutamate receptors control phosphorylation of CREB, Elk-1 and ERK via a CaMKII-dependent pathway in rat striatum", Neurosci Lett 313: 129-132.

Choi W. Y., Balsam P. D. et Horvitz J. C. (2005) "Extended habit training reduces dopamine mediation of appetitive response expression", J Neurosci 25: 6729-6733.

Christensen A. E., Selheim F., de Rooij J., Dremier S., Schwede F., Dao K. K., Martinez A., Maenhaut C., Bos J. L., Genieser H. G., *et coll.* (2003) "cAMP analog mapping of Epac1 and cAMP kinase. Discriminating analogs demonstrate that Epac and cAMP kinase act synergistically to promote PC-12 cell neurite extension", J Biol Chem 278: 35394-35402.

Chritin M., Savasta M., Mennicken F., Bal A., Abrous D. N., Le Moal M., Feuerstein C. et Herman J. P. (1992) "Intrastriatal Dopamine-rich Implants Reverse the Increase of Dopamine D2 Receptor mRNA Levels Caused by Lesion of the Nigrostriatal Pathway: A Quantitative In Situ Hybridization Study", Eur J Neurosci 4: 663-672.

Ciruela F., Burgueno J., Casado V., Canals M., Marcellino D., Goldberg S. R., Bader M., Fuxe K., Agnati L. F., Lluis C., *et coll.* (2004) "Combining mass spectrometry and pull-down techniques for the study of receptor heteromerization. Direct epitope-epitope electrostatic interactions between adenosine A2A and dopamine D2 receptors", Anal Chem 76: 5354-5363.

Claing A., Laporte S. A., Caron M. G. et Lefkowitz R. J. (2002) "Endocytosis of G protein-coupled receptors: roles of G protein-coupled receptor kinases and beta-arrestin proteins", Prog Neurobiol 66: 61-79.

Colwell C. S. et Levine M. S. (1995) "Excitatory synaptic transmission in neostriatal neurons: regulation by cyclic AMP-dependent mechanisms", J Neurosci 15: 1704-1713.

Conn P. J., Battaglia G., Marino M. J. et Nicoletti F. (2005) "Metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit", Nat Rev Neurosci 6: 787-798.

Conn P. J. et Pin J. P. (1997) "Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors", Annu Rev Pharmacol Toxicol 37: 205-237.

Corvol J. C., Muriel M. P., Valjent E., Feger J., Hanoun N., Girault J. A., Hirsch E. C. et Herve D. (2004) "Persistent increase in olfactory type G-protein alpha subunit levels may underlie D1 receptor functional hypersensitivity in Parkinson disease", J Neurosci 24: 7007-7014.

Cossette M., Lecomte F. et Parent A. (2005a) "Morphology and distribution of dopaminergic neurons intrinsic to the human striatum", J Chem Neuroanat 29: 1-11.

Cossette M., Levesque D. et Parent A. (2005b) "Neurochemical characterization of dopaminergic neurons in human striatum", Parkinsonism Relat Disord 11: 277-286.

Cossette M., Parent A. et Levesque D. (2004) "Tyrosine hydroxylase-positive neurons intrinsic to the human striatum express the transcription factor Nurr1", Eur J Neurosci 20: 2089-2095.

Cotzias G. C., Van Woert M. H. et Schiffer L. M. (1967) "Aromatic amino acids and modification of parkinsonism", N Engl J Med 276: 374-379.

Cowan C. M., Fan M. M., Fan J., Shehadeh J., Zhang L. Y., Graham R. K., Hayden M. R. et Raymond L. A. (2008) "Polyglutamine-modulated striatal calpain activity in YAC transgenic huntington disease mouse model: impact on NMDA receptor function and toxicity", J Neurosci 28: 12725-12735.

Creese I. et Snyder S. H. (1979) "Nigrostriatal lesions enhance striatal 3H-apomorphine and 3H-spiroperidol binding", Eur J Pharmacol 56: 277-281.

Crocker S. J., Smith P. D., Jackson-Lewis V., Lamba W. R., Hayley S. P., Grimm E., Callaghan S. M., Slack R. S., Melloni E., Przedborski S., *et coll.* (2003) "Inhibition of calpains prevents neuronal and behavioral deficits in an MPTP mouse model of Parkinson's disease", J Neurosci 23: 4081-4091.

Rapport-Gratuit.com

Cruz J. C. et Tsai L. H. (2004) "A Jekyll and Hyde kinase: roles for Cdk5 in brain development and disease", Curr Opin Neurobiol 14: 390-394.

Cyr M., Beaulieu J. M., Laakso A., Sotnikova T. D., Yao W. D., Bohn L. M., Gainetdinov R. R. et Caron M. G. (2003) "Sustained elevation of extracellular dopamine causes motor dysfunction and selective degeneration of striatal GABAergic neurons", Proc Natl Acad Sci U S A 100: 11035-11040.

D'Amours G., Bureau G., Boily M. J. et Cyr M. (2011) "Differential gene expression profiling in the mouse brain during motor skill learning: focus on the striatum structure", Behav Brain Res 221: 108-117.

Dagher A. et Nagano-Saito A. (2007) "Functional and anatomical magnetic resonance imaging in Parkinson's disease", Mol Imaging Biol 9: 234-242.

Darmopil S., Martin A. B., De Diego I. R., Ares S. et Moratalla R. (2009) "Genetic inactivation of dopamine D1 but not D2 receptors inhibits L-DOPA-induced dyskinesia and histone activation", Biol Psychiatry 66: 603-613.

Darmopil S., Muneton-Gomez V. C., de Ceballos M. L., Bernson M. et Moratalla R. (2008) "Tyrosine hydroxylase cells appearing in the mouse striatum after dopamine denervation are likely to be projection neurones regulated by L-DOPA", Eur J Neurosci 27: 580-592.

Das S., Grunert M., Williams L. et Vincent S. R. (1997) "NMDA and D1 receptors regulate the phosphorylation of CREB and the induction of c-fos in striatal neurons in primary culture", Synapse 25: 227-233.

Dasgupta S., Ferre S., Kull B., Hedlund P. B., Finnman U. B., Ahlberg S., Arenas E., Fredholm B. B. et Fuxe K. (1996) "Adenosine A2A receptors modulate the binding characteristics of dopamine D2 receptors in stably cotransfected fibroblast cells", Eur J Pharmacol 316: 325-331.

Davis G. C., Williams A. C., Markey S. P., Ebert M. H., Caine E. D., Reichert C. M. et Kopin I. J. (1979) "Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues", Psychiatry Res 1: 249-254.

de la Fuente-Fernandez R., Sossi V., Huang Z., Furtado S., Lu J. Q., Calne D. B., Ruth T. J. et Stoessl A. J. (2004) "Levodopa-induced changes in synaptic dopamine levels increase with progression of Parkinson's disease: implications for dyskinesias", Brain 127: 2747-2754.

de Lau L. M. et Breteler M. M. (2006) "Epidemiology of Parkinson's disease", Lancet Neurol 5: 525-535.

Dekundy A., Pietraszek M., Schaefer D., Cenci M. A. et Danysz W. (2006) "Effects of group I metabotropic glutamate receptors blockade in experimental models of Parkinson's disease", Brain Res Bull 69: 318-326.

Del Rio P., Montiel T. et Massieu L. (2008) "Contribution of NMDA and non-NMDA receptors to in vivo glutamate-induced calpain activation in the rat striatum. Relation to neuronal damage", Neurochem Res 33: 1475-1483.

Delfino M. A., Stefano A. V., Ferrario J. E., Taravini I. R., Murer M. G. et Gershanik O. S. (2004) "Behavioral sensitization to different dopamine agonists in a parkinsonian rodent model of drug-induced dyskinesias", Behav Brain Res 152: 297-306.

Deroost N., Kerckhofs E., Coene M., Wijnants G. et Soetens E. (2006) "Learning sequence movements in a homogenous sample of patients with Parkinson's disease", Neuropsychologia 44: 1653-1662.

Deumens R., Blokland A. et Prickaerts J. (2002) "Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway", Exp Neurol 175: 303-317.

Di Filippo M., Picconi B., Tozzi A., Ghiglieri V., Rossi A. et Calabresi P. (2008) "The endocannabinoid system in Parkinson's disease", Curr Pharm Des 14: 2337-2347.

Ding J., Peterson J. D. et Surmeier D. J. (2008) "Corticostriatal and thalamostriatal synapses have distinctive properties", J Neurosci 28: 6483-6492.

Dingledine R., Borges K., Bowie D. et Traynelis S. F. (1999) "The glutamate receptor ion channels", Pharmacol Rev 51: 7-61.

Doherty G. J. et McMahon H. T. (2009) "Mechanisms of endocytosis", Annu Rev Biochem 78: 857-902.

Dostmann W. R. (1995) "(RP)-cAMPS inhibits the cAMP-dependent protein kinase by blocking the cAMP-induced conformational transition", FEBS Lett 375: 231-234.

Doyon J. (2008) "Motor sequence learning and movement disorders", Curr Opin Neurol 21: 478-483.

Doyon J., Bellec P., Amsel R., Penhune V., Monchi O., Carrier J., Lehericy S. et Benali H. (2009) "Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning", Behav Brain Res 199: 61-75.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Doyon J., Gaudreau D., Laforce R., Jr., Castonguay M., Bedard P. J., Bedard F. et Bouchard J. P. (1997) "Role of the striatum, cerebellum, and frontal lobes in the learning of a visuomotor sequence", Brain Cogn 34: 218-245.

Doyon J., Laforce R., Jr., Bouchard G., Gaudreau D., Roy J., Poirier M., Bedard P. J., Bedard F. et Bouchard J. P. (1998) "Role of the striatum, cerebellum and frontal lobes in the automatization of a repeated visuomotor sequence of movements", Neuropsychologia 36: 625-641.

Doyon J., Orban P., Barakat M., Debas K., Lungu O., Albouy G., Fogel S., Proulx S., Laventure S., Deslauriers J., *et coll.* (2011) "[Functional brain plasticity associated with motor learning]", Med Sci (Paris) 27: 413-420.

Dubach M., Schmidt R., Kunkel D., Bowden D. M., Martin R. et German D. C. (1987) "Primate neostriatal neurons containing tyrosine hydroxylase: immunohistochemical evidence", Neurosci Lett 75: 205-210.

Dunah A. W., Wang Y., Yasuda R. P., Kameyama K., Huganir R. L., Wolfe B. B. et Standaert D. G. (2000) "Alterations in subunit expression, composition, and phosphorylation of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in a rat 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease", Mol Pharmacol 57: 342-352.

Durieux P. F., Schiffmann S. N. et de Kerchove d'Exaerde A. (2012) "Differential regulation of motor control and response to dopaminergic drugs by D1R and D2R neurons in distinct dorsal striatum subregions", EMBO J 31: 640-653.

Eckart M. T., Huelse-Matia M. C., McDonald R. S. et Schwarting R. K. (2010) "6-hydroxydopamine lesions in the rat neostriatum impair sequential learning in a serial reaction time task", Neurotox Res 17: 287-298.

Ehringer H. et Hornykiewicz O. (1960) "[Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]", Klin Wochenschr 38: 1236-1239.

Fahn S. (2003) "Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome", Ann N Y Acad Sci 991: 1-14.

Fahn S. (2008) "The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease", Mov Disord 23 Suppl 3: S497-508.

Falardeau P., Bouchard S., Bedard P. J., Boucher R. et Di Paolo T. (1988) "Behavioral and biochemical effect of chronic treatment with D-1 and/or D-2 dopamine agonists in MPTP monkeys", Eur J Pharmacol 150: 59-66.

Fan D. S., Ogawa M., Fujimoto K. I., Ikeguchi K., Ogasawara Y., Urabe M., Nishizawa M., Nakano I., Yoshida M., Nagatsu I., *et coll.* (1998) "Behavioral recovery in 6-hydroxydopamine-lesioned rats by cotransduction of striatum with tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase genes using two separate adeno-associated virus vectors", Hum Gene Ther 9: 2527-2535.

Fasano S., Bezard E., D'Antoni A., Francardo V., Indrigo M., Qin L., Dovero S., Cerovic M., Cenci M. A. et Brambilla R. (2010) "Inhibition of Ras-guanine nucleotide-releasing factor 1 (Ras-GRF1) signaling in the striatum reverts motor symptoms associated with L-dopa-induced dyskinesia", Proc Natl Acad Sci U S A 107: 21824-21829.

Fasano S., D'Antoni A., Orban P. C., Valjent E., Putignano E., Vara H., Pizzorusso T., Giustetto M., Yoon B., Soloway P., *et coll.* (2009) "Ras-guanine nucleotide-releasing factor 1 (Ras-GRF1) controls activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) signaling in the striatum and long-term behavioral responses to cocaine", Biol Psychiatry 66: 758-768.

Fenu S., Cauli O. et Morelli M. (2000) "Cross-sensitization between the motor activating effects of bromocriptine and caffeine: role of adenosine A(2A) receptors", Behav Brain Res 114: 97-105.

Ferraro L., Beggiato S., Tomasini M. C., Fuxe K., Antonelli T. et Tanganelli S. (2012) "A(2A)/D(2) receptor heteromerization in a model of Parkinson's disease. Focus on striatal aminoacidergic signaling", Brain Res 1476: 96-107.

Ferre S., Fredholm B. B., Morelli M., Popoli P. et Fuxe K. (1997) "Adenosine-dopamine receptor-receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia", Trends Neurosci 20: 482-487.

Ferre S., Karcz-Kubicha M., Hope B. T., Popoli P., Burgueno J., Gutierrez M. A., Casado V., Fuxe K., Goldberg S. R., Lluis C., *et coll.* (2002) "Synergistic interaction between adenosine A2A and glutamate mGlu5 receptors: implications for striatal neuronal function", Proc Natl Acad Sci U S A 99: 11940-11945.

Ferre S., von Euler G., Johansson B., Fredholm B. B. et Fuxe K. (1991) "Stimulation of high-affinity adenosine A2 receptors decreases the affinity of dopamine D2 receptors in rat striatal membranes", Proc Natl Acad Sci U S A 88: 7238-7241.

Fink J. S., Weaver D. R., Rivkees S. A., Peterfreund R. A., Pollack A. E., Adler E. M. et Reppert S. M. (1992) "Molecular cloning of the rat A2 adenosine receptor: selective co-expression with D2 dopamine receptors in rat striatum", Brain Res Mol Brain Res 14: 186-195.

Finkelstein D. I., Stanic D., Parish C. L., Tomas D., Dickson K. et Horne M. K. (2000) "Axonal sprouting following lesions of the rat substantia nigra", Neuroscience 97: 99-112.

Fiorentini C., Rizzetti M. C., Busi C., Bontempi S., Collo G., Spano P. et Missale C. (2006) "Loss of synaptic D1 dopamine/N-methyl-D-aspartate glutamate receptor complexes in L-DOPA-induced dyskinesia in the rat", Mol Pharmacol 69: 805-812.

Fischer A., Sananbenesi F., Pang P. T., Lu B. et Tsai L. H. (2005) "Opposing roles of transient and prolonged expression of p25 in synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory", Neuron 48: 825-838.

Fitzpatrick C. J. et Lombroso P. J. (2011) "The Role of Striatal-Enriched Protein Tyrosine Phosphatase (STEP) in Cognition", Front Neuroanat 5: 47.

Flores-Hernandez J., Galarraga E. et Bargas J. (1997) "Dopamine selects glutamatergic inputs to neostriatal neurons", Synapse 25: 185-195.

Flores-Hernandez J., Hernandez S., Snyder G. L., Yan Z., Fienberg A. A., Moss S. J., Greengard P. et 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.

Fornai F., di Poggio A. B., Pellegrini A., Ruggieri S. et Paparelli A. (2007) "Noradrenaline in Parkinson's disease: from disease progression to current therapeutics", Curr Med Chem 14: 2330-2334.

Fredholm B. B., Arslan G., Halldner L., Kull B., Schulte G. et Wasserman W. (2000) "Structure and function of adenosine receptors and their genes", Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 362: 364-374.

Fuxe K., Ferre S., Genedani S., Franco R. et Agnati L. F. (2007) "Adenosine receptor-dopamine receptor interactions in the basal ganglia and their relevance for brain function", Physiol Behav 92: 210-217.

Fuxe K., Guidolin D., Agnati L. F. et Borroto-Escuela D. O. (2015) "Dopamine heteroreceptor complexes as therapeutic targets in Parkinson's disease", Expert Opin Ther Targets 19: 377-398.

Fuxe K., Marcellino D., Borroto-Escuela D. O., Guescini M., Fernandez-Duenas V., Tanganelli S., Rivera A., Ciruela F. et Agnati L. F. (2010) "Adenosine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders", CNS Neurosci Ther 16: e18-42.

Gagnon C., Bedard P. J. et Di Paolo T. (1990) "Effect of chronic treatment of MPTP monkeys with dopamine D-1 and/or D-2 receptor agonists", Eur J Pharmacol 178: 115-120.

Gambhir H., Mathur R. et Behari M. (2011) "Progressive impairment in motor skill learning at 12 and 20 weeks post 6-OHDA- SNc lesion in rats", Parkinsonism Relat Disord 17: 476-478.

Gamble K. R., Cummings T. J., Jr., Lo S. E., Ghosh P. T., Howard J. H., Jr. et Howard D. V. (2014) "Implicit sequence learning in people with Parkinson's disease", Front Hum Neurosci 8: 563.

Gao T., Yatani A., Dell'Acqua M. L., Sako H., Green S. A., Dascal N., Scott J. D. et Hosey M. M. (1997) "cAMP-dependent regulation of cardiac L-type Ca2+ channels requires membrane targeting of PKA and phosphorylation of channel subunits", Neuron 19: 185-196.

Gardoni F., Picconi B., Ghiglieri V., Polli F., Bagetta V., Bernardi G., Cattabeni F., Di Luca M. et Calabresi P. (2006) "A critical interaction between NR2B and MAGUK in L-DOPA induced dyskinesia", J Neurosci 26: 2914-2922.

Gardoni F., Sgobio C., Pendolino V., Calabresi P., Di Luca M. et Picconi B. (2012) "Targeting NR2A-containing NMDA receptors reduces L-DOPA-induced dyskinesias", Neurobiol Aging 33: 2138-2144.

Gasser T. (2005) "Genetics of Parkinson's disease", Curr Opin Neurol 18: 363-369.

Gerdeman G. et Lovinger D. M. (2001) "CB1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum", J Neurophysiol 85: 468-471.

Gerdeman G. L., Ronesi J. et Lovinger D. M. (2002) "Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum", Nat Neurosci 5: 446-451.

Gerfen C. R., Engber T. M., Mahan L. C., Susel Z., Chase T. N., Monsma F. J., Jr. et Sibley D. R. (1990) "D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons", Science 250: 1429-1432.

Giuffrida A., Parsons L. H., Kerr T. M., Rodriguez de Fonseca F., Navarro M. et Piomelli D. (1999) "Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum", Nat Neurosci 2: 358-363.

Gladding C. M., Sepers M. D., Xu J., Zhang L. Y., Milnerwood A. J., Lombroso P. J. et Raymond L. A. (2012) "Calpain and STriatal-Enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) activation contribute to extrasynaptic NMDA receptor localization in a Huntington's disease mouse model", Hum Mol Genet 21: 3739-3752.

Glasgow N. G., Siegler Retchless B. et Johnson J. W. (2014) "Molecular bases of NMDA receptor subtype-dependent properties", J Physiol

Goebel-Goody S. M., Baum M., Paspalas C. D., Fernandez S. M., Carty N. C., Kurup P. et Lombroso P. J. (2012) "Therapeutic implications for striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) in neuropsychiatric disorders", Pharmacol Rev 64: 65-87.

Goetz C. G. (2011) "The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies", Cold Spring Harb Perspect Med 1: a008862.

Goetz C. G., Damier P., Hicking C., Laska E., Muller T., Olanow C. W., Rascol O. et Russ H. (2007) "Sarizotan as a treatment for dyskinesias in Parkinson's disease: a double-blind placebo-controlled trial", Mov Disord 22: 179-186.

Gold S. J., Hoang C. V., Potts B. W., Porras G., Pioli E., Kim K. W., Nadjar A., Qin C., LaHoste G. J., Li Q., *et coll.* (2007) "RGS9-2 negatively modulates L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia in experimental Parkinson's disease", J Neurosci 27: 14338-14348.

Goll D. E., Thompson V. F., Li H., Wei W. et Cong J. (2003) "The calpain system", Physiol Rev 83: 731-801.

Gomez-Mancilla B. et Bedard P. J. (1991) "Effect of D1 and D2 agonists and antagonists on dyskinesia produced by L-dopa in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated monkeys", J Pharmacol Exp Ther 259: 409-413.

Gong S., Zheng C., Doughty M. L., Losos K., Didkovsky N., Schambra U. B., Nowak N. J., Joyner A., Leblanc G., Hatten M. E., *et coll.* (2003) "A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes", Nature 425: 917-925.

Gonzalez G. A. et Montminy M. R. (1989) "Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133", Cell 59: 675-680.

Goto Y., Otani S. et Grace A. A. (2007) "The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective", Neuropharmacology 53: 583-587.

Goulet M., Grondin R., Morissette M., Maltais S., Falardeau P., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2000) "Regulation by chronic treatment with cabergoline of dopamine D1 and D2 receptor levels and their expression in the striatum of Parkinsonian-monkeys", Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 24: 607-617.

Grace A. A. (1995) "The tonic/phasic model of dopamine system regulation: its relevance for understanding how stimulant abuse can alter basal ganglia function", Drug Alcohol Depend 37: 111-129.

Graham M. E., Anggono V., Bache N., Larsen M. R., Craft G. E. et Robinson P. J. (2007) "The in vivo phosphorylation sites of rat brain dynamin I", J Biol Chem 282: 14695-14707.

Grant R. J., Sellings L. H., Crocker S. J., Melloni E., Park D. S. et Clarke P. B. (2009) "Effects of calpain inhibition on dopaminergic markers and motor function following intrastriatal 6-hydroxydopamine administration in rats", Neuroscience 158: 558-569.

Gray H. (1918) "Gray's Anatomy of the Human Body" (20e éd.). New York: bartleby.com, 2000.

Greengard P. (2001) "The neurobiology of dopamine signaling", Biosci Rep 21: 247-269.

Greengard P., Allen P. B. et Nairn A. C. (1999) "Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade", Neuron 23: 435-447.

Greif G. J., Lin Y. J., Liu J. C. et Freedman J. E. (1995) "Dopamine-modulated potassium channels on rat striatal neurons: specific activation and cellular expression", J Neurosci 15: 4533-4544.

Grewal S. S., Fass D. M., Yao H., Ellig C. L., Goodman R. H. et Stork P. J. (2000) "Calcium and cAMP signals differentially regulate cAMP-responsive element-binding protein function via a Rap1-extracellular signal-regulated kinase pathway", J Biol Chem 275: 34433-34441.

Guigoni C., Aubert I., Li Q., Gurevich V. V., Benovic J. L., Ferry S., Mach U., Stark H., Leriche L., Hakansson K., *et coll.* (2005) "Pathogenesis of levodopa-induced dyskinesia: focus on D1 and D3 dopamine receptors", Parkinsonism Relat Disord 11 Suppl 1: S25-29.

Guigoni C., Doudnikoff E., Li Q., Bloch B. et Bezard E. (2007) "Altered D(1) dopamine receptor trafficking in parkinsonian and dyskinetic non-human primates", Neurobiol Dis 26: 452-463.

Hadj Tahar A., Ekesbo A., Gregoire L., Bangassoro E., Svensson K. A., Tedroff J. et Bedard P. J. (2001) "Effects of acute and repeated treatment with a novel dopamine D2 receptor ligand on L-DOPA-induced dyskinesias in MPTP monkeys", Eur J Pharmacol 412: 247-254.

Hadj Tahar A., Gregoire L., Bangassoro E. et Bedard P. J. (2000) "Sustained cabergoline treatment reverses levodopa-induced dyskinesias in parkinsonian monkeys", Clin Neuropharmacol 23: 195-202.

Hadj Tahar A., Gregoire L., Darre A., Belanger N., Meltzer L. et Bedard P. J. (2004) "Effect of a selective glutamate antagonist on L-dopa-induced dyskinesias in drug-naive parkinsonian monkeys", Neurobiol Dis 15: 171-176.

Hallett P. J., Dunah A. W., Ravenscroft P., Zhou S., Bezard E., Crossman A. R., Brotchie J. M. et Standaert D. G. (2005) "Alterations of striatal NMDA receptor subunits associated with the development of dyskinesia in the MPTP-lesioned primate model of Parkinson's disease", Neuropharmacology 48: 503-516.

Hallett P. J., Spoelgen R., Hyman B. T., Standaert D. G. et Dunah A. W. (2006) "Dopamine D1 activation potentiates striatal NMDA receptors by tyrosine phosphorylation-dependent subunit trafficking", J Neurosci 26: 4690-4700.

Harrington D. L., Haaland K. Y., Yeo R. A. et Marder E. (1990) "Procedural memory in Parkinson's disease: impaired motor but not visuoperceptual learning", J Clin Exp Neuropsychol 12: 323-339.

Hawasli A. H., Benavides D. R., Nguyen C., Kansy J. W., Hayashi K., Chambon P., Greengard P., Powell C. M., Cooper D. C. et Bibb J. A. (2007) "Cyclin-dependent kinase 5 governs learning and synaptic plasticity via control of NMDAR degradation", Nat Neurosci 10: 880-886.

Hawasli A. H. et Bibb J. A. (2007) "Alternative roles for Cdk5 in learning and synaptic plasticity", Biotechnol J 2: 941-948.

Hefti F., Melamed E. et Wurtman R. J. (1980) "Partial lesions of the dopaminergic nigrostriatal system in rat brain: biochemical characterization", Brain Res 195: 123-137.

Hemmings H. C., Jr., Greengard P., Tung H. Y. et Cohen P. (1984) "DARPP-32, a dopamine-regulated neuronal phosphoprotein, is a potent inhibitor of protein phosphatase-1", Nature 310: 503-505.

Hernandez-Echeagaray E., Starling A. J., Cepeda C. et 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. et 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. et Surmeier D. J. (2000) "D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca2+ currents and excitability via a novel PLC[beta]1-IP3-calcineurin-signaling cascade", J Neurosci 20: 8987-8995.

Herrero M. T., Augood S. J., Asensi H., Hirsch E. C., Agid Y., Obeso J. A. et Emson P. C. (1996) "Effects of L-DOPA-therapy on dopamine D2 receptor mRNA expression in the striatum of MPTP-intoxicated parkinsonian monkeys", Brain Res Mol Brain Res 42: 149-155.

Higley M. J. et Sabatini B. L. (2010) "Competitive regulation of synaptic Ca2+ influx by D2 dopamine and A2A adenosine receptors", Nat Neurosci 13: 958-966.

Hillion J., Canals M., Torvinen M., Casado V., Scott R., Terasmaa A., Hansson A., Watson S., Olah M. E., Mallol J., *et coll.* (2002) "Coaggregation, cointernalization, and codesensitization of adenosine A2A receptors and dopamine D2 receptors", J Biol Chem 277: 18091-18097.

Ho A. et Blum M. (1998) "Induction of interleukin-1 associated with compensatory dopaminergic sprouting in the denervated striatum of young mice: model of aging and neurodegenerative disease", J Neurosci 18: 5614-5629.

Hornykiewicz O. (2010) "A brief history of levodopa", J Neurol 257: S249-252.

Horowitz M. P. et Greenamyre J. T. (2010) "Gene-environment interactions in Parkinson's disease: the importance of animal modeling", Clin Pharmacol Ther 88: 467-474.

Hosp J. A., Pekanovic A., Rioult-Pedotti M. S. et Luft A. R. (2011) "Dopaminergic projections from midbrain to primary motor cortex mediate motor skill learning", J Neurosci 31: 2481-2487.

Hsu K. S., Huang C. C., Yang C. H. et Gean P. W. (1995) "Presynaptic D2 dopaminergic receptors mediate inhibition of excitatory synaptic transmission in rat neostriatum", Brain Res 690: 264-268.

Rapport-Gratuit.com

Humphries M. D. et Prescott T. J. (2010) "The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward", Prog Neurobiol 90: 385-417.

Huot P., Johnston T. H., Koprich J. B., Fox S. H. et Brotchie J. M. (2013) "The pharmacology of L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease", Pharmacol Rev 65: 171-222.

Hurley M. J., Jackson M. J., Smith L. A., Rose S. et Jenner P. (2005) "Immunoautoradiographic analysis of NMDA receptor subunits and associated postsynaptic density proteins in the brain of dyskinetic MPTP-treated common marmosets", Eur J Neurosci 21: 3240-3250.

Hurley M. J. et Jenner P. (2006) "What has been learnt from study of dopamine receptors in Parkinson's disease?", Pharmacol Ther 111: 715-728.

Hurley M. J., Mash D. C. et Jenner P. (2001) "Dopamine D(1) receptor expression in human basal ganglia and changes in Parkinson's disease", Brain Res Mol Brain Res 87: 271-279.

Isiegas C., Park A., Kandel E. R., Abel T. et Lattal K. M. (2006) "Transgenic inhibition of neuronal protein kinase A activity facilitates fear extinction", J Neurosci 26: 12700-12707.

Iwamoto T., Okumura S., Iwatsubo K., Kawabe J., Ohtsu K., Sakai I., Hashimoto Y., Izumitani A., Sango K., Ajiki K., *et coll.* (2003) "Motor dysfunction in type 5 adenylyl cyclase-null mice", J Biol Chem 278: 16936-16940.

Jackson-Lewis V., Jakowec M., Burke R. E. et Przedborski S. (1995) "Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine", Neurodegeneration 4: 257-269.

Jackson-Lewis V. et Przedborski S. (2007) "Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease", Nat Protoc 2: 141-151.

Jackson D. M. et Westlind-Danielsson A. (1994) "Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects", Pharmacol Ther 64: 291-370.

Jakowec M. W., Nixon K., Hogg E., McNeill T. et Petzinger G. M. (2004) "Tyrosine hydroxylase and dopamine transporter expression following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurodegeneration of the mouse nigrostriatal pathway", J Neurosci Res 76: 539-550.

Jakowec M. W. et Petzinger G. M. (2004) "1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned model of parkinson's disease, with emphasis on mice and nonhuman primates", Comp Med 54: 497-513.

Jankovic J. (2002) "Levodopa strengths and weaknesses", Neurology 58: S19-32.

Jankovic J. (2008) "Parkinson's disease: clinical features and diagnosis", J Neurol Neurosurg Psychiatry 79: 368-376.

Jankovic J. et Poewe W. (2012) "Therapies in Parkinson's disease", Curr Opin Neurol 25: 433-447.

Jarraya B., Boulet S., Ralph G. S., Jan C., Bonvento G., Azzouz M., Miskin J. E., Shin M., Delzescaux T., Drouot X., *et coll.* (2009) "Dopamine gene therapy for Parkinson's disease in a nonhuman primate without associated dyskinesia", Sci Transl Med 1: 2ra4.

Jenner P. (2013) "Wearing off, dyskinesia, and the use of continuous drug delivery in Parkinson's disease", Neurol Clin 31: S17-35.

Joel D. et 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.

Johnson J. W. et Ascher P. (1987) "Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons", Nature 325: 529-531.

Jollivet C., Montero-Menei C. N., Venier-Julienne M. C., Sapin A., Benoit J. P. et Menei P. (2004) "Striatal tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons are induced by L-dihydroxyphenylalanine and nerve growth factor treatment in 6-hydroxydopamine lesioned rats", Neurosci Lett 362: 79-82.

Kandel E. R. (2001) "The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses", Science 294: 1030-1038.

Kandel E. R. (2012) "The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB", Mol Brain 5: 14.

Karni A., Meyer G., Rey-Hipolito C., Jezzard P., Adams M. M., Turner R. et Ungerleider L. G. (1998) "The acquisition of skilled motor performance: fast and slow experience-driven changes in primary motor cortex", Proc Natl Acad Sci U S A 95: 861-868.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Kawasaki H., Springett G. M., Mochizuki N., Toki S., Nakaya M., Matsuda M., Housman D. E. et Graybiel A. M. (1998) "A family of cAMP-binding proteins that directly activate Rap1", Science 282: 2275-2279.

Kerr J. N. et Wickens J. R. (2001) "Dopamine D-1/D-5 receptor activation is required for long-term potentiation in the rat neostriatum in vitro", J Neurophysiol 85: 117-124.

Kheirbek M. A., Britt J. P., Beeler J. A., Ishikawa Y., McGehee D. S. et Zhuang X. (2009) "Adenylyl cyclase type 5 contributes to corticostriatal plasticity and striatum-dependent learning", J Neurosci 29: 12115-12124.

Kirik D., Georgievska B., Burger C., Winkler C., Muzyczka N., Mandel R. J. et Bjorklund A. (2002) "Reversal of motor impairments in parkinsonian rats by continuous intrastriatal delivery of L-dopa using rAAV-mediated gene transfer", Proc Natl Acad Sci U S A 99: 4708-4713.

Kirk I. P. et Richardson P. J. (1994) "Adenosine A2a receptor-mediated modulation of striatal [3H]GABA and [3H]acetylcholine release", J Neurochem 62: 960-966.

Kirkpatrick K. A. et Richardson P. J. (1993) "Adenosine receptor-mediated modulation of acetylcholine release from rat striatal synaptosomes", Br J Pharmacol 110: 949-954.

Kitai S. T. et Surmeier D. J. (1993) "Cholinergic and dopaminergic modulation of potassium conductances in neostriatal neurons", Adv Neurol 60: 40-52.

Kleckner N. W. et Dingledine R. (1988) "Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in Xenopus oocytes", Science 241: 835-837.

Kleim J. A., Hogg T. M., VandenBerg P. M., Cooper N. R., Bruneau R. et Remple M. (2004) "Cortical synaptogenesis and motor map reorganization occur during late, but not early, phase of motor skill learning", J Neurosci 24: 628-633.

Ko J., Humbert S., Bronson R. T., Takahashi S., Kulkarni A. B., Li E. et Tsai L. H. (2001) "p35 and p39 are essential for cyclin-dependent kinase 5 function during neurodevelopment", J Neurosci 21: 6758-6771.

Kobylecki C., Cenci M. A., Crossman A. R. et Ravenscroft P. (2010) "Calcium-permeable AMPA receptors are involved in the induction and expression of l-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease", J Neurochem 114: 499-511.

Kolb B., Whishaw, I.Q. (2002) "Cerveau & comportement" (1re éd.). Paris: De Boeck.

Konitsiotis S., Blanchet P. J., Verhagen L., Lamers E. et Chase T. N. (2000) "AMPA receptor blockade improves levodopa-induced dyskinesia in MPTP monkeys", Neurology 54: 1589-1595.

Konradi C., Westin J. E., Carta M., Eaton M. E., Kuter K., Dekundy A., Lundblad M. et Cenci M. A. (2004) "Transcriptome analysis in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia", Neurobiol Dis 17: 219-236.

Kravitz A. V., Freeze B. S., Parker P. R., Kay K., Thwin M. T., Deisseroth K. et Kreitzer A. C. (2010) "Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry", Nature 466: 622-626.

Krebs H. I., Hogan N., Hening W., Adamovich S. V. et Poizner H. (2001) "Procedural motor learning in Parkinson's disease", Exp Brain Res 141: 425-437.

Kreitzer A. C. (2009) "Physiology and pharmacology of striatal neurons", Annu Rev Neurosci 32: 127-147.

Kreitzer A. C. et Malenka R. C. (2005) "Dopamine modulation of state-dependent endocannabinoid release and long-term depression in the striatum", J Neurosci 25: 10537-10545.

Kreitzer A. C. et Malenka R. C. (2008) "Striatal plasticity and basal ganglia circuit function", Neuron 60: 543-554.

Kull B., Ferre S., Arslan G., Svenningsson P., Fuxe K., Owman C. et Fredholm B. B. (1999) "Reciprocal interactions between adenosine A2A and dopamine D2 receptors in Chinese hamster ovary cells co-transfected with the two receptors", Biochem Pharmacol 58: 1035-1045.

Kurokawa M., Kirk I. P., Kirkpatrick K. A., Kase H. et Richardson P. J. (1994) "Inhibition by KF17837 of adenosine A2A receptor-mediated modulation of striatal GABA and ACh release", Br J Pharmacol 113: 43-48.

Kurup P., Zhang Y., Xu J., Venkitaramani D. V., Haroutunian V., Greengard P., Nairn A. C. et Lombroso P. J. (2010) "Abeta-mediated NMDA receptor endocytosis in Alzheimer's disease involves ubiquitination of the tyrosine phosphatase STEP61", J Neurosci 30: 5948-5957.

Kusakawa G., Saito T., Onuki R., Ishiguro K., Kishimoto T. et Hisanaga S. (2000) "Calpain-dependent proteolytic cleavage of the p35 cyclin-dependent kinase 5 activator to p25", J Biol Chem 275: 17166-17172.

Lanciego J. L., Gonzalo N., Castle M., Sanchez-Escobar C., Aymerich M. S. et Obeso J. A. (2004) "Thalamic innervation of striatal and subthalamic neurons projecting to the rat entopeduncular nucleus", Eur J Neurosci 19: 1267-1277.

Landry Y., Gies, J-P. (2009) "Pharmacologie Des cibles vers l'indication thérapeutique" (2e éd.). Paris: Dunod.

Lang A. E. et Lozano A. M. (1998) "Parkinson's disease. First of two parts", N Engl J Med 339: 1044-1053.

Langston J. W., Ballard P., Tetrud J. W. et Irwin I. (1983) "Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis", Science 219: 979-980.

Langston J. W., Forno L. S., Tetrud J., Reeves A. G., Kaplan J. A. et Karluk D. (1999) "Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure", Ann Neurol 46: 598-605.

Le Moine C. et 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.

Lebel M., Chagniel L., Bureau G. et Cyr M. (2010) "Striatal inhibition of PKA prevents levodopa-induced behavioural and molecular changes in the hemiparkinsonian rat", Neurobiol Dis 38: 59-67.

Lebel M. et Cyr M. (2011) "Molecular and cellular events of dopamine D1 receptor-mediated tau phosphorylation in SK-N-MC cells", Synapse 65: 69-76.

Lebel M., Patenaude C., Allyson J., Massicotte G. et Cyr M. (2009) "Dopamine D1 receptor activation induces tau phosphorylation via cdk5 and GSK3 signaling pathways", Neuropharmacology 57: 392-402.

Lee C. S., Samii A., Sossi V., Ruth T. J., Schulzer M., Holden J. E., Wudel J., Pal P. K., de la Fuente-Fernandez R., Calne D. B., *et coll.* (2000a) "In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease", Ann Neurol 47: 493-503.

Lee J., Zhu W. M., Stanic D., Finkelstein D. I., Horne M. H., Henderson J., Lawrence A. J., O'Connor L., Tomas D., Drago J., *et coll.* (2008) "Sprouting of dopamine terminals and altered dopamine release and uptake in Parkinsonian dyskinaesia", Brain 131: 1574-1587.

Lee M. S., Kwon Y. T., Li M., Peng J., Friedlander R. M. et Tsai L. H. (2000b) "Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain", Nature 405: 360-364.

Lehericy S., Benali H., Van de Moortele P. F., Pelegrini-Issac M., Waechter T., Ugurbil K. et Doyon J. (2005) "Distinct basal ganglia territories are engaged in early and advanced motor sequence learning", Proc Natl Acad Sci U S A 102: 12566-12571.

Lemay-Clermont J., Robitaille C., Auberson Y. P., Bureau G. et Cyr M. (2011) "Blockade of NMDA receptors 2A subunit in the dorsal striatum impairs the learning of a complex motor skill", Behav Neurosci 125: 714-723.

Lerma J., Zukin R. S. et Bennett M. V. (1990) "Glycine decreases desensitization of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors expressed in Xenopus oocytes and is required for NMDA responses", Proc Natl Acad Sci U S A 87: 2354-2358.

Lerner T. N., Horne E. A., Stella N. et Kreitzer A. C. (2010) "Endocannabinoid signaling mediates psychomotor activation by adenosine A2A antagonists", J Neurosci 30: 2160-2164.

Lerner T. N. et Kreitzer A. C. (2012) "RGS4 is required for dopaminergic control of striatal LTD and susceptibility to parkinsonian motor deficits", Neuron 73: 347-359.

Levesque M., Bedard M. A., Courtemanche R., Tremblay P. L., Scherzer P. et Blanchet P. J. (2007) "Raclopride-induced motor consolidation impairment in primates: role of the dopamine type-2 receptor in movement chunking into integrated sequences", Exp Brain Res 182: 499-508.

Levitt M., Spector S., Sjoerdsma A. et Udenfriend S. (1965) "Elucidation of the Rate-Limiting Step in Norepinephrine Biosynthesis in the Perfused Guinea-Pig Heart", J Pharmacol Exp Ther 148: 1-8.

Lim S. A., Kang U. J. et McGehee D. S. (2014) "Striatal cholinergic interneuron regulation and circuit effects", Front Synaptic Neurosci 6: 22.

Lindgren H. S., Andersson D. R., Lagerkvist S., Nissbrandt H. et Cenci M. A. (2010) "L-DOPA-induced dopamine efflux in the striatum and the substantia nigra in a rat model of Parkinson's disease: temporal and quantitative relationship to the expression of dyskinesia", J Neurochem 112: 1465-1476.

Lindgren H. S., Rylander D., Iderberg H., Andersson M., O'Sullivan S. S., Williams D. R., Lees A. J. et Cenci M. A. (2011) "Putaminal upregulation of FosB/DeltaFosB-like immunoreactivity in Parkinson's disease patients with dyskinesia", J Parkinsons Dis 1: 347-357.

Liu F., Ma X. H., Ule J., Bibb J. A., Nishi A., DeMaggio A. J., Yan Z., Nairn A. C. et Greengard P. (2001) "Regulation of cyclin-dependent kinase 5 and casein kinase 1 by metabotropic glutamate receptors", Proc Natl Acad Sci U S A 98: 11062-11068.

Liu F., Virshup D. M., Nairn A. C. et Greengard P. (2002) "Mechanism of regulation of casein kinase I activity by group I metabotropic glutamate receptors", J Biol Chem 277: 45393-45399.

Liu X. Y., Chu X. P., Mao L. M., Wang M., Lan H. X., Li M. H., Zhang G. C., Parelkar N. K., Fibuch E. E., Haines M., *et coll.* (2006) "Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine", Neuron 52: 897-909.

Lochner A. et Moolman J. A. (2006) "The many faces of H89: a review", Cardiovasc Drug Rev 24: 261-274.

Lombroso P. J., Murdoch G. et Lerner M. (1991) "Molecular characterization of a protein-tyrosine-phosphatase enriched in striatum", Proc Natl Acad Sci U S A 88: 7242-7246.

Lombroso P. J., Naegele J. R., Sharma E. et Lerner M. (1993) "A protein tyrosine phosphatase expressed within dopaminoceptive neurons of the basal ganglia and related structures", J Neurosci 13: 3064-3074.

Lopez-Real A., Rodriguez-Pallares J., Guerra M. J. et Labandeira-Garcia J. L. (2003) "Localization and functional significance of striatal neurons immunoreactive to aromatic L-amino acid decarboxylase or tyrosine hydroxylase in rat Parkinsonian models", Brain Res 969: 135-146.

Lovinger D. M. et Mathur B. N. (2012) "Endocannabinoids in striatal plasticity", Parkinsonism Relat Disord 18 Suppl 1: S132-134.

Lundblad M., Andersson M., Winkler C., Kirik D., Wierup N. et Cenci M. A. (2002) "Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease", Eur J Neurosci 15: 120-132.

Malinow R. et Malenka R. C. (2002) "AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity", Annu Rev Neurosci 25: 103-126.

Mandhane S. N., Chopde C. T. et Ghosh A. K. (1997) "Adenosine A2 receptors modulate haloperidol-induced catalepsy in rats", Eur J Pharmacol 328: 135-141.

Mao L., Tang Q., Samdani S., Liu Z. et Wang J. Q. (2004) "Regulation of MAPK/ERK phosphorylation via ionotropic glutamate receptors in cultured rat striatal neurons", Eur J Neurosci 19: 1207-1216.

Marinelli L., Crupi D., Di Rocco A., Bove M., Eidelberg D., Abbruzzese G. et Ghilardi M. F. (2009) "Learning and consolidation of visuo-motor adaptation in Parkinson's disease", Parkinsonism Relat Disord 15: 6-11.

Marshall J. F., Navarrete R. et Joyce J. N. (1989) "Decreased striatal D1 binding density following mesotelencephalic 6-hydroxydopamine injections: an autoradiographic analysis", Brain Res 493: 247-257.

Matamales M., Bertran-Gonzalez J., Salomon L., Degos B., Deniau J. M., Valjent E., Herve D. et Girault J. A. (2009) "Striatal medium-sized spiny neurons: identification by nuclear staining and study of neuronal subpopulations in BAC transgenic mice", PLoS One 4: e4770.

Mathur B. N. et Lovinger D. M. (2012) "Serotonergic action on dorsal striatal function", Parkinsonism Relat Disord 18 Suppl 1: S129-131.

Mayer M. L., Westbrook G. L. et Guthrie P. B. (1984) "Voltage-dependent block by Mg2+ of NMDA responses in spinal cord neurones", Nature 309: 261-263.

Mazzella L., Yahr M. D., Marinelli L., Huang N., Moshier E. et Di Rocco A. (2005) "Dyskinesias predict the onset of motor response fluctuations in patients with Parkinson's disease on L-dopa monotherapy", Parkinsonism Relat Disord 11: 151-155.

Meissner W., Ravenscroft P., Reese R., Harnack D., Morgenstern R., Kupsch A., Klitgaard H., Bioulac B., Gross C. E., Bezard E., *et coll.* (2006) "Increased slow oscillatory activity in substantia nigra pars reticulata triggers abnormal involuntary movements in the 6-OHDA-lesioned rat in the presence of excessive extracellular striatal dopamine", Neurobiol Dis 22: 586-598.

Mela F., Marti M., Dekundy A., Danysz W., Morari M. et Cenci M. A. (2007) "Antagonism of metabotropic glutamate receptor type 5 attenuates l-DOPA-induced dyskinesia and its molecular and neurochemical correlates in a rat model of Parkinson's disease", J Neurochem 101: 483-497.

Melamed E., Hefti F. et Wurtman R. J. (1980) "Nonaminergic striatal neurons convert exogenous L-dopa to dopamine in parkinsonism", Ann Neurol 8: 558-563.

Melani A., Corti F., Stephan H., Muller C. E., Donati C., Bruni P., Vannucchi M. G. et Pedata F. (2012) "Ecto-ATPase inhibition: ATP and adenosine release under physiological and ischemic in vivo conditions in the rat striatum", Exp Neurol 233: 193-204.

Mentis M. J., Dhawan V., Feigin A., Delalot D., Zgaljardic D., Edwards C. et Eidelberg D. (2003) "Early stage Parkinson's disease patients and normal volunteers: comparative mechanisms of sequence learning", Hum Brain Mapp 20: 246-258.

Meredith G. E., Farrell T., Kellaghan P., Tan Y., Zahm D. S. et Totterdell S. (1999) "Immunocytochemical characterization of catecholaminergic neurons in the rat striatum following dopamine-depleting lesions", Eur J Neurosci 11: 3585-3596.

Meyer D. A., Richer E., Benkovic S. A., Hayashi K., Kansy J. W., Hale C. F., Moy L. Y., Kim Y., O'Callaghan J. P., Tsai L. H., *et coll.* (2008) "Striatal dysregulation of Cdk5 alters locomotor responses to cocaine, motor learning, and dendritic morphology", Proc Natl Acad Sci U S A 105: 18561-18566.

Meyer M. E., Cottrell G. A., Van Hartesveldt C. et Potter T. J. (1993) "Effects of dopamine D1 antagonists SCH23390 and SK&F83566 on locomotor activities in rats", Pharmacol Biochem Behav 44: 429-432.

Miguelez C., Morera-Herreras T., Torrecilla M., Ruiz-Ortega J. A. et Ugedo L. (2014) "Interaction between the 5-HT system and the basal ganglia: functional implication and therapeutic perspective in Parkinson's disease", Front Neural Circuits 8: 21.

Miller D. W. et Abercrombie E. D. (1999) "Role of high-affinity dopamine uptake and impulse activity in the appearance of extracellular dopamine in striatum after administration of exogenous L-DOPA: studies in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats", J Neurochem 72: 1516-1522.

Mingorance-Le Meur A., Mohebiany A. N. et O'Connor T. P. (2009) "Varicones and growth cones: two neurite terminals in PC12 cells", PLoS One 4: e4334.

Mingorance-Le Meur A. et O'Connor T. P. (2009) "Neurite consolidation is an active process requiring constant repression of protrusive activity", EMBO J 28: 248-260.

Mitsumoto Y., Watanabe A., Mori A. et Koga N. (1998) "Spontaneous regeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons in MPTP-treated C57BL/6 mice", Biochem Biophys Res Commun 248: 660-663.

Mlewski E. C., Krapacher F. A., Ferreras S. et Paglini G. (2008) "Transient enhanced expression of Cdk5 activator p25 after acute and chronic d-amphetamine administration", Ann N Y Acad Sci 1139: 89-102.

Molina-Luna K., Pekanovic A., Rohrich S., Hertler B., Schubring-Giese M., Rioult-Pedotti M. S. et Luft A. R. (2009) "Dopamine in motor cortex is necessary for skill learning and synaptic plasticity", PLoS One 4: e7082.

Monville C., Torres E. M. et Dunnett S. B. (2005) "Validation of the l-dopa-induced dyskinesia in the 6-OHDA model and evaluation of the effects of selective dopamine receptor agonists and antagonists", Brain Res Bull 68: 16-23.

Morelli M., Di Paolo T., Wardas J., Calon F., Xiao D. et Schwarzschild M. A. (2007) "Role of adenosine A2A receptors in parkinsonian motor impairment and l-DOPA-induced motor complications", Prog Neurobiol 83: 293-309.

Moretti D., Del Bello B., Allavena G. et Maellaro E. (2014) "Calpains and cancer: friends or enemies?", Arch Biochem Biophys 564: 26-36.

Morin N. et Di Paolo T. (2014) "Pharmacological Treatments Inhibiting Levodopa-Induced Dyskinesias in MPTP-Lesioned Monkeys: Brain Glutamate Biochemical Correlates", Front Neurol 5: 144.

Morin N., Gregoire L., Gomez-Mancilla B., Gasparini F. et Di Paolo T. (2010) "Effect of the metabotropic glutamate receptor type 5 antagonists MPEP and MTEP in parkinsonian monkeys", Neuropharmacology 58: 981-986.

Morin N., Jourdain V. A. et Di Paolo T. (2014a) "Modeling dyskinesia in animal models of Parkinson disease", Exp Neurol 256: 105-116.

Morin N., Jourdain V. A., Morissette M., Gregoire L. et Di Paolo T. (2014b) "Long-term treatment with l-DOPA and an mGlu5 receptor antagonist prevents changes in brain basal ganglia dopamine receptors, their associated signaling proteins and neuropeptides in parkinsonian monkeys", Neuropharmacology 79: 688-706.

Morissette M., Dridi M., Calon F., Hadj Tahar A., Meltzer L. T., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2006) "Prevention of levodopa-induced dyskinesias by a selective NR1A/2B N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in parkinsonian monkeys: implication of preproenkephalin", Mov Disord 21: 9-17.

Rapport-Gratuit.com

Morissette M., Goulet M., Calon F., Falardeau P., Blanchet P. J., Bedard P. J. et Di Paolo T. (1996) "Changes of D1 and D2 dopamine receptor mRNA in the brains of monkeys lesioned with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: correction with chronic administration of L-3,4-dihydroxyphenylalanine", Mol Pharmacol 50: 1073-1079.

Morissette M., Samadi P., Hadj Tahar A., Belanger N. et Di Paolo T. (2010) "Striatal Akt/GSK3 signaling pathway in the development of L-Dopa-induced dyskinesias in MPTP monkeys", Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 34: 446-454.

Mouatt-Prigent A., Karlsson J. O., Agid Y. et Hirsch E. C. (1996) "Increased M-calpain expression in the mesencephalon of patients with Parkinson's disease but not in other neurodegenerative disorders involving the mesencephalon: a role in nerve cell death?", Neuroscience 73: 979-987.

Muller M. L. et Bohnen N. I. (2013) "Cholinergic dysfunction in Parkinson's disease", Curr Neurol Neurosci Rep 13: 377.

Muller T. (2013) "Pharmacokinetic considerations for the use of levodopa in the treatment of Parkinson disease: focus on levodopa/carbidopa/entacapone for treatment of levodopa-associated motor complications", Clin Neuropharmacol 36: 84-91.

Munoz A., Carlsson T., Tronci E., Kirik D., Bjorklund A. et Carta M. (2009) "Serotonin neuron-dependent and -independent reduction of dyskinesia by 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists in the rat Parkinson model", Exp Neurol 219: 298-307.

Munoz A., Li Q., Gardoni F., Marcello E., Qin C., Carlsson T., Kirik D., Di Luca M., Bjorklund A., Bezard E., *et coll.* (2008) "Combined 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists for the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia", Brain 131: 3380-3394.

Mura A., Jackson D., Manley M. S., Young S. J. et Groves P. M. (1995) "Aromatic L-amino acid decarboxylase immunoreactive cells in the rat striatum: a possible site for the conversion of exogenous L-DOPA to dopamine", Brain Res 704: 51-60.

Muslimovic D., Post B., Speelman J. D. et Schmand B. (2007) "Motor procedural learning in Parkinson's disease", Brain 130: 2887-2897.

Nambu A., Tokuno H. et Takada M. (2002) "Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway", Neurosci Res 43: 111-117.

Nguyen T. H., Liu J. et Lombroso P. J. (2002) "Striatal enriched phosphatase 61 dephosphorylates Fyn at phosphotyrosine 420", J Biol Chem 277: 24274-24279.

Nicoletti F., Bockaert J., Collingridge G. L., Conn P. J., Ferraguti F., Schoepp D. D., Wroblewski J. T. et Pin J. P. (2011) "Metabotropic glutamate receptors: from the workbench to the bedside", Neuropharmacology 60: 1017-1041.

Nieuwboer A., Rochester L., Muncks L. et Swinnen S. P. (2009) "Motor learning in Parkinson's disease: limitations and potential for rehabilitation", Parkinsonism Relat Disord 15 Suppl 3: S53-58.

Nishi A., Bibb J. A., Matsuyama S., Hamada M., Higashi H., Nairn A. C. et Greengard P. (2002) "Regulation of DARPP-32 dephosphorylation at PKA- and Cdk5-sites by NMDA and AMPA receptors: distinct roles of calcineurin and protein phosphatase-2A", J Neurochem 81: 832-841.

Nishi A., Liu F., Matsuyama S., Hamada M., Higashi H., Nairn A. C. et Greengard P. (2003) "Metabotropic mGlu5 receptors regulate adenosine A2A receptor signaling", Proc Natl Acad Sci U S A 100: 1322-1327.

Nishi A., Watanabe Y., Higashi H., Tanaka M., Nairn A. C. et Greengard P. (2005) "Glutamate regulation of DARPP-32 phosphorylation in neostriatal neurons involves activation of multiple signaling cascades", Proc Natl Acad Sci U S A 102: 1199-1204.

Nowak L., Bregestovski P., Ascher P., Herbet A. et Prochiantz A. (1984) "Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones", Nature 307: 462-465.

Nutt J. G., Gunzler S. A., Kirchhoff T., Hogarth P., Weaver J. L., Krams M., Jamerson B., Menniti F. S. et Landen J. W. (2008) "Effects of a NR2B selective NMDA glutamate antagonist, CP-101,606, on dyskinesia and Parkinsonism", Mov Disord 23: 1860-1866.

Obeso J. A., Rodriguez-Oroz M. C., Benitez-Temino B., Blesa F. J., Guridi J., Marin C. et Rodriguez M. (2008) "Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease", Mov Disord 23 Suppl 3: S548-559.

Ogura T., Ogata M., Akita H., Jitsuki S., Akiba L., Noda K., Hoka S. et Saji M. (2005) "Impaired acquisition of skilled behavior in rotarod task by moderate depletion of striatal dopamine in a pre-symptomatic stage model of Parkinson's disease", Neurosci Res 51: 299-308.

Oh J. D., Vaughan C. L. et Chase T. N. (1999) "Effect of dopamine denervation and dopamine agonist administration on serine phosphorylation of striatal NMDA receptor subunits", Brain Res 821: 433-442.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Olanow C. W., Agid Y., Mizuno Y., Albanese A., Bonuccelli U., Damier P., De Yebenes J., Gershanik O., Guttman M., Grandas F., *et coll.* (2004) "Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: current controversies", Mov Disord 19: 997-1005.

Olausson P., Venkitaramani D. V., Moran T. D., Salter M. W., Taylor J. R. et Lombroso P. J. (2012) "The tyrosine phosphatase STEP constrains amygdala-dependent memory formation and neuroplasticity", Neuroscience 225: 1-8.

Olson P. A., Tkatch T., Hernandez-Lopez S., Ulrich S., Ilijic E., Mugnaini E., Zhang H., Bezprozvanny I. et Surmeier D. J. (2005) "G-protein-coupled receptor modulation of striatal CaV1.3 L-type Ca2+ channels is dependent on a Shank-binding domain", J Neurosci 25: 1050-1062.

Ouattara B., Belkhir S., Morissette M., Dridi M., Samadi P., Gregoire L., Meltzer L. T. et Di Paolo T. (2009) "Implication of NMDA receptors in the antidyskinetic activity of cabergoline, CI-1041, and Ro 61-8048 in MPTP monkeys with levodopa-induced dyskinesias", J Mol Neurosci 38: 128-142.

Ouattara B., Gregoire L., Morissette M., Gasparini F., Vranesic I., Bilbe G., Johns D. R., Rajput A., Hornykiewicz O., Rajput A. H., *et coll.* (2011) "Metabotropic glutamate receptor type 5 in levodopa-induced motor complications", Neurobiol Aging 32: 1286-1295.

Ouattara B., Hoyer D., Gregoire L., Morissette M., Gasparini F., Gomez-Mancilla B. et Di Paolo T. (2010) "Changes of AMPA receptors in MPTP monkeys with levodopa-induced dyskinesias", Neuroscience 167: 1160-1167.

Paille V., Picconi B., Bagetta V., Ghiglieri V., Sgobio C., Di Filippo M., Viscomi M. T., Giampa C., Fusco F. R., Gardoni F., *et coll.* (2010) "Distinct levels of dopamine denervation differentially alter striatal synaptic plasticity and NMDA receptor subunit composition", J Neurosci 30: 14182-14193.

Palfi S., Gurruchaga J. M., Ralph G. S., Lepetit H., Lavisse S., Buttery P. C., Watts C., Miskin J., Kelleher M., Deeley S., *et coll.* (2014) "Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial", Lancet 383: 1138-1146.

Palfi S., Leventhal L., Chu Y., Ma S. Y., Emborg M., Bakay R., Deglon N., Hantraye P., Aebischer P. et Kordower J. H. (2002) "Lentivirally delivered glial cell line-derived neurotrophic factor increases the number of striatal dopaminergic neurons in primate models of nigrostriatal degeneration", J Neurosci 22: 4942-4954.

Paoletti P. et Neyton J. (2007) "NMDA receptor subunits: function and pharmacology", Curr Opin Pharmacol 7: 39-47.

Paquet M. et Smith Y. (2003) "Group I metabotropic glutamate receptors in the monkey striatum: subsynaptic association with glutamatergic and dopaminergic afferents", J Neurosci 23: 7659-7669.

Parent A. et Hazrati L. N. (1995) "Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop", Brain Res Brain Res Rev 20: 91-127.

Parent A., Levesque M. et Parent M. (2001) "A re-evaluation of the current model of the basal ganglia", Parkinsonism Relat Disord 7: 193-198.

Park S. W., Roohbakhsh A. et Beninger R. J. (2014) "8-pCPT, an Epac activator, impairs conditioned place preference based on nucleus accumbens amphetamine in rats", Acta Neuropsychiatr 26: 104-111.

Patrick G. N., Zukerberg L., Nikolic M., de la Monte S., Dikkes P. et Tsai L. H. (1999) "Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration", Nature 402: 615-622.

Paul S. et Connor J. A. (2010) "NR2B-NMDA receptor-mediated increases in intracellular Ca2+ concentration regulate the tyrosine phosphatase, STEP, and ERK MAP kinase signaling", J Neurochem 114: 1107-1118.

Paul S., Nairn A. C., Wang P. et Lombroso P. J. (2003) "NMDA-mediated activation of the tyrosine phosphatase STEP regulates the duration of ERK signaling", Nat Neurosci 6: 34-42.

Paul S., Olausson P., Venkitaramani D. V., Ruchkina I., Moran T. D., Tronson N., Mills E., Hakim S., Salter M. W., Taylor J. R., *et coll.* (2007) "The striatal-enriched protein tyrosine phosphatase gates long-term potentiation and fear memory in the lateral amygdala", Biol Psychiatry 61: 1049-1061.

Paul S., Snyder G. L., Yokakura H., Picciotto M. R., Nairn A. C. et Lombroso P. J. (2000) "The Dopamine/D1 receptor mediates the phosphorylation and inactivation of the protein tyrosine phosphatase STEP via a PKA-dependent pathway", J Neurosci 20: 5630-5638.

Pavese N., Evans A. H., Tai Y. F., Hotton G., Brooks D. J., Lees A. J. et Piccini P. (2006) "Clinical correlates of levodopa-induced dopamine release in Parkinson disease: a PET study", Neurology 67: 1612-1617.

Pavon N., Martin A. B., Mendialdua A. et Moratalla R. (2006) "ERK phosphorylation and FosB expression are associated with L-DOPA-induced dyskinesia in hemiparkinsonian mice", Biol Psychiatry 59: 64-74.

Pelkey K. A., Askalan R., Paul S., Kalia L. V., Nguyen T. H., Pitcher G. M., Salter M. W. et Lombroso P. J. (2002) "Tyrosine phosphatase STEP is a tonic brake on induction of long-term potentiation", Neuron 34: 127-138.

Pendt L. K., Reuter I. et Muller H. (2011) "Motor skill learning, retention, and control deficits in Parkinson's disease", PLoS One 6: e21669.

Perkinton M. S., Ip J. K., Wood G. L., Crossthwaite A. J. et Williams R. J. (2002) "Phosphatidylinositol 3-kinase is a central mediator of NMDA receptor signalling to MAP kinase (Erk1/2), Akt/PKB and CREB in striatal neurones", J Neurochem 80: 239-254.

Picconi B., Bagetta V., Ghiglieri V., Paille V., Di Filippo M., Pendolino V., Tozzi A., Giampa C., Fusco F. R., Sgobio C., *et coll.* (2011) "Inhibition of phosphodiesterases rescues striatal long-term depression and reduces levodopa-induced dyskinesia", Brain 134: 375-387.

Picconi B., Centonze D., Hakansson K., Bernardi G., Greengard P., Fisone G., Cenci M. A. et Calabresi P. (2003) "Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia", Nat Neurosci 6: 501-506.

Picconi B., Paille V., Ghiglieri V., Bagetta V., Barone I., Lindgren H. S., Bernardi G., Angela Cenci M. et Calabresi P. (2008) "l-DOPA dosage is critically involved in dyskinesia via loss of synaptic depotentiation", Neurobiol Dis 29: 327-335.

Pifl C. et Hornykiewicz O. (2006) "Dopamine turnover is upregulated in the caudate/putamen of asymptomatic MPTP-treated rhesus monkeys", Neurochem Int 49: 519-524.

Pin J. P. et Duvoisin R. (1995) "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions", Neuropharmacology 34: 1-26.

Pisani A., Gubellini P., Bonsi P., Conquet F., Picconi B., Centonze D., Bernardi G. et Calabresi P. (2001) "Metabotropic glutamate receptor 5 mediates the potentiation of N-methyl-D-aspartate responses in medium spiny striatal neurons", Neuroscience 106: 579-587.

Plattner F., Hernandez A., Kistler T. M., Pozo K., Zhong P., Yuen E. Y., Tan C., Hawasli A. H., Cooke S. F., Nishi A., *et coll.* (2014) "Memory enhancement by targeting Cdk5 regulation of NR2B", Neuron 81: 1070-1083.

Poewe W., Antonini A., Zijlmans J. C., Burkhard P. R. et Vingerhoets F. (2010) "Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: an old drug still going strong", Clin Interv Aging 5: 229-238.

Poewe W., Mahlknecht P. et Jankovic J. (2012) "Emerging therapies for Parkinson's disease", Curr Opin Neurol 25: 448-459.

Pons R., Syrengelas D., Youroukos S., Orfanou I., Dinopoulos A., Cormand B., Ormazabal A., Garzia-Cazorla A., Serrano M. et Artuch R. (2013) "Levodopa-induced dyskinesias in tyrosine hydroxylase deficiency", Mov Disord 28: 1058-1063.

Popoli P., Pezzola A., Torvinen M., Reggio R., Pintor A., Scarchilli L., Fuxe K. et Ferre S. (2001) "The selective mGlu(5) receptor agonist CHPG inhibits quinpirole-induced turning in 6-hydroxydopamine-lesioned rats and modulates the binding characteristics of dopamine D(2) receptors in the rat striatum: interactions with adenosine A(2a) receptors", Neuropsychopharmacology 25: 505-513.

Porritt M. J., Batchelor P. E., Hughes A. J., Kalnins R., Donnan G. A. et Howells D. W. (2000) "New dopaminergic neurons in Parkinson's disease striatum", Lancet 356: 44-45.

Porter C. C., Totaro J. A. et Stone C. A. (1963) "Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice", J Pharmacol Exp Ther 140: 308-316.

Preston Z., Lee K., Widdowson L., Freeman T. C., Dixon A. K. et Richardson P. J. (2000) "Adenosine receptor expression and function in rat striatal cholinergic interneurons", Br J Pharmacol 130: 886-890.

Radja F., el Mansari M., Soghomonian J. J., Dewar K. M., Ferron A., Reader T. A. et Descarries L. (1993) "Changes of D1 and D2 receptors in adult rat neostriatum after neonatal dopamine denervation: quantitative data from ligand binding, in situ hybridization and iontophoresis", Neuroscience 57: 635-648.

Rajput A. H., Fenton M. E., Birdi S., Macaulay R., George D., Rozdilsky B., Ang L. C., Senthilselvan A. et Hornykiewicz O. (2002) "Clinical-pathological study of levodopa complications", Mov Disord 17: 289-296.

Rascol O., Fox S., Gasparini F., Kenney C., Di Paolo T. et Gomez-Mancilla B. (2014) "Use of metabotropic glutamate 5-receptor antagonists for treatment of levodopa-induced dyskinesias", Parkinsonism Relat Disord 20: 947-956.

Rascol O., Nutt J. G., Blin O., Goetz C. G., Trugman J. M., Soubrouillard C., Carter J. H., Currie L. J., Fabre N., Thalamas C., *et coll.* (2001) "Induction by dopamine D1 receptor agonist ABT-431 of dyskinesia similar to levodopa in patients with Parkinson disease", Arch Neurol 58: 249-254.

Rascol O., Payoux P., Ory F., Ferreira J. J., Brefel-Courbon C. et Montastruc J. L. (2003) "Limitations of current Parkinson's disease therapy", Ann Neurol 53 Suppl 3: S3-12; discussion S12-15.

Redgrave P., Rodriguez M., Smith Y., Rodriguez-Oroz M. C., Lehericy S., Bergman H., Agid Y., DeLong M. R. et Obeso J. A. (2010) "Goal-directed and habitual control in the basal ganglia: implications for Parkinson's disease", Nat Rev Neurosci 11: 760-772.

Richfield E. K., Penney J. B. et Young A. B. (1989) "Anatomical and affinity state comparisons between dopamine D1 and D2 receptors in the rat central nervous system", Neuroscience 30: 767-777.

Rimondini R., Ferre S., Gimenez-Llort L., Ogren S. O. et Fuxe K. (1998) "Differential effects of selective adenosine A1 and A2A receptor agonists on dopamine receptor agonist-induced behavioural responses in rats", Eur J Pharmacol 347: 153-158.

Rinne J. O., Rinne J. K., Laakso K., Lonnberg P. et Rinne U. K. (1985) "Dopamine D-1 receptors in the parkinsonian brain", Brain Res 359: 306-310.

Roche K. W., O'Brien R. J., Mammen A. L., Bernhardt J. et Huganir R. L. (1996) "Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit", Neuron 16: 1179-1188.

Ronesi J., Gerdeman G. L. et Lovinger D. M. (2004) "Disruption of endocannabinoid release and striatal long-term depression by postsynaptic blockade of endocannabinoid membrane transport", J Neurosci 24: 1673-1679.

Rothermel J. D. et Parker Botelho L. H. (1988) "A mechanistic and kinetic analysis of the interactions of the diastereoisomers of adenosine 3',5'-(cyclic)phosphorothioate with purified cyclic AMP-dependent protein kinase", Biochem J 251: 757-762.

Rylander D. (2012) "The serotonin system: a potential target for anti-dyskinetic treatments and biomarker discovery", Parkinsonism Relat Disord 18 Suppl 1: S126-128.

Rylander D., Iderberg H., Li Q., Dekundy A., Zhang J., Li H., Baishen R., Danysz W., Bezard E. et Cenci M. A. (2010a) "A mGluR5 antagonist under clinical development improves L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats and monkeys", Neurobiol Dis 39: 352-361.

Rylander D., Parent M., O'Sullivan S. S., Dovero S., Lees A. J., Bezard E., Descarries L. et Cenci M. A. (2010b) "Maladaptive plasticity of serotonin axon terminals in levodopa-induced dyskinesia", Ann Neurol 68: 619-628.

Rylander D., Recchia A., Mela F., Dekundy A., Danysz W. et Cenci M. A. (2009) "Pharmacological modulation of glutamate transmission in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia: effects on motor behavior and striatal nuclear signaling", J Pharmacol Exp Ther 330: 227-235.

Salat D. et Tolosa E. (2013) "Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: current status and new developments", J Parkinsons Dis 3: 255-269.

Samadi P., Gregoire L., Morissette M., Calon F., Hadj Tahar A., Belanger N., Dridi M., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2008a) "Basal ganglia group II metabotropic glutamate receptors specific binding in non-human primate model of L-Dopa-induced dyskinesias", Neuropharmacology 54: 258-268.

Samadi P., Gregoire L., Morissette M., Calon F., Hadj Tahar A., Dridi M., Belanger N., Meltzer L. T., Bedard P. J. et Di Paolo T. (2008b) "mGluR5 metabotropic glutamate receptors and dyskinesias in MPTP monkeys", Neurobiol Aging 29: 1040-1051.

Samii A., Nutt J. G. et Ransom B. R. (2004) "Parkinson's disease", Lancet 363: 1783-1793.

Samuels B. A. et Tsai L. H. (2003) "Cdk5 is a dynamo at the synapse", Nat Cell Biol 5: 689-690.

Santini E., Feyder M., Gangarossa G., Bateup H. S., Greengard P. et Fisone G. (2012) "Dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein of 32-kDa (DARPP-32)-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling in experimental parkinsonism", J Biol Chem 287: 27806-27812.

Santini E., Valjent E., Usiello A., Carta M., Borgkvist A., Girault J. A., Herve D., Greengard P. et Fisone G. (2007) "Critical involvement of cAMP/DARPP-32 and extracellular signal-regulated protein kinase signaling in L-DOPA-induced dyskinesia", J Neurosci 27: 6995-7005.

Sarre S., De Klippel N., Herregodts P., Ebinger G. et Michotte Y. (1994) "Biotransformation of locally applied L-dopa in the corpus striatum of the hemi-parkinsonian rat studied with microdialysis", Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 350: 15-21.

Schafe G. E. et LeDoux J. E. (2000) "Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala", J Neurosci 20: RC96.

Schapira A. H., Emre M., Jenner P. et Poewe W. (2009) "Levodopa in the treatment of Parkinson's disease", Eur J Neurol 16: 982-989.

Schell M. J., Molliver M. E. et Snyder S. H. (1995) "D-serine, an endogenous synaptic modulator: localization to astrocytes and glutamate-stimulated release", Proc Natl Acad Sci U S A 92: 3948-3952.

Schiffmann S. N. et Vanderhaeghen J. J. (1993) "Adenosine A2 receptors regulate the gene expression of striatopallidal and striatonigral neurons", J Neurosci 13: 1080-1087.

Schmidt M., Dekker F. J. et Maarsingh H. (2013) "Exchange protein directly activated by cAMP (epac): a multidomain cAMP mediator in the regulation of diverse biological functions", Pharmacol Rev 65: 670-709.

Schultz W. (2010) "Dopamine signals for reward value and risk: basic and recent data", Behav Brain Funct 6: 24.

Schuster S., Doudnikoff E., Rylander D., Berthet A., Aubert I., Ittrich C., Bloch B., Cenci M. A., Surmeier D. J., Hengerer B., *et coll.* (2009) "Antagonizing L-type Ca2+ channel reduces development of abnormal involuntary movement in the rat model of L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia", Biol Psychiatry 65: 518-526.

Schwarzschild M. A., Cole R. L., Meyers M. A. et Hyman S. E. (1999) "Contrasting calcium dependencies of SAPK and ERK activations by glutamate in cultured striatal neurons", J Neurochem 72: 2248-2255.

Sedelis M., Schwarting R. K. et Huston J. P. (2001) "Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease", Behav Brain Res 125: 109-125.

Sgambato-Faure V. et Cenci M. A. (2012) "Glutamatergic mechanisms in the dyskinesias induced by pharmacological dopamine replacement and deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease", Prog Neurobiol 96: 69-86.

Sgambato V., Pages C., Rogard M., Besson M. J. et Caboche J. (1998) "Extracellular signal-regulated kinase (ERK) controls immediate early gene induction on corticostriatal stimulation", J Neurosci 18: 8814-8825.

Sharifzadeh M., Sharifzadeh K., Naghdi N., Ghahremani M. H. et Roghani A. (2005) "Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase AII inhibitor impairs spatial memory retention in rats", J Neurosci Res 79: 392-400.

Shen W., Flajolet M., Greengard P. et Surmeier D. J. (2008) "Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity", Science 321: 848-851.

Shen Y., Muramatsu S. I., Ikeguchi K., Fujimoto K. I., Fan D. S., Ogawa M., Mizukami H., Urabe M., Kume A., Nagatsu I., *et coll.* (2000) "Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic-L-amino-acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease", Hum Gene Ther 11: 1509-1519.

Shiflett M. W. et Balleine B. W. (2011a) "Contributions of ERK signaling in the striatum to instrumental learning and performance", Behav Brain Res 218: 240-247.

Shiflett M. W. et Balleine B. W. (2011b) "Molecular substrates of action control in cortico-striatal circuits", Prog Neurobiol 95: 1-13.

Shinotoh H., Inoue O., Hirayama K., Aotsuka A., Asahina M., Suhara T., Yamazaki T. et Tateno Y. (1993) "Dopamine D1 receptors in Parkinson's disease and striatonigral degeneration: a positron emission tomography study", J Neurol Neurosurg Psychiatry 56: 467-472.

Siegert R. J., Taylor K. D., Weatherall M. et Abernethy D. A. (2006) "Is implicit sequence learning impaired in Parkinson's disease? A meta-analysis", Neuropsychology 20: 490-495.

Silverdale M. A., Kobylecki C., Hallett P. J., Li Q., Dunah A. W., Ravenscroft P., Bezard E. et Brotchie J. M. (2010) "Synaptic recruitment of AMPA glutamate receptor subunits in levodopa-induced dyskinesia in the MPTP-lesioned nonhuman primate", Synapse 64: 177-180.

Skalhegg B. S. et Tasken K. (2000) "Specificity in the cAMP/PKA signaling pathway. Differential expression,regulation, and subcellular localization of subunits of PKA", Front Biosci 5: D678-693.

Rapport-Gratuit.com

Slepnev V. I., Ochoa G. C., Butler M. H., Grabs D. et De Camilli P. (1998) "Role of phosphorylation in regulation of the assembly of endocytic coat complexes", Science 281: 821-824.

Smith D. S., Greer P. L. et Tsai L. H. (2001a) "Cdk5 on the brain", Cell Growth Differ 12: 277-283.

Smith D. S. et Tsai L. H. (2002) "Cdk5 behind the wheel: a role in trafficking and transport?", Trends Cell Biol 12: 28-36.

Smith J., Siegert R. J., McDowall J. et Abernethy D. (2001b) "Preserved implicit learning on both the serial reaction time task and artificial grammar in patients with Parkinson's disease", Brain Cogn 45: 378-391.

Smith J. G. et McDowall J. (2006) "The implicit sequence learning deficit in patients with Parkinson's disease: a matter of impaired sequence integration?", Neuropsychologia 44: 275-288.

Smith P. D., Crocker S. J., Jackson-Lewis V., Jordan-Sciutto K. L., Hayley S., Mount M. P., O'Hare M. J., Callaghan S., Slack R. S., Przedborski S., *et coll.* (2003) "Cyclin-dependent kinase 5 is a mediator of dopaminergic neuron loss in a mouse model of Parkinson's disease", Proc Natl Acad Sci U S A 100: 13650-13655.

Smith P. D., Mount M. P., Shree R., Callaghan S., Slack R. S., Anisman H., Vincent I., Wang X., Mao Z. et Park D. S. (2006) "Calpain-regulated p35/cdk5 plays a central role in dopaminergic neuron death through modulation of the transcription factor myocyte enhancer factor 2", J Neurosci 26: 440-447.

Smith P. D., O'Hare M. J. et Park D. S. (2004a) "Emerging pathogenic role for cyclin dependent kinases in neurodegeneration", Cell Cycle 3: 289-291.

Smith Y., Raju D., Nanda B., Pare J. F., Galvan A. et Wichmann T. (2009) "The thalamostriatal systems: anatomical and functional organization in normal and parkinsonian states", Brain Res Bull 78: 60-68.

Smith Y., Raju D. V., Pare J. F. et Sidibe M. (2004b) "The thalamostriatal system: a highly specific network of the basal ganglia circuitry", Trends Neurosci 27: 520-527.

Snyder G. L., Allen P. B., Fienberg A. A., Valle C. G., Huganir R. L., Nairn A. C. et 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.

Snyder G. L., Keller R. W., Jr. et Zigmond M. J. (1990) "Dopamine efflux from striatal slices after intracerebral 6-hydroxydopamine: evidence for compensatory hyperactivity of residual terminals", J Pharmacol Exp Ther 253: 867-876.

Song D. D. et Haber S. N. (2000) "Striatal responses to partial dopaminergic lesion: evidence for compensatory sprouting", J Neurosci 20: 5102-5114.

Sossi V., de la Fuente-Fernandez R., Holden J. E., Schulzer M., Ruth T. J. et Stoessl J. (2004) "Changes of dopamine turnover in the progression of Parkinson's disease as measured by positron emission tomography: their relation to disease-compensatory mechanisms", J Cereb Blood Flow Metab 24: 869-876.

Sossi V., de la Fuente-Fernandez R., Schulzer M., Troiano A. R., Ruth T. J. et Stoessl A. J. (2007) "Dopamine transporter relation to dopamine turnover in Parkinson's disease: a positron emission tomography study", Ann Neurol 62: 468-474.

Sossi V., Dinelle K., Topping G. J., Holden J. E., Doudet D., Schulzer M., Ruth T. J., Stoessl A. J. et de la Fuente-Fernandez R. (2009) "Dopamine transporter relation to levodopa-derived synaptic dopamine in a rat model of Parkinson's: an in vivo imaging study", J Neurochem 109: 85-92.

Sprenger F. et Poewe W. (2013) "Management of motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease", CNS Drugs 27: 259-272.

St-Hilaire M., Landry E., Levesque D. et Rouillard C. (2005) "Denervation and repeated L-DOPA induce complex regulatory changes in neurochemical phenotypes of striatal neurons: implication of a dopamine D1-dependent mechanism", Neurobiol Dis 20: 450-460.

Stachowiak M. K., Keller R. W., Jr., Stricker E. M. et Zigmond M. J. (1987) "Increased dopamine efflux from striatal slices during development and after nigrostriatal bundle damage", J Neurosci 7: 1648-1654.

Standaert D. G., Friberg I. K., Landwehrmeyer G. B., Young A. B. et Penney J. B., Jr. (1999) "Expression of NMDA glutamate receptor subunit mRNAs in neurochemically identified projection and interneurons in the striatum of the rat", Brain Res Mol Brain Res 64: 11-23.

Standaert D. G., Testa C. M., Young A. B. et Penney J. B., Jr. (1994) "Organization of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor gene expression in the basal ganglia of the rat", J Comp Neurol 343: 1-16.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Stanic D., Finkelstein D. I., Bourke D. W., Drago J. et Horne M. K. (2003) "Timecourse of striatal re-innervation following lesions of dopaminergic SNpc neurons of the rat", Eur J Neurosci 18: 1175-1188.

Stefanova E. D., Kostic V. S., Ziropadja L., Markovic M. et Ocic G. G. (2000) "Visuomotor skill learning on serial reaction time task in patients with early Parkinson's disease", Mov Disord 15: 1095-1103.

Su S. C. et Tsai L. H. (2011) "Cyclin-dependent kinases in brain development and disease", Annu Rev Cell Dev Biol 27: 465-491.

Surmeier D. J., Bargas J., Hemmings H. C., Jr., Nairn A. C. et 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. et Bargas J. (2011a) "Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies", Neuroscience 198: 3-18.

Surmeier D. J., Eberwine J., Wilson C. J., Cao Y., Stefani A. et Kitai S. T. (1992) "Dopamine receptor subtypes colocalize in rat striatonigral neurons", Proc Natl Acad Sci U S A 89: 10178-10182.

Surmeier D. J., Guzman J. N., Sanchez-Padilla J. et Goldberg J. A. (2011b) "The origins of oxidant stress in Parkinson's disease and therapeutic strategies", Antioxid Redox Signal 14: 1289-1301.

Surmeier D. J., Song W. J. et Yan Z. (1996) "Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons", J Neurosci 16: 6579-6591.

Sweatt J. D. (2004) "Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory", Curr Opin Neurobiol 14: 311-317.

Tallaksen-Greene S. J., Kaatz K. W., Romano C. et Albin R. L. (1998) "Localization of mGluR1a-like immunoreactivity and mGluR5-like immunoreactivity in identified populations of striatal neurons", Brain Res 780: 210-217.

Tan T. C., Valova V. A., Malladi C. S., Graham M. E., Berven L. A., Jupp O. J., Hansra G., McClure S. J., Sarcevic B., Boadle R. A., *et coll.* (2003) "Cdk5 is essential for synaptic vesicle endocytosis", Nat Cell Biol 5: 701-710.

Tande D., Hoglinger G., Debeir T., Freundlieb N., Hirsch E. C. et Francois C. (2006) "New striatal dopamine neurons in MPTP-treated macaques result from a phenotypic shift and not neurogenesis", Brain 129: 1194-1200.

Tanganelli S., Sandager Nielsen K., Ferraro L., Antonelli T., Kehr J., Franco R., Ferre S., Agnati L. F., Fuxe K. et Scheel-Kruger J. (2004) "Striatal plasticity at the network level. Focus on adenosine A2A and D2 interactions in models of Parkinson's Disease", Parkinsonism Relat Disord 10: 273-280.

Tashiro Y., Sugimoto T., Hattori T., Uemura Y., Nagatsu I., Kikuchi H. et Mizuno N. (1989) "Tyrosine hydroxylase-like immunoreactive neurons in the striatum of the rat", Neurosci Lett 97: 6-10.

Taylor J. L., Bishop C. et Walker P. D. (2005) "Dopamine D1 and D2 receptor contributions to L-DOPA-induced dyskinesia in the dopamine-depleted rat", Pharmacol Biochem Behav 81: 887-893.

Thiele S. L., Chen B., Lo C., Gertler T. S., Warre R., Surmeier J. D., Brotchie J. M. et Nash J. E. (2014) "Selective loss of bi-directional synaptic plasticity in the direct and indirect striatal output pathways accompanies generation of parkinsonism and l-DOPA induced dyskinesia in mouse models", Neurobiol Dis 71: 334-344.

Thomas G. M. et Huganir R. L. (2004) "MAPK cascade signalling and synaptic plasticity", Nat Rev Neurosci 5: 173-183.

Tong J., Fitzmaurice P. S., Ang L. C., Furukawa Y., Guttman M. et Kish S. J. (2004) "Brain dopamine-stimulated adenylyl cyclase activity in Parkinson's disease, multiple system atrophy, and progressive supranuclear palsy", Ann Neurol 55: 125-129.

Tozzi A., de Iure A., Di Filippo M., Tantucci M., Costa C., Borsini F., Ghiglieri V., Giampa C., Fusco F. R., Picconi B., *et coll.* (2011) "The distinct role of medium spiny neurons and cholinergic interneurons in the D(2)/A(2)A receptor interaction in the striatum: implications for Parkinson's disease", J Neurosci 31: 1850-1862.

Tozzi A., de Iure A., Marsili V., Romano R., Tantucci M., Di Filippo M., Costa C., Napolitano F., Mercuri N. B., Borsini F., *et coll.* (2012) "A2A adenosine receptor antagonism enhances synaptic and motor effects of cocaine via CB1 cannabinoid receptor activation", PLoS One 7: e38312.

Tremblay P. L., Bedard M. A., Levesque M., Chebli M., Parent M., Courtemanche R. et Blanchet P. J. (2009) "Motor sequence learning in primate: role of the D2 receptor in movement chunking during consolidation", Behav Brain Res 198: 231-239.

Trétiakoff C. (1919) "Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique du locus niger de Soemmering avec quelques dédutions relatives à la pathogénie des troubles du tonus musculaire et de la maladie de Parkinson", Thèse, Université de Paris.

Trifilieff P., Rives M. L., Urizar E., Piskorowski R. A., Vishwasrao H. D., Castrillon J., Schmauss C., Slattman M., Gullberg M. et Javitch J. A. (2011) "Detection of antigen interactions ex vivo by proximity ligation assay: endogenous dopamine D2-adenosine A2A receptor complexes in the striatum", Biotechniques 51: 111-118.

Tsai M. J. et Lee E. H. (1996) "Characterization of L-DOPA transport in cultured rat and mouse astrocytes", J Neurosci Res 43: 490-495.

Turjanski N., Lees A. J. et Brooks D. J. (1997) "In vivo studies on striatal dopamine D1 and D2 site binding in L-dopa-treated Parkinson's disease patients with and without dyskinesias", Neurology 49: 717-723.

Ulusoy A., Sahin G. et Kirik D. (2010) "Presynaptic dopaminergic compartment determines the susceptibility to L-DOPA-induced dyskinesia in rats", Proc Natl Acad Sci U S A 107: 13159-13164.

Ungerleider L. G., Doyon J. et Karni A. (2002) "Imaging brain plasticity during motor skill learning", Neurobiol Learn Mem 78: 553-564.

Ungerstedt U. (1968) "6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons", Eur J Pharmacol 5: 107-110.

Valjent E., Bertran-Gonzalez J., Herve D., Fisone G. et Girault J. A. (2009) "Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice", Trends Neurosci 32: 538-547.

Valjent E., Caboche J. et Vanhoutte P. (2001) "Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase induced gene regulation in brain: a molecular substrate for learning and memory?", Mol Neurobiol 23: 83-99.

Valjent E., Pascoli V., Svenningsson P., Paul S., Enslen H., Corvol J. C., Stipanovich A., Caboche J., Lombroso P. J., Nairn A. C., *et coll.* (2005) "Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum", Proc Natl Acad Sci U S A 102: 491-496.

Vanhoutte P., Barnier J. V., Guibert B., Pages C., Besson M. J., Hipskind R. A. et Caboche J. (1999) "Glutamate induces phosphorylation of Elk-1 and CREB, along with c-fos activation, via an extracellular signal-regulated kinase-dependent pathway in brain slices", Mol Cell Biol 19: 136-146.

Venkitaramani D. V., Moura P. J., Picciotto M. R. et Lombroso P. J. (2011) "Striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) knockout mice have enhanced hippocampal memory", Eur J Neurosci 33: 2288-2298.

Venkitaramani D. V., Paul S., Zhang Y., Kurup P., Ding L., Tressler L., Allen M., Sacca R., Picciotto M. R. et Lombroso P. J. (2009) "Knockout of striatal enriched protein tyrosine phosphatase in mice results in increased ERK1/2 phosphorylation", Synapse 63: 69-81.

Verma A. et Moghaddam B. (1998) "Regulation of striatal dopamine release by metabotropic glutamate receptors", Synapse 28: 220-226.

Voorn P., Vanderschuren L. J., Groenewegen H. J., Robbins T. W. et Pennartz C. M. (2004) "Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum", Trends Neurosci 27: 468-474.

Vosler P. S., Brennan C. S. et Chen J. (2008) "Calpain-mediated signaling mechanisms in neuronal injury and neurodegeneration", Mol Neurobiol 38: 78-100.

Wachtel S. R. et Abercrombie E. D. (1994) "L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dopamine release in the striatum of intact and 6-hydroxydopamine-treated rats: differential effects of monoamine oxidase A and B inhibitors", J Neurochem 63: 108-117.

Wang J., Liu S., Fu Y., Wang J. H. et Lu Y. (2003) "Cdk5 activation induces hippocampal CA1 cell death by directly phosphorylating NMDA receptors", Nat Neurosci 6: 1039-1047.

Wang J. Q., Tang Q., Parelkar N. K., Liu Z., Samdani S., Choe E. S., Yang L. et Mao L. (2004) "Glutamate signaling to Ras-MAPK in striatal neurons: mechanisms for inducible gene expression and plasticity", Mol Neurobiol 29: 1-14.

Wang Z., Kai L., Day M., Ronesi J., Yin H. H., Ding J., Tkatch T., Lovinger D. M. et 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.

Werheid K., Zysset S., Muller A., Reuter M. et von Cramon D. Y. (2003) "Rule learning in a serial reaction time task: an fMRI study on patients with early Parkinson's disease", Brain Res Cogn Brain Res 16: 273-284.

Westin J. E., Lindgren H. S., Gardi J., Nyengaard J. R., Brundin P., Mohapel P. et Cenci M. A. (2006) "Endothelial proliferation and increased blood-brain barrier permeability in the basal ganglia in a rat model of 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine-induced dyskinesia", J Neurosci 26: 9448-9461.

Westin J. E., Vercammen L., Strome E. M., Konradi C. et Cenci M. A. (2007) "Spatiotemporal pattern of striatal ERK1/2 phosphorylation in a rat model of L-DOPA-induced dyskinesia and the role of dopamine D1 receptors", Biol Psychiatry 62: 800-810.

Willuhn I. et Steiner H. (2008) "Motor-skill learning in a novel running-wheel task is dependent on D1 dopamine receptors in the striatum", Neuroscience 153: 249-258.

Winkler C., Kirik D., Bjorklund A. et Cenci M. A. (2002) "L-DOPA-induced dyskinesia in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of parkinson's disease: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function", Neurobiol Dis 10: 165-186.

Wu H. Y. et Lynch D. R. (2006) "Calpain and synaptic function", Mol Neurobiol 33: 215-236.

Xu J., Kurup P., Bartos J. A., Patriarchi T., Hell J. W. et Lombroso P. J. (2012) "Striatal-enriched protein-tyrosine phosphatase (STEP) regulates Pyk2 kinase activity", J Biol Chem 287: 20942-20956.

Yang L., Gilbert M. L., Zheng R. et McKnight G. S. (2014) "Selective expression of a dominant-negative type Ialpha PKA regulatory subunit in striatal medium spiny neurons impairs gene expression and leads to reduced feeding and locomotor activity", J Neurosci 34: 4896-4904.

Yin H. H. et Lovinger D. M. (2006) "Frequency-specific and D2 receptor-mediated inhibition of glutamate release by retrograde endocannabinoid signaling", Proc Natl Acad Sci U S A 103: 8251-8256.

Yin H. H., Mulcare S. P., Hilario M. R., Clouse E., Holloway T., Davis M. I., Hansson A. C., Lovinger D. M. et Costa R. M. (2009) "Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill", Nat Neurosci 12: 333-341.

Youdim M. B. et Riederer P. F. (2007) "Monoamine oxidase A and B inhibitors in Parkinson's disease", Handb Clin Neurol 84: 93-120.

Zanassi P., Paolillo M., Feliciello A., Avvedimento E. V., Gallo V. et Schinelli S. (2001) "cAMP-dependent protein kinase induces cAMP-response element-binding protein phosphorylation via an intracellular calcium release/ERK-dependent pathway in striatal neurons", J Biol Chem 276: 11487-11495.

Zeng B. Y., Iravani M. M., Jackson M. J., Rose S., Parent A. et Jenner P. (2010) "Morphological changes in serotoninergic neurites in the striatum and globus pallidus in levodopa primed MPTP treated common marmosets with dyskinesia", Neurobiol Dis 40: 599-607.

Zhang H. et Sulzer D. (2003) "Glutamate spillover in the striatum depresses dopaminergic transmission by activating group I metabotropic glutamate receptors", J Neurosci 23: 10585-10592.

Zhang S., Edelmann L., Liu J., Crandall J. E. et Morabito M. A. (2008a) "Cdk5 regulates the phosphorylation of tyrosine 1472 NR2B and the surface expression of NMDA receptors", J Neurosci 28: 415-424.

Zhang Y., Venkitaramani D. V., Gladding C. M., Kurup P., Molnar E., Collingridge G. L. et Lombroso P. J. (2008b) "The tyrosine phosphatase STEP mediates AMPA receptor endocytosis after metabotropic glutamate receptor stimulation", J Neurosci 28: 10561-10566.

Zhou F. M., Wilson C. J. et Dani J. A. (2002) "Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum", J Neurobiol 53: 590-605.

Zhu G., Chen Y., Huang Y., Li Q. et Behnisch T. (2011) "MPTP-meditated hippocampal dopamine deprivation modulates synaptic transmission and activity-dependent synaptic plasticity", Toxicol Appl Pharmacol 254: 332-341.

Zigmond M. J. (1997) "Do compensatory processes underlie the preclinical phase of neurodegenerative disease? Insights from an animal model of parkinsonism", Neurobiol Dis 4: 247-253.

Zigmond M. J., Abercrombie E. D., Berger T. W., Grace A. A. et Stricker E. M. (1990) "Compensations after lesions of central dopaminergic neurons: some clinical and basic implications", Trends Neurosci 13: 290-296.

Zigmond M. J., Acheson A. L., Stachowiak M. K. et Stricker E. M. (1984) "Neurochemical compensation after nigrostriatal bundle injury in an animal model of preclinical parkinsonism", Arch Neurol 41: 856-861.