

Année 2013

Thèse n°2023

THÈSE

pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 2

Ecole doctorale : Sciences de la Vie et de la Santé

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Option : Neurosciences

Présentée et soutenue publiquement

Le 17 octobre 2013

Par

Michel Engeln

Né le 6 février 1985 à Strasbourg

Altération de la réponse dopaminergique dans la maladie de Parkinson :

Des dyskinésies aux troubles du contrôle des impulsions

Membres du Jury

M. Mohamed Jaber.....Président
Mme. Marianne AmalricRapporteuse
M. Stéphane Thobois.....Rapporteur
M. Francis ChaouloffExamineur
M. Pierre-Olivier Fernagut.....Directeur de thèse

Pour inspecter notre propre cerveau, nous n'avons que nos propres cerveaux.
Gordon Rattray Taylor

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Pierre-Olivier Fernagut. Je n'ai pas de mots suffisant pour t'exprimer toute ma gratitude mais je tiens à te dire un très grand merci pour avoir su me guider et me conseiller tout au long de ces années. Merci pour toute l'aide que tu m'as apporté dans ce travail de thèse et pour tout le reste, je t'en suis particulièrement reconnaissant.

Un très grand merci à Erwan Bezar de m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir permis de conduire mes nombreuses expériences dans les meilleures conditions. Merci aussi pour tous les conseils et les opportunités que vous m'avez apporté durant cette thèse.

Je remercie également le Pr Mohamed Jaber d'avoir accepté de juger ce travail. Je vous suis très reconnaissant de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider cette thèse.

Un très grand merci aux Drs Marianne Amalric et Stéphane Thobois d'avoir accepté la lourde tâche d'être rapporteurs de ce travail.

Je tiens également à remercier le Dr Francis Chaouloff d'avoir été mon tuteur durant ces trois années de thèse et d'avoir accepté d'être examinateur de ce travail.

Je souhaite aussi remercier mes collaborateurs et surtout Serge Ahmed pour tout ce que vous m'avez appris et apporté. Merci à Martine Cador de m'avoir accueilli dans votre laboratoire. Merci à Philippe De Deurwaerdère de m'avoir initié à l'HPLC et pour votre aide avec les monoamines.

Merci à tous les membres de l'équipe PSP pour votre accueil et pour tout ce que j'ai appris grâce à vous.

Merci à mes parents et à mon frère pour leur soutien durant ces années à Bordeaux et pour leurs visites régulières.

Enfin, un très grand merci tout spécialement à Carole Hyacinthe et Sandrine Camus pour votre amitié tout au long de ce chemin. Merci pour tous les bons moments passés ensemble. Merci pour tout.

Résumé

Mon projet de thèse porte sur les altérations de la réponse dopaminergique dans la maladie de Parkinson (MP). Les troubles moteurs de la MP sont améliorés par la L-Dopa (précurseur de la dopamine) et/ou les agonistes dopaminergiques. Cependant, ces traitements engendrent des effets secondaires moteurs (les dyskinésies) et non-moteurs. Ainsi, environ 15% des patients atteints de la MP sous agoniste dopaminergique vont présenter des addictions comportementales avec un syndrome de sevrage, et 3 à 4% des patients traités à la L-Dopa ou à l'apomorphine développent une prise compulsive de médicament. Ces complications motrices et non-motrices des thérapies dopaminergiques, font intervenir une dysfonction du réseau des ganglions de la base.

Ce travail a exploré le lien entre l'accumulation de la protéine Δ FosB et les modifications des propriétés électriques des neurones impliqués dans l'expression des dyskinésies, en utilisant une technique d'inactivation sélective des neurones exprimant Δ FosB dans le striatum de rat et de singe. Mes travaux ont également évalué chez le singe, comment la L-Dopa modifiait les taux de monoamines pour engendrer les dyskinésies. Ceci m'a permis de montrer que les structures cognitives et limbiques sont elles aussi affectées et qu'elles pourraient être directement impliqués dans les dyskinésies.

Sur cette base, j'ai étudié la physiopathologie des troubles du traitement de la récompense et démontré que la L-Dopa, le traitement de référence de la MP, peut acquérir des propriétés récompensantes proches de celles de la cocaïne dans un modèle rat de la MP par surexpression de gène codant pour l' α -synucléine mutée. J'ai également utilisé des procédures d'auto-administration intraveineuse chez le rat pour montrer que le Pramipexole, un agoniste dopaminergique couramment utilisé dans le traitement de la MP, possédait des propriétés renforçantes. Ceci m'a permis de souligner que des susceptibilités individuelles sous-tendraient le développement de ces addictions comportementales. Ces découvertes ont ensuite été complétées par des expériences montrant que les altérations liées à la MP modifiaient le trait d'impulsivité des rats et que les traitements dopaminergiques pouvaient empirer ces changements.

Abstract

My PhD focused on the alterations of the dopaminergic response in Parkinson's disease (PD). Motor impairments in PD are reduced by the dopamine precursor L-Dopa and/or dopamine agonists. However, these medications elicit motor (dyskinesia) and non-motor side-effects. Up to 15% of PD patients under dopamine agonists experience behavioral addictions and withdrawal syndrome, and 3-4% of patients treated with L-Dopa or apomorphine exhibit compulsive medication intake. Both motor and non-motor complications of dopaminergic therapies involve dysfunctions in the basal ganglia network.

I explored the link between deltaFosB protein accumulation and the cellular electrical properties that trigger dyskinesia by using a cell-type specific inactivation of FosB expressing neurons of the striatum in rats and monkeys. I have also investigated in monkeys how L-Dopa modifies monoaminergic functions to mediate dyskinesia and demonstrated that limbic/cognitive structures are identically affected providing a basis for a non-motor component involved in motor side effects in PD.

From this, I studied the pathophysiology of addiction-like disorders by revealing that L-Dopa, the most widely-used treatment for PD, can acquire rewarding properties similar to cocaine in a viral-mediated rat model of PD. I also used self-administration procedures in rats to demonstrate the rewarding properties of Pramipexole, a dopamine agonist commonly use in the treatment of PD, and identified individual susceptibilities in the development of addiction-like disorders. These findings were followed by additional work showing that PD alterations modify the impulsivity trait of rats and that medication might worsen these changes.

Sommaire

Remerciements	3
Sommaire	6
Avant-propos	8
Introduction	11
I. La maladie de Parkinson	11
I. 1. Epidémiologie	11
I. 2. Symptômes.....	11
I. 3. Physiopathologie.....	13
I. 1. a. Les corps de Lewy	13
I. 1. b. Déplétion dopaminergique : de la substance noire au striatum	15
I. 1. c. Autres altérations monoaminergiques.....	16
I. 2. Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base	17
I. 2. a. L'état normal.....	20
I. 2. b. L'état parkinsonien	22
I. 2. c. Aspects non-moteurs des ganglions de la base	23
I. 3. Etiologie de la maladie de Parkinson.....	24
I. 3. a. Facteurs génétiques	25
I. 3. b. Facteurs environnementaux	26
II. Traitements	27
II. 1. Les traitements symptomatiques	28
II. 1. a. Les traitements anticholinergiques	28
II. 1. b. La L-Dopa.....	28
II. 1. c. Les agonistes dopaminergiques	29
II. 1. d. La stimulation cérébrale à haute fréquence	31
II. 2. Effets secondaires moteurs des traitements pharmacologiques.....	32
II. 2. a. Les fluctuations motrices et les dyskinésies	32
II. 2. b. Mécanismes connus	34
II. 3. Effets secondaires non-moteurs.....	36
II. 3. a. Généralités	36
II. 3. b. Le syndrome de dysrégulation dopaminergique.....	36
II. 3. c. Le trouble du contrôle des impulsions.....	39
II. 3. d. Mécanismes connus	43

III. Objectifs principaux de la thèse	48
Matériel et méthodes	50
IV. Considérations méthodologiques	50
V. Tests comportementaux.....	53
V. 1. Le stepping test.....	53
V. 2. L'actimétrie	54
V. 3. Les mouvements anormaux involontaires.....	54
V. 4. La préférence de place conditionnée	55
V. 5. L'auto-administration intraveineuse.....	56
V. 6. Le Fixed Consecutive Number Schedule	56
V. 7. Le Differential Reinforcement Low rate schedule	57
V. 8. Technique d'inactivation fonctionnelle sélective par injection de daun02	58
Résultats	61
Article 1.....	61
Article 2.....	62
Article 3.....	63
Article 4.....	64
Expérience 5.....	65
Discussion	76
Bibliographie.....	93

Avant-propos

La maladie de Parkinson (MP) se caractérise principalement par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée en association avec une agrégation d'alpha-synucléine. Les troubles moteurs tels que l'hypokinésie et la bradykinésie peuvent être réduits en utilisant le précurseur de la dopamine (L-Dopa) ou des agonistes dopaminergiques. Cependant, après 5 à 10 années de traitement à la L-Dopa, la quasi-totalité des patients développent des mouvements anormaux appelés dyskinésies (Bezard et al., 2001). De plus, environ 15% des patients atteints de la MP traités avec des agonistes dopaminergiques développent des 'addictions comportementales' ainsi qu'un syndrome de sevrage présentant notamment de l'anxiété, de l'irritabilité, de l'agitation comme observé pour les psychostimulants (Rabinak and Nirenberg, 2010; Weintraub et al., 2010b) et 3 à 4% des patients traités à la L-Dopa ou à l'Apomorphine présentent une addiction au traitement dopaminergique (Lawrence et al., 2003). On constate donc qu'une altération de la réponse dopaminergique dans la MP représente une caractéristique très invalidante.

Bien que les travaux menés durant ces dernières années aient grandement amélioré les connaissances sur les mécanismes à l'origine des dyskinésies levodopa-induites, leur compréhension n'est pas encore complète. Des travaux menés chez l'animal, notamment au sein de notre laboratoire, ont présenté un grand nombre de modifications cellulaires et moléculaires impliquées dans l'apparition des dyskinésies (Aubert et al., 2005; Guigoni et al., 2007). Ces travaux, associés à d'autres, ont ainsi présenté des anomalies dans la signalisation intracellulaire pouvant participer à l'émergence d'altérations de la transmission synaptique dans l'apparition des dyskinésies (Picconi et al., 2003; Berthet et al., 2009; Porras et al., 2012). De plus, parmi les pistes avancées par certaines études, des anomalies moléculaire impliquent l'accumulation de Δ FosB dans le striatum dans l'apparition (Andersson et al., 1999) et le maintien (Chen et al., 2006; Berton et al., 2009) de ces mouvements anormaux involontaires. En effet, des taux importants de Δ FosB ont été retrouvés dans le striatum de patients parkinsoniens et ont été présentés comme des marqueurs des dyskinésies (Tekumalla et al., 2001). Cependant, le rôle précis de Δ FosB sur l'activité électrique des neurones n'a pas encore démontré. Les travaux issus du domaine de l'addiction ont montré néanmoins que l'accumulation de cette protéine modifiait les propriétés synaptiques des neurones et

participerait à la plasticité comportementale provoquée par la cocaïne (Robison et al., 2013). Ainsi, des mécanismes similaires pourraient être à l'œuvre dans l'expression des dyskinésies et favoriseraient l'implication de réseaux neuronaux aberrants. Ces processus clés mériteraient d'être davantage étudiés pour mieux comprendre les substrats neuronaux des dyskinésies.

En plus des effets secondaires moteurs induits par la L-Dopa, les traitements dopaminergiques sont également soupçonnés d'engendrer des symptômes non-moteurs. Parmi ces derniers, l'émergence d'un syndrome de dysrégulation dopaminergique (SDD) et d'un trouble du contrôle des impulsions (TCI) ont été largement rapportés ces dernières années (Giovannoni et al., 2000; Lawrence et al., 2003; Weintraub et al., 2010b; Voon et al., 2011a). La détérioration des voies dopaminergiques dues à la MP ainsi que l'utilisation de médicaments basés sur l'apport exogène de dopamine ont rapidement conduit à l'idée que les traitements utilisés dans la MP surdoseraient les voies dopaminergiques et seraient ainsi à l'origine de ces troubles proches de l'addiction. Un grand nombre d'études faites chez les patients atteints de SDD et de TCI ont cherché à montrer l'impact de la thérapie dopaminergique sur le traitement de la récompense (Evans et al., 2006; van Eimeren et al., 2010; Voon et al., 2010). Ces découvertes ont participé à une meilleure compréhension du SDD et du TCI en identifiant notamment certaines structures cérébrales impliquées dans ces troubles. Cependant, l'origine de ces comportements n'a pas encore pu être clairement identifiée. En effet ces études, majoritairement réalisées chez l'humain, ne permettent pas de suivi longitudinal des patients avant et pendant l'expression de la maladie. Il est donc difficile de différencier l'impact des processus physiopathologiques de celui des traitements dopaminergiques. L'utilisation de modèles animaux permet de mieux identifier ces différents mécanismes et leur rôle respectif dans l'émergence de ces troubles.

Le réseau des ganglions de la base est impliqué dans les fonctions motrices mais aussi cognitives et émotionnelles. Une dysfonction dopaminergique liée à la MP et à son traitement pourrait alors avoir des répercussions sur ces deux aspects. Ces travaux de thèse se placent ainsi dans une vision intégrative du rôle des ganglions de la base en évaluant, chez le rat et le primate non-humain, les substrats neuronaux impliqués dans les dyskinésies et dans les altérations du traitement de la récompense.

Introduction

Introduction

I. La maladie de Parkinson

I. 1. Epidémiologie

Dans un ouvrage intitulé ‘*An essay on the shaking palsy*’ (Parkinson, 1817), James Parkinson décrit, pour la première fois, les symptômes d’une maladie nommée ‘*paralysis agitans*’ observée chez six patients. Deux siècles plus tard, la maladie de Parkinson (MP; nommée ainsi par Jean-Martin Charcot dans les années 1860) est estimée avec une prévalence de 0.2% dans la population générale et atteint jusqu’à 1% pour les personnes âgées de plus de 60 ans, ce qui en fait la seconde maladie neurodégénérative après la maladie d’Alzheimer (de Rijk et al., 1997; de Lau and Breteler, 2006). Généralement, la MP est diagnostiquée entre 55 et 65 ans mais des formes précoces ont été décrites. La prévalence, distribuée de manière égale entre les hommes et les femmes (de Lau and Breteler, 2006), pourrait encore s’accroître avec l’allongement de la vie, ce qui confère à la MP un impact socio-économique très important.

I. 2. Symptômes

Les troubles moteurs les plus handicapant observés dans la MP sont généralement classés en 4 symptômes cardinaux :

La rigidité est causée par une augmentation du tonus musculaire (hypertonie musculaire généralisée). Elle peut être définie par une résistance augmentée des mouvements faisant intervenir les articulations. L’hypertonie requiert alors des mécanismes compensatoires de la part des contrôles moteurs pour surpasser cette contrainte motrice supplémentaire. La rigidité affecte quasiment tous les muscles avec une prédominance des muscles fléchisseurs (Delwaide et al., 1986).

La bradykinésie correspond à un ralentissement du mouvement (Wilson, 1925). Observée dès le début de la maladie (Samii et al., 2004), elle correspond à un déficit de la planification,

de l'initiation et de l'exécution du mouvement. Un exemple typique de ce symptôme est le trépignement à l'initiation de la marche. La raréfaction et la complète extinction du mouvement peut ensuite survenir et correspond à l'**akinésie**. La bradykinésie est souvent considérée comme un des symptômes les plus handicapant de la MP car elle touche les activités de la vie quotidienne comme manger, écrire ou se laver.

L'instabilité posturale est une manifestation plus tardive. Elle se réfère au développement d'un déséquilibre, menant à une augmentation du nombre de chutes. L'instabilité posturale est souvent associée une anomalie de la démarche. Ainsi, ce trouble constitue également un symptôme très handicapant (Bloem, 1992).

Le tremblement de repos est le symptôme le plus caractéristique de la MP même s'il est retrouvé chez seulement 70 à 80% des patients. Il s'agit d'un tremblement lent et régulier avec une fréquence entre 4 et 6 hertz qui apparaît généralement de manière asymétrique au début de la maladie (Stanley-Jones, 1956).

Ces 4 éléments cliniques sont retrouvés dans différentes proportions selon les patients. Ils peuvent varier en temps et en intensité selon différents facteurs comme les émotions, le stress, les stimuli auditifs ou visuels. Le diagnostic clinique de la MP repose sur la présence d'un syndrome parkinsonien défini par : la bradykinésie accompagnée d'au moins un des trois autres composants (rigidité, tremblements, instabilité posturale) (Quinn, 1997).

Enfin, un certain nombre de troubles non-moteurs sont également présents dans la MP. Souvent observés dans les phases précoces, ils peuvent êtres dus à la déplétion dopaminergique ou à l'atteinte des autres systèmes monoaminergiques. On peut ainsi retrouver des déficits cognitifs comme des problèmes d'attention ou un ralentissement de la pensée (Caballol et al., 2007) ou encore des altérations de l'humeur et notamment de l'anxiété et de la dépression (Jankovic, 2008). De même, on retrouve des altérations du sommeil caractérisées notamment par de la somnolence diurne excessive et une diminution du sommeil lent profond (Knie et al., 2011). Parmi les troubles du sommeil on retrouve aussi une agitation nocturne au cours du sommeil paradoxal, durant laquelle l'inhibition des mouvements n'est plus effectuée et donne lieu à des mouvements brusques et parfois violents (Boeve et al.,

2007). Une anosmie est également souvent reportée de manière très précoce (Doty, 2012). Enfin, des problèmes gastro-intestinaux comme la constipation sont souvent décrits (Lebouvier et al., 2009).

I. 3. Physiopathologie

Comme de nombreuses autres maladies neurodégénératives, en plus du diagnostic clinique, une évaluation anatomopathologique est nécessaire. La principale caractéristique histologique de la MP, est la perte neuronale au niveau de la Substance Noire *pars compacta* (SNc) associée à des inclusions cytoplasmiques appelées ‘corps de Lewy’. Celle-ci est nettement visible par une perte de la pigmentation cellulaire provenant de la disparition de la mélanine. La MP fait ainsi partie de la famille des synucléinopathies, qui comprend également l’atrophie multisystématisée et la démence à corps de Lewy.

I. 1. a. Les corps de Lewy

Les corps de Lewy sont des inclusions neuronales éosinophiles constituées d’une accumulation anormale de plusieurs protéines dont l’ α -synucléine (Spillantini et al., 1998). Ils se présentent sous la forme d’inclusions intracytoplasmiques circulaires de 5 à 25 μ m avec un centre éosinophile dense et une couronne pâle. En plus de l’accumulation d’ α -synucléine, la présence de neurofilaments et de tubuline suggère une altération du cytosquelette (Goldman et al., 1983; Gibb et al., 1991; Uitti and Calne, 1993) et une altération de la dégradation des protéines illustre une atteinte du protéasome et du lysosome (Tofaris, 2012; Dehay et al., 2013). A ce jour, on ne sait toujours pas si la présence de corps de Lewy reflète un mécanisme de défense de la cellule ou s’ils sont directement impliqués dans le processus neurodégénératif (Agid, 1991; Agid et al., 1993; Langston, 1996; Lebouvier et al., 2009).

De manière caractéristique, les corps de Lewy sont présents dans les neurones dopaminergiques de la SNc (Gibb et al., 1991; Agid et al., 1993) mais leur présence est retrouvée dans un grand nombre de structures cérébrales allant du bulbe rachidien au cortex sensoriels et moteurs (Halliday et al., 1990; Jellinger, 1991; Braak et al., 2003). Cette découverte a ainsi conduit à la description de différents stades de progression de la maladie (Braak et al., 2003). Il est cependant important de noter que ces observations décrivent uniquement l’accumulation de corps de Lewy dans le temps et non le processus neurodégénératif.

La théorie de Braak repose sur l'observation d'un motif évolutif de l'accumulation d' α -synucléine s'étendant de manière progressive à différentes régions cérébrales. L'expression topographique de corps de Lewy a permis à Braak de distinguer 6 stades de synucléinopathie idiopathique (**Figure 1**):

Les deux premiers stades correspondent à une période préclinique de la maladie et pourraient durer jusqu'à plusieurs dizaines d'années.

Le stade 1 débute par l'apparition de corps de Lewy au niveau du noyau dorsal moteur du nerf vague et dans les bulbes olfactifs. Lors de cette période présymptomatique, on ne peut pas encore parler de MP car aucun syndrome parkinsonien n'est observable mais des signes comme des troubles de l'olfaction peuvent être retrouvés et peuvent orienter vers une suspicion de MP (Doty, 2012).

Le stade 2 est toujours limité au tronc cérébral mais s'étend au noyau pédonculopontin, au locus coeruleus et au noyau du Raphé. Des dysfonctions du système autonome associées comme une augmentation du pouls, une baisse de la tension orthostatique pourraient être des signes précliniques de la MP (Goetz et al., 1986).

Avec la survenue des stades 3 et 4, les signes cliniques se font plus évidents.

Le stade 3 est caractérisé par l'atteinte de la SNc. Bien que paraissant intacte au niveau macroscopique, la perte des neurones de la SNc marque le début des symptômes moteurs et rend possible le diagnostic clinique. Le processus d'accumulation d' α -synucléine affecte également des structures comme l'amygdale et le noyau basal de Meynert, entraînant des troubles de la perception de la douleur et des émotions (Winkler et al., 2011).

Le stade 4 continue l'expansion du processus de dissémination des corps de Lewy et atteint les régions limbiques et corticales. Lors de ce stade, on observe les premiers symptômes psychiatriques.

Enfin, les stades 5 et 6 surviennent dans les phases avancées de la maladie.

Les stades 5 et 6 correspondent à une dissémination maximale des corps de Lewy et du processus neurodégénératif. Les systèmes autonomes, somato-moteur et limbiques sont

touchés. Le néocortex est davantage touché et les troubles cognitifs empirent. Les signes cliniques de la MP sont évidents et la dépigmentation de la SNc est avancée.

Même si cette théorie semble très séduisante, elle possède d'importantes limites. Notamment car il est impossible d'être sûr que les patients classés dans les stades précliniques auraient effectivement développé la MP. De plus, entre 6,3 et 43% des patients parkinsoniens ne suivent pas ce motif d'accumulation d' α -synucléine (Jellinger, 2009).

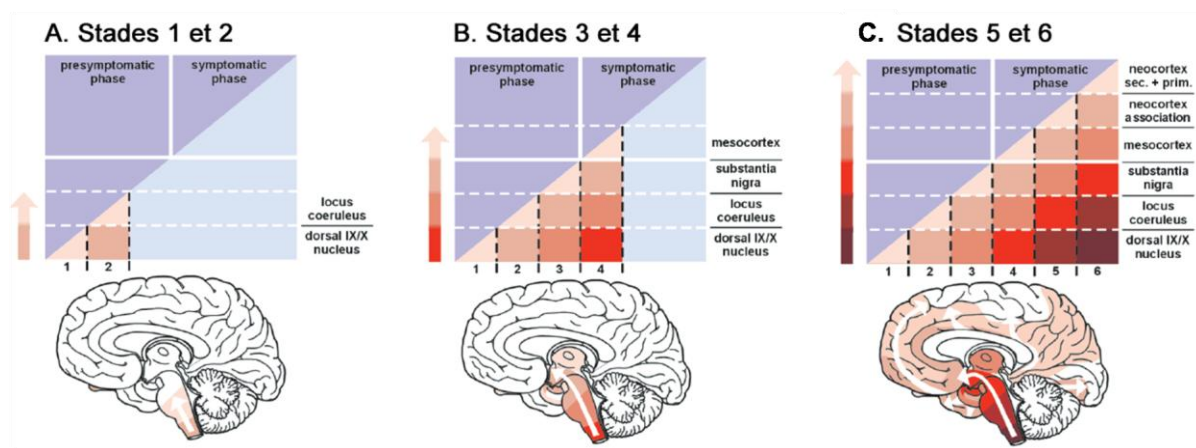


Figure 1

Motif évolutif de l'accumulation d' α -synucléine dans le cerveau (Braak et al., 2002).

Les diagrammes permettent de visualiser sur l'axe des abscisses l'extension du processus en terme de sévérité : **A.** pendant la phase « préclinique » (**stades 1 et 2**), les corps de Lewy sont localisés au niveau du bulbe olfactif, du système nerveux entérique, du complexe coeruleus/subcoeruleus ; **B.** la phase « clinique » (**stades 3 et 4**), atteinte de la substance noire ; **C.** et la phase « tardive » (**stades 5 et 6**) où les corps de Lewy sont retrouvés au niveau du cortex cérébral. Code couleur : plus le rouge est foncé, plus la proportion de corps de Lewy est importante.

I. 1. b. Déplétion dopaminergique : de la substance noire au striatum

Comme mentionné précédemment, la MP se caractérise par une perte bilatérale importante des neurones de la SNc (Hassler, 1938). Cette dégénérescence conduit à une baisse drastique des niveaux de dopamine dans le striatum et cause une dysfonction au sein du réseau des ganglions de la base. Il est à noter que la déplétion est plus important dans la voie nigrostriatale que dans la voie mésolimbique (Javoy-Agid and Agid, 1980; Scatton et al., 1982; Hirsch et al., 1988). Il est admis que les symptômes moteurs apparaissent lorsque la

perte neuronale dans la SNc atteint environ 50% (Riederer and Wuketich, 1976; Damier et al., 1999). Alors que la perte des neurones de la SNc peut atteindre jusqu'à 80% dans les stades avancés de la maladie, la dégénérescence au niveau de l'aire tegmentale ventrale (ATV) varie entre 36 et 55% (Uhl et al., 1985). Le fait que l'ATV ne soit pas directement impliquée dans les symptômes moteurs de la MP a conduit à une mise à l'écart, de la part des premiers travaux, de l'étude des altérations de la voie mésolimbique. Cependant, des études plus récentes ont démontré un rôle important de cette voie dans des aspects plus cognitifs de la maladie comme l'apathie (Levy and Dubois, 2006; Thobois et al., 2013), la rigidité cognitive (Brown and Marsden, 1990) ou les déficits attentionnels (Troster, 2008).

Etonnamment, il a fallu attendre les années 1950 pour faire le lien entre la perte neuronale au niveau de la SNc et la déplétion dopaminergique dans le striatum. Dans une étude sur l'akinésie induite par la réserpine chez la souris, Carlsson et collègues ont découvert une déplétion dopaminergique dans le striatum qui pouvait être corrigée par la L-Dopa (Carlsson et al., 1957; Carlsson et al., 1958). Des analyses *post-mortem* sur des patients parkinsoniens akinétiques ont par la suite confirmé une sévère déplétion dopaminergique au niveau du striatum (Ehringer and Hornykiewicz, 1960). Des travaux ultérieurs ont indiqué que la baisse des taux de dopamine dans le striatum dorsal pouvait atteindre 75% avant que les premiers symptômes moteurs n'apparaissent (Scherman et al., 1989). Enfin, dans les années 1960, des études ont montré que la dopamine provenant de la SNc était présente au niveau des terminaisons dans le striatum et que les neurones de la SNc envoyaient leurs axones dans le striatum (Anden et al., 1964; Dahlstroem and Fuxe, 1964). Toutes ces études ont contribué à établir le lien entre la mort neuronale dans la SNc, la déplétion dopaminergique dans le striatum et les troubles moteurs.

I. 1. c. Autres altérations monoaminergiques

Bien que l'altération du système dopaminergique soit la plus décrite, les autres systèmes monoaminergiques sont également affectés. Comme mentionné précédemment, l'accumulation de corps de Lewy se fait dans divers régions cérébrales (Braak et al., 2002). Ainsi, la dégénérescence des systèmes monoaminergiques pourrait survenir dès les premiers stades de la MP.

La noradrénaline semble affectée de manière très importante. La dégénérescence des neurones du locus coeruleus peut atteindre 80% (Ehringer and Hornykiewicz, 1960; Zarow et al., 2003). Dans les stades avancés de la maladie, la perte neuronale dans le locus coeruleus est, de ce fait, aussi importante que celle observée dans la SNc.

La sérotonine est également touchée. La perte cellulaire au niveau du noyau du raphé peut atteindre jusqu'à 40% (Halliday et al., 1990; Jellinger, 1991).

Ensemble, les déplétions noradrénergiques et sérotoninergiques sont suspectées de sous-tendre les troubles affectifs de la MP comme la dépression (Agid et al., 1990).

L'acétylcholine diminue également. La perte neuronale au sein du noyau basal de Meynert et dans le noyau pédonculopontin atteint environ 50%, et semble engendrer les troubles axiaux et posturaux (Halliday et al., 1990; Jellinger, 1991).

Enfin, il faut noter qu'outre les altérations affectant les centres monoaminergiques sous-corticaux, les corps de Lewy sont également retrouvés des aires corticales (Braak et al., 2003). Dans les stades plus avancés de la MP, des lésions corticales sont décrites et pourraient ainsi participer au processus physiopathologique (MacDonald and Halliday, 2002; Halliday et al., 2005).

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

Les ganglions de la base forment un groupe de structures sous-corticales participant au contrôle extrapyramidal des mouvements. Ils sont impliqués dans la planification et l'exécution d'une séquence motrice volontaire. En interagissant avec d'autres structures comme le thalamus et le cortex cérébral, les ganglions de la base forment un vaste réseau nommé la boucle 'cortico-striato-thalamo-corticale'. Ce circuit, modulé par les fibres dopaminergiques provenant de la SNc, est à l'origine de la régulation des mouvements volontaires (Parent and Hazrati, 1995a, b).

Les connaissances grandissantes sur le fonctionnement des ganglions de la base ont conduit à de nombreux modèles de leur organisation anatomo-fonctionnelle. Entre autres, le modèle du fonctionnement normal et pathologique a été proposé Alexander et Crutcher, avec l'idée d'une voie directe (activatrice) et d'une voie indirecte (inhibitrice) (Alexander et al., 1986; Alexander and Crutcher, 1990). Ce modèle a par la suite été complété pour expliquer

l'akinésie et les dyskinésies observées dans la MP, comme étant un déséquilibre entre les deux voies (Albin et al., 1989; DeLong, 1990). Ce modèle, bien que très utile pour la compréhension de l'organisation et du fonctionnement des ganglions de la base, est cependant critiqué. En effet, il est décrit comme trop simpliste et ne tient pas compte de nombreuses connexions entre les différentes régions à l'intérieur et à l'extérieur des ganglions de la base. Par exemple, des voies reliant le cervelet au striatum ont été plus récemment décrites (Hoshi et al., 2005; Bostan et al., 2010). De même, d'autres travaux ont montré que la boucle thalamo-corticale n'était pas nécessairement close comme précédemment suggéré (Joel and Weiner, 1994). Ainsi, d'autres modèles du fonctionnement des ganglions de la base ont été proposés, comme l'inhibition des programmes moteurs concurrents (Mink, 1996). Cette hypothèse considère que lorsqu'un mouvement volontaire est généré, les aires corticales motrices envoient un signal conjoint au noyau subthalamique (NST) qui à son tour excite de manière diffuse la partie interne du globus pallidus (GPi) et la substance noire *pars reticularis* (SNr) créant une inhibition du générateur de commandes motrices des mouvements concurrents. Au même moment, les régions corticales motrices envoient des informations au striatum qui les filtre et les transforme en fonction du contexte et ainsi inhibe le GPi et la SNr levant de ce fait l'inhibition motrice pesant sur le mouvement désiré. De cette manière, les sorties des ganglions de la base agissent focalement pour sélectionner la commande motrice souhaitée et inhibent les commandes compétitrices afin de permettre l'exécution du mouvement (**Figure 2**).

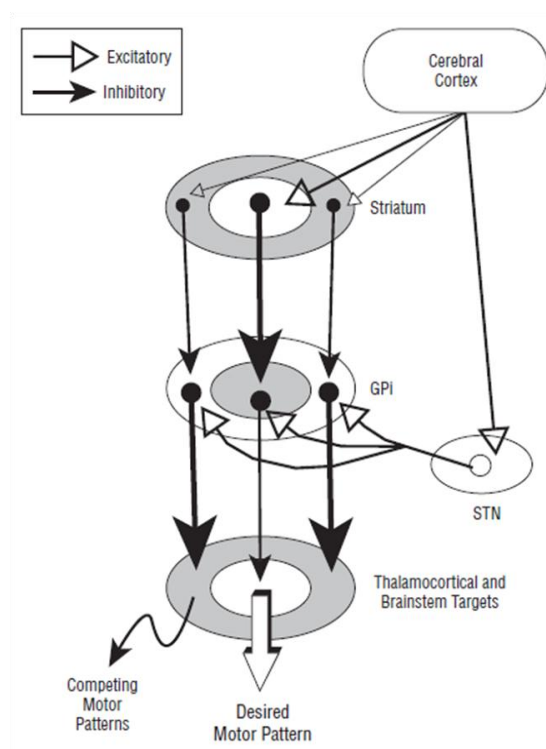


Figure 2

Modèle du fonctionnement des ganglions de la base : l'inhibition des programmes moteurs concurrents (Mink, 1996).

Les flèches blanches représentent les projections excitatrices et les flèches noires les projections inhibitrices. Gpi = Globus pallidus interne ; STN = Noyau sous-thalamique.

L'hypothèse d'un fonctionnement en spirale quant à elle, se base sur la présence de voies striato-nigro-striatales formant une boucle close entre la SNc et le striatum mais aussi d'une voie à sens unique allant du striatum à la SNr (Haber et al., 2000). Elle part du principe qu'une libération tonique de dopamine diminue la réponse des neurones du striatum et qu'une libération phasique augmente leur réponse. Ainsi, la dopamine peut inhiber les entrées corticostriatales parasites et faciliter l'activité un circuit corticostriatal précis. Lorsque les boucles sont closes il y a une inhibition de la libération phasique de dopamine. A l'inverse, si la voie est à sens unique, elle projette vers un interneurone GABAergique résultant en une désinhibition et donc une augmentation de la libération phasique de dopamine. Un signal retour inhibiteur facilitera ensuite le transfert de l'information à l'étape suivante de la spirale. Ce signal cheminera jusqu'au striatum dorsal pour engendrer la commande motrice (**Figure 3**).

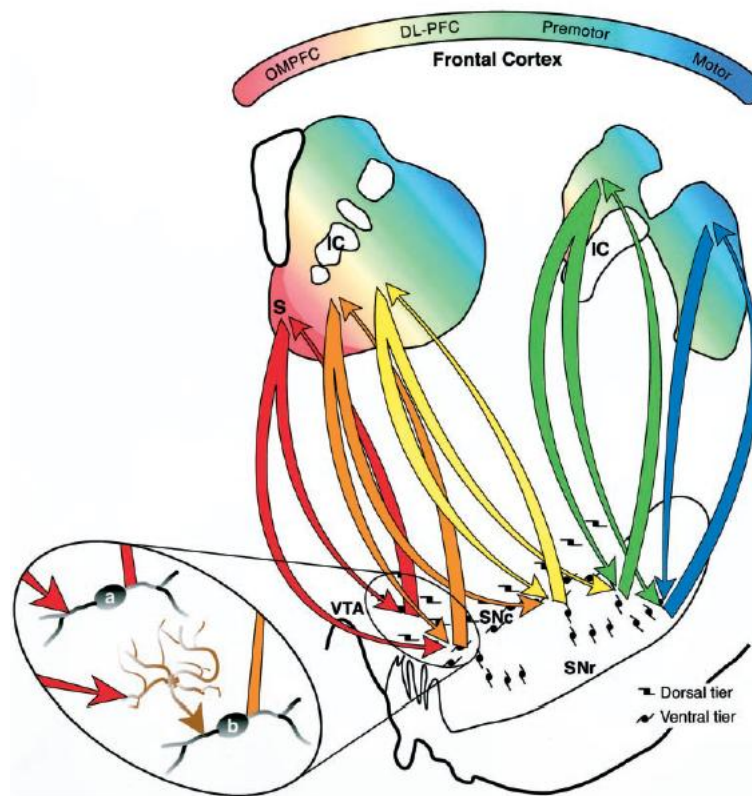


Figure 3

Modèle du fonctionnement des ganglions de la base : les boucles striato-nigro-striatales et le fonctionnement en spirale (Haber et al., 2000).

Le gradient de couleur illustre l'organisation des entrées cortico-striatales : rouge = limbique ; vert = associatif ; bleu = moteur. SNr = Substance noire réticulée ; VTA = Aire tegmentale ventrale ; S = 'Shell' du noyau accumbens ; IC = Capsule interne ; OMPFC = cortex préfrontal orbitaire et médian ; DL-PFC = Cortex préfrontal dorso-latéral. (a) voie projetant directement sur un neurone dopaminergique ; (b) voie projetant indirectement sur un neurone dopaminergique *via* un neurone GABAergique.

1. 2. a. L'état normal

Chez l'humain, le **striatum dorsal** est considéré comme la structure d'entrée des ganglions de la base. Il se compose du **noyau caudé** et du **putamen** (NB: cette distinction n'est pas retrouvée chez le rongeur) séparés par la capsule interne. Le striatum reçoit des projections glutamatergiques excitatrices provenant notamment des cortex moteur, prémoteur et préfrontal ainsi que l'aire motrice supplémentaire.

Une partie du striatum (>95%) est composé de neurones épineux de taille moyenne (NEM) qui tirent leur nom de leur taille (entre 10 et 20 μ m) et de leur forme (une riche arborisation dendritique avec de nombreux boutons synaptiques (Bolam and Smith, 1990). Ils constituent

les **neurones efférents** du striatum et expriment le GABA (acide γ -aminobutyrique). On distingue deux populations de NEM, une première exprimant la substance P ainsi que la dynorphine (Bolam and Smith, 1990) et le récepteur D1 (Alexander and Crutcher, 1990). Cette population forme la ‘voie directe’ et envoie des projections au segment interne du **globus pallidus** ainsi qu’à la **substance noire pars reticularis**. Ces dernières projettent sur la partie ventro-latérale (motrice) du **thalamus**. Dans cette voie, le striatum envoie des projections directes inhibant l’activité tonique du GPi et de la SNr, ce qui entraîne une levée de l’inhibition du thalamus. En résulte une facilitation du mouvement.

La deuxième population de NEM exprime l’enképhaline (Gerfen et al., 1990) et le récepteur D2 (Alexander and Crutcher, 1990). De par ses projections vers des structures ‘relais’ avant les sorties motrices, cette voie est appelée ‘voie indirecte’. Les neurones striataux projettent vers le segment externe du **globus pallidus** (GPe) qui, à leur tour, projettent vers le **noyau subthalamique**. De façon intéressante, le NST est la seule structure excitatrice (glutamatergique) des ganglions de la base. En résumé, les NEM D2 du striatum inhibent les neurones GABAergiques du GPe, ce qui engendre une levée de l’inhibition des neurones glutamatergiques du NST. En résulte une activation du GPi, exacerbant l’inhibition de la partie motrice du thalamus et ainsi empêchant l’exécution du mouvement volontaire (**Figure 4**).

Le second type de neurones présent dans le striatum est constitué des **interneurones**, qui conservent leurs projections au sein du striatum et représentent 5% des neurones striataux. Ils sont plus gros que les NEM (jusqu’à 60 μ m) et lisses. Quatre types d’interneurones ont été identifiés : les neurones contenant de l’acétylcholine, les neurones GABA contenant de la parvalbumine, les neurones produisant de la somatostatine et le neuropeptide Y, les neurones contenant de la calrétinine (DiFiglia et al., 1976; Bennett and Bolam, 1994a, b; Kawaguchi et al., 1995).

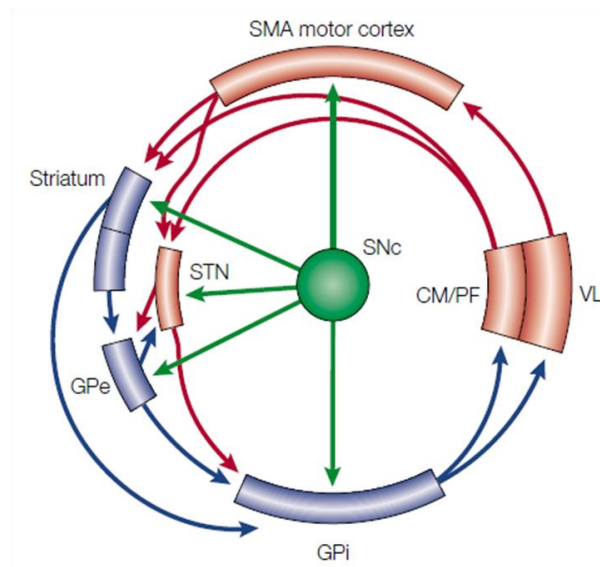


Figure 4

Organisation anatomofonctionnelle des boucles cortico-striato-thalamo-corticales (d'après Bezard et al., 2001).

La couleur rouge correspond aux voies excitatrices glutamatergiques, la couleur bleue correspond aux voies inhibitrices GABAergiques et la couleur verte correspond aux voies dopaminergiques. SNc = Substance noire compacte ; GPe = Globus pallidus externe ; GPi = Globus pallidus interne ; STN = Noyau subthalamique ; CM/PF = Noyaux thalamiques centromédian et parafasciculaire ; VL = Thalamus ventro-latéral ; SMA motor cortex = Aire motrice supplémentaire.

I. 2. b. L'état parkinsonien

La disparition des neurones de la SNc survenant dans la MP rompt l'homéostasie dopaminergique et engendre des dysfonctionnements majeurs dans le réseau des ganglions de la base (Albin et al., 1989; DeLong, 1990; Mallet et al., 2006) .

Au sein de la **voie directe**, l'inhibition réduite du striatum sur le GPi et la SNr résulte en une augmentation de l'activité inhibitrice du GPi sur le thalamus ventro-latéral. L'hypoactivité de ce réseau donne lieu à une diminution des mouvements volontaires.

Dans la **voie indirecte**, une augmentation de l'activité inhibitrice du striatum lève l'inhibition du GPe sur le NST. Les neurones du NST vont alors décharger de manière plus régulière avec une réduction de décharges en bouffées ce qui conduit à une fréquence basale de décharge plus élevée (Kreiss et al., 1997). Ceci donne lieu à une hyperactivité du GPi qui, à son tour, engendre une activation réduite du thalamus ventro-latéral. Ensemble, les altérations

décrit comme étant impliqué dans le traitement des émotions et les troubles de l'humeur (Marchand, 2010).

Le striatum a également été largement documenté pour son implication dans l'apprentissage et la mémoire (Packard and Knowlton, 2002), comme par exemple l'apprentissage associatif (Pasupathy and Miller, 2005) ou l'apprentissage procédural (Yin and Knowlton, 2006).

Enfin, une implication du striatum a été montrée dans les processus de prise de décision ou de motivation pour une récompense (Mink, 1996; Nestler and Carlezon, 2006; Yin and Knowlton, 2006; Lenz and Lobo, 2013). Les neurones dopaminergiques sont connus pour coder la survenue d'une récompense (Schultz, 1998). La plupart des travaux étudiant l'addiction ont mis en lumière l'implication de la voie mésolimbique dans l'effet récompensant des drogues et se sont principalement intéressés au striatum ventral (aussi appelé noyau accumbens ; NAc) (Hyman et al., 2006). Comme décrit précédemment pour le striatum dorsal, le NAc possède également des NEM D1- et D2-positifs (Lu et al., 1998). Bien que ces populations neuronales ne soient pas séparées de la même manière que dans le striatum dorsal, (Smith et al., 2013), une activation différentielle de chaque population a un effet opposé sur les comportements induits par les drogues d'abus (Lobo et al., 2010). D'autres structures des ganglions de la base recevant des afférences du NAc ont également été décrites dans les comportements de prise de drogue. Parmi ces dernières, le pallidum ventral semble impliqué dans l'addiction (Hubner and Koob, 1990; Smith et al., 2009). De plus, il est important de noter que les voies nigrostriées et mésolimbiques ne sont pas complètement distinctes du point de vue anatomique et fonctionnel (Dahlstroem and Fuxe, 1964). Les neurones des deux régions projettent vers le striatum via le faisceau médian du télencéphale (FMT) (Ungerstedt, 1971a) et il a été démontré chez le rat que l'autostimulation électrique de la SNc était récompensante (Corbett and Wise, 1980). Il apparaît donc qu'aussi bien les voies nigrostriées que mésolimbiques (et leur connexions respectives) sont impliquées dans le traitement de la récompense (Wise, 2009).

I. 3. Etiologie de la maladie de Parkinson

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la mort neuronale observée dans la MP. Une altération des mitochondries et un stress oxydatif à l'origine de radicaux libres ont été proposés (Schapira et al., 1990; Zhou et al., 2008; Tsang and Chung, 2009).

Cependant, la cause de ces dysfonctions reste, à ce jour, mal comprise. Le vieillissement, les infections virales ou bactériennes ainsi que des mécanismes auto-immuns ont été proposés puis finalement rejetés. De nos jours, l'origine de la MP est considérée comme multifactorielle. Des prédispositions génétiques, l'exposition à des toxines ou des causes environnementales pourraient agir de façon conjointe, rendant des sujets prédisposés plus sensibles à des agents environnementaux.

I. 3. a. Facteurs génétiques

Dans la plupart de cas, la MP est une maladie sporadique. Cependant, dans 10% des cas, la maladie est observée chez un membre de la famille. Dans ces dernières, les patients parkinsoniens ont un risque de 20% de retrouver un de leur parent atteint de la MP. De manière intéressante, dans les rares cas de formes familiales de la MP, des mutations génétiques ont été décrites et affectent différents gènes et différentes fonctions :

Mutations de l'alpha-synucléine : située sur le gène codant pour des protéines synaptiques (Park1 and Park4) ces mutations sont généralement associées à un syndrome parkinsonien précoce avec une progression rapide (Polymeropoulos et al., 1996; Polymeropoulos et al., 1997; Singleton et al., 2003; Farrer et al., 2004; Ki et al., 2007). Découvertes à la fin des années 1990, dans des formes familiales de la MP, des mutations 'faux-sens' du gène codant pour l'alpha-synucléine (SNCA) telles qu'A53T et A30P ont révélé une agrégation accrue de l'alpha-synucléine. Plus récemment, d'autres mutations du même type ont été décrite, comme E46K, H50Q, G51D (Deleersnijder et al., 2013). Par ailleurs, des formes héréditaires autosomales dominantes de la MP ont été retrouvées lors de duplications ou une triplications du gène codant pour l'alpha-synucléine (Singleton et al., 2003; Farrer et al., 2004). Ces dernières donnent lieu à une surexpression d'alpha-synucléine. Ensemble, ces mutations ont souligné l'importance de l'alpha-synucléine dans la genèse des formes familiales et sporadiques de la MP.

Dysfunction du complexe Ubiquitine-protéasome : l'identification de mutation sur le gène de la parkine (Park2) (Kitada et al., 1998) codant pour l'ubiquitine-ligase E3 (Shimura et al., 2000) et sur le gène de l'ubiquitine carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1) (Park5) (Leroy et al., 1998) ont mis en lumière l'implication de déficits de la dégradation protéique dans l'émergence de certains cas de formes familiales de la MP.

Dysfonctions mitochondriales : dans les cas sporadiques de la MP, une dysfonction du complexe 1 de la mitochondrie a été observé suggérant un rôle important de la mitochondrie dans les mécanismes neurotoxiques de la MP (Schapira et al., 1990). Dans certains cas familiaux de la MP, des mutations dans le gène mitochondrial de la protéine kinase pink1 (PTEN-induced putative kinase 1) (Park6) ont été découvertes et associées à un syndrome parkinsonien précoce (Valente et al., 2004).

I. 3. b. Facteurs environnementaux

L'un des exemples les plus célèbres de facteur environnemental à l'origine d'un syndrome parkinsonien est le MPTP (1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tetrahydropyridine). Ce composé toxique a été décrit pour la première fois en 1982 chez 4 héroïnomanes californiens voulant tester une nouvelle drogue hallucinogène (un analogue de la mépéridine) dérivé de l'héroïne. Quelques jours plus tard, ils développèrent un syndrome parkinsonien très sévère répondant à la L-Dopa (Langston et al., 1983). Une analyse histologique révéla une perte cellulaire sélective des neurones de la SNc (Langston et al., 1984).

Le MPTP n'est pas toxique en lui-même mais c'est un composé lipophile qui peut passer la barrière hémato-encéphalique (Markey et al., 1984). Une fois dans les cellules gliales, il est métabolisé en MPP⁺ (1-méthyl-4-phénylpyridinium) par la monoamine oxydase B (MAO-B), libéré dans le milieu extracellulaire et peut alors entrer dans les neurones dopaminergiques par le transporteur de la dopamine (DAT) (Javitch et al., 1985; Mayer et al., 1986). Le MPP⁺ peut ensuite (i) se lier au transporteur vésiculaire des monoamine 2 (VMAT2) et être séquestré dans les vésicules synaptiques (Liu et al., 1992), (ii) s'accumuler dans les mitochondries et bloquer le complexe I de la chaîne de transport d'électrons (Ramsay and Singer, 1986), (iii) interagir avec les enzymes porteuses de charges négatives du cytosol (Klaidman et al., 1993). Toutes ces perturbations engendrent la libération de radicaux libres (reactive oxygen species, ROS), réduisant la production d'ATP et *in fine* mènent à la mort cellulaire (Cohen, 1984).

A plus grande échelle, les études épidémiologiques sur les causes environnementales de la MP ont révélé une plus forte prévalence dans les pays industrialisés et principalement en région rurale où les pesticides sont couramment utilisés (Semchuk et al., 1992; Tanner, 1992;

Le Couteur et al., 1999). Des agents chimiques comme le paraquat, qui est structurellement similaire au MPP+, et la roténone qui agit au niveau de la mitochondrie sont largement utilisés et sont suspectés de jouer un rôle dans l'étiologie de la MP (Hatcher et al., 2008).

Enfin, d'autres facteurs ont été proposés. Une exposition prolongée à certains métaux lourds comme le plomb ou le manganèse sont suspectés d'être un facteur de risque pour le développement de la MP (Coon et al., 2006; Migliore and Coppede, 2009). Des fruits exotiques comme le corossol (*annona muricata*) (Caparros-Lefebvre and Elbaz, 1999; Lannuzel et al., 2006) ou les noix de cycade (Cox and Sacks, 2002) contiennent des éléments neurotoxiques capables de provoquer des symptômes parkinsoniens.

A ce jour cependant, aucun composé semblable au MPTP et aucun agent chimique n'a été démontré comme pouvant induire une MP sporadique, limitant ainsi l'impact des études épidémiologiques.

II. Traitements

Actuellement, il n'y a pas de traitement capable de réduire ou stopper le processus neurodégénératif de la MP (Goetz et al., 2005; Meissner et al., 2011). Des travaux visant à trouver des stratégies à long terme ont cependant été réalisés ou sont en cours. Au début des années 1990, la transplantation de cellules embryonnaires a été entreprise dans le striatum de patients parkinsoniens (Lindvall et al., 1990). Malgré de bons résultats sur les performances motrices, l'apparition de dyskinésies induites par les greffes ou des accumulations de synucléine provenant du tissu hôte dans les cellules greffées ont ralenti le développement de ces techniques (Dunnett and Rosser, 2011). De nos jours, le développement des techniques de transfert de gènes offre de nouvelles opportunités. Des stratégies ciblant la synthèse de dopamine ou des mécanismes neuroprotecteurs sont en cours d'essai clinique (Meissner et al., 2011). En empêchant la déplétion dopaminergique ou la perte neuronale, ces traitements ont pour but d'améliorer la symptomatologie ou de retarder l'apparition des troubles. Certes prometteuses, ces stratégies sont toujours à l'étude et de nombreuses améliorations restent encore à faire avant de pouvoir les appliquer aux patients. Malgré l'intérêt certain qu'ils représentent, ces traitements dépassent le cadre de mon sujet de thèse ne seront pas davantage discutés ici.

II. 1. Les traitements symptomatiques

Les traitements disponibles à ce jour sont de nature pharmacologique ou neurochirurgicale. Ils ciblent principalement les symptômes moteurs de la maladie.

II. 1. a. Les traitements anticholinergiques

Le premier traitement pharmacologique de la MP a été initié par un disciple de Jean-Martin Charcot, Leopold Ordenstein en 1867. Bien qu'inexpliqué à l'époque, un effet bénéfique de l'atropine (*Atropa belladonna*) était observé sur les tremblements et la rigidité. Les agents anticholinergiques sont désormais connus pour réduire l'hyperactivité cholinergique du striatum provenant de la perte du contrôle inhibiteur de la dopamine nigrostrié (Quik and Wonnacott, 2011). Dans les années 1950, les dérivés synthétiques de l'atropine (de type benzatropine ou trihexyphenidyl) constituaient parmi les seuls traitements de la MP, dix ans avant l'arrivée de la L-Dopa. Les traitements antimuscariniques sont cependant moins utilisés de nos jours à cause de leurs nombreux effets secondaires comme la sécheresse buccale, les perturbations cognitives, les hallucinations, les déficits mnésiques ou les problèmes urinaires (Fahn, 1998; Schapira, 2007). Ils peuvent tout de même être utilisés à faibles doses dans les stades précoces de la MP comme traitement de première intention.

II. 1. b. La L-Dopa

La découverte de la levodopa (L-Dopa; L-dihydroxyphenylalanine) dans les années 1960 fut une réelle révolution dans le traitement de la MP. Un simple traitement oral a montré des effets spectaculaires sur les symptômes moteurs de la MP (Carlsson et al., 1958; Birkmayer and Hornykiewicz, 1961; Cotzias et al., 1969). La L-Dopa est le précurseur de la dopamine et, contrairement à cette dernière, elle est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique. Une fois dans le système nerveux central, la L-Dopa est majoritairement métabolisée en dopamine par les fibres dopaminergiques restantes et les neurones sérotoninergiques (Schwartz and Huston, 1996; Carta et al., 2007; Navailles et al., 2010). Tout d'abord utilisée seule à des doses élevées, la L-Dopa est désormais associée à un inhibiteur de la dopa-décarboxylase (benserazide ou carbidopa) qui ne passe pas la barrière hémato-encéphalique empêchant ainsi la décarboxylation périphérique de la L-Dopa responsable d'hypotension artérielle et de nausées.

A ce jour, la L-Dopa demeure le traitement phare de la MP. Son efficacité sur les symptômes moteurs est indéniable et a considérablement participé à l'amélioration de la qualité de vie des patients parkinsoniens. Cependant, d'importantes limites ont été décrites au fil des années. Le traitement à la L-Dopa présente 3 stades que l'on retrouve chez la quasi-totalité des patients (Rascol et al., 2000):

La période de '**Lune de miel**' correspond au premier stade du traitement. Lorsque le diagnostic de la MP est avancé, le traitement à la L-Dopa débute et supprime de manière très efficace les symptômes moteurs. Cette période dure entre 3 à 6 ans avec un suivi rigoureux du traitement.

Les **fluctuations motrices** apparaissent ensuite. Elles consistent en une variation imprévisible des capacités motrices. Les fluctuations peuvent varier en temps et en intensité selon les patients mais sont retrouvées chez 90% des malades prenant de la L-Dopa après 10 ans de traitement. On retrouve également les **dyskinésies**, qui sont des mouvements anormaux involontaires, après 3 à 6 ans de traitement à la L-Dopa et dont l'expression peut varier selon l'état de fatigue ou de stress (décrit ci-dessous, paragraphe II. 2. a).

La **perte d'efficacité de la L-Dopa** constitue le dernier stade. Elle se réfère à une perte quasi-totale des effets de la L-Dopa ainsi qu'à l'apparition de symptômes ne répondant pas à la L-Dopa. Les bénéfices thérapeutiques de la L-Dopa diminuent ainsi avec la progression de la maladie.

La L-Dopa a montré d'importantes capacités à améliorer la qualité de vie des patients. Cependant, avec l'apparition de ses limitations et de ses effets secondaires, un retardement du traitement à la L-Dopa est actuellement préféré afin de profiter le plus longtemps possible de son efficacité.

II. 1. c. Les agonistes dopaminergiques

Parmi les médicaments utilisés pour retarder l'utilisation de la L-Dopa, les agonistes des récepteurs dopaminergiques (couramment nommés agonistes dopaminergiques) sont souvent prescrits en première intention. De par leur plus longue élimination plasmatique que la L-Dopa, leur utilisation fut d'abord proposée comme un moyen d'obtenir une stimulation dopaminergique plus stable et donc éviter les fluctuations motrices. Leur utilisation régulière

a commencé dans les années 1980 avec les agonistes dérivés de l'ergot de seigle comme la bromocriptine, la cabergoline et le pergolide ou non-dérivés de l'ergot de seigle comme l'apomorphine. Ils étaient utilisés en complément de la L-Dopa dans les stades avancés de la maladie pour éviter les fluctuations motrices et réduire les doses élevées de L-Dopa responsables de nombreux effets secondaires (Rascol et al., 2011). Ces agonistes possèdent cependant une sélectivité modérée pour les différents sous-types de récepteurs dopaminergiques. Ils agissent principalement sur les récepteurs D2 et D2-like (c'est-à-dire les récepteurs D3 et D4) mais montrent une certaine affinité pour les récepteurs D1 (pour l'apomorphine et le pergolide tout du moins). En plus d'améliorer les fluctuations observées dans les stades avancés, les agonistes dérivés de l'ergot de seigle ont également montré des bénéfices pour les stades précoces. Des études ont montré que les patients débutant leur traitement avec des agonistes dopaminergiques avaient de plus faibles risques de développer des complications motrices que les patients commençant avec de la L-Dopa (Montastruc et al., 1989; Rascol et al., 2000; Rascol et al., 2011). Ceci donna lieu à une utilisation des agonistes dopaminergiques en première intention puis de les compléter avec de la L-Dopa lorsque les symptômes ne peuvent plus être réduits par les agonistes dopaminergiques uniquement.

Dans les années 1990, les dérivés de l'ergot de seigle ont été décrits comme induisant des troubles fibrotiques (la vente de pergolide a été suspendue aux Etats Unis en 2007 à cause d'un risque augmenté de valvulopathies) et ont été remplacés par des agonistes dopaminergiques non-dérivés de l'ergot de seigle. Parmi eux, le ropinirole ou le pramipexole firent apparition. Ce sont des agonistes sélectifs complets des récepteurs D2/3 (Coldwell et al., 1999). Rapidement utilisés en monothérapie dans les stades précoces, ils ont été décrits comme retardant l'apparition des complications motrices en comparaison à L-Dopa (Parkinson Study, 2000). Après 6 années de suivi, les études ont montré que dans la plupart des cas, la L-Dopa était ajoutée au traitement chez la plupart des patients (Miyasaki, 2010). A ce jour, malgré les effets secondaires (décrits ci-dessous), les agonistes dopaminergiques sont utilisés en première intention pour retarder l'utilisation de la L-Dopa. Cependant, avec l'évolution de la maladie, leur efficacité diminue et la L-Dopa est ajoutée.

II. 1. d. La stimulation cérébrale à haute fréquence

Dans la MP, la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc engendre une hyperactivité des neurones glutamatergiques excitateurs du NST aussi bien au niveau métabolique (Mitchell et al., 1985; Vila et al., 1996) qu'électrophysiologique (Filion, 1979; Bergman et al., 1994; Kreiss et al., 1997). D'après cette découverte, il a été proposé qu'une inhibition de cette structure puisse être efficace sur les symptômes moteurs. Ainsi, dans les années 1990, des études lésionnelles du NST ont montré de bons résultats dans des modèles primate de la MP (Bergman et al., 1990; Aziz et al., 1991). Cependant, bien que réduisant les déficits moteurs du côté lésé, des mouvements involontaires apparurent du côté controlatéral à la lésion du NST. Ces résultats mirent fin à l'approche lésionnelle pour le traitement des troubles moteurs.

L'idée de réduire l'hyperactivité du NST ne disparut cependant pas complètement. La stimulation à haute fréquence du NST chez le singe-MPTP se montra très efficace sans présenter les effets secondaires observés avec la lésion (Benazzouz et al., 1993). Transférée chez l'humain, cette technique révéla des effets spectaculaires sur les symptômes moteurs de la MP, sans présenter de fluctuations motrices, et rendant ainsi aux patients leur autonomie (Pollak et al., 1993; Limousin et al., 1995; Benazzouz et al., 1996; Limousin et al., 1998). De manière pratique, deux électrodes sont implantées bilatéralement dans le NST et connectées à un stimulateur réglable placé dans la région sous-claviculaire permettant d'ajuster les paramètres de stimulation pour optimiser l'effet thérapeutique. En plus de son fantastique effet sur les symptômes moteurs, la stimulation cérébrale profonde permet de réduire considérablement (et parfois stopper) les traitements dopaminergiques et donc de réduire les dyskinésies (Vingerhoets et al., 2002; Rusmann et al., 2004).

La stimulation cérébrale profonde a permis une réelle amélioration de la qualité de vie des patients parkinsoniens. Son utilisation n'est cependant pas toujours possible. L'implantation est réservée aux patients présentant un syndrome parkinsonien idiopathique âgés de moins de 70 ans, ayant une bonne réponse à la L-Dopa mais d'importantes fluctuations motrices. Aucun trouble cognitif ou psychiatrique ne doit être observé et aucune autre maladie à caractère progressif ne doit être présente. Enfin, comme toute procédure chirurgicale, l'implantation possède des risques. Aussi bien pendant la chirurgie qu'après, où des problèmes infectieux peuvent survenir. Enfin dans de rares cas, la stimulation du NST peut induire des troubles du contrôle des impulsions (décrit ci-après, paragraphe II. 3. c.)

(Kulisevsky et al., 2002; Romito et al., 2002), principalement lorsqu'elle cible la partie ventrale du NST (Rodriguez-Oroz et al., 2011).

II. 2. Effets secondaires moteurs des traitements pharmacologiques

Comme mentionné précédemment, malgré sa grande efficacité, la L-Dopa est responsable de divers effets secondaires pouvant être observés après quelques années de traitement.

II. 2. a. Les fluctuations motrices et les dyskinésies

Les fluctuations motrices correspondent à une oscillation irrégulière entre des états 'OFF' où les déficits moteurs sont importants et des états 'ON' où les symptômes moteurs sont complètement corrigés. Les fluctuations motrices sont observées chez 95% des patients après 15 ans d'évolution de la maladie (Hely et al., 2005). Les premiers signes observés sont la diminution de l'effet d'une dose de L-Dopa (phénomène de wearing-off). Ils varient en fonction des taux plasmatiques et cérébraux de L-Dopa et peuvent être prédits par des signes cliniques comme les périodes OFF nocturnes ou du petit matin (Cenci et al., 2011). Avec l'évolution de la maladie, les fluctuations motrices deviennent plus fréquentes et imprévisibles menant à des phénomènes 'ON-OFF' durant lesquels les patients oscillent entre immobilité sévère et périodes d'importantes dyskinésies.

Les dyskinésies Levodopa induites (DLI) sont des mouvements anormaux involontaires fréquemment observés après 3 à 6 ans de traitement à la L-Dopa. Leur expression peut varier avec l'état de fatigue, de stress ou émotionnel et elles sont classées en 3 catégories :

- *Les dystonies de phase 'off'* : aussi connues sous le nom de 'dystonies du petit matin' apparaissent généralement quand les patients (environ 30%) se réveillent mais peuvent aussi être observés à n'importe quel moment de la journée. Elles sont caractérisées par une posture dystonique, parfois douloureuse, touchant les membres inférieurs et donnant lieu à une extension du gros orteil ou une flexion des orteils. Les dystonies de phase 'off' peuvent cependant disparaître spontanément, même en l'absence de médication (Lees et al., 1977).
- *Les dyskinésies bi-phasiques* : apparaissent rapidement après la prise de L-Dopa lorsque les taux plasmatiques sont élevés et réapparaissent en fin de dose lorsque les

taux plasmatiques diminuent. Elles affectent principalement les membres inférieurs, de manière unilatérale, mais peuvent s'étendre à la moitié du corps ou du tronc. Ce type de dyskinésies consistent en des dystonies très invalidantes créant une torsion de la cheville, une rotation de la hanche et une extension des jambes (Nutt, 1990; Luquin et al., 1992).

- *Les dyskinésies de pic de dose* : sont les plus courantes. Elles apparaissent quand les symptômes parkinsoniens sont réduits par le traitement et que les taux plasmatiques de L-Dopa sont bas. Les dyskinésies de pic de dose sont diffuses mais sont principalement observées au niveau des membres supérieurs ainsi qu'au niveau du cou et de du visage. On les retrouve majoritairement dans l'hémicorps le plus sévèrement affecté par la MP. Elles peuvent être présentes au repos mais sont surtout observées durant les mouvements volontaires ou les tâches attentionnelles.

Ensemble, ces 3 types de dyskinésies apparaissant avec le développement de la maladie représentent un handicap majeur dans la vie quotidienne des patients.

A ce jour, il n'y a aucun traitement efficace pour les DLI et la meilleure stratégie demeure le retardement de leur apparition. Une des possibilités consiste à retarder l'utilisation de la L-Dopa en utilisant les agonistes dopaminergiques. Une autre alternative est de stabiliser les concentrations plasmatiques de L-Dopa en utilisant des formes de traitement à 'libération progressive' ou encore de réduire la dégradation de la L-Dopa avec des inhibiteurs de la catéchol-O-méthyl transférase (entacapone) ou avec des inhibiteurs de la monoamine oxydase (selegiline, rasagiline) (Parkinson-Study-Group, 2002; Shoulson et al., 2002). La troisième possibilité est une molécule anti-dyskinétique nommée 'Amantadine' (Verhagen Metman et al., 1998). Son mécanisme d'action demeure mal compris mais il semble qu'elle stimule les récepteurs dopaminergiques, empêche la recapture de dopamine et bloque les récepteurs glutamatergiques de type N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (Stoof et al., 1992). Son efficacité est cependant limitée et de nombreux symptômes psychiatriques ont été reportés. Enfin, lorsque cela est possible, la dernière solution pour réduire les DLI est la stimulation cérébrale profonde, qui permet de réduire le traitement à la L-Dopa (Benazzouz et al., 1993; Pollak et al., 1993; Limousin et al., 1998).

II. 2. b. Mécanismes connus

L'origine des **fluctuations motrices** semble multifactorielle (Widnell, 2005), mais il est cependant admis qu'elle résulte d'une incapacité progressive de la voie nigrostriée à stocker L-Dopa dans les vésicules synaptiques et de la convertir en dopamine. Durant la période de 'lune de miel', les neurones dopaminergiques fonctionnels sont encore suffisamment nombreux pour assurer la neurotransmission dopaminergique. Quand le seuil critique de perte neuronale est franchi, le stockage de la dopamine est altéré et la L-Dopa ne peut plus être convertie en dopamine par les neurones dopaminergiques. Les neurones sérotoninergiques vont alors prendre en charge le métabolisme de la L-Dopa (Carta et al., 2007; Navailles et al., 2010). Cependant, en l'absence de régulation de la dopamine (notamment sa recapture par le transporteur à la dopamine), la transmission dopaminergique dans le striatum sera complètement dépendante de l'apport de L-Dopa. Ainsi, les fluctuations motrices vont suivre les taux plasmatiques et cérébraux de L-Dopa.

Les mécanismes intervenant dans l'apparition des **dyskinésies** sont variés et ne seront pas tous décrits ici. Cependant, parmi les altérations les plus couramment décrites dans l'apparition de DLI, des modifications post-synaptiques agissant sur les récepteurs D1 de la voie directe ont été montrées. Des études chez les rongeurs et chez le singe (Berke et al., 1998; Cenci et al., 1998; Picconi et al., 2003; Aubert et al., 2005) ont souligné une altération des cascades de signalisation des récepteurs D1 avec l'apparition des LID, conduisant à une hyperactivité de la voie directe. Entre autres, l'expression des récepteurs D1 et leur couplage avec les protéines G est augmenté en condition dyskinétique (Aubert et al., 2005). La distribution subcellulaire des récepteurs dopaminergiques a également montré une surabondance des récepteurs D1 à la membrane des neurones striataux des animaux dyskinétiques (Guigoni et al., 2007). Des travaux ultérieurs ont expliqué que le trafic des récepteur D1 était en partie régulé par leur interaction avec les récepteurs D3 (Berthet et al., 2009). Ensemble, cela suggère que les dyskinésies sont associées à une altération du trafic intracellulaire (Porrás et al., 2012) et de l'hypersensibilité des récepteurs D1.

Il semble donc que des altérations des mécanismes intracellulaires impliquant les récepteurs D1 sous-tendent les dyskinésies. Des travaux ont tout d'abord montré chez le rat que la lésion dopaminergique présente dans la MP altère la plasticité cortico-striatale et

pourrait être la base cellulaire responsable des déficits moteurs (Centonze et al., 1999). Bien qu'un traitement à la L-Dopa semble dans un premier temps restaurer cette plasticité à long terme (PLT), la survenue des dyskinésies est associée à une perte de la dépression à long terme (DLT) (Picconi et al., 2003). Une PLT associée à un défaut de DLT pourrait entraîner une 'accumulation' pathologique d'informations motrices habituellement supprimée par la DLT et ainsi conduire aux dyskinésies (Picconi et al., 2003). De manière intéressante, ces travaux ont également montré que cette altération pouvait être due à la modification du trafic intracellulaire lié aux récepteurs D1 en condition dyskinétique. Une activation des récepteurs D1 en condition dyskinétique augmenterait la phosphorylation de la protéine DARP-32 qui à son tour inhiberait la protéine-phosphatase 1 et empêcherait la formation de la DLT (Picconi et al., 2003).

D'autres adaptations moléculaires et cellulaires à long-terme sont également soupçonnées d'engendrer ou de sous-tendre les DLI (Nicholas et al., 2008). Entre autre, Δ FosB a été présenté comme un marqueur indirect des DLI aussi bien chez les rongeurs (Cenci et al., 1999) que chez les patients parkinsoniens (Tekumalla et al., 2001). Δ FosB est une protéine de 33-37 kDa de la famille *fos* dont la partie C-terminale codant pour un domaine de dégradation est manquante (Carle et al., 2007). Ceci confère à cette protéine une grande stabilité permettant son accumulation durant des semaines ou des mois (Nestler et al., 2001). D'abord décrite dans le domaine de l'addiction, son implication dans les variations de la fonction dopaminergique en général a été rapportée (McClung et al., 2004). Ainsi, l'accumulation de Δ FosB dans le striatum dorsal (moteur) a été positivement corrélée avec la sévérité des DLI (Andersson et al., 1999; Berton et al., 2009). De plus, des études ont décrit un lien causal entre l'accumulation de Δ FosB et l'apparition (Andersson et al., 1999) ou l'expression (Chen et al., 2006; Berton et al., 2009) des DLI. Bien que la contribution directe de Δ FosB dans les DLI demeure mal comprise, des études récentes sur l'addiction à la cocaïne suggèrent que son accumulation modifie les propriétés synaptiques des neurones en augmentant la densité de boutons synaptiques ainsi que la force des synapses (Grueter et al., 2013; Robison et al., 2013). On peut alors imaginer que ces modifications synaptiques pourraient également conduire à un fonctionnement aberrant de certains réseaux neuronaux qui sous-tendraient les dyskinésies.

II. 3. Effets secondaires non-moteurs

II. 3. a. Généralités

En plus des symptômes non-moteurs de la MP liés à l'atteinte des structures non-dopaminergiques, les traitements utilisés dans la MP peuvent avoir des effets secondaires directs qui ne sont pas exclusivement moteurs. Agissant de façon systémique sur l'ensemble de la fonction dopaminergique, ces traitements peuvent avoir des expressions variées. De plus, les effets secondaires peuvent être différents selon les patients et selon l'évolution de la maladie.

On retrouve ainsi des troubles de type hypotension ou nausée avec l'administration de L-Dopa (Larsen et al., 2003). De même, des cas relativement fréquents d'hallucinations (5-15%) sont rapportés avec l'utilisation d'agonistes dopaminergiques (Biglan et al., 2007; Schapira et al., 2013). Des phases de somnolence diurne excessive sont également rapportées avec l'emploi d'agonistes dopaminergiques (Del Dotto et al., 2003). Enfin, parmi les effets secondaires les plus couramment décrits tant avec la L-Dopa qu'avec les agonistes dopaminergiques, on retrouve les altérations des fonctions cognitives. Des troubles des fonctions exécutives donnent lieu à une baisse des performances cognitives et notamment mnésiques dans les phases précoces de la MP (Cools et al., 2001; Costa et al., 2009; Schneider et al., 2012).

Des effets sur les comportements motivés sont également observés et vont faire l'objet d'une description plus détaillée dans les parties suivantes.

II. 3. b. Le syndrome de dysrégulation dopaminergique

Le syndrome de dysrégulation dopaminergique (SDD) se réfère à une surconsommation pathologique du traitement dopaminergique par les personnes atteintes de la MP. Il est retrouvé chez 3 à 4% des patients (Giovannoni et al., 2000; Pezzella et al., 2005) et les études ont rapporté une plus forte prévalence lors d'un syndrome parkinsonien précoce, principalement chez les hommes habitués à la consommation de drogues légales ou illégales (Giovannoni et al., 2000; Lawrence et al., 2003; Evans et al., 2005). Le SDD est principalement retrouvé chez les individus prenant de l'apomorphine ou de la L-Dopa, des

traitements ayant un effet pharmacologique rapide (Giovannoni et al., 2000). La plupart du temps, et malgré un traitement approprié, certains patients considèrent que les traitements ne sont pas suffisamment efficaces pour réduire leurs troubles moteurs. Ainsi, contre l'avis du médecin, ils vont commencer à s'automédiquer et prendre jusqu'à plusieurs fois la dose prescrite (Lawrence et al., 2003). Leur perception d'une 'bonne mobilité' ne survient que lorsqu'ils sont, en réalité, sérieusement dyskinétiques (Rabinak and Nirenberg, 2010). D'autres patients vont augmenter leurs prises car ils ressentent une amélioration de leur humeur. Une sensation de bien-être général et de plaisir est alors reporté (Tellez et al., 2006). Dans les deux cas pour répondre à leur consommation accrue, ces patients vont commencer à chercher d'autres sources d'approvisionnement (consultations de plusieurs médecins, commandes sur internet, etc) et vont faire des réserves de traitement (Lawrence et al., 2003; Tellez et al., 2006). Lorsqu'un planning strict de prise de médicaments est mis en place (lors d'hospitalisation par exemple), ces patients présentent rapidement des signes d'anxiété, d'irritabilité, d'agitation et d'attaques de panique (Rabinak and Nirenberg, 2010). Le besoin de doses élevées pour maintenir un état d'humeur 'acceptable' et éviter les sensations désagréables est alors décrit comme une 'dysrégulation de l'homéostasie hédonique' (Giovannoni et al., 2000). Ce concept se réfère à l'idée qu'après avoir testé une substance qui a généré une sensation agréable, la motivation pour reprendre cette substance est dictée par la sensation désagréable du sevrage (Solomon and Corbit, 1973; Koob and Le Moal, 1997). Chez les patients atteints de SDD, on retrouve effectivement les trois signes clés du 'cycle de l'addiction' : préoccupation/anticipation, intoxication incontrôlée et sensation désagréables dues au sevrage.

Le diagnostic d'addiction repose généralement sur la présence de signes regroupés dans le DSM-IV (American-Psychiatric-Association, 2000). Pour proposer un diagnostic de 'dépendance à une substance', les patients doivent présenter au moins 3 des 7 critères avancés par le DSM-IV. A première vue, plusieurs signes du SDD peuvent y être trouvés :

- (1) Une tolérance, décrite comme « *un besoin marqué d'augmenter les doses de drogues pour atteindre l'effet recherché* » ou « *une diminution marquée de l'effet due à l'utilisation répétée de la même dose de drogue* ». Certain patients présentent en effet une augmentation de la prise de médicament pour ressentir un effet 'agréable' et

rappellent que lorsqu'ils prennent la dose prescrite, le traitement ne fait pas effet (Rabinak and Nirenberg, 2010; Thobois et al., 2010).

- (2) Le sevrage correspond au « *syndrome caractéristique de sevrage pour la substance concernée* » ou « *la même substance (ou une substance très proche) est utilisée pour éviter les symptômes de sevrage* ». Quand le traitement dopaminergique est arrêté, certain patients sont victimes d'attaques de panique, d'anxiété, de dépression, etc (Rabinak and Nirenberg, 2010; Thobois et al., 2010), des symptômes typiques d'un sevrage aux psychostimulants (Shoptaw et al., 2009).
- (3) « *La substance est prise en quantité supérieure ou durant une période plus longue que celle initialement prévue* ». Des médecins rapportent des cas pour lesquels les patients ont pris jusqu'à 15 fois la dose prescrite (Tellez et al., 2006).
- (4) « *Présence d'un désir ou de tentatives échouées de réduire ou contrôler les prises* ».
- (5) « *Une partie importante du temps est consacrée dans des activités visant à obtenir la substance, à l'utiliser ou à récupérer de ses effets* ». Certains patients présentant un SDD font des provisions de leur traitement (doses de secours) et cherchent plusieurs sources d'approvisionnement, comme par exemple consulter plusieurs médecins avec une connaissance limitée de la MP (Lawrence et al., 2003; Tellez et al., 2006).
- (6) « *Les activités sociales, professionnelles ou de loisir sont réduites ou abandonnées au profit de la prise de substance* ». des cas de divorce, de difficultés financières ou légales sont reportés pour des patients atteints de SDD (Giovannoni et al., 2000).
- (7) « *L'utilisation de la substance est poursuivie malgré les troubles physiques ou psychologiques récurrents causés ou exagérés par ladite substance* ». La prise exagérée du traitement dopaminergique engendre d'importantes dyskinésies (Rabinak and Nirenberg, 2010) qui, comme nous l'avons vu, sont très handicapantes.

Cependant, le diagnostic de 'dépendance à une substance' comme le présente le DSM-IV pour les drogues d'abus est plus délicat à proposer chez les patients parkinsoniens (Bearn et al., 2004). En effet, comme souligné par Giovannoni et collègues, dans la mesure où la prise excessive de traitement dopaminergique s'effectue dans un contexte de maladie neurologique, il est plus difficile de présenter le SDD comme une addiction classique (Giovannoni et al., 2000).

Au regard de la spécificité de ce trouble, une classification alternative a été proposée pour mieux caractériser le SDD (Giovannoni et al., 2000) :

- (A) Maladie de Parkinson avec une réponse à la L-Dopa caractérisée.
- (B) Besoin ressenti d'augmenter les doses de traitement au-delà de celles requises pour réduire le syndrome parkinsonien.
- (C) Utilisation pathologique : volonté d'augmenter les doses malgré la présence de dyskinésies importantes. Même en étant sous les effets du traitement (ON), recherche continue de médication, réticence à réduire le traitement, absence de dystonies douloureuses.
- (D) Dégradation des relations sociales et professionnelles : disputes, comportements violents, isolement social, absences professionnelles, perte d'emploi, problèmes juridiques, problèmes familiaux.
- (E) Développement de syndromes hypomaniaques, maniaques ou cyclothymiques en relation avec le traitement dopaminergique.
- (F) Présence d'un syndrome de sevrage caractérisé par une dysphorie, de la dépression, de l'irritabilité et de l'anxiété lors de la réduction des doses de traitement.
- (G) Présence de ces troubles pendant au moins 6 mois.

Ces critères sont proches de ceux du DSM-IV mais ils prennent en compte les caractéristiques de la MP. Ainsi, le diagnostic de SDD est proposé lorsque les symptômes varient de ceux d'un syndrome parkinsonien 'normal'.

II. 3. c. Le trouble du contrôle des impulsions

Le trouble du contrôle des impulsions (TCI) est une affection comportementale durant laquelle un individu ne parvient pas à résister à un stimulus interne ou externe, le conduisant à agir de manière inconsidérée, donnant lieu à de l'angoisse ou à une altération des relations sociales et professionnelles (Pontone 2006). Déjà décrits dans les domaines 'classiques' de la psychiatrie (Grant et al., 2005), ils sont de plus en plus rapportés chez des patients parkinsoniens. On retrouve ainsi différents types de TCI tels que :

Le jeu pathologique : qui correspond à un comportement inapproprié et persistant lié aux jeux d'argent qui a des répercussions sur la vie personnelle, familiale et professionnelle

(American-Psychiatric-Association, 2000). Des études ont montré qu'il s'agit du TCI le plus couramment observé chez les patients parkinsoniens avec une fréquence de 5 à 6% (Avanzi et al., 2006; Weintraub et al., 2010b). Les patients présentant du jeu pathologique sont principalement intéressés par les jeux procurant une récompense immédiate tels que les jeux à gratter, les paris, les jeux de casino, le bingo et les jeux sur internet (Voon et al., 2009). Le jeu pathologique peut avoir des conséquences dramatiques sur la vie des patients. Une étude basée sur 10 patients atteints de la MP a révélé une perte moyenne de 10000\$ liée au jeu pathologique (Voon et al., 2006a).

L'hypersexualité : a été définie par le fait que « le besoin de relations sexuelles consomme tant de temps, d'argent et d'énergie que le patient lui-même se décrit comme hors de contrôle ; la présence de pensées paraphiliques intrusives empêchant la concentration sur des activités quotidiennes et étant source d'anxiété ; les orgasmes ne produisent pas une satisfaction comparable à celle habituellement décrite pour des personnes du même âge » (Kaplan et al., 1994). Bien que difficilement identifiable lors des consultations médicales, leur présence est estimée à 3,5% des patients parkinsoniens (Weintraub et al., 2010b). Des critères de diagnostic fixes en 5 questions ont été proposés pour mieux les détecter (Voon et al., 2006a). Les comportements les plus couramment reportés sont des demandes inappropriées ou excessives de rapports sexuels à l'épouse ou au mari, un intérêt important pour la pornographie et les téléphones roses, une masturbation et une recherche de promiscuité compulsive (Voon et al., 2009). On peut également noter, que l'hypersexualité est davantage observée chez les hommes (5,2%) que chez les femmes (0,5%) (Weintraub et al., 2010b). Les comportements sexuels compulsifs sont mal vécus par les patients et une comorbidité avec un état dépressif est souvent constaté (Klos et al., 2005; Voon et al., 2006a).

L'achat compulsif : se traduit par des pensées continuellement tournées vers les comportements d'achat et génère de l'angoisse (Black, 2007). Dans la MP, les achats compulsifs sont décrits chez 5,7% des patients (Weintraub et al., 2010b). Encore une fois, ces troubles sont difficiles à détecter lors de consultations et des critères psychiatriques de diagnostic ont été proposés (McElroy et al., 1994) : pensées irrésistibles orientés vers les comportements d'achat, achat fréquent d'objets hors de prix ou inutiles, causant des

sentiments d'angoisse, chronophages, responsables de problèmes financiers et sociaux. Ces comportements doivent être observés en dehors de phases maniaques. L'achat compulsif est plutôt observé chez les femmes (7,8%) que chez les hommes (4,5%) atteints de la MP (Weintraub et al., 2010b).

La prise de nourriture compulsive : se réfère à une consommation incontrôlable de nourriture bien supérieure à celle nécessaire pour être rassasié (Nirenberg and Waters, 2006). Bien connue dans le domaine psychiatrique, sa découverte dans la MP est relativement récente (Voon et al., 2006a). Actuellement, la prise de nourriture compulsive est estimée à 4,3% chez les patients parkinsoniens (Weintraub et al., 2010b). Contrairement à la plupart des patients atteints de la MP qui perdent du poids à cause de la maladie, une prise de poids importante alerte généralement les médecins (Nirenberg and Waters, 2006). Dans ce cas, les critères du DSM-IV peuvent être utilisés pour poser un diagnostic : prise incontrôlée de grandes quantités de nourriture sur une courte période de temps ; repas rapide avec sensation inconfortable de satiété ; prise de nourriture importante malgré l'absence de faim ; prise de repas solitaire à cause d'un sentiment de honte ; sentiment de dégoût ou de culpabilité après la suralimentation ; angoisse importante ; survient au moins deux fois par semaine pendant six mois ; n'intervient pas avec des comportements compensatoires (ni anorexie ou boulimie) (American-Psychiatric-Association, 2000).

Le punding : n'est pas réellement un TCI mais est souvent classé dans cette catégorie en raison de son caractère compulsif. A l'origine ce terme (issu de l'argot suédois, littéralement traduisible par 'imbécile') était utilisé pour décrire les comportements stéréotypés observés chez les consommateurs d'amphétamines et de cocaïne (Rylander, 1972; Schiorring, 1981). Le punding peut se définir comme une fascination intense pour les mouvements répétitifs, dénués de sens tels que collectionner, manipuler, arranger des objets. Ces comportements peuvent être simples (ranger des papiers) ou plus complexes (peindre) (Voon et al., 2009). Dans la MP, le punding est encore mal évalué et les études ont présenté des fréquences allant de 1,4 à 14% (Evans et al., 2004; Miyasaki et al., 2007). Ces larges variations proviennent certainement du fait qu'il n'existe pas de critères stricts de diagnostic. De plus, comme ce comportement est issu de certaines médications,

leur survenue dépend uniquement de l'utilisation de ces substances (principalement l'apomorphine et les agonistes D2/D3). Ainsi, le diagnostic de punding résulte souvent de plaintes provenant de la famille des patients. Il est par ailleurs intéressant de noter que les stéréotypies observées dans le punding dérivent d'habitudes bien ancrées. Elles sont généralement personnelles et issues des hobbies ou de la vie professionnelle (Evans et al., 2004).

Des observations cliniques rapportent des survenues de TCI entre 1 et 24 mois après le début du traitement. Une réduction des doses ou un arrêt du traitement conduit généralement à la cessation des troubles en quelques jours (Dodd et al., 2005). Bien que les premières études suspectaient davantage la L-Dopa (Molina et al., 2000), les études ultérieures ont majoritairement identifié les agonistes dopaminergiques comme étant responsables du TCI. Dans une méta-analyse sur 177 patients parkinsoniens présentant des TCI, 172 d'entre eux étaient traités avec des agonistes dopaminergiques et seulement 2 d'entre eux étaient sous L-Dopa seule (Gallagher et al., 2007). Du plus une étude transversale a montré récemment que les risques de présenter des TCI étaient 2 à 3,3 fois supérieurs pour les individus traités avec des agonistes dopaminergiques comparés à ceux ne recevant pas cette médication (Weintraub et al., 2010b).

Les TCI surviennent la plupart du temps sans sentiment de détresse, sont cachés ou passent inaperçus. C'est pourquoi ils sont souvent sous-estimés par les médecins et leur prévalence demeure difficile à estimer. Cependant, une étude transversale sur 3090 patients aux Etats Unis a identifié la présence d'au moins un TCI chez 13,6% des patients atteints de la MP (Weintraub et al., 2010b) (**Figure 6**). Comme pour le SDD, un début de maladie précoce ainsi que des expériences passées de consommation de drogue semblent être des facteurs de risque mais les TCI semblent toucher les hommes et les femmes dans les mêmes proportions.

Parmi les facteurs étiologiques du TCI, l'importance de la personnalité a également été questionnée. En effet, des études évaluant les traits de personnalité des patients présentant un TCI ont montré un niveau accru de sensibilité à la nouveauté (novelty seeking) (Voon et al., 2007) et de recherche de sensations (sensation seeking) (Djamshidian et al., 2011).

Cependant, ces travaux ont été réalisés chez des patients déjà traités et il n'est donc pas possible de savoir si ce trait de personnalité est inhérent au sujet ou influencé par les traitements antiparkinsoniens. Des travaux récents ont observé chez des parkinsoniens *de novo* non traités que les niveaux d'impulsivité étaient similaires entre patients et sujets sains, suggérant que la MP n'est pas un facteur direct dans le développement de TCI (Weintraub et al., 2013). Cette étude a par ailleurs proposé que les patients avec les scores d'impulsivité basaux les plus élevés pourraient être ceux qui développeraient plus tard un TCI. Des travaux menés chez des joueurs pathologiques non-atteints de la MP ont montré qu'un trait de personnalité impulsif était retrouvé chez les joueurs pathologiques (Slutske et al., 2005). Aucune étude, à ce jour, n'a montré que ceci était également observé dans le contexte spécifique de la MP.

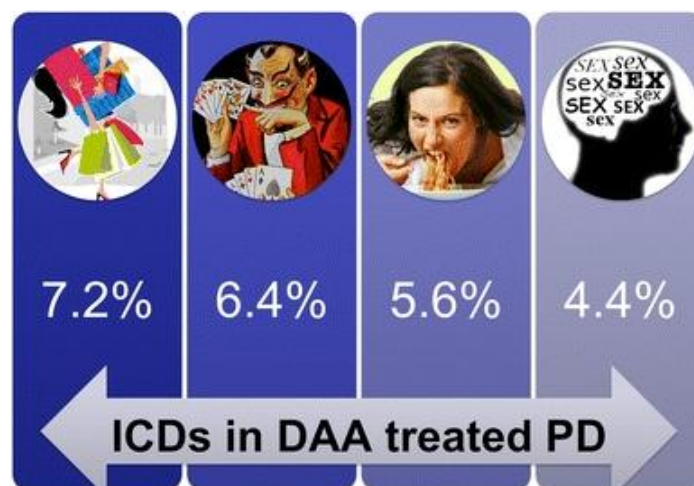


Figure 6

Prévalence des troubles du contrôle des impulsions les plus fréquents chez les patients parkinsoniens sous agonistes dopaminergiques (d'après l'étude DOMINION Weintraub et al., 2010).

De gauche à droite : achats compulsifs, jeu pathologique, prise de nourriture compulsive, hypersexualité. ICDs = Trouble du contrôle des impulsions ; DAA = Agonistes dopaminergiques.

II. 3. d. Mécanismes connus

Les mécanismes responsables du SDD et du TCI sont encore loin d'être connus. Cependant, les observations issues du domaine de l'addiction aux psychostimulants peuvent fournir des éléments de réponse.

Les travaux portant sur les drogues d'abus ont montré depuis plusieurs années que l'activation des neurones dopaminergiques de la voie mésocorticolimbique provenant de l'ATV et projetant sur le NAc (la voie A10) joue un rôle crucial dans le traitement de la récompense (pour revue, voir (Wise, 2009)). Ces neurones sont en premier lieu activés par une récompense inattendue puis progressivement par les indices liés à la présence d'une récompense (Schultz, 1998). Ces récompenses peuvent être aussi bien naturelles (nourriture, sexe), qu'artificielles (drogues, argent) (Schultz, 2006). Ainsi, la circuiterie du NAc est impliqué dans l'apprentissage de la récompense (Schultz, 2000). Des études aussi bien chez le rongeur que chez l'homme (Schultz, 1998; Knutson et al., 2001) ont montré que les indices prédisant la récompense activent le circuit mésocorticolimbique aussi bien (et parfois mieux) que la récompense elle-même (Robinson and Berridge, 2003). L'exposition répétée à la drogue va alors faciliter l'apprentissage des indices prédisant sa disponibilité et va engendrer une sorte d'apprentissage 'aberrant' (Everitt et al., 2001). Il est également important de noter que les mécanismes de récompense peuvent être issus de renforcements positifs ou négatifs (Schultz, 2006). Ainsi le SDD pourrait être induit aussi bien par les effets récompensant de la substance que par les effets désagréable du sevrage. En effet, le 'renforcement négatif' est « *un facteur étiologique et motivationnel majeur dans le maintien de la toxicomanie* » (Koob and Bloom, 1988). Les sentiments désagréables (anxiété, crises d'angoisse, etc) observés lorsque la médication est réduite pourraient ainsi engendrer un SDD. Basée sur la théorie des 'processus antagonistes' (Solomon and Corbit, 1973), la DHH propose que l'utilisation compulsive de drogue provient d'une dérégulation de la balance hédonique (Koob and Le Moal, 1997). Pour maintenir l'homéostasie, le cerveau génère des mécanismes compensatoires entre les sensations agréables et désagréables (Koob and Le Moal, 1997; Ahmed and Koob, 2005). Dans le cadre du SDD, les sensations agréables pourraient provenir du retour à un état moteur acceptable et les sensations désagréables proviendraient des symptômes moteurs et la dysphorie observée durant les états 'off'.

Dans le contexte de la MP, les traitements dopaminergiques produisent une stimulation continue mais artificielle des neurones dopaminoceptifs dans les structures du système de récompense. Selon la théorie de la 'sensibilisation' (incentive sensitization), l'utilisation compulsive de drogue serait le résultat d'une neuroadaptation de la voie

mésocorticolimbique (Nestler et al., 2001; Robinson and Berridge, 2001; Lawrence et al., 2003). Ces changements rendraient le système de récompense ‘hypersensible’ aux effets récompensant de la drogue. A noter que la ‘sensibilisation’ est un processus de motivation normal permettant de rendre un stimulus attractif et désirable (Robinson and Berridge, 2003) mais que le désir est une notion différente de celle d’appréciation et donc de plaisir (Berridge and Robinson, 1998). Ainsi, la toxicomanie serait le résultat d’une sensibilisation aux indices liés à la drogue causant un désir pathologique pour cette dernière (Robinson and Berridge, 2003). Les traitements dopaminergiques pourraient également agir de cette manière. En plus d’activer la voie nigrostriatale déficiente dans la MP, ces traitements pourraient également agir sur la voie mésocorticolimbique plus préservée et ainsi être à l’origine d’un SDD chez des patients à risque (Lim et al., 2008; Rabinak and Nirenberg, 2010). Des études utilisant le ‘binding’ du raclopride ont en effet montré que les patients atteints de SDD présentaient une libération supérieure de dopamine dans le NAc en réponse à la L-Dopa que les patients non atteints de SDD (Evans et al., 2006).

Ainsi, la voie mésocorticolimbique pourrait avoir un rôle important dans le développement du SDD. Cependant, la MP est principalement caractérisée par une dégénérescence de la voie nigrostriatale (voie A9). Pendant longtemps ces deux voies ont été considérées comme étant anatomiquement et fonctionnellement distinctes : la voie mésocorticolimbique plutôt impliquée dans le traitement de la récompense et la voie nigrostriatale impliquée dans les fonctions motrices. Mais des études ont montré depuis de nombreuses années qu’il n’existe pas de frontières absolues entre ces deux systèmes (Dahlstroem and Fuxe, 1964). De plus, des études utilisant des traceurs rétrogrades et antérogrades ont montré que les neurones de l’ATV et de la SNc avaient des zones de projection qui se chevauchent (Fallon and Loughlin, 1995). Ainsi, des études chez l’humain ont montré que le striatum dorsal (habituellement considéré comme faisant strictement partie de la voie A9) était activé par les indices liés au désir de drogue (Garavan et al., 2000). De plus, des études chez le rat ont montré qu’un blocage de la fonction dopaminergique dans le striatum dorsal supprime la prise de cocaïne (Vanderschuren et al., 2005). De ce fait, bien que le NAc soit nécessaire à l’acquisition du comportement de prise de drogue (Ito et al., 2004), il semble qu’un engagement progressif du striatum dorsal s’effectue (Vanderschuren et al., 2005). Enfin, il a été démontré que l’auto-stimulation électrique des neurones de la substance

noire était récompensante chez le rat à des niveaux proches de ceux observés pour l'ATV (Corbett and Wise, 1980). Les nombreuses interconnexions entre les deux voies de la dopamine tendent à montrer que la fonction dopaminergique serait engagée de façon globale dans les comportements de prise de drogue (Wise, 2009).

Les TCI quant à eux, correspondent à ce qui pourrait être qualifié 'd'addiction comportementale'. Les structures cérébrales classiquement impliquées dans le contrôle comportemental sont le cortex frontal et les ganglions de la base. En effet, l'impulsivité de choix, qui correspond à une prise de décision trop hâtive ou l'insensibilité face à un délai, a été reliée à des déficits du cortex préfrontal médian (McClure et al., 2004), du cortex orbito-frontal (Mobini et al., 2002; van Eimeren et al., 2009) mais aussi du NAc (Cardinal et al., 2001; Hariri et al., 2006). L'impulsivité d'action quant à elle, correspond à une incapacité à retenir un comportement et semble faire intervenir les ganglions de la base d'une manière plus générale et notamment dans l'inhibition motrice (Mink, 1996).

Le noyau sous-thalamique a été plus particulièrement impliqué dans la suppression des actions motrices automatiques inappropriées (Baunez et al., 1995; Isoda and Hikosaka, 2008; Kim and Lee, 2010). De plus, les ganglions de la base fonctionnent conjointement avec le cortex préfrontal médian pour contrôler, faciliter ou empêcher une réponse motrice (Zheng et al., 2008).

Des études ont par ailleurs montré un rôle important des récepteurs D2 et D3 du NAc dans le contrôle de l'impulsivité chez le rat (Dalley et al., 2007; Besson et al., 2010) et chez l'humain (Steeves et al., 2009). De plus, un rôle des récepteurs D2/D3 du cortex orbito-frontal a été démontré dans l'inhibition motrice (van Eimeren et al., 2009; van Eimeren et al., 2010). De manière intéressante, de nombreux cas cliniques et de nombreuses études ont souligné le rôle des agonistes dopaminergiques D2/D3 dans le TCI (Driver-Dunckley et al., 2003; Dodd et al., 2005; Avanzi et al., 2006; Voon et al., 2006a; Weintraub et al., 2006; Gallagher et al., 2007). Enfin, le rôle potentiel des agonistes D2/D3 dans la survenue du TCI est encore renforcé par le fait que ces troubles sont également rapportés en l'absence de lésion dopaminergique et notamment pour le syndrome de Willis-Ekbom (Ondo and Lai, 2008;

Cornelius et al., 2010), l'adénome hypophysaire (Davie, 2007) et la fibromyalgie (Holman, 2009).

D'un point de vue moléculaire, le DDS pourrait être expliqué par des mécanismes communs à ceux observés pour l'addiction aux psychostimulants. Un de ces facteurs caractéristique est l'accumulation de Δ FosB dans les structures impliquées dans le traitement de la récompense (Nestler, 2001). Ainsi, les travaux issus de l'étude des psychostimulants ont révélé la présence de Δ FosB dans des structures telles que le NAc et le striatum dorsal (Nestler et al., 2001). De même, la surexpression de Δ FosB dans le NAc engendre une augmentation des réponses à la cocaïne (Chen et al., 1998). Ceci suggère que Δ FosB serait impliqué dans l'augmentation de la sensibilité aux psychostimulants et pourrait être un mécanisme responsable de la sensibilité prolongée aux drogues (Nestler et al., 2001). De manière intéressante, une surexpression de Δ FosB dans les neurones D1 du striatum entraîne un comportement compulsif de course dans une roue chez la souris (Werme et al., 2002). De plus, des expériences surexprimant Δ FosB dans le cortex orbito-frontal ont montré que les animaux n'étaient plus capables de réguler leur prise de drogue et devenaient plus impulsifs (Winstanley et al., 2009). Il a alors été proposé qu'une augmentation des niveaux de Δ FosB dans le cortex orbito-frontal pouvait potentialiser le cycle de l'addiction en facilitant la perte de contrôle durant les phases répétées d'exposition à la drogue et d'augmenter les risques de rechute en augmentant l'impulsivité (Winstanley et al., 2009). Des dysfonctions du cortex orbito-frontal ont été observées chez des patients atteints de TCI (van Eimeren et al., 2010). On peut alors imaginer que l'accumulation de Δ FosB dans les régions frontales pourrait avoir un rôle dans la perte de contrôle de la prise de traitement dopaminergique ainsi que dans les comportements impulsifs observés dans les TCI.

III. Objectifs principaux de la thèse

Comme nous venons de le voir, bien que très efficaces, les traitements dopaminergiques utilisés dans la MP produisent des effets secondaires à la fois moteurs et non moteurs. Ces troubles ont des conséquences très importantes sur la qualité de vie des patients. Ils sont handicapants dans les activités quotidiennes et peuvent également être à l'origine de graves situations socio-économiques.

Les objectifs principaux de ce travail sont d'identifier certains des mécanismes responsables de l'altération de la réponse dopaminergique dans la MP.

Nous chercherons tout d'abord à comprendre le lien entre les modifications moléculaires impliquant Δ FosB dans le striatum et les modifications de l'activité neuronale qui sous-tendent les DLI. Ceci nous permettra de mieux comprendre comment le traitement à la L-Dopa peut modifier de façon durable l'activité neuronale dans une structure clé des ganglions de la base et conduire à l'expression des dyskinésies.

Nous étudierons ensuite à plus grande échelle comment ce même traitement affecte les différents systèmes monoaminergiques et comment ceux-ci peuvent être impliqués dans l'expression des dyskinésies. De plus, nous verrons comment les DLI font intervenir de manière conjointe des structures motrices et non-motrices. Nous aurons ainsi une vision plus globale des modifications engendrées par un traitement chronique à la L-Dopa.

Une atteinte des réseaux moteurs mais aussi non-moteurs nous amènera alors à évaluer les mécanismes par lesquels les traitements dopaminergiques peuvent engendrer des troubles comme le SDD et le TCI. Pour cela, nous chercherons à comprendre les rôles respectifs du processus neurodégénératif lié à la MP, des propriétés récompensantes intrinsèques des traitements et de l'impact de traits de personnalité dans le développement de ces troubles. Nous nous intéresserons également à l'implication de Δ FosB comme marqueur moléculaire à long terme des comportements faisant intervenir les mécanismes de récompense. Cela nous permettra d'évaluer si des mécanismes communs aux DLI et au SDD/TCI sont à l'œuvre et si les réseaux neuronaux impliqués partagent des similarités.

En nous intéressant à la fois aux altérations motrices et non-motrices liées aux traitements dopaminergiques de la MP, nous essayerons d'en comprendre les mécanismes communs afin d'appréhender de façon plus globale la physiopathologie de ces troubles.

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

IV. Considérations méthodologiques

Afin d'étudier les altérations motrices et non-motrices dans un modèle Rat de la MP, il a fallu utiliser le modèle le mieux adapté à chaque question posée. Une partie de mon travail de thèse a donc été consacrée à la caractérisation et à l'optimisation de modèles expérimentaux de la MP chez le Rat.

Les principaux modèles Rat de la MP visent à reproduire la déplétion dopaminergique nigrostriatale et, dans une moindre mesure, celle de la voie mésolimbique observée dans la pathologie humaine. Pour ce faire il existe différents modèles.

Tout d'abord le modèle de lésion unilatérale du faisceau médian du télencéphale (FMT) est le modèle phare dans l'étude des dyskinésies. Grâce à l'injection de 6-hydroxydopamine (6-OHDA), on peut obtenir une déplétion subtotale (>95%) de dopamine dans le striatum. Une fois la lésion établie, l'injection de L-Dopa permet d'obtenir des mouvements anormaux involontaires proches des dyskinésies observées chez l'humain (Lundblad et al., 2002). L'asymétrie dopaminergique résultant de la lésion unilatérale facilite la mise en évidence de mouvements controlatéraux après stimulation dopaminergique. Ce modèle est le plus couramment utilisé dans l'étude des dyskinésies (Cenci et al., 1998; Cenci et al., 2002; Cenci et al., 2009) et est utilisé en routine dans notre laboratoire (Berthet et al., 2009; Porras et al., 2012).

Lorsqu'on souhaite étudier les composantes cognitives assurées par les ganglions de la base, le modèle de lésion unilatérale du FMT devient inapproprié car il entraîne des mouvements asymétriques (Schwartz and Huston, 1996). L'utilisation d'un modèle présentant une lésion bilatérale devient alors nécessaire. Cependant son obtention est loin d'être aisée. Une lésion bilatérale très importante est connue pour engendrer de l'aphagie et de l'adipsie (Ungerstedt, 1971b) et une profonde bradykinésie (Dunnett and Lelos, 2010) avec des risques importants de surmortalité chez les animaux lésés. Ainsi, pour réaliser les tâches de comportement opérant durant ma thèse, nous avons utilisé différentes stratégies pour induire une lésion bilatérale progressive de la SNc. Dans un premier temps, nous avons

obtenu un modèle bilatéral en pratiquant des injections intracérébroventriculaires répétées de 6-OHDA (Engeln et al., 2012). Cette méthode a nécessité une mise au point afin de trouver une dose de 6-OHDA qui permette d'induire une lésion sans être dangereuse pour les animaux. Aussi, différentes doses et différents protocoles d'injections ont été testés avant de commencer les expériences. Bien que cette approche présente l'avantage d'induire une lésion de la substance noire et de l'aire tegmentale ventrale, elle requiert des anesthésies répétées pour les nombreuses injections de 6-OHDA effectuées tous les 6 jours.

Par ailleurs, j'ai également utilisé une technique de transfert de gènes par adénovirus associé (AAV2-9) contenant une forme mutée de l' α -synucléine humaine (A53T) afin de modéliser d'autres aspects du processus physiopathologique tels que l'inflammation, les altérations du protéasome, les dysfonctions synaptiques et l'accumulation d' α -synucléine (Decressac et al., 2012b; Engeln et al., 2013).

Ainsi, plusieurs combinaisons d'injections bilatérales ont été testées afin d'optimiser le modèle : 1 injection de 2 μ L (AP -5,2 ; ML +/-2,2 ; DV -8) ou 2 injections d'1 μ L (AP -4,9 et -5,4 ; ML +/-2,2 et +/-2 ; DV -8) avec deux types de vecteurs viraux (AAV2-2 et AAV2-9). La seconde solution a été retenue du fait de sa plus grande efficacité sur le plan moteur et lésionnel (**Figure 7**).

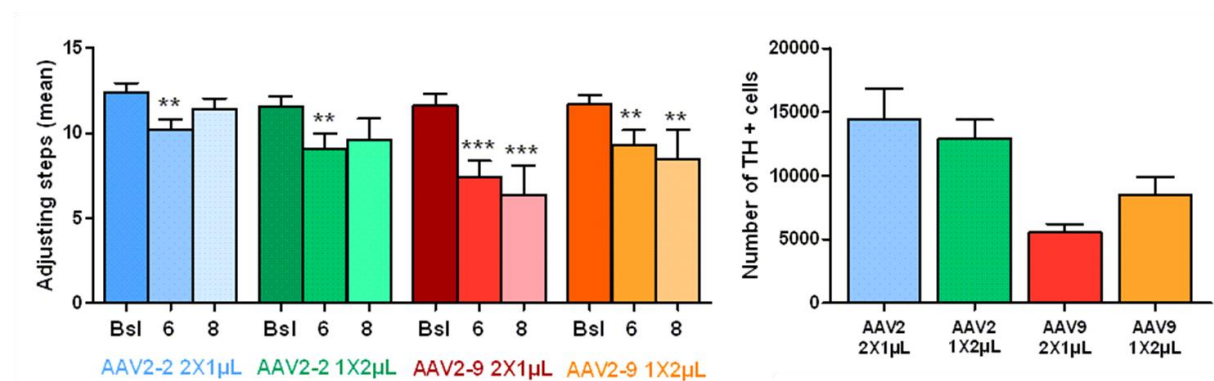


Figure 7 : Caractérisation comportementale et cellulaire de deux sérotypes de virus adéno-associés permettant la surexpression d' α -synucléine (AAV2-2 et AAV2-9 A53T).

A gauche : performances de stepping test en situation basale (Bsl), 6 et 8 semaine post chirurgie (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) ; à droite comptages stéréologiques de cellules TH-positives dans la SNc.

Nous avons ensuite mené plusieurs séries d'expériences pour caractériser le déroulement temporel de l'agrégation protéique, de la réponse inflammatoire et des déficits moteurs (**Figure 8**).

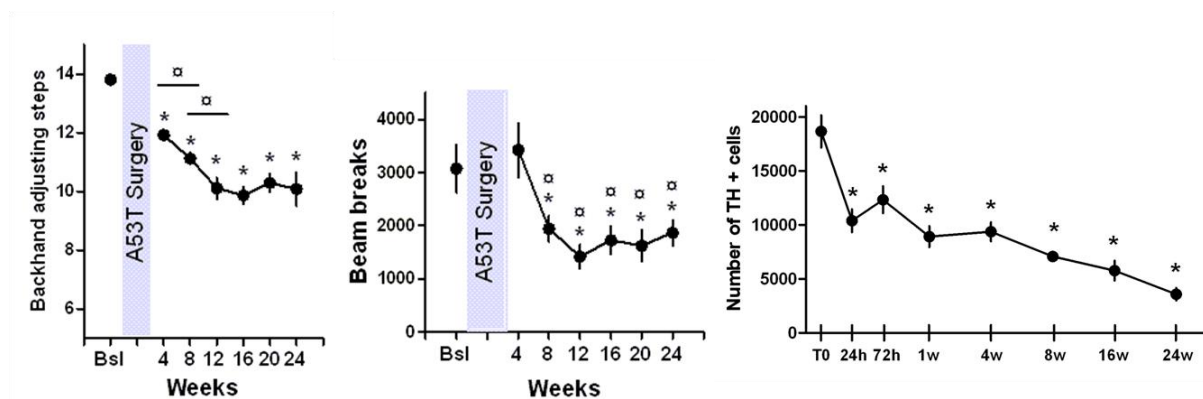


Figure 8 : Caractérisation comportementale et cellulaire du modèle de surexpression virale d' α -synucléine (AAV2-9 A53T).

De gauche à droite : performances de stepping test en situation basale (Bsl) et 4, 8, 12, 16, 20, 24 semaines post chirurgie (* $<0,01$ par rapport au niveau de base ; α $p<0,05$) ; actimétrie aux mêmes délais (* $<0,01$ par rapport au niveau de base ; α $p<0,05$) ; comptages stéréologiques des cellules TH-positives dans la SNc à 24 et 72h, 1, 4, 8, 16 et 24 semaines post chirurgie (* $p<0,01$ par rapport aux contrôles T0).

De plus, l'utilisation de ces vecteurs viraux pour différentes expériences nous a conduit à les employer avec deux souches de rats différentes. Des rats mâles Wistar Han et des rats mâles Sprague Dawley OFA de même âge (8 semaines) ont été injectés avec le même lot d'AAV-A53T, selon la même procédure et ont été euthanasiés après un même délai (16 semaines) post-chirurgie. De manière intéressante, nous avons pu observer une différence de vulnérabilité neuronale entre les deux souches. Les rats Wistar Han présentaient une baisse de 45% de neurones positifs au marquage pour la tyrosine hydroxylase alors que les rats Sprague Dawley OFA avaient une baisse de 69% de ce même marqueur (**Figure 9**). Il semble donc que les neurones de la SNc des rats Sprague Dawley OFA soient plus sensibles à l'accumulation d' α -synucléine et/ou à l'infection par l'AAV2-9. D'autres études devront être désormais réalisées pour mieux comprendre cette différence de sensibilité entre les souches.

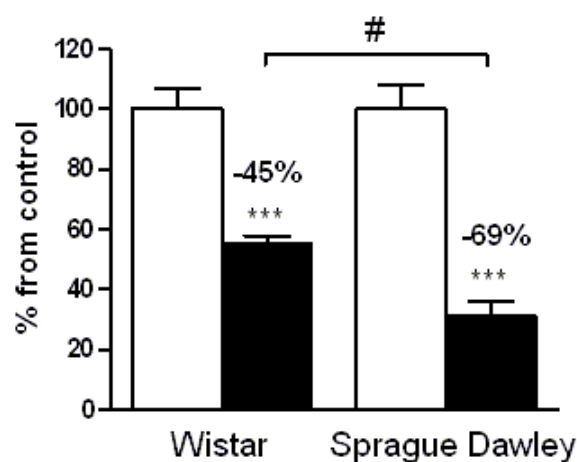


Figure 9 : Différences de lésion de la SNc induite par surexpression virale d' α -synucléine (AAV2-9 A53T) entre les souches de rats.

En blanc : valeurs contrôle ; en noir : valeurs 16 semaines après la chirurgie ; (***) < 0,001 par rapport au niveau de base ; # $p < 0,05$), résultats exprimés en % des contrôles respectifs de chaque souche de rat.

V. Tests comportementaux

V. 1. Le stepping test

La technique du stepping test permet de mesurer l'akinésie des membres antérieurs chez le Rat (Olsson et al., 1995). Pour cela, la partie postérieure des rats est délicatement maintenue et la patte avant-droite est tenue le long du corps de l'animal. Les rats sont ensuite déplacés de gauche à droite puis de droite à gauche sur une surface plane de 90cm de long. Le nombre de pas effectué par la patte gauche est compté pour l'aller et le retour et permet de mesurer un déficit sensori-moteur permettant au rat d'adapter son mouvement. La manipulation est ensuite reproduite pour la patte droite. Ce test s'effectue à raison de deux séances/jour durant 3 jours consécutifs. Dans le cas d'une lésion unilatérale de FMT les scores de la patte controlatérale à la lésion sont comparés à ceux de la patte ipsilatérale. Dans le cas d'une lésion bilatérale, les scores des séances pré-chirurgie sont comparés aux scores post-chirurgie.

V. 2. L'actimétrie

L'actimétrie permet de mesurer l'activité locomotrice spontanée des animaux. Les animaux sont placés dans des cages semblables aux cages de stabulation. Des capteurs infrarouges sont placés sur les côtés des cages à deux niveaux de hauteur différents. Les déplacements horizontaux (avant/arrière) et les déplacements verticaux (redressements) sont quantifiés par un logiciel. Une séance d'habituation permet aux animaux d'être confrontés à l'environnement avant les tests afin d'éviter les comportements exploratoires dus à la nouveauté lors des mesures d'activité. Des séances de 3h sont réalisées et peuvent être répétées afin de suivre l'évolution des déficits moteurs.

V. 3. Les mouvements anormaux involontaires

Les mouvements anormaux involontaires (MAI) sont la modélisation chez le rongeur des dyskinésies de pic de dose observées chez l'humain (Cenci et al., 1998; Lundblad et al., 2002). Après avoir induit une lésion unilatérale du FMT, un traitement à la L-Dopa permet d'engendrer des MAI. Ces comportements ont été caractérisés à la fin des années 1990 par l'équipe d'Angela Cenci. Les MAI doivent répondre à 3 critères : (i) être induits par la L-Dopa, (ii) toucher la partie du corps controlatérale à la lésion, (iii) être répétitifs, sans but et non attribuables à tout autre comportement 'normal'. Ils sont classés en quatre types selon leur distribution : (i) locomoteurs (rotations), (ii) axiaux (torsion dystonique de la partie supérieure du corps), (iii) orolinguaux (protrusions de la langue) et (iv) dyskinésies des pattes antérieures (mouvement répétitifs rythmiques de la patte controlatérale à la lésion). Pour chacun de ces sous-types un score d'intensité est attribué : 1 = occasionnel, 2 = fréquent, 3 = continu mais interrompu par une distraction sensorielle, 4 = continu et non-interrompu par un distracteur (Cenci et al., 1998). Dans notre laboratoire, ces comportements sont évalués individuellement durant 1 minute par animal, toutes les 30 minutes durant 2h. Les rotations ne sont pas considérées comme des dyskinésies mais comme un effet du traitement sur les capacités locomotrices. On obtient alors un score de dyskinésies sur 48 points (4 mesures sur 12 points) et un score de rotations sur 16 points (4 mesures sur 4 points).

V. 4. La préférence de place conditionnée

La préférence de place conditionnée (PPC) permet de mesurer les propriétés récompensantes d'une substance. Chez le Rat, la majorité des protocoles sont dérivés des observations de Rossi et Reid avec la morphine (Rossi and Reid, 1976). Ce test consiste à associer à une substance dont on veut évaluer les propriétés, un contexte environnemental précis. Un autre environnement sert de contrôle et n'est associé à aucune substance. Les deux contextes diffèrent par leur agencement, leur sol, leurs parois, leurs couleurs. L'animal reçoit un accès répété au stimulus appétitif dans un contexte, alterné avec l'exposition à un stimulus neutre dans l'autre contexte. Après ces associations, en l'absence de substance, les animaux vont exprimer leur préférence en passant davantage de temps dans le compartiment associé au stimulus appétitif (Bardo and Bevins, 2000). Pour évaluer les propriétés récompensantes de la L-Dopa les animaux ont tout d'abord été soumis à une phase d'habituation. Durant 20 minutes les rats ont pu explorer librement les deux compartiments des boîtes de PPC. Le temps passé dans chaque compartiment nous a permis de déterminer que les animaux ne présentaient pas de préférence naturelle pour l'un ou l'autre compartiment. Les jours suivants, une injection de L-Dopa (12mg/kg + benserazide 15mg/kg) associée à un compartiment était alternée avec une injection de benserazide (15mg/kg) associée à l'autre compartiment. Chaque condition a fait l'objet de 4 associations. Le dernier jour, les animaux ont à nouveau pu explorer librement les deux compartiments durant 20 minutes. Le temps passé dans le compartiment associé à la L-Dopa a été mesuré et nous a permis de calculer un score de PPC en le comparant au temps passé dans ce même compartiment avant le conditionnement. Le score a été calculé selon la formule suivante:

$$\frac{\text{(Temps passé dans le compartiment associé à la L-Dopa X Temps total)}}{\text{(Temps passé dans le compartiment de gauche + Temps passé dans le compartiment de droite)}}$$

Un score positif représente une préférence de place, un score de 0 ne montre pas de préférence, un score négatif représente une aversion de place.

V. 5. L'auto-administration intraveineuse

L'auto-administration intraveineuse se base sur une tâche de conditionnement opérant. Défini par Burrhus Skinner, le conditionnement opérant est un type d'apprentissage durant lequel la survenue d'un comportement, initialement spontané, est modifiée par ses conséquences (Skinner, 1938).

Les rats, sont équipés d'un cathéter intraveineux inséré dans la veine jugulaire droite et dont la sortie est placée au niveau du dos. De cette manière, les animaux peuvent être connectés au système d'injection. Ils sont ensuite placés dans une cage de conditionnement munie d'un levier rétractable. La première séance est une phase d'habituation durant laquelle les animaux sont confrontés à l'environnement de test. Les jours suivants, l'acquisition de la tâche commence. Le levier est sorti et chaque appui engendre la délivrance d'une dose de Pramipexole (dans notre étude) dont la survenue est couplée à un stimulus lumineux. A la suite de cette administration, un temps mort de 20 secondes est imposé, durant lequel tout appui supplémentaire n'est pas renforcé. Dans notre expérience, la séance d'auto-administration dure 1h30. Cette tâche est appelée ratio fixe 1, ce qui veut dire qu'un appui sur le levier engendre la délivrance d'une dose. On y mesure principalement le nombre d'appuis sur le levier (qui correspond au nombre de doses délivrées). D'autres exercices peuvent être utilisés pour mesurer l'attractivité de la substance et la motivation de l'animal pour l'obtenir. Ainsi, le ratio progressif 3 consiste en la délivrance d'une seule dose pour un nombre croissant d'appuis. La première dose nécessitera 1 appui, la seconde 4, la troisième 7, la quatrième 10, etc. Le point d'arrêt (breakpoint) correspondra au nombre maximum d'appuis que l'animal sera prêt à effectuer pour obtenir une seule dose de Pramipexole. Enfin, un autre exercice utilisé est la procédure d'extinction. Les animaux vont appuyer sur le levier mais ces appuis ne seront pas renforcés par une dose de Pramipexole. Le nombre d'appuis non renforcés dans une séance de 45 minutes et le temps nécessaire à la disparition du comportement sont mesurés.

V. 6. Le Fixed Consecutive Number Schedule

Le Fixed Consecutive Number Schedule (FCN) est un test mis en place pour mesurer l'impulsivité de choix (Lovic et al., 2011). Un nombre minimum de réponses sur un premier

levier est demandé, puis la validation de cette action par une réponse de renforcement est nécessaire pour recevoir la récompense (pastille de nourriture de 45 mg).

Ainsi, lors de ce test, deux leviers sont présentés au rat. La tâche de l'animal consiste à appuyer un nombre défini de fois sur le premier levier (levier FCN) puis à renforcer ces appuis par une pression sur un second levier (levier de renforcement). Lorsque l'action est correctement réalisée, l'animal reçoit sa récompense. Chaque session dure au maximum 30 minutes et le nombre maximal de pastilles est fixé à 100.

Le nombre d'appuis sur le levier FCN est un minimum à atteindre donc si le sujet appuie un nombre de fois plus élevé, le renforcement sera quand même délivré. Dans le cas où le nombre d'appuis sur le levier est inférieur à la valeur définie, une pression sur le second levier réinitialise la chaîne de renforcement. Le compte d'appuis sur le levier FCN redémarre alors à zéro.

Le premier jour d'entraînement au test, il est demandé aux rats d'appuyer une fois sur le levier FCN puis sur le levier de renforcement pour obtenir la récompense (FCN1). Le deuxième jour, l'épreuve requière 3 appuis sur le levier FCN et un appui sur le levier de renforcement pour être récompensé (FCN3) qui est répété pendant 4 jours. Après ce délai, le nombre d'appuis FCN s'incrémente successivement au fil des jours pour atteindre le critère final de FCN16.

V. 7. Le Differential Reinforcement Low rate schedule

Le Differential Reinforcement of Low rate schedule (DRL) est un test permettant de mesurer l'impulsivité d'action en sollicitant un délai minimum entre deux réponses pour obtenir une récompense (Uslaner and Robinson, 2006).

La tâche consiste alors à appuyer une première fois sur le levier actif puis une seconde fois sur ce même levier, mais après un délai défini. De même que pour le nombre d'appuis dans l'épreuve de FCN, le délai inter-réponse représente une valeur minimum à atteindre. Si le délai inter-réponse est supérieur ou égal à la valeur définie alors l'animal est récompensé. Dans le cas contraire, si l'animal répond avant la fin du délai, celui-ci est réinitialisé. Chaque session dure au maximum 30 minutes et le nombre maximal de pastilles est fixé à 100.

Pour une épreuve de DRL-20, le délai inter-réponse équivaut à 20 secondes. Ce délai est important et les individus ne sont capables de l'acquérir directement. Le délai est fixé dans un premier temps à 5 secondes et s'incrémente au fil des sessions. Une fois le délai de 20

secondes atteint, quinze jours de DRL-20 sont réalisés avant le début des tests pour s'assurer de l'acquisition de la procédure et récolter les mesures de performance individuelle basales.

Pour nos expériences utilisant les tests de DRL et FCN, nous avons utilisé 44 rats mâles Sprague-Dawley (21 rats contrôles recevant un AAV2-9 GFP et 23 rats lésés recevant un AAV2-9 A53T).

V. 8. Technique d'inactivation fonctionnelle sélective par injection de daun02

Cette technique se base sur l'interaction entre la pro-drogue (daun02) et l'enzyme β -galactosidase. Sous l'action de la β -galactosidase le daun02 va être métabolisé en daunorubicine. Ce produit va alors inactiver les neurones en agissant sur les canaux Ca^{2+} (Santone et al., 1986), ce qui permet ainsi d'évaluer les effets comportementaux suite à l'inactivation sélective de populations neuronales (Koya et al., 2009; Bossert et al., 2011) (**Figure 10**). Ainsi, nous avons tout d'abord construit un lentivirus permettant l'expression de LacZ sous le contrôle du promoteur FosB afin de pouvoir ensuite inactiver sélectivement les neurones où FosB (et donc Δ FosB) est exprimé. Cette construction est injectée intracérébralement dans le striatum dorsal (10 μ L, AP 0,5 ; ML +3,6 ; DV -4,7) durant la chirurgie de lésion du FMT chez le rat. Après la mise en place de la lésion et l'intégration de virus, nous initiions un traitement chronique à la L-Dopa qui permet l'apparition de dyskinésies et l'expression de Δ FosB dans le striatum dorsal (Cenci et al., 1999). Une fois l'expression des dyskinésies stabilisée, nous effectuons une injection de daun02 (2 μ L ; 4 μ g/ μ L dissout dans 5% de DMSO, 5% de Tween-80 dans du PBS) *via* un guide-canule, sous anesthésie gazeuse, une heure après la dernière dose de L-Dopa. Après un délai de 3 jours le traitement à L-Dopa est repris et l'effet de l'inactivation peut être observé. Cette technique produit un effet réversible et un retour aux comportements basaux est observé après 5 jours environ.

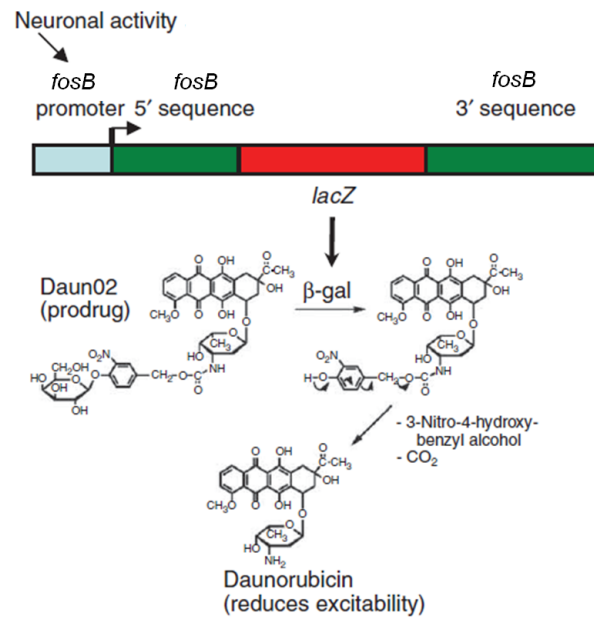


Figure 10 : Mécanisme de fonctionnement de la technique du Daun02. D'après (Koya et al., 2009)

L'expression de la β -galactosidase est sous le contrôle du promoteur *FosB*. Le Daun02 interagit avec la β -galactosidase pour être métabolisé en Daunorubicine et ainsi permettre l'inactivation des canaux Ca^{2+} .

Résultats

Résultats

Article 1

Selective inactivation of striatal FosB-expressing neurons alleviates L-Dopa-induced dyskinesia.

Michel Engeln, Matthieu Bastide, Estelle Toulmé, Benjamin Dehay, Qin Li, Antonio Pisani, Christian Gross, Erwan Bezard*, Pierre-Olivier Fernagut*

(soumis)

Cette expérience s'est intéressée à l'impact de l'accumulation de la protéine Δ FosB sur l'activité électrique des neurones du striatum dorsal durant les dyskinésies. En effet, l'accumulation de Δ FosB a été décrite comme étant un marqueur des dyskinésies et l'interaction moléculaire avec cette protéine a montré une réduction de l'expression des dyskinésies. Cependant, le rôle de Δ FosB sur les propriétés électriques des neurones n'avait pas été investiguée. L'utilisation d'une technique d'inactivation spécifique des neurones exprimant Δ FosB dans le striatum dorsal nous a permis de montrer une diminution des dyskinésies chez le rat concomitante à une augmentation du comportement de rotations. Chez le singe, des résultats similaires ont été retrouvés avec une diminution des dyskinésies et une augmentation du temps d'amélioration motrice du traitement. Ensembles ces résultats ont montré que l'accumulation de Δ FosB sous-tend les dyskinésies et participe également à la réduction de l'effet de la L-Dopa au cours du temps.

Selective inactivation of striatal FosB-expressing neurons alleviates L-Dopa-induced dyskinesia

Michel Engeln^{1,2§}, Matthieu F Bastide^{1,2§}, Estelle Toulmé^{1,2}, Benjamin Dehay^{1,2}, Qin Li³, Christian E Gross^{1,2, 4}, Eric Boué-Grabot^{1,2}, Antonio Pisani⁵, Erwan Bezard^{1,2,3*#}, Pierre-Olivier Fernagut^{1,2*#}

¹ Univ. de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France; ² CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France ; ³ China Academy of Medical Sciences, Institute of Lab Animal Sciences ; ⁴ Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France ; ⁵ Laboratory of Neurophysiology and Plasticity, Fondazione Santa Lucia, IRCCS, Rome, Italy.

§ : contributed equally

* : EB and POF should be both considered as senior authors.

#: To whom correspondence should be addressed: Erwan Bezard (erwan.bezard@u-bordeaux2.fr), Pierre-Olivier Fernagut (pierre-olivier.fernagut@u-bordeaux2.fr). CNRS UMR 5293, IMN, Université Bordeaux Segalen, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France

Abbreviated title:

Manuscript information:

Number of word for abstract: 69/70

Total number of words: 1172/1200

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Marie-Laure Martin-Negrier for her support with cultures and Dr. Bruce Hope for providing Daun02 samples and technical advices.

Abstract

Δ FosB is a surrogate marker of L-Dopa-induced dyskinesia (LID). The relationship between the electrical activity of FosB/ Δ FosB-expressing neurons and LID manifestation is however unknown. The Daun02-induced selective inhibition of FosB/ Δ FosB-expressing neurons decreased LID severity and improved L-Dopa therapeutic effect in rats and monkeys. These results establish that Δ FosB accumulation modulates neuronal electrical properties sustaining maladaptive circuits leading not only to LID but also to a blunted response to L-Dopa.

L-Dopa-induced dyskinesia (LID) is a debilitating side effect of chronic dopamine replacement therapy in Parkinson's disease (PD). Accumulation of the truncated splice variant of FosB (Δ FosB) is a surrogate marker of LID in experimental models of PD¹. While molecular interference with Δ FosB reduces LID^{2, 3}, no causal link between the electrical activity of FosB/ Δ FosB-expressing neurons and LID has been established. Here we directly assessed the role of striatal FosB-expressing neurons in LID by inhibiting their electrical activity using Daun02-inactivation.

Daunorubicin blocks Ca^{2+} current in neuroblastoma cells⁴ and metabolism of Daun02 into daunorubicin within LacZ expressing-cells produces a transient inhibition of drug-related behaviors in rats^{5, 6}. Since the direct inactivation of medium spiny neurons (MSNs) using daunorubicin had not been demonstrated, we first showed that daunorubicin reduces MSNs activity elicited by corticostriatal stimulation in rat brain slices ($p < 0.01$, **Supplementary Fig 1a, b**). We further validated that Daun02 strongly decreased the excitability of rat MSNs primary cultures constitutively expressing LacZ ($p < 0.01$ **Supplementary Fig 1c, d**), establishing the ability of LacZ expressing-cells to convert Daun02 into daunorubicin to mediate inactivation. We then developed a FosB-lacZ lentivirus and demonstrated *in-vitro* that transduced rat striatal neurons stimulated with the D1R agonist SKF-82958, expressed β -galactosidase exclusively in FosB-expressing neurons (**Supplementary Fig 2**).

The FosB-lacZ lentivirus was then injected *in-vivo* to evaluate the role of FosB-expressing neurons on abnormal involuntary movements (AIMs) in 6-hydroxydopamine-lesioned rats⁷. After the establishment of stable AIMs with a therapeutic dose of 6mg/kg L-Dopa⁷, Daun02 significantly decreased AIMs compared with control rats during 2 days (RM ANOVA; Group x Day: $F_{[6, 60]} = 2.64$; $p < 0.05$; Bonferroni: $p < 0.05$ for all). In Daun02-treated animals, AIMs reduction lasted 3 days compared with baseline (-25%, -29% and -24% respectively; Bonferroni: $p < 0.05$ for all; **Fig 1a**). In addition, Daun02 increased rotational behavior on the first day compared with control rats (+66%; RM ANOVA; Group x Day: $F_{[6, 60]} = 3.55$; $p < 0.01$; Bonferroni: $p < 0.05$; **Fig 1b**). When the L-Dopa dose was reduced to 4mg/kg, Daun02

strongly decreased AIMS compared with control rats during 2 days (RM ANOVA; Group x Day: $F_{[3, 27]}=4.63$; $p<0.05$; Bonferroni: $p<0.01$ for all). AIMS reduction lasted 3 days compared with baseline levels (-53%, -63% and -45% respectively; Bonferroni: $p<0.05$ for all; **Fig 1a**). At this dose, no change in rotational behavior was observed (**Fig 1b**). Animals were then rebaselined with 6mg/kg L-Dopa and retrieved their original AIMS scores, demonstrating the reversibility of Daun02-inactivation. Double immunohistochemistry for Δ FosB and D1R further highlighted that Δ FosB accumulation occurred both in D1-positive and D1-negative neurons in the dorsolateral striatum (**Fig 1c**).

When injected in the putamen of dyskinetic MPTP-rendered parkinsonian macaques⁷ expressing the FosB/LacZ construct, Daun02 significantly decreased the dyskinesia score (paired t-test; $p<0.05$; **Fig 1d**) without affecting the disability score (**Fig 1e**), resulting in a significantly increased 'good on-time' period (paired t-test; $p<0.05$; **Fig 1f**).

Seminal studies evaluating metabolic changes in the basal ganglia have suggested that hyperactivity of the direct pathway sustains dyskinesia^{8,9}. Electrophysiological studies further proposed a modified firing pattern involved in LID^{10, 11}. Marked abnormalities in neuronal activity and long-lasting molecular mechanisms prime and/or sustain LID¹². Among them, striatal FosB/ Δ FosB accumulates in PD patients¹³ and correlates with LID severity both in rat and monkey models of PD^{2, 3}. Animal studies further highlighted a causal link between Δ FosB and LID apparition³ or expression².

To test whether the electrical activity of striatal MSNs was related to LID expression, daun02-inactivation coupled with cell-specific gene expression provides a valuable tool to link specific neuronal activity to behavior^{5, 6}. After validating that daunorubicin and daun02+FosB/LacZ reduce neuronal activity *ex-vivo* and *in-vitro*, we showed that daun02 injection in the dopamine-depleted striatum of both dyskinetic rats and monkeys reduced LID expression. Interestingly, LID reduction was paralleled by an increased rotational behavior in rats and by an increase in good on-time period without changes in disability scores and on-time period in primates. This effect further demonstrates a dichotomous role for FosB-expressing neurons

since their activity not only mediate LID but inherently blunt the antiparkinsonian effect of L-Dopa.

LIDs derive from sensitized D1 receptors due to chronic L-Dopa stimulation¹⁴. Recent studies showed that Δ FosB overexpression in accumbal D1-expressing MSNs modulates synaptic properties by increasing spine density and modifying synaptic strength leading to increased cocaine-induced locomotion^{15, 16}. Conversely, reducing Δ FosB signaling prevents these morphological and behavioral modifications, suggesting that Δ FosB accumulation results in altered neuronal activity, leading to sensitized behaviors¹⁷. By inactivating FosB-expressing neurons in these maladaptive circuits, we transiently reinstated the so-called 'honey-moon' period of L-Dopa treatment. Strategies aiming to prevent the constitution of these maladaptive circuits by targeting FosB/ Δ FosB represent new therapeutic avenues to preclude the development of LID in PD.

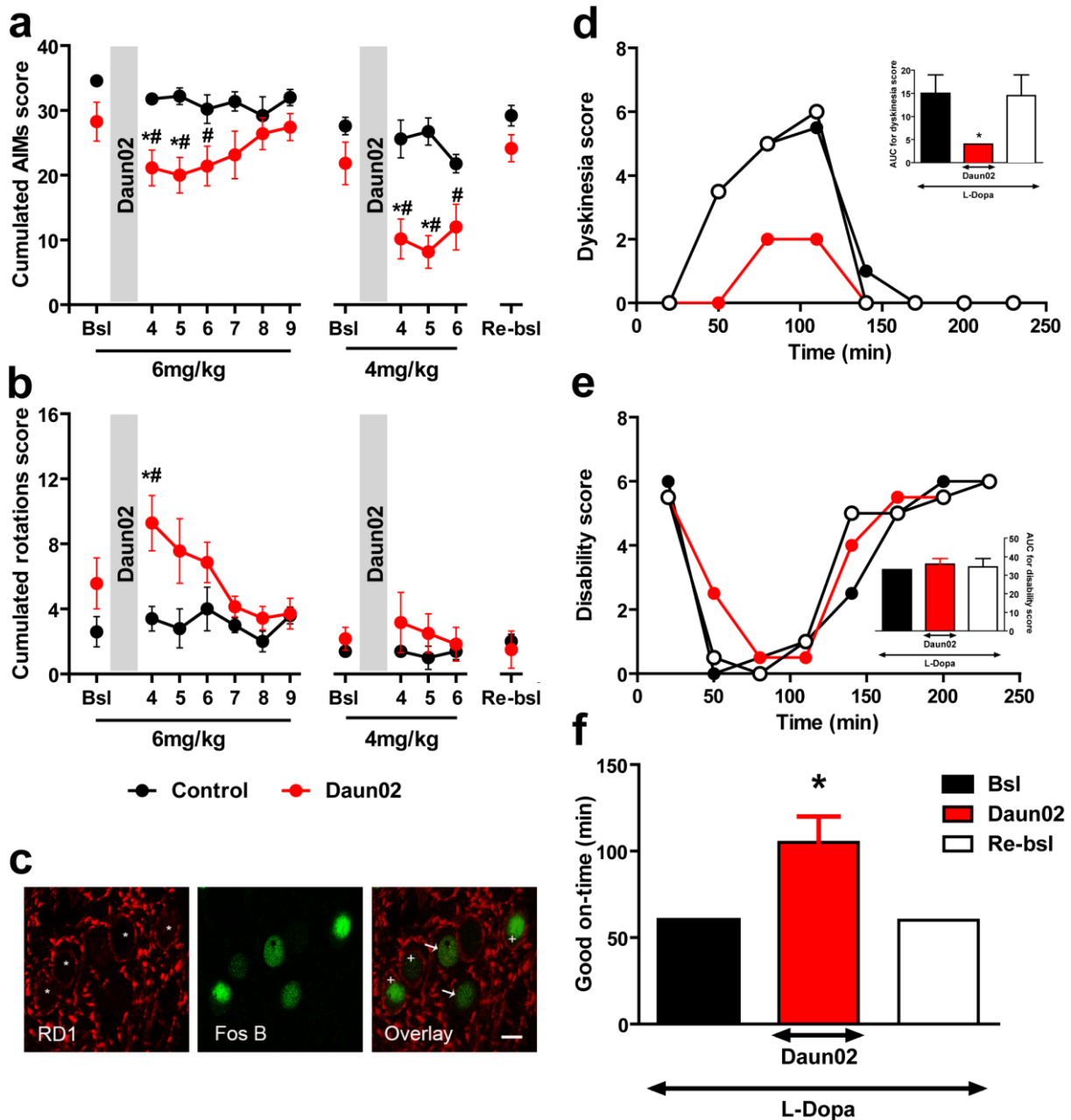


Figure legend

Figure 1: Δ FosB expressing neurons inactivation reduces LID expression and spares L-Dopa beneficial effect (a) cumulated AIMs scores in rats under 6mg/kg and 4mg/kg L-Dopa (ip) before and after daun02 (* $p < 0.05$ from control; # $p < 0.05$ from baseline); (b) cumulated rotation scores in rats under 6mg/kg and 4mg/kg L-Dopa (ip) before and after daun02 (* $p < 0.05$ from control; # $p < 0.05$ from baseline); (c) receptor identity of Δ FosB-immunopositive cells: Δ FosB accumulation occurs in both D1-positive (crosses) and -negative neurons

(arrows). Asterisks indicate D1-positive cells. Scale bar 10 μ m. (d) reduction of dyskinesia scores in monkeys (e) without disability score impairments and (f) increased good on-time, (*p<0.05 from before daun02). Bsl: baseline; Re-Bsl: re-baselining session; AUC: Area under the curve. Mean \pm SEM.

References

1. Cenci, M.A., Tranberg, A., Andersson, M. & Hilbertson, A. *Neuroscience* **94**, 515-527 (1999).
2. Berton, O., *et al.* *Biol Psychiatry* **66**, 554-561 (2009).
3. Andersson, M., Hilbertson, A. & Cenci, M.A. *Neurobiol Dis* **6**, 461-474 (1999).
4. Santone, K.S., Oakes, S.G., Taylor, S.R. & Powis, G. *Cancer research* **46**, 2659-2664 (1986).
5. Koya, E., *et al.* *Nat Neurosci* **12**, 1069-1073 (2009).
6. Bossert, J.M., *et al.* *Nat Neurosci* **14**, 420-422 (2011).
7. Porras, G., *et al.* *The Journal of clinical investigation* **122**, 3977-3989 (2012).
8. Mitchell, I.J., Boyce, S., Sambrook, M.A. & Crossman, A.R. *Brain* **115 (Pt 3)**, 809-824 (1992).
9. Vila, M., *et al.* *J Neurosci* **17**, 765-773 (1997).
10. Hutchinson, W.D., Levy, R., Dostrovsky, J.O., Lozano, A.M. & Lang, A.E. *Ann Neurol* **42**, 767-775 (1997).
11. Boraud, T., Bezard, E., Bioulac, B. & Gross, C.E. *Brain* **124**, 546-557 (2001).
12. Nicholas, A.P., *et al.* *J Neurochem* **106**, 486-494 (2008).
13. Tekumalla, P.K., *et al.* *Biol Psychiatry* **50**, 813-816 (2001).
14. Aubert, I., *et al.* *Ann Neurol* **57**, 17-26 (2005).
15. Grueter, B.A., Robison, A.J., Neve, R.L., Nestler, E.J. & Malenka, R.C. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**, 1923-1928 (2013).
16. Robison, A.J., *et al.* *J Neurosci* **33**, 4295-4307 (2013).
17. Picconi, B., *et al.* *Nat Neurosci* **6**, 501-506 (2003).

Online Methods

Selective inactivation of striatal FosB-expressing neurons alleviates L-Dopa-induced dyskinesia

Michel Engeln^{1,2§}, **Matthieu F Bastide**^{1,2§}, **Estelle Toulmé**^{1,2}, **Benjamin Dehay**^{1,2}, **Qin Li**³, **Christian E Gross**^{1,2, 4}, **Eric Boué-Grabot**^{1,2}, **Antonio Pisani**⁵, **Erwan Bezard**^{1,2,3*#}, **Pierre-Olivier Fernagut**^{1,2*#}

¹ Univ. de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France; ² CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France ; ³ China Academy of Medical Sciences, Institute of Lab Animal Sciences ; ⁴ Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France ; ⁵ Laboratory of Neurophysiology and Plasticity, Fondazione Santa Lucia, IRCCS, Rome, Italy.

Total number of words: 1490/1500

Corticostriatal synaptic plasticity reduction by daunorubicin *ex vivo*

Experiments were performed according to EU, Internal Institutional Review Committee, and Italian directives (D.Lvo 116/1992, 63/2010 EU). Nine male Sprague Dawley rats (3-4 weeks old) were used for experiments. Corticostriatal slices (200 μ m) were prepared as described¹. Whole-cell current clamp recordings were performed from individual neurons, visualized with IR-DIC system¹ using a Multiclamp 700b amplifier (Axon Instruments). Pipettes (3-5 MOhm) were filled with: (in mM) K⁺-gluconate (125), NaCl (10), CaCl₂ (1.0), MgCl₂ (2.0), 1,2-bis-(2-aminophenoxy)-ethane-*N,N,N,N*-tetraacetic acid (BAPTA; 0.5), *N*-(2-hydroxyethyl)-piperazine-*N*-s-ethanesulfonic acid (HEPES; 19), guanosine triphosphate (GTP; 0.3), Mg-adenosine triphosphate (Mg-ATP; 1.0), pH=7.3. Data were acquired with pClamp 9.2 software (Molecular Device, USA) and analyzed offline (Clampfit 9.2, Molecular Devices, USA).

Daun02-inactivation of medium spiny neurons *in vitro*

Recordings were performed 2hrs after 9mM daun02 incubation at room temperature (22–25°C) using pipettes (5–7 M Ω , World Precision Instruments, USA) filled with (in mM) : K⁺-gluconate (100), EGTA (1.1), HEPES (10), creatine phosphate (3), GTP (0.3), CaCl₂ (0.1) and MgCl₂ (5), pH=7.2. Data were recorded using a Multiclamp 700B amplifier by a computer running pClamp 10.2 software via a Digidata 1440A interface (Molecular Devices, USA). Upon achieving whole cell, the resting membrane potential (RMP) was determined in current clamp mode. The amplifier mode was switched to voltage clamp with a baseline holding potential (V_h) of -70mV. Pipettes series resistance (R_s) and capacitance (C_m) were tested. The amplifier was then switched to current clamp mode, membrane potential adjusted to -70mV, and series of depolarizing current pulses of 2s duration were injected every 200ms. Action potentials and firing pattern of the neurons were monitored in response to depolarizing currents.

FosB–LacZ lentivirus

A 1253 bp fragment upstream of the transcription initiation site of the rat fosB genomic DNA was cloned by PCR with the following primers: sense, 5'-caccggatcccacagaccctccaacttctc-3', antisense, 5'-ccggctagcttcctgggcacagggggggcccctgtgaccacgctgaggtctt-3'. PCR products were purified, digested with BamHI/NheI, and subcloned into a LacZ reporter plasmid². The plasmid was subcloned into the lentiviral vector (LV) pRRLSIN-cPPT-PGK-MCS-WPRE. All the constructs were verified by sequencing.

LV production was performed at INSERM E217/Vectorology Platform-IFR 66 by transfection with a three viral vector system, mock (with the different inserts), pCMV- Δ 8-9 (encapsidation plasmid), VSV-G (cDNA encoding the envelope glycoprotein of vesicular stomatitis virus) in FT-HEK293 cells. Lentiviral supernatants were concentrated by centrifugation concentration filter (centricon) with a final titer of $1.18 \cdot 10^9$ pl/ml.

Validation on rat striatal primary culture:

Rat striatal cultures were prepared from E15 rat brains as previously described³⁻⁵. Cells were plated on coverslips coated with 10 μ g/mL poly-D-lysine and laminin at a density of 150000/dish. Striatal cultures were grown in Neurobasal medium (Invitrogen) supplemented with B27 (Invitrogen), 0.5 mM glutamine, and 12.5 μ M glutamate. Before seeding, coverslips were incubated with foetal calf serum-supplemented 20% Dulbecco's modified Eagle medium/F12 (1h at 37°C). After seeding, cells were kept at 37°C in a 5% CO₂ incubator for 10 days. At 4 days *in vitro* (DIV4), part of the medium together with non-adherent cells and cell debris were removed and a culture medium with cytosine arabinofuranoside (0.5 μ M) and without glutamate was added. Striatal neurons were transduced at DIV14 with 1 μ L of FosB-LacZ lentivirus. To induce neuronal FosB activation, neurons were incubated with 10 μ M of the full D1R agonist SKF-82958 for 1h.

Cytochemical detection of β -galactosidase (β -gal):

Cultured cells were washed twice in PBS (pH=7.4), fixed with 4.0% paraformaldehyde for 5 minutes at room temperature, and incubated overnight at 37°C in freshly prepared staining buffer [1mg/mL X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside), 5mM K₃Fe[CN]₆, 5mM K₄Fe[CN]₆, and 2mM MgCl₂ in PBS, pH 6.0]. Cells were washed with PBS, followed with methanol and examined at $\times 20$ magnification.

Behavioral experiments

Animals

Twelve male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, France) with water and regular rodent chow available *ad libitum* were used. All experiments were approved by the Ethical Committee of Bordeaux University.

Two males macaque (*Macaca fascicularis*, Beijing, PR of China; aged 5 ± 1 years; weight = 5.3 ± 0.8 kg) housed in individual primate cages allowing visual contacts and interactions with monkeys housed in adjacent cages, under controlled conditions. Food and water were available *ad libitum* and animal care was supervised daily by veterinarians skilled in the healthcare and maintenance of nonhuman primates. Experiments were carried out in an AAALAC-accredited facility following acceptance of study design by the Institute of Lab Animal Science IACUC (Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China).

All animal experiments were conducted according to European Union Directive (2010/63/EU) guidelines for the care of laboratory animals.

Stereotaxic surgery

Rats. Surgeries were conducted under isoflurane anesthesia. Coordinates are given in mm relative to bregma and dura⁶. Experimental parkinsonism was achieved with an unilateral injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the medial forebrain bundle (MFB) as previously described^{7, 8}. Briefly, 30min after injection of desipramine + citalopram (Sigma-Aldrich; 20mg/kg and 1mg/kg respectively; ip) 2.5 μ L 6-OHDA (Sigma-Aldrich; 3 μ g/ μ L in

0.1% ascorbic acid) was injected in the right MFB (AP -3.6; ML +1.6; DV -7.5). Animals were injected with 10 μ L FosB/LacZ LV in the right striatum (AP 0.5; ML +3.6; DV -4.7). Guide cannulas (Plastic One; 26 gauges) were implanted in 7 rats (AP 0.5; ML +3.6; DV -3.2) and cemented to the skull for subsequent Daun02 infusions. Rats were placed in recovery during 3 weeks with daily monitoring then underwent stepping test⁹ to evaluate motor deficits. Only animals exhibiting >50% stepping deficits were retained for AIMs induction.

Monkeys. Animals were first rendered parkinsonian with MPTP-hydrochloride (0.2mg/kg, i.v., Sigma) dissolved in saline as previously described¹⁰. Daily (9 a.m.) assessment of parkinsonism was performed in home cages for 30 min by two blinded observers using a validated rating scale¹⁰ assessing tremor, general level of activity, body posture (flexion of spine), vocalization, freezing and frequency of arm movements and rigidity (for each upper limb). A disability score between 0 (no impairments) and 25 (severely impaired) was calculated.

A total volume of 100 μ L of FosB/LacZ lentivirus was injected bilaterally into each animal (50 μ L per side at 2 rostrocaudal and 2 dorsoventral sites (AP -1 and 1; ML +/- 14; DV 0 and 3 from anterior commissura (AC)) with a Hamilton syringe mounted into a microinjector system (Kopf, California). Guide cannulas (AP 0; ML +/- 14, DV 7 from AC) were cemented to the skull. Horsley-Clarke stereotaxic technique coupled with ventriculography were used to determine the position of left and right putamen.

AIMs induction

Rats. Animals received 10 daily injections of L-Dopa/benserazide (Sequoia Research Products, 6mg/kg and 15mg/kg respectively; ip). On the last day, baseline AIMs were scored as previously described⁸ using a validated rating scale assessing 3 items (axial, forelimb, orolingual dyskinesia) rated from 0 (absent) to 4 (continuous, severe, uninterrupted by sensory distraction)¹¹ to obtain a composite score (max 12pts). Ratings lasted 1min/rat at 30, 60, 90 and 120min post L-dopa. The 4 composite scores were added to obtain a cumulated

score (max 48pts). L-Dopa-induced rotations were rated following the same schedule to obtain a cumulated score (max 16 pts).

Monkeys. Following stabilization of the MPTP-induced syndrome (3 months), animals received twice-daily 20mg/kg L-Dopa p.o. for three months. Dyskinesia severity was rated daily before and after L-Dopa administration as previously described¹² using the Dyskinesia Disability Scale¹³. Median rating scores and SEM were calculated daily.

Daun02 inactivation

Rats. On the 11th day, animals received a 6mg/kg L-dopa injection 1h before a 2µL Daun02 injection (4µg/µL in 5% DMSO, 5% Tween-80 in PBS) under light isoflurane anesthesia before being placed in their home cage for 3 days as described^{14, 15}. From the 4th day, all rats received a daily 6mg/kg L-Dopa injection and AIMs were scored. Because 6mg/kg L-Dopa induces marked dyskinesia in rats^{7, 8} possibly reaching plateau levels, a 4mg/kg dose was further tested. AIMs and rotation scores were then stabilized with 4mg/kg L-Dopa during 5 consecutive days with a baseline rating on the last day. Using the same infusion procedure and after a 3-days rest period, animals received once-daily 4mg/kg L-Dopa injection. AIMs and rotations were scored during 3 days. To ensure reversibility of Daun02-induced inactivation, 6mg/kg L-Dopa was administered after 8 days wash-out and AIMs were evaluated.

Monkeys. After having established dyskinesia, monkeys received 20mg/kg L-Dopa (p.o.) one hour before a 25µL Daun02 injection/side (4µg/µL dissolved in 5% DMSO, 5% Tween-80 in PBS) under light isoflurane anesthesia, before being placed in their home cage for 3 days. Starting on the 4rd day, animals received two-daily 20mg/kg L-Dopa (p.o.) and AIMs were scored as described for baseline until recovery.

Histological analysis

Rats were euthanized with a lethal injection of chloral hydrate (600mg/kg, VWR) and perfused with 2% paraformaldehyde + 0.3% glutaraldehyde. 50 μ m-thick free-floating coronal sections were collected and processed for tyrosine hydroxylase (MAB318, Milipore) and FosB/D1R (sc-48, Santa-Cruz and D2944, Sigma, respectively) immunohistochemistry as previously described¹⁶.

Data analysis

Electrophysiological data were analyzed using 2-way analysis of variance with repeated measures (RM ANOVA) and paired t-tests. For behavioral data, (2-way RM ANOVA) were run with Bonferroni *post-hoc* tests. All data are presented as mean \pm SEM with a threshold for statistical significance at $p < 0.05$.

References

1. Sciamanna, G., *et al.* *Neurobiol Dis* **34**, 133-145 (2009).
2. Coulon, V., Chebli, K., Cavelier, P. & Blanchard, J.M. *PLoS One* **5**, e11235 (2010).
3. Kowalski, C. & Giraud, P. *Neuroscience* **53**, 665-672 (1993).
4. Martin-Negrier, M.L., Charron, G. & Bloch, B. *Synapse* **60**, 194-204 (2006).
5. Martin-Negrier, M., Charron, G. & Bloch, B. *Neuroscience* **99**, 257-266 (2000).
6. Paxinos, G. & Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates* (Elsevier, 2009).
7. Charron, G., *et al.* *Brain* **134**, 2321-2338 (2011).
8. Berthet, A., *et al.* *J Neurosci* **32**, 681-691 (2012).
9. Olsson, M., Nikkhah, G., Bentlage, C. & Bjorklund, A. *J Neurosci* **15**, 3863-3875 (1995).
10. Bezard, E., *et al.* *J Neurosci* **21**, 6853-6861 (2001).
11. Cenci, M.A., Lee, C.S. & Bjorklund, A. *Eur J Neurosci* **10**, 2694-2706 (1998).
12. Fernagut, P.O., *et al.* *PLoS One* **5**, e14053 (2010).
13. Tison, F., *et al.* *Parkinsonism Relat Disord* **19**, 416-421 (2013).
14. Koya, E., *et al.* *Nat Neurosci* **12**, 1069-1073 (2009).
15. Bossert, J.M., *et al.* *Nat Neurosci* **14**, 420-422 (2011).
16. Engeln, M., *et al.* *Neurobiol Dis* **49C**, 79-86 (2012).

Supplementary data

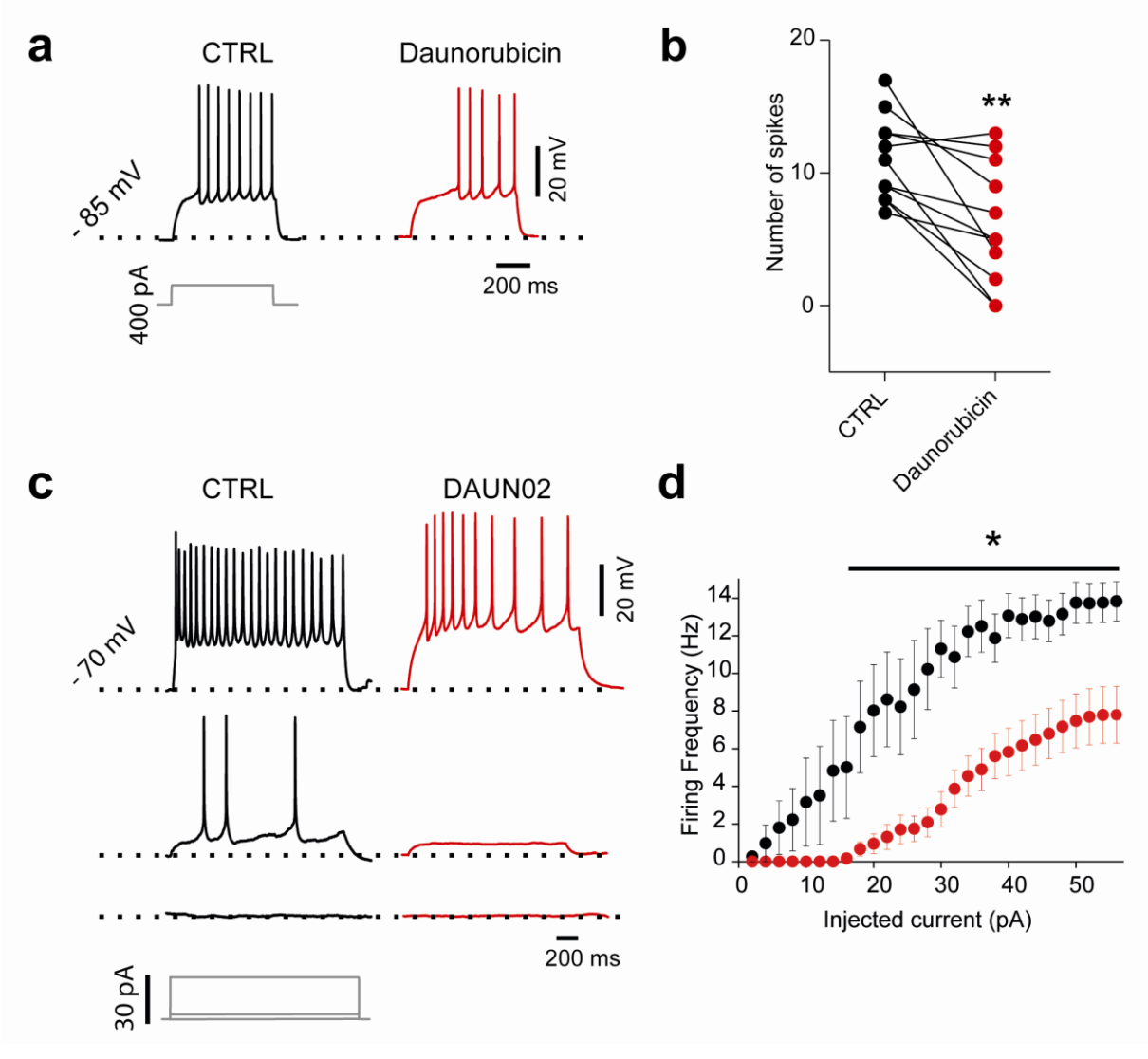
Selective inactivation of striatal FosB-expressing neurons alleviates L-Dopa-induced dyskinesia

Michel Engeln ^{1,2§}, **Matthieu F Bastide** ^{1,2§}, **Estelle Toulmé** ^{1,2}, **Benjamin Dehay** ^{1,2}, **Qin Li** ³, **Christian E Gross** ^{1,2, 4}, **Eric Boué-Grabot** ^{1,2}, **Antonio Pisani** ⁵, **Erwan Bezard** ^{1,2,3*#}, **Pierre-Olivier Fernagut** ^{1,2*#}

¹ Univ. de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France; ² CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France ; ³ China Academy of Medical Sciences, Institute of Lab Animal Sciences ; ⁴ Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France ; ⁵ Laboratory of Neurophysiology and Plasticity, Fondazione Santa Lucia, IRCCS, Rome, Italy.

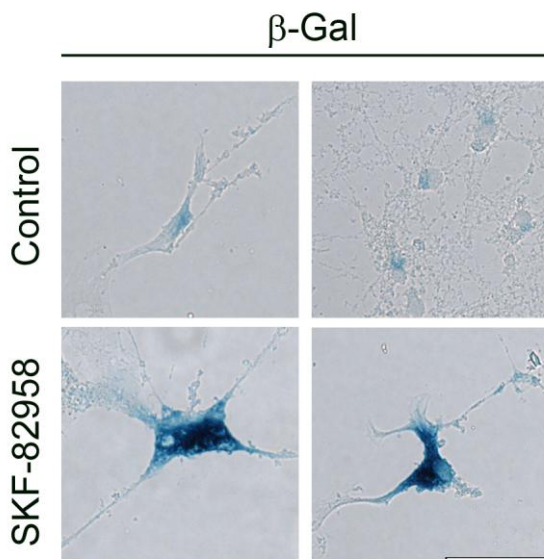
Total number of words: 205

Legends to supplementary figures



Supplementary Figure 1: *Daunorubicin and Daun02 compounds induce neuronal inactivation in brain slices and striatal neuron cultures.* (a) Typical membrane responses of a striatal neuron to a cortical current injection (400pA; 600ms) before (dark trace) and after (red trace) bath application of daunorubicin on a corticostriatal slice. (b) Plot summarizing a decrease in the number of spikes induced by a cortical stimulation after bath application of daunorubicin (1μM; 10min before recording) (** p<0.01). (c) Representative traces of current-clamp recordings in control conditions (dark traces) and after Daun02 incubation (2hr; 9mM; red traces) from medium spiny neurons in culture. (d) Plot of firing frequency as a

function of the injected current in control condition (black, n = 7 cells) and after Daun02 incubation (2hr; 9mM; red; n = 22 cells). Note the decrease in striatal neuron excitability after Daun02 incubation (* p<0.05).



Supplementary figure 2: *Characterization of FosB-LacZ lentivirus in 15-day rat striatal cultured neurons.* A chimeric LacZ reporter lentivirus including the 5'-flanking region of the rat *FosB/ΔFosB* gene was transduced into rat striatal neurons. Cells were then exposed to 10μM of the full D1R agonist SKF-82958 for 1h. SKF-82958-induced neuronal activity induces β-galactosidase expression (blue-labeled nuclei) in neurons that express Fos. White bar, 50μm.

Article 2

Wide monoaminergic dysregulation of both motor and nonmotor circuits in Parkinsonism and Dyskinesia.

Michel Engeln, Philippe De Deurwaerdère, Qin Li, Erwan Bezard*, Pierre-Olivier Fernagut*
(soumis)

Dans cette expérience nous avons voulu évaluer l'impact d'une lésion au MPTP et d'un traitement successif à la L-Dopa sur les niveaux de monoamines dans différentes régions cérébrales chez le macaque. Pour cela, nous avons utilisé 41 macaques rhésus que nous avons divisés en plusieurs groupes : animaux naïfs, animaux naïfs recevant une dose aigue de L-Dopa, animaux naïfs recevant un traitement chronique à la L-Dopa, animaux intoxiqués au MPTP, animaux intoxiqués recevant une dose aigue de L-Dopa, animaux intoxiqués recevant un traitement chronique et présentant ou non des dyskinésies. L'analyse des tissus par chromatographie liquide à haute pression a alors montré que chez les animaux naïfs, la L-Dopa augmentait les taux de dopamine dans les régions cognitives/limbiques alors qu'elle réduisait les niveaux de sérotonine dans les territoires moteurs. Chez les animaux intoxiqués au MPTP, en plus de la déplétion dopaminergique et sérotoninergique retrouvée dans le striatum, on retrouvait une baisse des monoamines dans d'autres régions comme le cortex moteur et l'amygdale. Enfin, chez les animaux lésés ayant un traitement chronique à la L-Dopa, on retrouvait une augmentation de dopamine dans les territoires limbiques. De manière intéressante, l'augmentation des taux de dopamine dans ces régions corrélait avec la sévérité des dyskinésies, suggérant que les territoires cognitifs/limbiques pourraient être directement impliqués dans l'expression des dyskinésies.

Wide monoaminergic dysregulation of both motor and non-motor circuits in Parkinsonism and Dyskinesia

Michel Engeln^{1,2}, Philippe De Deurwaerdère^{1,2}, Qin Li³, Erwan Bezard^{1,2,3*#}, Pierre-Olivier Fernagut^{1,2*}

¹ Univ. de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France; ² CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France; ³ Institute of Lab Animal Sciences, China Academy of Medical Sciences, Beijing 100101, China

* : EB and POF should be both considered as senior authors.

#: Corresponding author

Erwan Bezard, CNRS UMR 5293, IMN, Université Bordeaux Segalen, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France. E-mail : erwan.bezard@u-bordeaux2.fr

Abbreviated title: Monoamine dysregulation in PD and LID

Manuscript information: 15 text pages; 5 figures.

Number of word for: Abstract: 251

Introduction: 378

Discussion: 1601

Total number of words: 3836 words.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Marie-Laure Thiolat, Li Jun and Li Hao for the expert technical support as well as Ourida Gaucher for administrative support.

Abstract

Beyond dopamine loss, Parkinson's disease is associated with broad monoamine alterations. Some monoaminergic systems appear to benefit from L-Dopa replacement therapy while others seem further altered, causing dyskinesia and non-motor symptoms. No study has however differentiated the contribution of parkinsonism from the effect of L-Dopa treatment on monoaminergic changes. Here, both the consequences of the vehicle/MPTP exposure and the subsequent effects of L-dopa upon the monoamines were evaluated in normal (n=18) and MPTP-treated (n=23) macaque monkeys exposed to acute or chronic L-Dopa treatment. Post-mortem high-pressure liquid chromatography analysis was performed to evaluate monoamine levels in all conditions in five brain areas. Whilst MPTP intoxication produced the expected dramatic loss of dopamine and serotonin in the striatum, monoamine concentrations were also affected in other regions such as the motor cortex and amygdala. In normal monkeys, L-Dopa treatment increased dopamine in limbic-associative regions while decreasing serotonin levels in motor domains. In MPTP-treated animals, L-dopa treatment failed to restore striatal monoamine levels. Dyskinetic MPTP-treated monkeys exhibited high dopamine levels in limbic domains, which were paralleled by a decreased serotonin concentration. Chronic L-Dopa treatment elevated monoamine levels in cognitive and limbic regions both in normal and MPTP-treated monkeys. However a drastic increase in dopamine levels in these regions, correlating with dyskinesia severity, occurred exclusively in dyskinetic animals suggesting that dyskinesia might also possess non-motor components. Such monoaminergic dysregulation in limbic domains could underlie the cognitive dysfunctions occurring in chronically L-Dopa-treated patients and may also directly contribute to the expression of motor complications such as dyskinesia.

Keywords: Parkinson's disease, MPTP, Monkey, Limbic, Serotonin

INTRODUCTION

In addition to the loss of mesencephalic dopaminergic neurons, Parkinson's disease (PD) is associated with the degeneration of other nuclei such as the nucleus basalis of Meynert, the dorsal raphe nucleus, the locus coeruleus and pedunculopontine nucleus (Ehringer and Hornykiewicz, 1960, Halliday *et al.*, 1990, Jellinger, 1991, Zarow *et al.*, 2003). The amazing therapeutic benefit afforded by L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-Dopa) has resulted in an over-focus upon dopamine (DA) loss whilst noradrenergic (NA), serotonergic (5-HT) and cholinergic deficits are thought to ground most non-L-dopa-responsive symptoms (Bonnet *et al.*, 1987, Ahlskog, 2007) and to participate to aberrant responses such as L-Dopa-induced dyskinesia (LID) and fluctuations (Carta *et al.*, 2007, Navailles and De Deurwaerdere, 2012). Because LIDs represent highly debilitating motor complications of long-term L-Dopa treatment, structures belonging to the motor cortico-subcortico-cortical loops have received most experimental attention (for review see (Bezard *et al.*, 2001). Mapping studies of monoaminergic depletion in different brain areas of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-treated macaques showed alterations in both motor and limbic domains but the influence of dopaminergic medication on monoamine levels was, at this time, not investigated (Pifl *et al.*, 1991). Further works evaluating metabolic changes in response to dopaminergic treatments found an increased activity in both motor and "limbic/associative" components of the subthalamic nucleus (STN) (Mitchell *et al.*, 1992). These findings suggested that segregated activation of the STN could account for differential pathophysiological markers of chorea and dystonia. However, an increased metabolic activity found in "limbic/associative" outputs of the basal ganglia further suggested that LID should either be considered as being elicited through involvement of both motor and cognitive/affective networks or are accompanied by dysregulated cognitive/affective manifestations (Guigoni *et al.*, 2005). Recently, rat experiments evaluated that chronic L-Dopa treatment induces a dysregulation of extrastriatal DA and 5-HT responsible for affective symptoms (Eskow Jaunarajs *et al.*, 2012).

Growing evidence suggests that chronic L-Dopa stimulation might disrupt monoamine transmission in PD (Eskow Jaunarajs *et al.*, 2010, Navailles *et al.*, 2011, Eskow Jaunarajs *et al.*, 2012). However no study has so far differentiated the contribution of parkinsonism from the effect of L-Dopa treatment on monoaminergic changes. This experiment thus combined the study of both the effects of the vehicle/MPTP exposure and the subsequent effects of acute and chronic treatment with L-dopa upon the monoamines in five motor and non-motor structures.

MATERIALS AND METHODS

Experimental protocol

Experiments were conducted on a previously characterized brain bank (Fernagut *et al.*, 2010, Santini *et al.*, 2010, Porras *et al.*, 2012) composed of forty-one female rhesus monkeys (*Macaca mulatta*, Xierxin, Beijing, PR of China; mean age = 5 ± 1 years; mean weight = 5.3 ± 0.8 kg) housed in individual primate cages allowing visual contacts and interaction with monkeys housed in the adjacent cages, under controlled conditions of humidity ($50\pm 5\%$), temperature ($24\pm 1^\circ\text{C}$) and light (12 h light/ 12 h dark cycles, time lights on 8:00 am). Food and water were available *ad libitum* and animal care was supervised daily by veterinarians skilled in the healthcare and maintenance of nonhuman primates. Experiments were carried out in accordance with European Communities Council Directive (2010/63/EU) for care of laboratory animals in an AAALAC-accredited facility following acceptance of study design by the Institute of Lab Animal Science IACUC (Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China).

Briefly, seven groups were constituted as follows (Fernagut *et al.*, 2010, Santini *et al.*, 2010, Porras *et al.*, 2012): six untreated controls (control group), six control animals receiving one single 20mg/kg L-Dopa dose p.o. (control acute L-Dopa), six animals receiving twice daily 20mg/kg L-Dopa p.o. for three months (control chronic L-Dopa). Twenty-three additional animals were rendered parkinsonian with MPTP hydrochloride (0.2mg/kg, i.v., Sigma, St Louis, MO) dissolved in saline according to a previously described protocol (Bezard *et al.*,

1997, Bezard *et al.*, 2001). Following stabilization of the MPTP-induced syndrome (3 months), they received either: saline (MPTP group; n=5), one single 20mg/kg L-Dopa dose p.o. (MPTP acute L-Dopa; n=6) or twice-daily 20mg/kg L-Dopa p.o. for a further three months (MPTP chronic L-Dopa; n=12). At the end of the experiment, all animals were killed by sodium pentobarbital overdose (150 mg/kg, i.v.) 1 hr after the last dose of vehicle or L-Dopa, and the brains were removed quickly after death. Each brain was bisected along the midline and the two hemispheres were immediately frozen by immersion in isopentane (-45°C) and then stored at -80°C.

Behavioral assessment of parkinsonism

Daily (9 a.m.) assessment of the parkinsonism degree was performed in home cages for 30 min by two blinded observers using a validated parkinsonian-macaque clinical scale (Imbert *et al.*, 2000, Bezard *et al.*, 2001) which rates: tremor, variations in the general level of activity, body posture (flexion of spine), vocalization, freezing and frequency of arm movements (reaching for food for each upper limb) and rigidity (for each upper limb). A disability score between 0 (no impairments) and 25 (severely impaired) was calculated. After chronic L-Dopa treatment, the severity of dyskinesia was rated as previously described (Fernagut *et al.*, 2010) using the Dyskinesia Disability Scale (Hill *et al.*, 2004, Fasano *et al.*, 2010, Fox *et al.*, 2012, Tison *et al.*, 2013) . Daily behavioral assessments were performed before and after L-Dopa administration. Median rating scores and SEM were calculated daily for each group.

HPLC analysis

Coronal 300µm-thick sections were cryostat-cut and punches of brain tissue were realized for each region (i.e. striatum (putamen), motor cortex, prefrontal cortex, hippocampus and amygdala) in order to obtain average samples of 6±2 mg (Santini *et al.*, 2010). The tissues were homogenized in 60µL of 0.1N HClO₄ and centrifuged at 13000rpm for 30 min at 4°C (De Deurwaerdere *et al.*, 1995, Delaville *et al.*, 2012). Supernatants were injected into the

HPLC column (Chromasyl C8, 150x4.6 mm, 5 μ m) protected by a Browlee-Newgaard precolumn (RP-8, 15x3.2, 7 μ m). The mobile phase, delivered at 1.2ml/min flow rate, was prepared as follows: 70mM NaH₂PO₄, methanol 7%, triethylanine 100 μ l/l, SOS 90mg/l, adjusted to pH 4.2 with orthophosphoric acid and filtered through a 0.22 μ m Millipore filter. Monoamine detection was performed with a coulometric detector (Coulochem II, ESA) coupled to a dual-electrode analytic cell (model 5011). The potential of the electrodes was set at +350 and -270 mV. Tissue protein content was determined by the method of (Lowry *et al.*, 1951).

Data analysis

Raw data were subjected to Student t-tests for 'Control vs. MPTP' comparisons and one-way ANOVA for L-Dopa treatments. *Post hoc* analyses were performed using Bonferroni's multiple comparisons test. Linear regressions between LID and monoamine levels were performed using Spearman correlation. All data presented are Means \pm SEM with a threshold for statistical difference set at $p < 0.05$.

RESULTS

MPTP-induced monoamine depletion

Levels of NA, DA, 5-HT and the DA metabolite 3,4 dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) were measured in both Control and MPTP-treated monkeys (**Fig 1**). As expected and previously reported (Bezard *et al.*, 2001, Fernagut *et al.*, 2010), MPTP intoxication led to an almost total DA depletion in the striatum (-92.6%; t-test; $t=4.68$, $df=8$; $p < 0.01$; **Fig 1**). This loss was mirrored by a similar decrease in DOPAC concentrations (-92.8%; t-test; $t=6.06$, $df=8$; $p < 0.001$). Striatal 5-HT levels were also affected by MPTP (-36.5%; t-test; $t=3.6$, $df=8$; $p < 0.01$). Interestingly, some extrastriatal structures, exhibited a trend toward a decrease in 5-HT or NA in response to MPTP treatment: in the motor cortex, 5-HT levels were lowered by 29.6% (t-test; $t=2.18$, $df=7$; $p=0.06$) and NA concentrations in the amygdala were decreased by 32.9% (t-test; $t=2.15$, $df=9$, $p=0.06$).

Effect of acute and chronic L-Dopa treatment on monoamine levels in Control monkeys

To date, no study has assessed L-Dopa-induced modifications of monoamine concentrations in normal monkeys. Here, an interesting finding was the ability of an acute administration of L-Dopa to decrease 5-HT concentrations in motor areas (**Fig 2**). In the striatum, acute L-Dopa decreased 5-HT concentration by 24.5% compared with untreated controls. One-way ANOVA revealed a group effect ($F_{[2; 16]}=6.99$, $p<0.01$) and *post-hoc* analysis highlighted a significant difference between acute and chronic groups (Bonferroni: $p<0.01$) and a trend for acute vs. untreated-control groups (Bonferroni: $p=0.053$). Similar result was found for the motor cortex, where a 37% decrease in 5-HT levels was observed. One-way ANOVA confirmed the group effect ($F_{[2; 14]}=10.37$, $p<0.01$) and *post-hoc* analysis revealed that the acute group was significantly different from both untreated- and chronically- treated groups (Bonferroni: $p<0.05$ for both). Alterations of monoamine content were also found in non-motor areas (**Fig 2**). Indeed, NA levels in the prefrontal cortex were significantly increased in both acutely- and chronically- treated animals (55% and 52% respectively) compared with untreated-controls (one-way ANOVA: $F_{[2; 17]}=6.19$, $p<0.05$; Bonferroni: $p<0.05$ for both). In the prefrontal cortex, DA concentrations were significantly increased by 102% after chronic L-Dopa treatment compared with untreated controls (one-way ANOVA: $F_{[2; 16]}=5.8$, $p<0.05$; Bonferroni: $p<0.05$). Chronic L-Dopa treatment also increased DA levels in the hippocampus by 146% compared with untreated-controls (one-way ANOVA: $F_{[2; 14]}=9.86$, $p<0.01$). *Post-hoc* analysis further showed that the chronic group displayed significantly higher DA levels than both untreated and acutely treated animals (Bonferroni: $p<0.01$ for both). Finally, a trend toward DA increase (+175% compared to untreated controls) in the amygdala was observed after acute treatment (one-way ANOVA: $F_{[2; 17]}=3.82$, $p<0.05$; Bonferroni: $p=0.05$).

Effect of acute and chronic L-Dopa treatment on monoamine levels in MPTP-treated monkeys

After a chronic L-Dopa treatment regimen, two behaviorally distinct populations arise as previously described (Fernagut *et al.*, 2010, Santini *et al.*, 2010, Porras *et al.*, 2012): 'Non-dyskinetic' and 'Dyskinetic' monkeys (scores presented in (Fernagut *et al.*, 2010). Monoamine levels assessed following L-Dopa administration in the 3 groups of MPTP-treated animals (acute, chronic non-dyskinetic and chronic dyskinetic) are presented on **Fig 3**. Neither acute nor chronic L-Dopa were able to restore DA and DOPAC concentrations in the striatum (t-test comparing untreated controls to each condition, $p < 0.001$ for all). One-way ANOVA comparing untreated MPTP-monkeys to each treatment condition revealed that striatal DA and DOPAC levels remained unaffected by L-Dopa treatment ($F_{[3; 22]} = 2.99$, $p > 0.05$ for DA and $F_{[3; 22]} = 2.05$, $p > 0.05$ for DOPAC). Concerning striatal 5-HT, neither acute nor chronic treatment managed to restore the MPTP-induced 5-HT depletion (t-test comparing each of the 3 treated groups to untreated-controls, $p < 0.05$ for all). Chronic L-Dopa treatment even worsened (by about 40%) the observed decrease in the striatum: in both dyskinetic and non-dyskinetic groups, 5-HT concentrations were significantly lower compared with untreated-MPTP animals (one-way ANOVA, $F_{[3; 22]} = 10.23$, $p < 0.001$; Bonferroni: $p < 0.05$ for both) and compared to acutely-treated animals (Bonferroni: $p < 0.01$ for both).

In the motor cortex, NA levels were decreased in non-dyskinetic animals (t-test, $t = 3.02$, $df = 10$, $p < 0.05$) and 5-HT concentration was lower in dyskinetic monkeys (t-test, $t = 2.96$, $df = 7$, $p < 0.05$) compared with untreated-controls.

NA levels were also decreased following both acute and chronic L-Dopa treatment in the prefrontal cortex (t-test comparing each of the 3 treated groups with untreated-controls, $p < 0.05$ for all). In the same region, DA and DOPAC levels of dyskinetic monkeys were increased following chronic L-Dopa treatment (t-test, $t = 2.85$, $df = 10$ for DA and $t = 2.65$, $df = 9$ for DOPAC, $p < 0.05$ for both, vs. untreated-controls). One-way ANOVA confirmed this increase when compared with untreated-MPTP ($F_{[3; 23]} = 7.65$, $p < 0.01$; Bonferroni: $p < 0.01$ for

DA and $F_{[3; 22]}=8.82$, $p<0.001$; Bonferroni: $p<0.01$ for DOPAC), acute (Bonferroni: $p<0.05$ for both DA and DOPAC) and non-dyskinetic (Bonferroni: $p<0.05$ for both DA and DOPAC) groups.

In the hippocampus, chronic L-Dopa treatment induced a drastic increase of both DA and DOPAC concentrations exclusively in dyskinetic animals (t-test, $t=2.78$, $df=9$, for DA and $t=3.24$, $df=10$ for DOPAC, $p<0.05$ vs. untreated-control for both). This increase was also observed when compared with untreated-MPTP ($F_{[3; 22]}=6.75$, $p<0.01$; Bonferroni: $p<0.01$ for DA and $F_{[3; 22]}=9.37$, $p<0.001$; Bonferroni: $p<0.01$ for DOPAC), acute (Bonferroni: $p<0.01$ for both DA and DOPAC) and non-dyskinetic (Bonferroni: $p<0.05$ for both DA and DOPAC) groups. Interestingly, this increased hippocampal dopaminergic tone was mirrored by a decrease in 5-HT concentrations. One-way ANOVA ($F_{[3; 22]}=8.25$, $p<0.001$) followed by *post-hoc* analysis revealed that dyskinetic animals were significantly different from untreated-MPTP (Bonferroni: $p<0.001$), acute (Bonferroni: $p<0.05$) and non-dyskinetic (Bonferroni: $p<0.05$) animals.

Finally in the amygdala, no treatment schedule managed to restore the trend toward NA depletion induced by MPTP. Thus, NA levels were significantly decreased in all MPTP groups compared with untreated-controls ($p<0.05$ for all). An increase in DA and DOPAC concentrations in dyskinetic compared with non-dyskinetic monkeys was also observed (one-way ANOVA, $F_{[3; 22]}=3.35$, $p<0.05$ for DA and $F_{[3; 22]}=7.04$, $p<0.01$ for DOPAC; Bonferroni: $p<0.05$ for both DA and DOPAC). Dyskinetic animals exhibited higher DA concentrations compared with untreated-controls (t-test, $t=4.22$, $df=10$, $p<0.01$), whereas non-dyskinetic animals showed decreased DOPAC levels (t-test, $t=2.69$, $df=10$, $p<0.05$ from untreated-controls). Again, this increased dopaminergic tone in dyskinetic monkeys was concomitant with a decrease in 5-HT. Interestingly, the low 5-HT levels were present in both dyskinetic and non-dyskinetic animals when compared with untreated-controls (t-test, $p<0.01$ for both), with untreated-MPTP (one-way ANOVA, $F_{[3; 22]}=7.84$, $p<0.01$; Bonferroni: $p<0.05$ for both) and with acute L-Dopa treatment (Bonferroni: $p<0.01$ for both).

A graphical summary of those widespread monoaminergic changes produced by L-Dopa in both normal and MPTP-treated animals is provided on **Fig 4**.

Correlations between dyskinesia and monoamine contents

To investigate whether monoamine levels in cognitive/limbic regions varied with dyskinesia severity, we sought for significant correlations. There was no significant correlation between NA levels and LID severity in any of the regions analyzed. For DA there was a trend in the striatum ($r^2= 0.30$; $p=0.08$), and positive correlation with LID severity in the prefrontal cortex ($r^2= 0.064$, $p<0.01$), hippocampus ($r^2= 0.39$; $p<0.05$) and amygdala ($r^2= 0.87$; $p<0.0001$) positively correlated with LID severity (**Fig 5**). Moreover in the hippocampus, a negative correlation was also found for 5-HT concentrations ($r^2= 0.53$; $p<0.01$).

DISCUSSION

Over the years L-Dopa has proven its efficacy in alleviating motor symptoms by reinstating dopaminergic function in the basal ganglia (Meissner *et al.*, 2011, Rascol *et al.*, 2011). However, L-Dopa is not effective against all PD symptoms and wide detrimental effects are observed on both motor and non-motor functions (Chaudhuri *et al.*, 2006), highlighting its broad effect upon various cerebral and neurochemical targets. Here, we report region-dependent effects of L-Dopa on tissue monoamine content in normal or MPTP-treated macaque, having developed or not dyskinesia. L-Dopa disturbed monoamine contents in motor and non-motor regions of both normal and MPTP-treated monkeys confirming its vast scope of action. Some alterations in limbic domains were observed exclusively in dyskinetic monkeys, correlating with LID severity, further supporting the involvement of associative-limbic regions in LID (Guigoni *et al.*, 2005).

L-Dopa induced widespread effects on monoamines in normal monkeys, including region-dependent decreases and increases in tissue 5-HT and catecholamines, respectively. Tissue 5-HT might witness the direct impact of L-Dopa inside 5-HT terminals. By sharing similar decarboxylation pathways, 5-HT neurons can synthesize DA from L-Dopa at the

expense of 5-HT (Tison *et al.*, 1991, Arai *et al.*, 1995) and release DA as a 'false neurotransmitter' (Ng *et al.*, 1970). The acute effects of L-Dopa on 5-HT function occurred mainly in motor areas. As previously discussed (Navailles and De Deurwaerdere, 2012), such heterogeneity could highlight various and heterologous fiber tracts coming from raphe nuclei (Azmitia and Segal, 1978) or local interactions. The unaffected 5-HT content after chronic treatment suggests that the dose (20 mg/kg p.o.), efficient against parkinsonism in monkeys, is devoid of neurotoxicity toward 5-HT neurons (Stansley and Yamamoto, 2013). Indeed, in parkinsonian rats, a decrease in 5-HT tissue content and release was found after a sub-chronic treatment at 12 (Navailles *et al.*, 2011) but not 6 mg/kg L-Dopa (Lundblad *et al.*, 2009), suggesting a dose threshold toxicity that was not reached in our clinically-relevant conditions.

As the metabolic precursor of catecholamines, L-Dopa increased NA content. Such effect should be specific of NA terminals, as it requires dopamine-beta hydroxylase, specifically expressed by NA neurons (Aston-Jones *et al.*, 2004). Consistently, L-Dopa was shown to increase NA levels and turnover in the brain (Chalmers *et al.*, 1971, Romero *et al.*, 1972) as well as the electrophysiological or behavioral responses to NA transporter inhibitors (Migueluez *et al.*, 2013). Although the hippocampus, motor cortex and striatum receive a similar innervation from the locus coeruleus (Aston-Jones *et al.*, 2004), increased NA occurred only in the prefrontal cortex, highlighting a functional heterogeneity of noradrenergic innervation.

Interestingly, drastic increases in DA content occurred in the three studied associative-limbic domains receiving DA input from the mesolimbic pathway (Bjorklund and Dunnett, 2007). A raise in DA induced by L-Dopa is often difficult to interpret as the l-aromatic amino acid decarboxylase is expressed in many cellular types (Navailles *et al.*, 2013). At low to moderate doses, it is however partly associated with L-Dopa decarboxylation inside striatal 5-HT neurons of DA lesioned rats (Hollister *et al.*, 1979). Although the resulting increase in non DA-depleted animals should be masked by functional DA fibers (Wachtel and Abercrombie, 1994), L-Dopa was shown to increase DA levels in intact rat limbic regions

including the prefrontal cortex, hippocampus, and amygdala (Loeffler *et al.*, 1998, Eskow Jaunarajs *et al.*, 2010). Similar results are found here, confirming that L-Dopa can increase the basal dopaminergic tone of the limbic system. These findings are consistent with increased DA levels in striatal microdialysates of unlesioned rats after L-Dopa (Meissner *et al.*, 2006). We however failed to report DA accumulation in poor (motor cortex) and rich (caudate) DA-innervated areas. Serotonergic terminals displaying a higher sensitivity to L-Dopa in motor domains (Navailles *et al.*, 2011), could have had a role in the lack of DA accumulation in these regions.

In MPTP-treated monkeys, a deep DA and DOPAC depletion occurred in the striatum as expected (Perez-Otano *et al.*, 1991). At variance with slower intoxication protocol (Blesa *et al.*, 2012), our MPTP intoxication regimen induced an important 5-HT reduction. Although moderate compared with the seminal observations by Pifl and colleagues (Pifl *et al.*, 1991), an additional trend toward a decrease in motor cortex 5-HT and amygdala NA was found, indicating a widespread alteration of monoaminergic systems.

Chronic L-Dopa treatment further exacerbated the MPTP-induced striatal 5-HT depletion. This might account for the long-lasting adaptation of serotonergic transmission to L-Dopa administration (Navailles *et al.*, 2011). Strikingly, the prefrontal cortex was the only structure where L-Dopa did not affect 5-HT content in dyskinetic monkeys. In rats, a correlation was found between higher 5-HT content in the prefrontal cortex and LID (Carta *et al.*, 2006). Here, these low striatal or maintained prefrontal cortex 5-HT levels were found both in dyskinetic and non-dyskinetic animals, suggesting that this dysregulation is not involved in dyskinesia in monkeys (Brooks *et al.*, 2000). Such difference between dyskinetic and non-dyskinetic animals was however found regarding 5-HT concentrations in the motor cortex. Interestingly, differential motor cortex activations have been reported in dyskinetic vs. non-dyskinetic patients (Rascol *et al.*, 1998) possibly arising from alterations of cortical 5-HT modulation (Aghajanian and Marek, 1997, Ostock *et al.*, 2011). Our results are in accordance with previous data demonstrating that chronic L-Dopa treatment in DA-depleted animals promotes region-dependent decreases in 5-HT content (Navailles *et al.*, 2011). Hence,

dyskinesia could be related to distinct responses of cortical areas to L-Dopa, creating an imbalance of cortical inputs to striatal subregions.

We also found an imbalance of cortical NA responses to L-Dopa in dyskinetic monkeys in which NA content was unaltered in motor cortex and decreased in the prefrontal cortex. This phenomenon remains poorly understood, though similar observations were made in the prefrontal cortex of hemiparkinsonian rats (Eskow Jaunarajs *et al.*, 2010). This opposite pattern of cortical response of NA and 5-HT may participate to the DA cortical imbalance reported specifically in the prefrontal cortex of dyskinetic monkeys. Indeed, while 5-HT neurons are responsible for the release of unregulated DA from L-Dopa, NA fibers, via their transporter, are responsible for the clearance of extracellular DA (Chotibut *et al.*, 2012, Navailles *et al.*, 2013). On the other hand, prefrontal dysfunctions would not be solely drug-related and could underlie a broader network dysfunction associated with LID.

L-Dopa also increased DA levels in the hippocampus and amygdala (**Fig 4**). Impaired cognitive functions have been associated with overdosing the mesolimbic system by L-Dopa (Cools *et al.*, 2001, Delaveau *et al.*, 2009, Eskow Jaunarajs *et al.*, 2012, Schneider *et al.*, 2012). Overdosing the hippocampus and the amygdala could result in a prefrontal dysfunction triggering the executive dysfunction observed in PD patients (Gotham *et al.*, 1986, Aarsland *et al.*, 2010). The present study further proposes that both the hippocampus and the amygdala could be linked to the expression of LID. Indeed, for both structures positive correlations suggest a link between DA content and dyskinesia severity. The amygdala acts as a limbic-motor interface modulating DA-mediated locomotion in the ventral striatum (Floresco *et al.*, 2001, Rouillon *et al.*, 2008) and motivated behaviors (Robbins and Everitt, 1996). The hippocampus is involved in locomotion velocity (Ahmed and Mehta, 2012), locomotor activity after stimulation of the subthalamic locomotor region (Slawinska and Kasicki, 1998), goal directed movements (Blanquat *et al.*, 2013) and behavioral inhibition (Chudasama *et al.*, 2012). Thus, as proposed in our earlier work (Guigoni *et al.*, 2005), besides being a motor disorder, LID might involve dysregulated affective and cognitive functions.

The new monoaminergic balance created by L-Dopa in MPTP-treated monkeys is also compatible with the appearance of cognitive and mood side-effects. Multiple neuropsychiatric disorders involving prefrontal dysfunctions have been described but their relationship to either the disease process or treatment is debated (Weintraub and Burn, 2011). For example, a link between L-Dopa-induced DA increase in the prefrontal cortex and psychosis in PD patients has been proposed (Carey *et al.*, 1995), suggesting that DA treatment could trigger psychiatric disorders. The identification of high L-Dopa intake as a risk factor for developing psychosis further highlights its likely influence over the course of the disease (Forsaa *et al.*, 2010). The observation that DA levels in the prefrontal cortex correlate with LID severity further suggest that prefrontal dysfunction may be involved in the expression of motor complications. We also report a decrease in NA in the amygdala as well as decreases in 5-HT content both in amygdala and hippocampus. Noradrenaline dysfunction in limbic areas is involved in affective disorders including stress, anxiety and depression (Sullivan *et al.*, 1999) and NA loss in PD has been associated with depressive symptoms (Remy *et al.*, 2005). Serotonergic dysfunctions in the hippocampus and amygdala have been associated with anxiety and depression (Savitz *et al.*, 2009, Christianson *et al.*, 2010) and 5-HT impairments are suspected to sustain depressive symptoms in PD (Aarstrand *et al.*, 2012). The negative correlation between hippocampal 5-HT levels and LID severity again suggests that monoamine dysregulations associated with dyskinesia might ground some cognitive/affective impairments observed in PD. However, its co-occurrence with the positive correlation observed in the hippocampus for DA further resemble mechanisms observed in dyskinesia genesis and advocate for an involvement of this structure in LID expression. Altogether, these data set the pathophysiological monoamine framework in the gold-standard experimental model of PD. Of particular interest is the finding that chronic L-Dopa treatment elevates monoamine levels in cognitive and limbic regions both in normal and MPTP-treated monkeys. However, a drastic increase in DA levels linked to LID severity is observed suggesting that LID might also possess non-motor components. Such monoaminergic dysregulation in limbic domains could underlie the cognitive dysfunctions

occurring in chronically L-Dopa-treated patients and may also directly contribute to the expression of motor complications such as LID.

AUTHOR CONTRIBUTION STATEMENT

EB designed and organized the experiments; ME, PDD, QL and POF performed experiments; ME, PDD, EB and POF analyzed the data and wrote the paper.

FINANCIAL DISCLOSURES

The Université Bordeaux Segalen and the Centre National de la Recherche Scientifique provided the infrastructural support. This work was supported by an Agence Nationale de la Recherche grant (EB) and by the LABEX Brain (EB). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Figure legends

Figure 1. Monoamine depletion after MPTP intoxication: Noradrenaline (NA), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT) and 3,4 dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) concentrations in both control (Ctrl) and MPTP-treated animals expressed as % of untreated-controls as scatter plot featuring mean \pm SEM. * $p < 0.05$; § $p \leq 0.06$. Monoamine concentrations in Control animals (NA, DA, 5-HT, DOPAC respectively, mean \pm SEM: Striatum (pg/mg protein): n.d.; 85.29 \pm 19.92; 315.52 \pm 29.71; 74.29 \pm 10.97, Motor cortex (pg/mg tissue): 127.8 \pm 11.6; 20.9 \pm 5.3; 93 \pm 8.6; 76.2 \pm 10.2, Prefrontal cortex (pg/mg tissue): 119 \pm 12.2; 28.3 \pm 6.9; 69.2 \pm 10.8; 96.9 \pm 12, Hippocampus (pg/mg tissue): 108.3 \pm 12.6; 17.5 \pm 1.6; 285.7 \pm 48.2; 46.9 \pm 4.8, Amygdala (pg/mg tissue): 158.4 \pm 16.1; 61.3 \pm 13.8; 462 \pm 55.9; 160.7 \pm 33.7.

Figure 2. Effect of an acute or a chronic L-Dopa treatment on monoamine levels in normal animals: Noradrenaline (NA), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT) and 3,4 dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) concentrations in normal animals after acute or chronic L-dopa treatment. Results are expressed as % of untreated-controls as scatter plot featuring mean \pm SEM. # $p < 0.05$ and § $p \leq 0.06$ from untreated-controls; * $p < 0.05$ from chronic treatment.

Figure 3. Effect of an acute or a chronic L-Dopa treatment on monoamine levels in MPTP-treated animals: Noradrenaline (NA), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT) and 3,4 dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) concentrations in MPTP-treated monkeys after acute or chronic L-dopa treatment. Results are expressed as % of untreated-controls as scatter plot featuring mean \pm SEM. Animals receiving a chronic treatment were divided in two groups: non-dyskinetic (Non-dysk) and dyskinetic (Dysk). Light gray band corresponds to the differences, if any, with untreated normal animals, * $p < 0.05$; dark gray band corresponds to the differences, if any, with untreated MPTP animals, * $p < 0.05$. Other * within panels correspond to in-between group comparisons.

Figure 4. Schematic representation of monoamine variations in the seven experimental groups: Noradrenaline (NA), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT). Animals receiving a chronic treatment were divided in two groups: non-dyskinetic (Non-dysk) and dyskinetic (Dysk). Lighter colors represent decreased concentrations and darker colors represent increased concentrations ($p < 0.05$ from normal animals excepted for 5-HT in the motor cortex and NA in the amygdala of MPTP-treated monkey ($p < 0.06$) and 5-HT in the hippocampus of dyskinetic monkeys: $p < 0.05$ from Acute, Non-dysk and MPTP). 1: Striatum; 2: Motor cortex; 3: Prefrontal cortex; 4: Hippocampus; 5: Amygdala. Schemes adapted from (Martin and Bowden, 2000).

Figure 5. Correlations between monoamine contents and dyskinesia severity in the striatum and the cognitive/limbic structures. Noradrenaline (NA), Dopamine (DA), Serotonin (5-HT). Results are presented for MPTP-treated animals under chronic L-Dopa treatment. Monoamine levels are expressed in pg/mg tissue (or pg/mg protein for striatum). LID: Levodopa-induced dyskinesia.

References

Aarsland D, Bronnick K, Williams-Gray C, Weintraub D, Marder K, Kulisevsky J, et al. Mild cognitive impairment in Parkinson disease: a multicenter pooled analysis. *Neurology*. 2010;75(12):1062-9.

Aarsland D, Pahlhagen S, Ballard CG, Ehrt U, Svenningsson P. Depression in Parkinson disease--epidemiology, mechanisms and management. *Nature reviews Neurology*. 2012;8(1):35-47.

Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin induces excitatory postsynaptic potentials in apical dendrites of neocortical pyramidal cells. *Neuropharmacology*. 1997;36(4-5):589-99.

Ahlskog JE. Beating a dead horse: dopamine and Parkinson disease. *Neurology*. 2007;69(17):1701-11.

Ahmed OJ, Mehta MR. Running speed alters the frequency of hippocampal gamma oscillations. *J Neurosci*. 2012;32(21):7373-83.

Arai R, Karasawa N, Geffard M, Nagatsu I. L-DOPA is converted to dopamine in serotonergic fibers of the striatum of the rat: a double-labeling immunofluorescence study. *Neuroscience letters*. 1995;195(3):195-8.

Aston-Jones G, Zhu Y, Card JP. Numerous GABAergic afferents to locus ceruleus in the pericerulear dendritic zone: possible interneuronal pool. *J Neurosci*. 2004;24(9):2313-21.

Azmitia EC, Segal M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *The Journal of comparative neurology*. 1978;179(3):641-67.

Bezard E, Brotchie JM, Gross CE. Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2(8):577-88.

Bezard E, Dovero S, Prunier C, Ravenscroft P, Chalon S, Guilloteau D, et al. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2001;21(17):6853-61.

Bezard E, Imbert C, Deloire X, Bioulac B, Gross CE. A chronic MPTP model reproducing the slow evolution of Parkinson's disease: evolution of motor symptoms in the monkey. *Brain Res.* 1997;766(1-2):107-12.

Bjorklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007;30(5):194-202.

Blanquat PD, Hok V, Save E, Poucet B, Chaillan FA. Differential role of the dorsal hippocampus, ventro-intermediate hippocampus, and medial prefrontal cortex in updating the value of a spatial goal. *Hippocampus.* 2013.

Blesa J, Pifl C, Sanchez-Gonzalez MA, Juri C, Garcia-Cabezas MA, Adanez R, et al. The nigrostriatal system in the presymptomatic and symptomatic stages in the MPTP monkey model: a PET, histological and biochemical study. *Neurobiol Dis.* 2012;48(1):79-91.

Bonnet AM, Loria Y, Saint-Hilaire MH, Lhermitte F, Agid Y. Does long-term aggravation of Parkinson's disease result from nondopaminergic lesions? *Neurology.* 1987;37(9):1539-42.

Brooks DJ, Piccini P, Turjanski N, Samuel M. Neuroimaging of dyskinesia. *Ann Neurol.* 2000;47(4 Suppl 1):S154-8; discussion S8-9.

Carey RJ, Pinheiro-Carrera M, Dai H, Tomaz C, Huston JP. L-DOPA and psychosis: evidence for L-DOPA-induced increases in prefrontal cortex dopamine and in serum corticosterone. *Biol Psychiatry.* 1995;38(10):669-76.

Carta M, Carlsson T, Kirik D, Bjorklund A. Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain.* 2007;130(Pt 7):1819-33.

Carta M, Lindgren HS, Lundblad M, Stancampiano R, Fadda F, Cenci MA. Role of striatal L-DOPA in the production of dyskinesia in 6-hydroxydopamine lesioned rats. *J Neurochem*. 2006;96(6):1718-27.

Chalmers JP, Baldessarini RJ, Wurtman RJ. Effects of L-dopa on norepinephrine metabolism in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(3):662-6.

Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol*. 2006;5(3):235-45.

Chotibut T, Apple DM, Jefferis R, Salvatore MF. Dopamine transporter loss in 6-OHDA Parkinson's model is unmet by parallel reduction in dopamine uptake. *PLoS One*. 2012;7(12):e52322.

Christianson JP, Ragole T, Amat J, Greenwood BN, Strong PV, Paul ED, et al. 5-hydroxytryptamine 2C receptors in the basolateral amygdala are involved in the expression of anxiety after uncontrollable traumatic stress. *Biol Psychiatry*. 2010;67(4):339-45.

Chudasama Y, Doobay VM, Liu Y. Hippocampal-prefrontal cortical circuit mediates inhibitory response control in the rat. *J Neurosci*. 2012;32(32):10915-24.

Cools R, Barker RA, Sahakian BJ, Robbins TW. Enhanced or impaired cognitive function in Parkinson's disease as a function of dopaminergic medication and task demands. *Cereb Cortex*. 2001;11(12):1136-43.

De Deurwaerdere P, Bonhomme N, Le Moal M, Spampinato U. d-fenfluramine increases striatal extracellular dopamine in vivo independently of serotonergic terminals or dopamine uptake sites. *J Neurochem*. 1995;65(3):1100-8.

Delaveau P, Salgado-Pineda P, Witjas T, Micallef-Roll J, Fakra E, Azulay JP, et al. Dopaminergic modulation of amygdala activity during emotion recognition in patients with Parkinson disease. *J Clin Psychopharmacol*. 2009;29(6):548-54.

Delaville C, Chetrit J, Abdallah K, Morin S, Cardoit L, De Deurwaerdere P, et al. Emerging dysfunctions consequent to combined monoaminergic depletions in Parkinsonism. *Neurobiol Dis.* 2012;45(2):763-73.

Ehringer H, Hornykiewicz O. [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]. *Klinische Wochenschrift.* 1960;38:1236-9.

Eskow Jaunarajs KL, Dupre KB, Ostock CY, Button T, Deak T, Bishop C. Behavioral and neurochemical effects of chronic L-DOPA treatment on nonmotor sequelae in the hemiparkinsonian rat. *Behav Pharmacol.* 2010;21(7):627-37.

Eskow Jaunarajs KL, George JA, Bishop C. L-DOPA-induced dysregulation of extrastriatal dopamine and serotonin and affective symptoms in a bilateral rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2012;218:243-56.

Fasano S, Bezard E, D'Antoni A, Francardo V, Indrigo M, Qin L, et al. 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.* 2010;107(50):21824-9.

Fernagut PO, Li Q, Dovero S, Chan P, Wu T, Ravenscroft P, et al. Dopamine transporter binding is unaffected by L-DOPA administration in normal and MPTP-treated monkeys. *PLoS One.* 2010;5(11):e14053.

Floresco SB, Blaha CD, Yang CR, Phillips AG. Dopamine D1 and NMDA receptors mediate potentiation of basolateral amygdala-evoked firing of nucleus accumbens neurons. *J Neurosci.* 2001;21(16):6370-6.

Forsaa EB, Larsen JP, Wentzel-Larsen T, Goetz CG, Stebbins GT, Aarsland D, et al. A 12-year population-based study of psychosis in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2010;67(8):996-1001.

Fox SH, Johnston TH, Li Q, Brotchie J, Bezard E. A critique of available scales and presentation of the Non-Human Primate Dyskinesia Rating Scale. *Mov Disord.* 2012;27(11):1373-8.

Gotham AM, Brown RG, Marsden CD. Levodopa treatment may benefit or impair "frontal" function in Parkinson's disease. *Lancet.* 1986;2(8513):970-1.

Guigoni C, Li Q, Aubert I, Dovero S, Bioulac BH, Bloch B, et al. Involvement of sensorimotor, limbic, and associative basal ganglia domains in L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia. *J Neurosci.* 2005;25(8):2102-7.

Halliday GM, Li YW, Blumbergs PC, Joh TH, Cotton RG, Howe PR, et al. Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1990;27(4):373-85.

Hill MP, Ravenscroft P, Bezard E, Crossman AR, Brotchie JM, Michel A, et al. Levetiracetam potentiates the antidyskinetic action of amantadine in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-lesioned primate model of Parkinson's disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;310(1):386-94.

Hollister AS, Breese GR, Mueller RA. Role of monoamine neural systems in L-dihydroxyphenylalanine-stimulated activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 1979;208(1):37-43.

Imbert C, Bezard E, Guitraud S, Boraud T, Gross CE. Comparison of eight clinical rating scales used for the assessment of MPTP-induced parkinsonism in the Macaque monkey. *J Neurosci Methods.* 2000;96(1):71-6.

Jellinger KA. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Molecular and chemical neuropathology* / sponsored by the International Society for Neurochemistry and the World Federation of Neurology and research groups on neurochemistry and cerebrospinal fluid. 1991;14(3):153-97.

Loeffler DA, LeWitt PA, Juneau PL, Camp DM, Arnold LA, Hyland K. Time-dependent effects of levodopa on regional brain dopamine metabolism and lipid peroxidation. *Brain Res Bull.* 1998;47(6):663-7.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.

Lundblad M, af Bjerken S, Cenci MA, Pomerleau F, Gerhardt GA, Stromberg I. Chronic intermittent L-DOPA treatment induces changes in dopamine release. *J Neurochem.* 2009;108(4):998-1008.

Martin RF, Bowden DM. *Primate Brain Maps: Structure of the Macaque Brain.* Amsterdam: Elsevier Science; 2000.

Meissner W, Ravenscroft P, Reese R, Harnack D, Morgenstern R, Kupsch A, et al. 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.* 2006;22(3):586-98.

Meissner WG, Frasier M, Gasser T, Goetz CG, Lozano A, Piccini P, et al. Priorities in Parkinson's disease research. *Nature reviews Drug discovery.* 2011;10(5):377-93.

Migueluez C, Berrocoso E, Mico JA, Ugedo L. L-DOPA modifies the antidepressant-like effects of reboxetine and fluoxetine in rats. *Neuropharmacology.* 2013;67:349-58.

Mitchell IJ, Boyce S, Sambrook MA, Crossman AR. A 2-deoxyglucose study of the effects of dopamine agonists on the parkinsonian primate brain. Implications for the neural

mechanisms that mediate dopamine agonist-induced dyskinesia. *Brain*. 1992;115 (Pt 3):809-24.

Navailles S, Bioulac B, Gross C, De Deurwaerdere P. Chronic L-DOPA therapy alters central serotonergic function and L-DOPA-induced dopamine release in a region-dependent manner in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2011;41(2):585-90.

Navailles S, De Deurwaerdere P. Contribution of serotonergic transmission to the motor and cognitive effects of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus or levodopa in Parkinson's disease. *Molecular neurobiology*. 2012;45(1):173-85.

Navailles S, De Deurwaerdere P. Imbalanced Dopaminergic Transmission Mediated by Serotonergic Neurons in L-DOPA-Induced Dyskinesia. *Parkinson's disease*. 2012;2012:323686.

Navailles S, Lagiere M, Contini A, De Deurwaerdere P. Multisite Intracerebral Microdialysis to Study the Mechanism of L-DOPA Induced Dopamine and Serotonin Release in the Parkinsonian Brain. *ACS chemical neuroscience*. 2013.

Ng KY, Chase TN, Colburn RW, Kopin IJ. L-Dopa-induced release of cerebral monoamines. *Science*. 1970;170(3953):76-7.

Ostock CY, Dupre KB, Jaunarajs KL, Walters H, George J, Krolewski D, et al. Role of the primary motor cortex in L-Dopa-induced dyskinesia and its modulation by 5-HT_{1A} receptor stimulation. *Neuropharmacology*. 2011;61(4):753-60.

Perez-Otano I, Herrero MT, Oset C, De Ceballos ML, Luquin MR, Obeso JA, et al. Extensive loss of brain dopamine and serotonin induced by chronic administration of MPTP in the marmoset. *Brain Res*. 1991;567(1):127-32.

Pifl C, Schingnitz G, Hornykiewicz O. Effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on the regional distribution of brain monoamines in the rhesus monkey. *Neuroscience*. 1991;44(3):591-605.

Porras G, Berthet A, Dehay B, Li Q, Ladepeche L, Normand E, et al. PSD-95 expression controls L-DOPA dyskinesia through dopamine D1 receptor trafficking. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(11):3977-89.

Rascol O, Lozano A, Stern M, Poewe W. Milestones in Parkinson's disease therapeutics. *Mov Disord*. 2011;26(6):1072-82.

Rascol O, Sabatini U, Brefel C, Fabre N, Rai S, Senard JM, et al. Cortical motor overactivation in parkinsonian patients with L-dopa-induced peak-dose dyskinesia. *Brain*. 1998;121 (Pt 3):527-33.

Remy P, Doder M, Lees A, Turjanski N, Brooks D. Depression in Parkinson's disease: loss of dopamine and noradrenaline innervation in the limbic system. *Brain*. 2005;128(Pt 6):1314-22.

Robbins TW, Everitt BJ. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current opinion in neurobiology*. 1996;6(2):228-36.

Romero JA, Chalmers JP, Cottman K, Lytle LD, Wurtman RJ. Regional effects of L-dihydroxyphenylalanine (L-dopa) on norepinephrine metabolism in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther*. 1972;180(2):277-85.

Rouillon C, Abirini JH, David HN. Prefrontal cortex and basolateral amygdala modulation of dopamine-mediated locomotion in the nucleus accumbens core. *Exp Neurol*. 2008;212(1):213-7.

Santini E, Sgambato-Faure V, Li Q, Savasta M, Dovero S, Fisone G, et al. Distinct changes in cAMP and extracellular signal-regulated protein kinase signalling in L-DOPA-induced dyskinesia. *PLoS One*. 2010;5(8):e12322.

Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol.* 2009;88(1):17-31.

Schneider JS, Pioli EY, Jianzhong Y, Li Q, Bezard E. Levodopa improves motor deficits but can further disrupt cognition in a macaque parkinson model. *Mov Disord.* 2012.

Slawinska U, Kasicki S. The frequency of rat's hippocampal theta rhythm is related to the speed of locomotion. *Brain Res.* 1998;796(1-2):327-31.

Stansley BJ, Yamamoto BK. L-dopa-induced dopamine synthesis and oxidative stress in serotonergic cells. *Neuropharmacology.* 2013;67:243-51.

Sullivan GM, Coplan JD, Kent JM, Gorman JM. The noradrenergic system in pathological anxiety: a focus on panic with relevance to generalized anxiety and phobias. *Biol Psychiatry.* 1999;46(9):1205-18.

Tison F, Mons N, Geffard M, Henry P. The metabolism of exogenous L-dopa in the brain: an immunohistochemical study of its conversion to dopamine in non-catecholaminergic cells of the rat brain. *Journal of neural transmission Parkinson's disease and dementia section.* 1991;3(1):27-39.

Tison F, Negre-Pages L, Meissner WG, Dupouy S, Li Q, Thiolat ML, et al. Simvastatin decreases levodopa-induced dyskinesia in monkeys, but not in a randomized, placebo-controlled, multiple cross-over ("n-of-1") exploratory trial of simvastatin against levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013;19(4):416-21.

Wachtel SR, Abercrombie ED. 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.* 1994;63(1):108-17.

Weintraub D, Burn DJ. Parkinson's disease: the quintessential neuropsychiatric disorder. *Mov Disord.* 2011;26(6):1022-31.

Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, Chui HC. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch Neurol.* 2003;60(3):337-41.

Figure 1

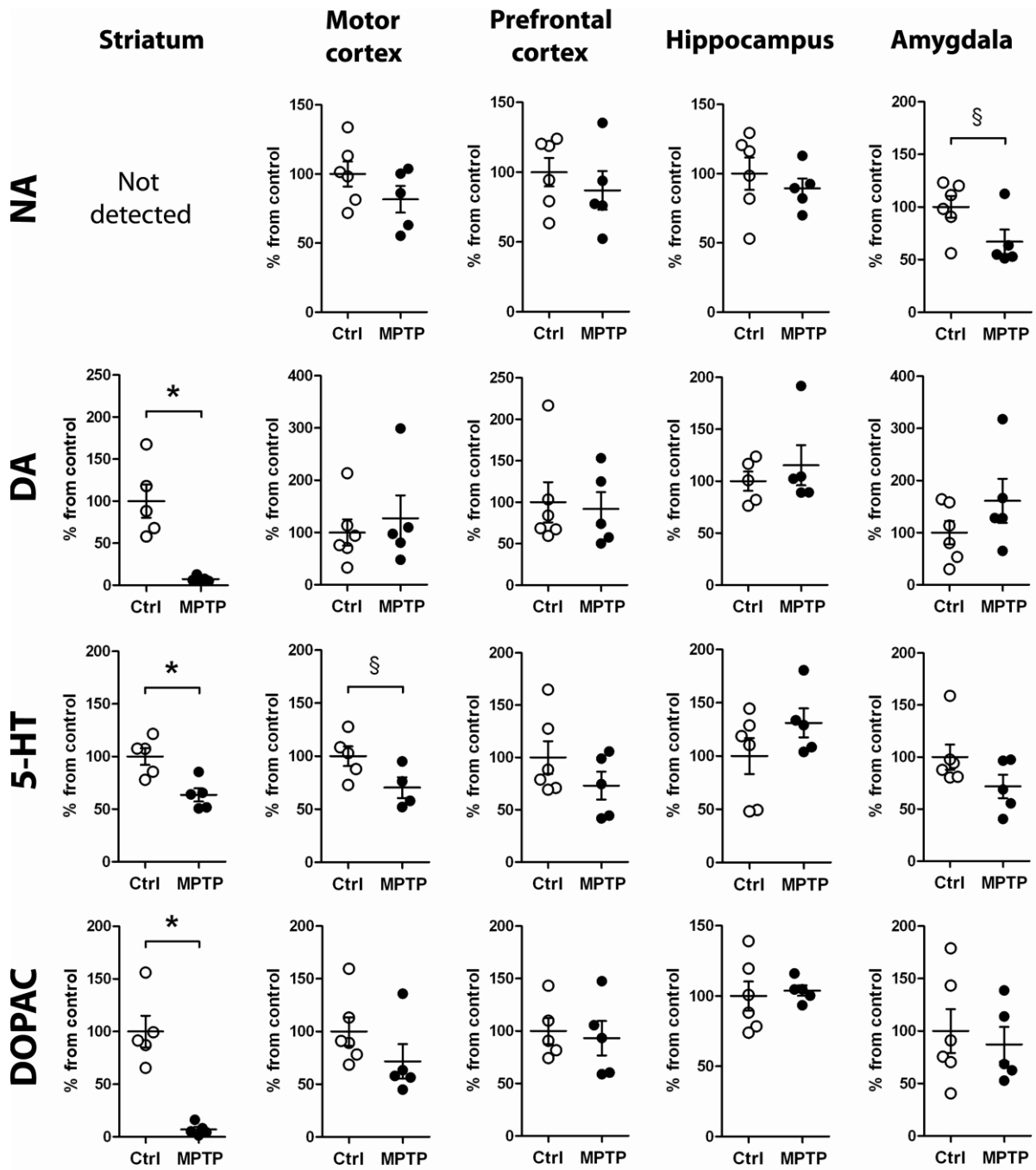


Figure 2

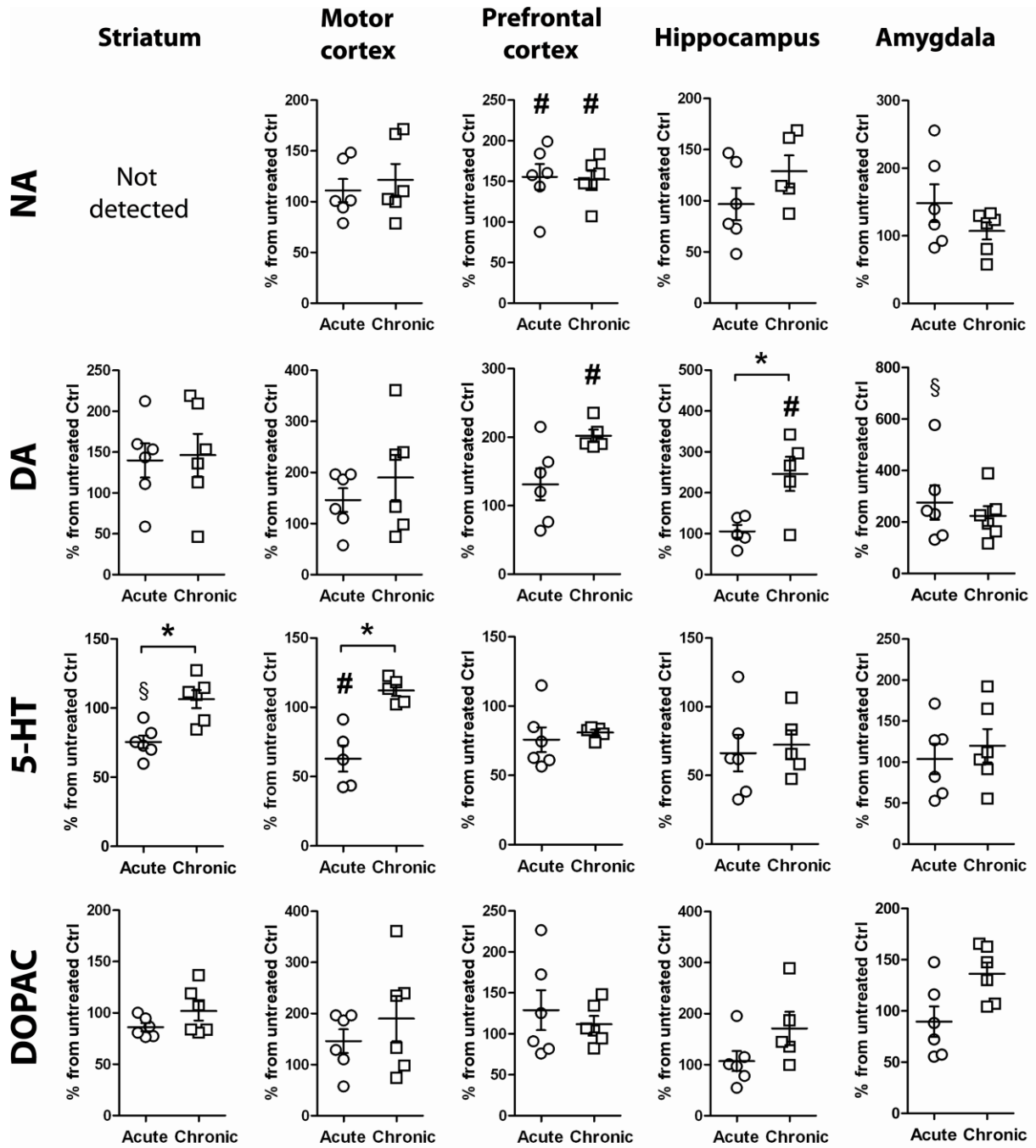


Figure 4

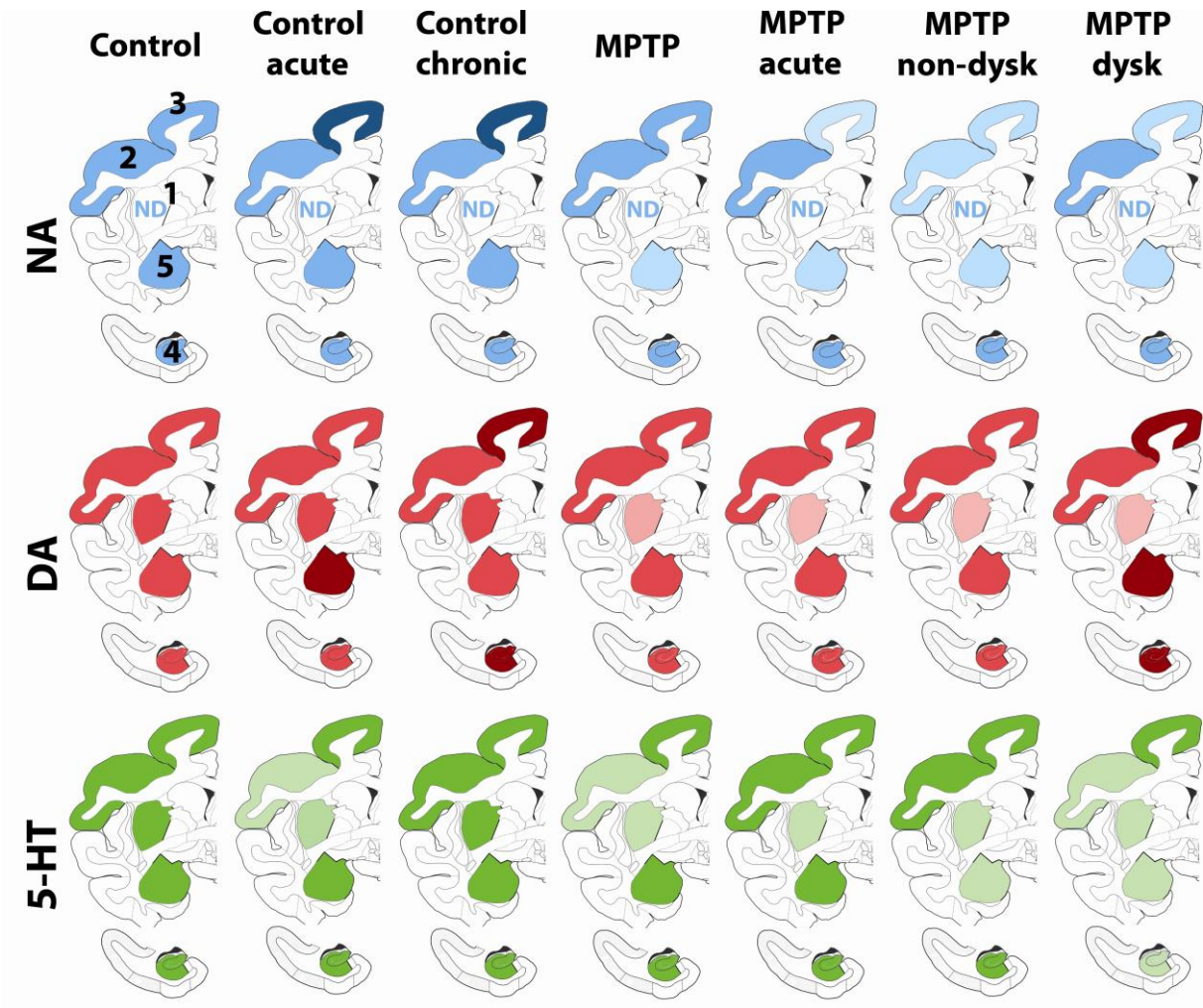
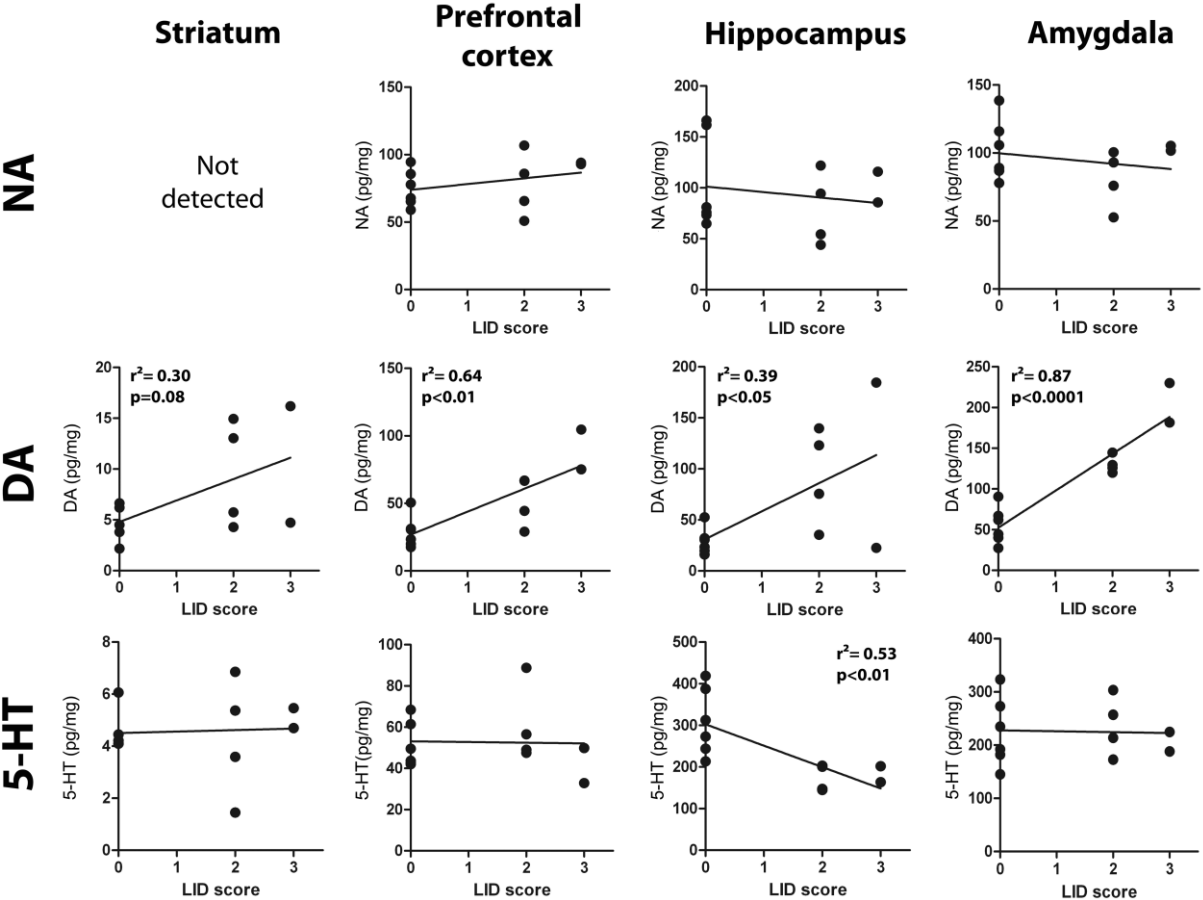


Figure 5



Article 3

Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats.

Michel Engeln, Serge H. Ahmed, Caroline Vouillac, François Tison, Erwan Bezard, Pierre-Olivier Fernagut.

Neurobiology of Disease 49 (2013) 79-86

Dans cet article nous avons cherché à évaluer les propriétés renforçantes de l'agoniste dopaminergique Pramipexole (PPX). En effet, ce traitement est suspecté d'être responsable de troubles du traitement de la récompense et d'un syndrome de sevrage chez environ 15% des patients parkinsoniens. Pour cela, nous avons utilisé un modèle rat de lésion bilatérale de la substance noire compacte (-51%) et de l'aire tegmentale ventrale (-31%) par infusion intracérébroventriculaire de 6-OHDA. Nous avons ainsi observé que les animaux contrôles s'auto-administraient du PPX et que, malgré un délai dans l'acquisition de la tâche, les animaux lésés présentaient une prise comparable. Ceci nous a permis de voir qu'une lésion des voies dopaminergiques n'était pas nécessaire à l'expression des propriétés renforçantes du PPX et que cette lésion ne modifiait le nombre de prises. Des tests de ratio progressif et d'extinction nous ont révélé que les propriétés motivationnelles du PPX étaient relativement faibles comparativement aux drogues d'abus comme la cocaïne. Enfin, nous avons vu que dans l'ensemble des tests, une sous population de chaque groupe présentait un niveau de réponses plus élevé suggérant que certains animaux pourraient être plus sensibles aux effets renforçants du PPX.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Neurobiology of Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ynbdi

Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats

Michel Engeln^{a,b}, Serge H. Ahmed^{a,b}, Caroline Vouillac^{a,b}, François Tison^{a,b,c},
Erwan Bezard^{a,b,c}, Pierre-Olivier Fernagut^{a,b,*}

^a Univ. de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France

^b CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France

^c Service de Neurologie, CHU de Bordeaux, F-33604 Pessac, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 April 2012

Revised 18 July 2012

Accepted 15 August 2012

Available online 23 August 2012

Keywords:

Parkinson's disease

Dopamine agonist

D2/3 agonist

Dopamine replacement therapy

6-OHDA

ABSTRACT

Striatal D2 and D3 dopamine receptors are involved in mediating the reinforcing properties of natural rewards and drugs. In Parkinson's disease, while D2/3 dopamine agonists alleviate motor symptoms, behavioral addictions and withdrawal syndrome are reported in up to 15% of patients. The origin of such adverse effects is poorly understood but suggests that D2/3 agonists could possess reinforcing properties. We evaluated the reinforcing properties of the widely used D2/3 agonist, Pramipexole (PPX), in normal and parkinsonian rats. Intracerebroventricular injections of 6-OHDA induced a bilateral loss of tyrosine hydroxylase-positive cells in the substantia nigra (−51%) and ventral tegmental area (−31%). The animals were then allowed to self-administer intravenous PPX under fixed ratio and progressive ratio (PR) reinforcement schedules before being tested for extinction of PPX seeking. While parkinsonian were slower than sham rats in acquiring self-administration behavior, they later reached the same level of intake. The reinforcing value of PPX, as assessed during PR and extinction, was moderate in both groups. PPX heightened Δ FosB expression in dorsal striatum of lesioned rats and similar PR results involved different striatal subregions between groups. Altogether, our results show that drug-naïve rats self-administer PPX and that the dopaminergic lesion does not affect its reinforcing effects. While PPX reinforcing value was moderate in most rats, a subset of animals displayed a high number of responses and appeared to be particularly sensitive to this drug. These data suggest that PPX may not be responsible for the reported side-effects but rather call for further investigating the differential vulnerability among individuals.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Studies of brain reward systems have shown that natural rewards and almost all substances of abuse activate mesolimbic dopaminergic pathway (for review see Koob and Nestler, 1997). Past experiments using dopaminergic lesion of both ventral tegmental area (VTA) (Roberts and Koob, 1982) and nucleus accumbens (NAc) (Roberts et al., 1980) confirmed the prominent role of this system in psychostimulant addiction. Profound changes in neuronal plasticity may sustain cellular modifications underlying reward dysfunction. Among them, chronic psychostimulant intake (Hope et al., 1994) and withdrawal (Dobi et al., 2011) pointed out a major role for Δ FosB in long-lasting changes underlying this disorder. Modifications in both dopamine D2 and D3 receptor availability in the striatum have also been associated with chronic cocaine intake (Mash and Staley, 1999; Neisewander et al., 2004) and reinforcing effects of psychostimulants (Morgan et al., 2002; Volkow et al., 1999). Direct action on D2 and D3 receptors showed that D2 agonists can trigger

cocaine seeking in rat by reinstating extinguished cocaine seeking (Self et al., 1996a) and pretreatment with D3 agonists potentiate the reinforcing effects of cocaine by decreasing cocaine self-administration rate (Caine et al., 1997; Le Foll et al., 2000).

In Parkinson's disease (PD), the progressive degeneration of dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta (SNc) and, to a lesser extent, of the VTA leads to loss of dopamine in both the nigrostriatal and mesolimbic pathways. Resulting motor impairments are commonly alleviated with dopamine replacement therapy (DRT) with levodopa and D2/3 agonists. Chronic DRT, especially with levodopa, is however known to produce motor complications such as motor fluctuations and levodopa induced dyskinesia (LID). Similar to long-lasting changes reported after chronic psychostimulant intake, LID is associated with long-lasting patterned accumulation of Δ FosB in striatal circuitry (Berton et al., 2009; Westin et al., 2001). New treatments using D2/3 dopamine agonists have shown great efficacy in alleviating motor impairments (Bonuccelli et al., 2009) while delaying the apparition of motor disturbances (Rascol et al., 2000). Recently, treatment with such D2/3 agonists has however been associated with a number of 'addiction-like' side effects characterized by behavioral addictions such as pathological gambling or compulsive shopping (Evans et al., 2009; Voon et al., 2009; Weintraub et al., 2010). In addition, dopamine agonist withdrawal syndrome (DAWS) has been described when

* Corresponding author at: CNRS UMR 5293, Institute of Neurodegenerative Diseases, Université Bordeaux Segalen, 146 rue Léo Saïgnat, 33076 Bordeaux cedex, France. Fax: +33 556 986 182.

E-mail address: pierre-olivier.fernagut@u-bordeaux2.fr (P.-O. Fernagut).

Available online on ScienceDirect (www.sciencedirect.com).

treatment is tapered (Rabinak and Nirenberg, 2010; Thobois et al., 2010). It has been proposed that these non-motor side-effects may originate from a reward processing bias in PD patients due to chronic dopaminergic stimulation of the altered mesostriatal network (Frank et al., 2004; Lawrence et al., 2003; Schott et al., 2007).

Experiments on marketed D2/3 agonists such as Piribedil (Yokel and Wise, 1978) and PPX (Collins et al., 2011) showed that they are substituted from cocaine and impact reward function in cocaine self-administration procedures (Caine et al., 1997; Collins et al., 2011; Le Foll et al., 2000). Puzzlingly, the intrinsic reinforcing properties of D2/3 dopamine agonists have barely been studied, and exclusively in normal non-lesioned animals (Collins and Woods, 2007; Self et al., 1996b).

We therefore investigated the reinforcing properties of a widely used dopamine agonist, Pramipexole, in parkinsonian and sham rats using the intravenous drug self-administration paradigm to further distinguish the role of D2/3 agonist from disease alterations. To obtain animals with motor impairments while avoiding aphagia, adipsia (Ungerstedt, 1971), profound bradykinesia (Dunnett and Lelos, 2010) but also dopamine agonist-induced rotations (Schwartz and Huston, 1996), we induced a chronic bilateral lesion of the nigro-striatal dopaminergic neurons with repeated intracerebroventricular 6-OHDA infusions. Rats were first trained to self-administer PPX under a fixed-ratio (FR) schedule of reinforcement and then tested for its motivational and craving-like effects using a progressive-ratio (PR) and extinction procedure, respectively. Finally, neural networks involved in PPX self-administration were investigated using Δ FosB immunohistochemistry to examine plastic changes in the striatum in response to both dopaminergic lesion and chronic PPX intake.

Materials and methods

Animals

Male Wistar Han rats (weighting 200–225 g upon arrival; Charles River Laboratories, France) were housed in groups of three in a humidity- and temperature (22 °C)-controlled room on a 12-h light–dark cycle (0500–1700 h) with water and regular rodent chow available *ad libitum*. All behavioral testing occurred during the dark phase of the light–dark cycle. All experiments were performed in accordance with French (87-848, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt) and European Communities Council Directive (2010/63/EU) guidelines for the care of laboratory animals and were approved by the Ethical Committee of the University Bordeaux 2.

Surgical procedures

Stereotaxic surgery

In order to perform 6-hydroxydopamine (6-OHDA) infusions, the rats were anesthetized with Isoflurane (2%, Belamont, Nicholas Piramal Ltd.) and placed in a Kopf stereotaxic apparatus with the incisor bar placed 5.0 mm above the interaural line. The rats were then implanted with a stainless steel guide cannula (10 mm length; 23 gauge) in the third ventricle using the following coordinates in mm according to Pellegrino (Pellegrino et al., 1979): AP –2.8 (from Bregma), ML +/–0 (from Bregma), DV –5 (from dura). The cannula was secured to the skull with dental acrylic cement and three stainless steel screws. Guide cannula was maintained closed by a stainless steel mandrel.

Catheter implantation

One week after the last 6-OHDA infusion, the rats were anesthetized with a mixture of Xylazine (15 mg/kg, i.p., Merial, France) and Ketamine (110 mg/kg, i.p., Bayer Pharma, France). Silastic catheters (Dow Corning Corporation, MI, USA) were placed in the right jugular vein and exited the skin in the middle of the back about 2 cm below the scapulae as previously described (Mihindou et al., 2011). After surgery, catheters were

flushed daily with 0.2 ml of a sterile antibiotic solution containing heparinized saline (280 IU/ml, Sanofi-Synthelabo, France) and ampicilline (Coophavet, France). Self-administration testing started one week after surgery.

Drugs

6-OHDA

Because complete bilateral 6-OHDA lesions of the nigrostriatal dopamine system are known to produce aphagia and adipsia (Ungerstedt, 1971), partial bilateral lesions were induced using repeated intracerebroventricular infusions of 100 μ g 6-OHDA (Sigma-Aldrich, France) in 0.1% ascorbic acid solution (Sigma-Aldrich, France). Sham animals received infusions of 0.1% ascorbic acid solution only. In order to produce specific dopaminergic lesion and thus to prevent norepinephrine and serotonin damage, both groups received a mixture of desipramine (20 mg/kg, Sigma-Aldrich, France) and citalopram (1 mg/kg, Sigma-Aldrich, France) 30 min prior to 6-OHDA infusion (Berthet et al., 2009). The animals were anesthetized with Isoflurane (2%, Belamont, Nicholas Piramal Ltd.) for each infusion.

Pramipexole

Rats self-administered doses of 0.25 mg of Pramipexole 2HCl (i.v., Sequoia Research Products, UK) dissolved in 0.9% NaCl in each experimental condition. The dose of 0.25 mg has been chosen based on in-house pilot studies aiming at avoiding excessive yawning, penile erection and marked hypolocomotion, the classic side-effects of overdosing (Chang et al., 2011; Collins et al., 2005, 2009).

Apparatus

Activity cages (35 \times 25 \times 25 cm, Imetronic, France) made of transparent Plexiglass walls and stainless steel mesh floor were used to assess motor impairments. Two sets of infrared photocells were positioned from both sides of the cages in order to allow moving and rearing measurement (described in Caille et al., 1999).

Ten identical operant chambers (30 \times 40 \times 36 cm; Imetronic, France) were used for behavioral testing (Lenoir and Ahmed, 2007). All chambers were located away from the colony room in a dimly lit room. They were individually enclosed in wooden cubicles in order to attenuate parasite noise. Each chamber was constituted of two opaque panels (with the lever on the left side panel), two clear Plexiglass walls and a stainless-steel grid floor. One retractable lever (2 \times 4 \times 1 cm) was mounted 7 cm above the grid floor and protruded from the wall at 2 cm (when extended). A white light diode was mounted 8.5 cm above the lever. The lever was connected to a syringe pump (Imetronic, France) placed outside the cubicle. Syringe pump was conceived to deliver drug solution in discrete fixed volume of 37 μ l (with 20 ml syringes), with one unit volume delivered within approximately 1 s. Drug solution was delivered through a Tygon tubing (Cole Parmer, USA) connected via a single-channel liquid swivel (Lomir Biomedical Inc., Canada) to a cannula connector (Plastic One, VA) on the back of the animal. The Tygon tubing was protected by a stainless-steel spring (0.3 cm ID, 0.5 cm OD) (Aquitaine Ressort, France), which was suspended at the center of the chamber from the swivel tether connector. Vertical movements of the animal were compensated for by means of a counterbalancing weight-pulley device (Imetronic, France).

Experimental design

6-OHDA infusions

Stereotaxic surgery ended with a first infusion of 100 μ g 6-OHDA. The rats were then allowed to recover during 5 to 6 days until they regain their initial weight. Then, further 6-OHDA infusions were performed (under Isoflurane anesthesia) every time the rats recovered their initial weight. A total of 14 infusions were performed producing a

progressive dopaminergic depletion mimicking PD neurodegenerative process. Finally, after the last 6-OHDA infusion, the rats were allowed to a 7 day recovery period.

Motor activity

The rats were first habituated to the activity cages for a 24 h session 2 days before motor activity measurement. Motor activity (distance traveled + rearings) was then assessed during 3 h, 4 days after the last 6-OHDA or ascorbic acid infusion.

Catheter implantation

Catheters were implanted and the rats were allowed to a supplementary recovery period of one week.

Acquisition of Pramipexole (PPX) self-administration under a FR1 schedule of reinforcement

After completing 6-OHDA injections and catheter implantation, the rats were habituated to the self-administration chambers during two daily 90-min sessions. During habituation, the lever was retracted. On the third day, the rats were given access to PPX for self-administration at the unit dose of 0.25 mg under a FR1 time-out 20 s schedule of reinforcement, as previously described (Cantin et al., 2010). Each unit dose was delivered in a volume of 148 μ l over 4 s and was signaled by turning on for 20 s the light cue above the lever. There was a total of 19 daily sessions of acquisition, each lasting 90 min.

Assessment of the reinforcing strength of PPX under a PR3 schedule

To assess the motivation to obtain PPX, the rats were tested under the PR3 procedure the day following the last FR1 session. During PR testing, all experimental conditions were identical to those used in FR1 sessions, except that the response requirement for each successive dose of PPX increased within-session by a constant step of 3 (i.e., 1, 4, 7, 10 responses...), as previously described (Lenoir and Ahmed, 2008). PR sessions terminated after 10 min had elapsed without drug reinforcement or 4 h had elapsed. The rats were rebaselined for one FR1 session of PPX self-administration before being tested for extinction.

Assessment of drug-seeking under an extinction procedure

After one FR1 rebaselining session, the rats performed an extinction procedure. Extinction was assessed during a 45-min session where lever pressing was non-reinforced and thus probably reflects PPX seeking (Ahmed and Cador, 2006).

Brain collecting and tissue processing

At the end of the experiment, all the rats were euthanized with a lethal injection of chloral hydrate (600 mg/kg, VWR, France). After perfusion with 0.9% NaCl followed by 4% paraformaldehyde (PFA), brains were quickly removed and postfixed in 4% PFA for 24 h, transferred in 20% sucrose in PBS buffer for 48 h and frozen by immersion in isopentane. The brains were cryostat-cut (40 μ m) in series of coronal sections that were collected free floating.

Mesencephalic sections were processed for tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry (monoclonal mouse anti-TH antibody MAB 318, Millipore, France) and then counterstained with cresyl violet (Nissl staining) (Pioli et al., 2004). Unbiased stereological sampling with the optical fractionator method was used to estimate the number of TH-immunopositive neurons (phenotypical marker) and Nissl stained cells (structural marker). Cell counts were performed on every sixth section throughout the entire extent of the SNc and VTA (as described in Pioli et al., 2008) using Mercator image analysis system (Explora Nova, France).

Striatal sections were processed for Δ FosB immunohistochemistry (polyclonal rabbit Δ FosB sc-48 antibody, Santa Cruz, USA) (Fasano et al., 2010). The selected level was AP +1.08 (Paxinos and Watson, 2009). Counting was realized on one randomized hemisphere using Mercator

image analysis system (Explora Nova, France). The parameters were: probe size 100 \times 100 μ m; spacing 200 \times 200 μ m for each region (i.e., dorsolateral (DL), dorsomedian (DM), ventrolateral (VL), ventromedian (VM) striatum, nucleus accumbens shell (NAcs) and core (NAcc)).

The Δ FosB/D1 receptor immunohistochemistry (polyclonal rabbit Δ FosB sc-48 antibody, Santa Cruz, USA; monoclonal rat RD1 D2944 antibody, Sigma, France) was performed as previously described (Charron et al., 2011). The selected striatal level was similar to the level used for Δ FosB counting. Fluorescence was analyzed using a confocal microscope (Leica DM 2500 TCS SPE). Digital images were acquired separately for each wavelength (488 nm for green and 568 nm for red) and then merged. Adobe Photoshop CS3 was used to further process digital images. Any adjustments to brightness and contrast were made uniformly to all parts of the image.

Data analysis

Data were subjected to two-way mixed analysis of variance (ANOVA) with repeated measure for FR1 self-administration session and for the extinction with one between-subjects factor (experimental groups: sham and lesioned groups) and one within subject factor (self-administration sessions). All *post hoc* comparisons for interactions were carried out by the Fischer's LSD test. Data for motor activity, PR, stereological counting and Δ FosB counting were analyzed using the Student t test and Pearson's correlation for linear regression. All data presented are Means \pm SEM with a threshold for statistical significance set at $p = 0.05$.

Results

Motor impairments and dopaminergic lesion

Assessment of locomotor activity after the last 6-OHDA infusions revealed a significant reduction of locomotor activity in lesioned compared with sham rats (-48.6% ; t-test; $t = 2.602$, $p < 0.05$, Fig. 1A). Stereological sampling revealed that repeated intracerebroventricular injections of 6-OHDA produced a TH-positive cells loss of 51.42% in the substantia nigra *pars compacta* (t-test; $t = 5.62$, $p < 0.0001$) and 31.82% in the ventral tegmental area (t-test; $t = 3.14$, $p < 0.01$). Total dopaminergic cell counts (SNc + VTA) indicate a 42.7% depletion relative to sham animals (t-test; $t = 5.293$, $p < 0.0001$, Fig. 1B). Dopaminergic neurodegeneration was confirmed with total cell counts (TH-positive + Nissl), which showed comparable differences between sham, and lesioned rats ($24,090 \pm 1682$ vs $14,830 \pm 938.9$ for SNc, t-test; $t = 4.95$, $p < 0.001$ and $15,910 \pm 1011$ vs $11,800 \pm 970.5$ for VTA, t-test; $t = 2.93$, $p < 0.05$), demonstrating an effective cell loss rather than a loss of dopaminergic phenotype. In each group, rats that developed the highest intake of PPX were those with the lowest total number of TH-positive neurons (Fig. 1B).

Acquisition of PPX self-administration

For Pramipexole self-administration, the RM ANOVA showed a significant effect of sessions over the course of the experiment (Session: $F_{[16, 3547]} = 6.096$, $p < 0.001$). This indicates that the rats increased the number of injections over time and thus developed a self-administration pattern (Fig. 2A). Moreover, *post-hoc* analysis revealed differences between both groups in the emergence of self-administration behavior. Between sessions 1 and 5, both groups had a low PPX intake that did not differ from the first session (LSD; $p > 0.05$). From session 6 onward, PPX intake significantly increased above the level of session 1 in sham rats (LSD; $p < 0.05$). In contrast, in lesioned rats, PPX intake significantly increased above the initial level only after session 12 (LSD; $p < 0.05$). As a result of this delayed acquisition, lesioned rats took less PPX than sham rats during sessions 6 to 11 (LSD; $p < 0.05$; Fig. 2B). However, from session 12 onward, there was no longer any difference in PPX

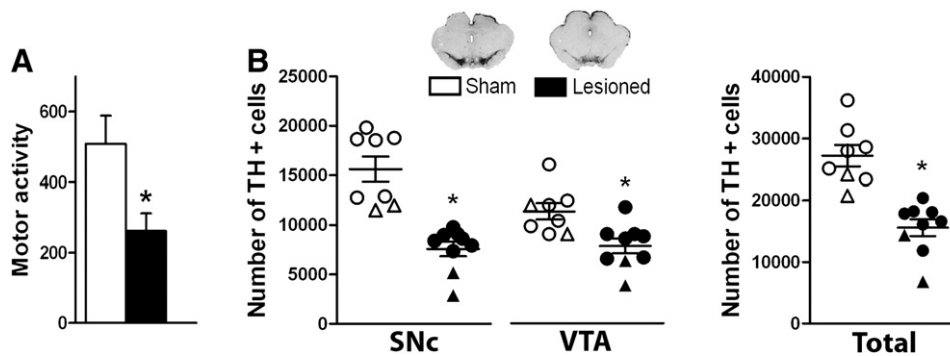


Fig. 1. Evaluation of 6-OHDA lesion: (A) Motor activity (crosses + rearing) during a 3 h session (Mean \pm SEM) * $p < 0.05$; (B) stereological counts of TH positive cells in substantia nigra (SNc; * $p < 0.0001$), ventral tegmental area (VTA; * $p < 0.01$) and total number of TH-positive neurons (e.g.; SNc + VTA; * $p < 0.0001$) (lines represent mean \pm SEM). Plots represent individual counts and triangles highlight counts of HR rats.

intake between groups (LSD; $p > 0.05$). Finally, after acquisition and stabilization of behavior, we found a relatively large individual variability in PPX self-administration (Coefficient of variation $> 60\%$ for sham and $> 90\%$ for lesioned). This variation was mainly due to the presence of a few high-responder (HR) outliers (> 2 SEM above the mean), which were equally distributed in both groups: two sham and two lesioned rats (Fig. 2B). When self-administration data are analyzed without HR, the development of PPX self-administration is slightly delayed for both groups (significantly different from session 1: from session 7 for sham and from session 13 for lesioned; LSD; $p < 0.05$ for both).

Reinforcing strength of PPX

After acquisition of PPX self-administration, motivation for PPX was assessed using a PR procedure. Fig. 3 shows the mean final ratio (i.e. the last number of lever-presses made to get one injection) of both groups as well as the final ratio of each individual animal reached during the session. The right Y-axis, illustrates the corresponding cumulative responses (i.e. addition of lever-presses made to complete each step) of each animal, giving an overview of the effort done to get PPX during this single session. Both groups reached a similar final ratio. Overall

breakpoints are weak in both groups but, interestingly, the HR outliers had much higher PR scores than other rats in both groups (i.e., at least 1 SEM above the mean). Again, when HR results are removed from the analysis, overall results remain similar. Breakpoints do not significantly differ between both groups (mean: 4.5 ± 1.63 for sham and mean: 3 ± 0.63 for lesioned animals; t-test, $t = 0.859$).

Extinction of PPX seeking

PPX seeking was assessed during a 45-min period of extinction (Fig. 4). RM ANOVA revealed no difference between sham and lesioned rats, suggesting that the PPX-paired lever had acquired similar conditioned incentive properties in both groups. It revealed however, a significant effect of time ($F_{[8, 112]} = 6.98$, $p < 0.001$) indicating the extinction of the lever-pressing behavior. Lever-presses were already significantly decreased after 10 min (LSD; $p < 0.05$ for both groups) indicating a fast extinction of PPX seeking. When non-reinforced, low numbers of lever-presses are reported for both populations.

Different patterns of Δ FosB expression

Analysis of Δ FosB immunostaining revealed differences between groups, depending on the considered subregions of the striatum. Results presented in Fig. 5A are normalized relative to the number of PPX injections after stabilization of PPX self-administration. Because lesioned rats had a delayed FR1 acquisition, Δ FosB expression could be biased by the longer PPX exposure of sham animals. Thus, to evaluate the expression of Δ FosB due to the self-administration behavior, the density of Δ FosB positive cells is expressed per mm^2 for one PPX injection when PPX intake was stabilized for each group (i.e., sessions 6 to 19 for sham; sessions 12 to 19 for lesioned). Lesioned rats have a significantly higher number of Δ FosB positive cells in the DM and in the VM striatum (t-test; $t = 2.552$, $p < 0.05$ and $t = 2.634$, $p < 0.05$ respectively). Linear regressions revealed a positive correlation between the number of Δ FosB positive neurons in the NAcc and the final ratio reached in PR for lesioned rats ($r^2 = 0.67$; $p < 0.05$; Fig. 5B) and between the number of Δ FosB positive neurons in the DM striatum and the final ratio for sham rats ($r^2 = 0.59$; $p < 0.05$; Fig. 5C). A trend between the number of Δ FosB positive neurons in DL striatum and final ratio is also reported for sham rats ($r^2 = 0.43$; $p = 0.07$). Double immunohistochemistry for Δ FosB and D1 dopamine receptor revealed that Δ FosB accumulation occurs comparably both in D1-positive and D1-negative striatal neurons (Fig. 6).

Discussion

The present study shows that normal and parkinsonian drug-naïve rats self-administer PPX at similar levels, indicating that the drug possesses reinforcing properties that are not modified by a partial bilateral

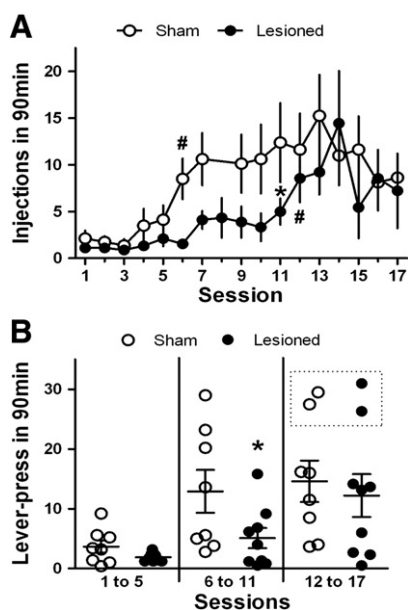


Fig. 2. Fixed ratio acquisition: (A) Number of 0.25 mg PPX injections/FR1 session (Mean \pm SEM) * $p < 0.05$ between groups for session 11; # $p < 0.05$ within groups from session 1; (B) Repartition of the population over the acquisition. Lines represent the mean number of lever-press/session/phase (\pm SEM) for each phase; * $p < 0.05$. Plots represent individual's means for each phase and dotted frame highlights the HR of both groups.

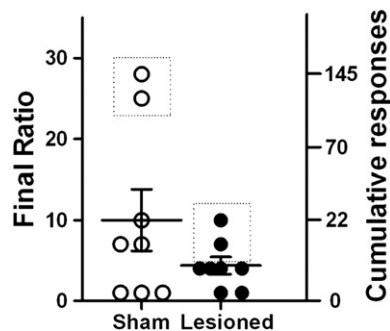


Fig. 3. Progressive ratio: Final ratio (last ratio completed to get one 0.25 mg PPX injection) in PR3 schedule of reinforcement (lines represent Mean \pm SEM). Plots represent individual final ratio. The right Y-axis, illustrates the corresponding cumulative responses (i.e. the total number of lever-presses made to reach the final step over the session) and the dotted frames highlight the HR of both groups.

lesion. The abuse liability of PPX is however low compared with drugs of abuse such as cocaine or amphetamine, as indicated by the weakness of the motivational properties and its incapacity to sustain high seeking behavior. Although PPX intake was barely affected by 6-OHDA lesion, the striatal subnetworks likely to mediate those effects are different as highlighted by the differential Δ FosB expression between both groups.

Striatal dopaminergic D2 and D3 receptors are associated with chronic intake and reinforcing effects of psychostimulants (Neisewander et al., 2004; Volkow et al., 1999). In PD, correction of nigrostriatal and mesostriatal depletion with D2/3 agonists such as PPX is associated with behavioral addictions in about 15% of patients (Weintraub et al., 2010) and tapering D2/3 agonist therapy leads to DAWS in up to 20% of patients (Rabinak and Nirenberg, 2010). Altogether, these data suggest that D2/3 agonists could possess reinforcing properties. Previous animal studies have already shown that PPX can enhance cocaine effects (Caine et al., 1997; Le Foll et al., 2000) and interact with stimuli paired with cocaine (Collins et al., 2011), but the reinforcing properties of PPX in itself had never been assessed. Moreover, the influence of midbrain dopaminergic neurodegeneration as occurring in PD has never been assessed in self-administration experiments involving dopamine agonists. Thus, this study directly investigated the reinforcing properties of PPX and their possible modifications in a rat model of PD.

For this purpose, we used a bilateral model of parkinsonian rats with a dopaminergic loss of 51% in the SNc and 31% in the VTA. Indeed, such complex behaviors require to use bilaterally affected animals, both for obtaining PD-like motor disturbances (Rodriguez Diaz et al., 2001; Rodriguez et al., 2001) and for avoiding rotations due to imbalanced dopaminergic stimulation (Schwartz and Huston, 1996). The multiple discrete intracerebroventricular 6-OHDA injections allowed obtaining a topographical profile of cell loss comparable to PD (Damier et al., 1999), with decreased motor activity, in animals that were still able to acquire an operant conditioning task.

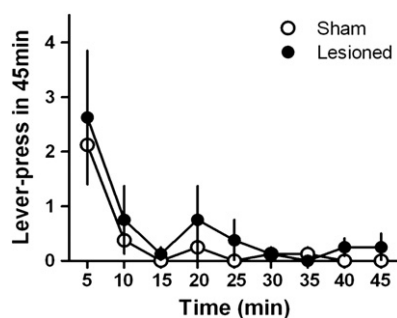


Fig. 4. Extinction of PPX seeking: Number of lever-press during an extinction period of 45 min (Mean \pm SEM).

Our results indicate that both normal and parkinsonian rats self-administer PPX. To our knowledge, this is the first demonstration that rats can directly and durably develop a self-administration pattern for a D2/3 dopamine agonist under FR1 schedule of reinforcement without substitution or prior training with food as previously done (Collins and Woods, 2007; Collins et al., 2011; Nader and Mach, 1996; Woolverton et al., 1984; Yokel and Wise, 1978). Self-administration rates steadily progressed until reaching a stable level, demonstrating that PPX has reinforcing properties. These properties may be mainly exerted through D2 receptors since (i) the D3 receptor role has been questioned in direct reinforcing effects of drugs (reviewed in Le Foll et al., 2005) and (ii) the D3 receptor expression level is very low in non-levodopa exposed dopamine-depleted PD animal models (Bezard et al., 2003; Bordet et al., 1997). Another key result of this study is the finding that both sham and parkinsonian animals developed comparable levels of PPX intake. These data, suggest that PD-like degeneration of midbrain dopaminergic neurons does not alter the reinforcing properties of PPX. Acquisition curves indicate however that both populations reached the same final level of PPX intake excluding a possible impact of motor impairments on the lever-pressing task. Interestingly, although most rats presented a stable PPX intake, it remained moderate (about 8 injections/hour). This might be due to unpleasant side-effects (Hamidovic et al., 2008) limiting its potential for abuse. Indeed, D2-like and D2 dopamine agonists such as apomorphine or bromocriptine have shown to be self-administered despite mild negative side-effects (Wise et al., 1990; Yokel and Wise, 1978). Alternatively, because of hypolocomotor effects of low PPX doses (Chang et al., 2011), we have only tested one PPX concentration. A dose–response curve in self-administration procedure may allow finding a dose for which animals may exhibit more responding.

Progressive ratio schedule of reinforcement results supports this hypothesis. The rats are able to produce an average 'effort' between five to twenty-two lever-presses to obtain one infusion of PPX, indicating that PPX is reinforcing even if only mild motivation is observed compared with what is commonly seen with psychostimulants (e.g., breakpoints around 100 for cocaine; Chiodo and Roberts, 2009; Morgan et al., 2006). However, it has to be noticed that PPX final ratios are similar to those achieved with apomorphine (Roberts, 1989), a short acting D2-like dopamine agonists known to be abused by some PD patients (Giovannoni et al., 2000). Thus, in addition to FR1 results, PR results offer a valuable characterization of reinforcing properties of PPX. Even though PPX is not highly reinforcing like psychostimulants, it has notable reinforcing properties.

Extinction allowed evaluating the role of drug reinforcement in maintaining PPX self-administration. As expected, during extinction, the rats of both groups rapidly extinguished their behavior, thereby showing that both FR and PR responding were maintained by the reinforcing properties of PPX. This rapid extinction also suggests that the conditioned reinforcing properties of the PPX-paired lever are relatively low, a conclusion in accordance with recent work showing that PPX induces low levels of perseverative responding for cocaine-paired stimuli (Collins et al., 2011). Furthermore, the latter study suggests that PPX-induced perseverative behaviors are unlikely to explain FR and PR responding, as it can be the case with other dopamine agonists (Faure et al., 2010; Nomura and Segawa, 1980). Extinction testing during a 45-min session highlighted a weak craving-like property of PPX in both groups (about 5 lever-presses, while cocaine generates about 28 lever-presses in 45 min (Ahmed and Koob, 1997).

Prolonged PPX self-administration led to Δ FosB expression in different striatal subregions of lesioned animals. This phenomenon has already been observed in animal models of PD treated with levodopa reflecting a high activation of the dorsal 'motor' part of the striatum due to dopaminergic stimulation of the dopamine depleted nigrostriatal pathway (Berton et al., 2009; Westin et al., 2001). Another study also described FosB accumulation in the ventromedial striatum of lesioned rats after apomorphine (Saka et al., 1999). Here, we can extend these observations

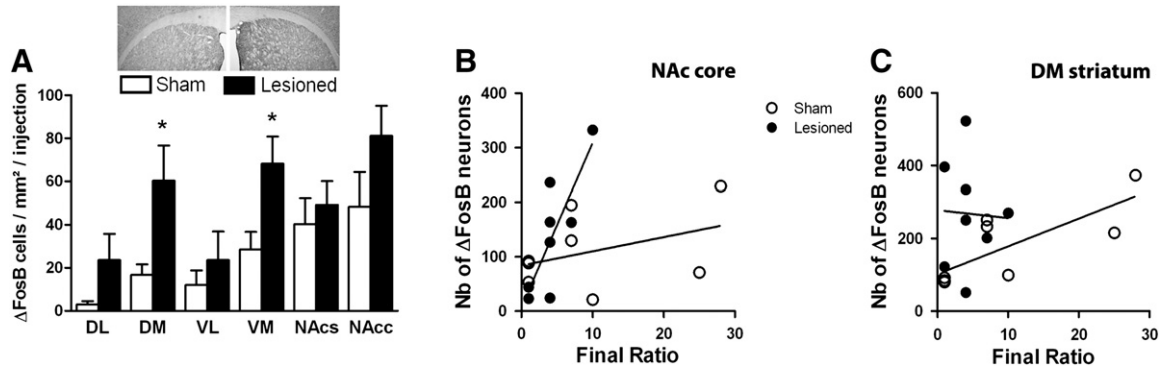


Fig. 5. Δ FosB expression in the striatum: (A) Number of DeltaFosB positive neurons/mm²/injection. Counts are normalized relative to the number of PPX injections at stable level in different striatal subregions: Dorsolateral (DL), dorsomedian (DM), ventrolateral (VL), ventromedian (VM), nucleus accumbens shell (NAcs), nucleus accumbens core (NAcc) (Mean \pm SEM) (* p <0.05). (B) Correlation between the counted number of Δ FosB positive neurons in the NAcc and the final ratio reach in PR procedure ($r^2=0.67$; p <0.05). (C) Correlation between the counted number of Δ FosB positive neurons in the DM and the final ratio reach in PR procedure ($r^2=0.59$; p <0.05).

to a D2/3 dopamine agonist treatment. Chronic intake of PPX increased the expression of Δ FosB in DM and VM striatum of lesioned rats. Interestingly, when motivation for PPX is considered, final ratio reached by lesioned rats in PR task positively correlated with Δ FosB counts in the NAcc. This suggests that high Δ FosB expression in dorsal striatum reflects motor affection whereas NAcc activation reflects motivation (Hall et al., 2001). In sham animals a positive correlation between final ratio and Δ FosB is found in the DM striatum, a region described as being involved in drug seeking (Yin et al., 2005). Therefore, similar final ratio for PPX in the PR task is presumably linked with the activation of different striatal subnetworks between sham and lesioned rats. In addition, the respective involvement of both striatal output pathways will deserve future investigations. Indeed, PPX can act on both striatopallidal (via D2 receptors) and striatonigral neurons (via D3 receptors). D3 receptor stimulation can interact with D1 receptor function to possibly potentiate the effects of endogenous dopamine on D1 receptors (Marcellino et al., 2008). Resulting changes in D1 signaling might thus participate to reinforcing properties of PPX as proposed for cocaine (Hummel and Unterwald, 2002). Further studies focusing on striatal output pathways and dopamine receptor signaling are needed to better understand the mechanisms of non-motor side-effects observed with D2/3 agonists in PD (Molina et al., 2000) and also in Restless Legs Syndrome (Cornelius et al., 2010), Pituitary prolactinoma (Davie, 2007) and fibromyalgia (Holman, 2009) where no dopaminergic depletion is reported.

The partial dopaminergic (SNc + VTA) lesion also slows the acquisition of FR1 schedule of reinforcement, inducing a right-shift of the acquisition curve. Midbrain dopamine systems are well known to be involved in processing reward related information and learning behavior (Schultz, 1998). Mesolimbic as well as nigrostriatal pathways are involved in reinforcement learning and reward related behaviors (Corbett and Wise,

1980; Roberts et al., 1980; Wise, 2009). It is very likely that the combined damage of both pathways altered the animals' capacity to make optimal action-outcome association during the initial phase of operant conditioning, thus resulting in a delayed onset of PPX self-administration in the lesioned rats (Faure et al., 2005; Wiecki and Frank, 2010). Such deficit disappears with extensive training (Faure et al., 2005). While the mixed lesion of both SNc and VTA likely participates in slowing FR1 acquisition, it did not affect final levels of PPX intake.

It must be emphasized that the rat model used in the present study only displays a mild extent of dopaminergic neurodegeneration, compatible with an early symptomatic stage of the disease. Even though such magnitude of neurodegeneration is above the threshold for symptoms appearance, in accordance with studies performed in rats, non-human primates and PD patients (Bezard et al., 2001; Fearnley and Lees, 1991; Lindner et al., 1999) it will be important to evaluate the effects of more pronounced dopaminergic loss, as well as the effects of norepinephrineric and serotonergic loss as occurring in the human disease. Indeed, whether extensive SNc and VTA neurodegeneration as occurring in advanced disease stages would further affect response rates for PPX and Δ FosB accumulation is a critical point remaining to be assessed. Since reaching such extensive bilateral loss with 6-OHDA is hardly achievable without extensive mortality, future studies in rats with a progressive neurodegeneration using bilateral viral-mediated expression of alpha-synuclein may help overcome this limitation. Our results showing that a partial dopaminergic lesion is enough to induce a post-synaptic hypersensitivity as shown by Δ FosB accumulation suggest that more severe lesions might further increase this post-synaptic response.

Interestingly, FR1 and PR results indicate that, in both groups, a subset of rats (about 20%) exhibits high responding, suggesting that

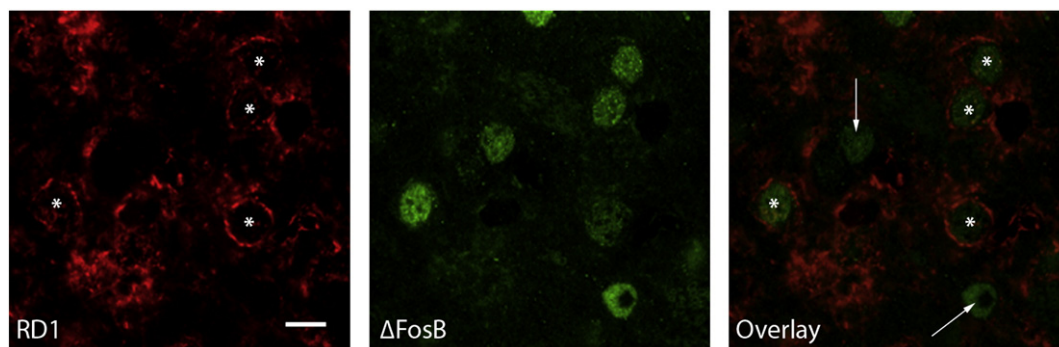


Fig. 6. Dopamine receptor identity of Δ FosB-immunopositive cells: Δ FosB accumulation occurs in both D1 receptor-positive (asterisk) and -negative neurons (arrows). Scale bar: 10 μ m.

they could be more sensitive to the reinforcing effect of the drug. Indeed, during FR1 acquisition, a subset of HR rats of both groups presented twice more lever-presses than the mean of their group. In PR, the number of lever-presses required for final infusion of these same HR rats reaches about 30, which is comparable to drugs of abuse like heroin (Doherty and Frantz, 2011; Lenoir and Ahmed, 2008) with a cumulative number of responses around 145, which is close to the results obtained with d-amphetamine (Richardson and Roberts, 1996). Interestingly, studies with psychostimulants in humans and animals showed that only a subgroup of individuals exposed to drug exhibits an exaggerated intake or develop increased drug seeking in the same proportion than observed in the present study (Ahmed, 2011; Anthony et al., 1994; Deroche-Gamonet et al., 2004). Similarly, in PD, only a subset of patients develops DAWS and behavioral addictions (Weintraub et al., 2010). In these patients, history of alcohol or drug use has been identified as a risk factor, suggesting that common vulnerability factors may operate in drug addiction and in D2/3-induced non-motor side-effects and DAWS. In rats, different behavioral phenotypes have been shown to predispose to drug use or abuse (Belin et al., 2011). Finally, stereological estimates of the total number of dopaminergic-neurons (SNc + VTA) revealed that HR rats of both groups were the ones with the lowest number of neurons. These data support the hypothesis that individual susceptibility factors may be critical for the development of dopamine agonists-induced adverse-effects. However, the neural correlates of this vulnerability are poorly understood. Whether the increased behavioral and cellular responsiveness to PPX observed in some individuals represent risk factors to develop subsequent non-motor adverse effects will need to be addressed in future studies. While the underlying mechanisms of these dopamine agonist-induced side effects remain to be fully elucidated, imaging studies have demonstrated that dopamine agonists acting on dopamine D2/3 receptors, such as PPX, impair reward processing by exaggerating affective response to reward (Ye et al., 2010) and by reducing feed-back based learning (van Eimeren et al., 2009) leading to behavioral addictions such as pathological gambling.

Conclusion

Stimulation of D2/3 receptor with PPX is reinforcing in a rat self-administration procedure. A combined nigrostriatal and mesostriatal lesion does alter neither the reinforcing properties of the drug nor its attractive properties even though it delayed self-administration acquisition. Differences in the pattern of Δ FosB expression in the striatum following PPX self-administration occur between sham and parkinsonian rats and their role in mediating PPX non-motor side-effects will need further investigations. Moreover, despite a low abuse liability, a small subset of rats of both groups exhibits high level of responding for PPX. Individual susceptibility to D2/3 agonists seems to be an important feature in the emergence of dopamine agonists-induced side-effects. Careful monitoring is thus recommended in the treatment of PD to prevent the emergence of these adverse effects. Moreover, D2/3 agonists have been proposed for the treatment of addiction (Ersche et al., 2011; Le Foll et al., 2000). If so, great attention must be paid, especially because D2/3 could be more reinforcing on addicted people.

Disclosure/Conflict of Interest

EB is Chief Scientific Officer of Motac neuroscience Ltd. All other authors reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

Acknowledgments

This work was supported by Michael J Fox Foundation (Langston Award to EB and, Fondation pour la Recherche sur le Cerveau to EB). We thank Stéphane Lelgouach and Anne Fayoux for animal care,

Evelyne Doudnikoff and Sandra Dovero for technical support. We thank Martine Cador, the Université Bordeaux Segalen and the Centre National de la Recherche Scientifique for infrastructural support.

References

- Ahmed, S.H., 2011. The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*.
- Ahmed, S.H., Cador, M., 2006. Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31, 563–571.
- Ahmed, S.H., Koob, G.F., 1997. Cocaine- but not food-seeking behavior is reinstated by stress after extinction. *Psychopharmacology (Berl)* 132, 289–295.
- Anthony, J.C., et al., 1994. Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: basic findings from the National Comorbidity Survey. *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 2, 244–268.
- Belin, D., et al., 2011. High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology* 36, 569–579.
- Berthet, A., et al., 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.
- Berton, O., et al., 2009. Striatal overexpression of DeltaJunD resets L-DOPA-induced dyskinesia in a primate model of Parkinson disease. *Biol. Psychiatry* 66, 554–561.
- Bezard, E., et al., 2001. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* 21, 6853–6861.
- Bezard, E., et al., 2003. Attenuation of levodopa-induced dyskinesia by normalizing dopamine D3 receptor function. *Nat. Med.* 9, 762–767.
- Bonuccelli, U., et al., 2009. Role of dopamine receptor agonists in the treatment of early Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 15 (Suppl. 4), S44–S53.
- Bordet, R., et al., 1997. Induction of dopamine D3 receptor expression as a mechanism of behavioral sensitization to levodopa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 3363–3367.
- Caille, S., et al., 1999. Total neurochemical lesion of noradrenergic neurons of the locus ceruleus does not alter either naloxone-precipitated or spontaneous opiate withdrawal nor does it influence ability of clonidine to reverse opiate withdrawal. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290, 881–892.
- Caine, S.B., et al., 1997. D3 receptor test in vitro predicts decreased cocaine self-administration in rats. *Neuroreport* 8, 2373–2377.
- Cantin, L., et al., 2010. Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction. *PLoS One* 5, e11592.
- Chang, W.L., et al., 2011. Disparate effects of pramipexole on locomotor activity and sensorimotor gating in Sprague-Dawley rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 99, 634–638.
- Charron, G., et al., 2011. Endogenous morphine-like compound immunoreactivity increases in parkinsonism. *Brain* 134, 2321–2338.
- Chiodo, K.A., Roberts, D.C., 2009. Decreased reinforcing effects of cocaine following 2 weeks of continuous D-amphetamine treatment in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 206, 447–456.
- Collins, G.T., Woods, J.H., 2007. Drug and reinforcement history as determinants of the response-maintaining effects of quinpirole in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 323, 599–605.
- Collins, G.T., et al., 2005. Dopamine agonist-induced yawning in rats: a dopamine D3 receptor-mediated behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 314, 310–319.
- Collins, G.T., et al., 2009. Proerectile effects of dopamine D2-like agonists are mediated by the D3 receptor in rats and mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329, 210–217.
- Collins, G.T., et al., 2011. Effects of pramipexole on the reinforcing effectiveness of stimuli that were previously paired with cocaine reinforcement in rats. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Corbett, D., Wise, R.A., 1980. Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain Res.* 185, 1–15.
- Cornelius, J.R., et al., 2010. Impulse control disorders with the use of dopaminergic agents in restless legs syndrome: a case-control study. *Sleep* 33, 81–87.
- Damier, P., et al., 1999. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain* 122 (Pt. 8), 1437–1448.
- Davie, M., 2007. Pathological gambling associated with cabergoline therapy in a patient with a pituitary prolactinoma. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 19, 473–474.
- Deroche-Gamonet, V., et al., 2004. Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305, 1014–1017.
- Dobi, A., et al., 2011. Cocaine-induced plasticity in the nucleus accumbens is cell specific and develops without prolonged withdrawal. *J. Neurosci.* 31, 1895–1904.
- Doherty, J.M., Frantz, K.J., 2011. Heroin self-administration and reinstatement of heroin-seeking in adolescent vs. adult male rats. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Dunnett, S.B., Lelos, M., 2010. Behavioral analysis of motor and non-motor symptoms in rodent models of Parkinson's disease. *Prog. Brain Res.* 184, 35–51.
- Ersche, K.D., et al., 2011. Response perseveration in stimulant dependence is associated with striatal dysfunction and can be ameliorated by a D(2/3) receptor agonist. *Biol. Psychiatry* 70, 754–762.
- Evans, A.H., et al., 2009. Impulsive and compulsive behaviors in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 24, 1561–1570.
- Fasano, S., et al., 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.
- Faure, A., et al., 2005. Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J. Neurosci.* 25, 2771–2780.

- Faure, A., et al., 2010. Dopamine agonists increase perseverative instrumental responses but do not restore habit formation in a rat model of Parkinsonism. *Neuroscience* 168, 477–486.
- Fearnley, J.M., Lees, A.J., 1991. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114 (Pt. 5), 2283–2301.
- Frank, M.J., et al., 2004. By carrot or by stick: cognitive reinforcement learning in parkinsonism. *Science* 306, 1940–1943.
- Giovannoni, G., et al., 2000. Hedonistic homeostatic dysregulation in patients with Parkinson's disease on dopamine replacement therapies. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 68, 423–428.
- Hall, J., et al., 2001. Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour. *Eur. J. Neurosci.* 13, 1984–1992.
- Hamidovic, A., et al., 2008. Effects of low to moderate acute doses of pramipexole on impulsivity and cognition in healthy volunteers. *J. Clin. Psychopharmacol.* 28, 45–51.
- Holman, A.J., 2009. Impulse control disorder behaviors associated with pramipexole used to treat fibromyalgia. *J. Gambl. Stud.* 25, 425–431.
- Hope, B.T., et al., 1994. Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in brain by chronic cocaine and other chronic treatments. *Neuron* 13, 1235–1244.
- Hummel, M., Unterwald, E.M., 2002. D1 dopamine receptor: a putative neurochemical and behavioral link to cocaine action. *J. Cell. Physiol.* 191, 17–27.
- Koob, G.F., Nestler, E.J., 1997. The neurobiology of drug addiction. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 9, 482–497.
- Lawrence, A.D., et al., 2003. Compulsive use of dopamine replacement therapy in Parkinson's disease: reward systems gone awry? *Lancet Neurol.* 2, 595–604.
- Le Foll, B., et al., 2000. Dopamine D3 receptor agents as potential new medications for drug addiction. *Eur. Psychiatry* 15, 140–146.
- Le Foll, B., et al., 2005. The dopamine D3 receptor and drug dependence: effects on reward or beyond? *Neuropharmacology* 49, 525–541.
- Lenoir, M., Ahmed, S.H., 2007. Heroin-induced reinstatement is specific to compulsive heroin use and dissociable from heroin reward and sensitization. *Neuropsychopharmacology* 32, 616–624.
- Lenoir, M., Ahmed, S.H., 2008. Supply of a nondrug substitute reduces escalated heroin consumption. *Neuropsychopharmacology* 33, 2272–2282.
- Lindner, M.D., et al., 1999. Incomplete nigrostriatal dopaminergic cell loss and partial reductions in striatal dopamine produce akinesia, rigidity, tremor and cognitive deficits in middle-aged rats. *Behav. Brain Res.* 102, 1–16.
- Marcellino, D., et al., 2008. Identification of dopamine D1-D3 receptor heteromers. Indications for a role of synergistic D1-D3 receptor interactions in the striatum. *J. Biol. Chem.* 283, 26016–26025.
- Mash, D.C., Staley, J.K., 1999. D3 dopamine and kappa opioid receptor alterations in human brain of cocaine-overdose victims. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877, 507–522.
- Mihindou, C., et al., 2011. Preclinical validation of a novel cocaine exposure therapy for relapse prevention. *Biol. Psychiatry* 70, 593–598.
- Molina, J.A., et al., 2000. Pathologic gambling in Parkinson's disease: a behavioral manifestation of pharmacologic treatment? *Mov. Disord.* 15, 869–872.
- Morgan, D., et al., 2002. Social dominance in monkeys: dopamine D2 receptors and cocaine self-administration. *Nat. Neurosci.* 5, 169–174.
- Morgan, D., et al., 2006. Rapid and persistent sensitization to the reinforcing effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 31, 121–128.
- Nader, M.A., Mach, R.H., 1996. Self-administration of the dopamine D3 agonist 7-OH-DPAT in rhesus monkeys is modified by prior cocaine exposure. *Psychopharmacology (Berl)* 125, 13–22.
- Neisewander, J.L., et al., 2004. Increases in dopamine D3 receptor binding in rats receiving a cocaine challenge at various time points after cocaine self-administration: implications for cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 29, 1479–1487.
- Nomura, Y., Segawa, T., 1980. Ontogenesis of rearing and stereotypy responses to apomorphine in the rat. *J. Pharmacobiodyn.* 3, 69–73.
- Paxinos, G., Watson, C., 2009. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier.
- Pellegrino, L.J., et al., 1979. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. Plenum Press, New York.
- Pioli, E.Y., et al., 2004. Asymmetrically lesioned mesencephalon in healthy rodents: call for caution. *Brain Res.* 1022, 251–253.
- Pioli, E.Y., et al., 2008. Differential behavioral effects of partial bilateral lesions of ventral tegmental area or substantia nigra pars compacta in rats. *Neuroscience* 153, 1213–1224.
- Rabinak, C.A., Nirenberg, M.J., 2010. Dopamine agonist withdrawal syndrome in Parkinson disease. *Arch. Neurol.* 67, 58–63.
- Rascol, O., et al., 2000. A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N. Engl. J. Med.* 342, 1484–1491.
- Richardson, N.R., Roberts, D.C., 1996. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *J. Neurosci. Methods* 66, 1–11.
- Roberts, D.C., 1989. Breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous apomorphine increase daily following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 32, 43–47.
- Roberts, D.C., Koob, G.F., 1982. Disruption of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 17, 901–904.
- Roberts, D.C., et al., 1980. Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 12, 781–787.
- Rodriguez Diaz, M., et al., 2001. Motor behavioural changes after intracerebroventricular injection of 6-hydroxydopamine in the rat: an animal model of Parkinson's disease. *Behav. Brain Res.* 122, 79–92.
- Rodriguez, M., et al., 2001. Dopamine cell degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in the rat: similarities with cell loss in parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 169, 163–181.
- Saka, E., et al., 1999. Compartmental changes in expression of c-Fos and FosB proteins in intact and dopamine-depleted striatum after chronic apomorphine treatment. *Brain Res.* 825, 104–114.
- Schott, B.H., et al., 2007. Ageing and early-stage Parkinson's disease affect separable neural mechanisms of mesolimbic reward processing. *Brain* 130, 2412–2424.
- Schultz, W., 1998. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J. Neurophysiol.* 80, 1–27.
- Schwartz, 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.
- Self, D.W., et al., 1996a. Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D1- and D2-like dopamine receptor agonists. *Science* 271, 1586–1589.
- Self, D.W., et al., 1996b. Self-administration of the D1 agonist SKF 82958 is mediated by D1, not D2, receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 123, 303–306.
- Thobois, S., et al., 2010. Non-motor dopamine withdrawal syndrome after surgery for Parkinson's disease: predictors and underlying mesolimbic denervation. *Brain* 133, 1111–1127.
- Ungerstedt, U., 1971. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367, 95–122.
- van Eimeren, T., et al., 2009. Dopamine agonists diminish value sensitivity of the orbitofrontal cortex: a trigger for pathological gambling in Parkinson's disease? *Neuropsychopharmacology* 34, 2758–2766.
- Volkow, N.D., et al., 1999. Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *Am. J. Psychiatry* 156, 1440–1443.
- Voon, V., et al., 2009. Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson's disease: from dyskinesias to impulse control disorders. *Lancet Neurol.* 8, 1140–1149.
- Weintraub, D., et al., 2010. Impulse control disorders in Parkinson disease: a cross-sectional study of 3090 patients. *Arch. Neurol.* 67, 589–595.
- Westin, J.E., et al., 2001. Persistent changes in striatal gene expression induced by long-term L-DOPA treatment in a rat model of Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci.* 14, 1171–1176.
- Wiecki, T.V., Frank, M.J., 2010. Neurocomputational models of motor and cognitive deficits in Parkinson's disease. *Prog. Brain Res.* 183, 275–297.
- Wise, R.A., 2009. Roles for nigrostriatal—not just mesocorticolimbic—dopamine in reward and addiction. *Trends Neurosci.* 32, 517–524.
- Wise, R.A., et al., 1990. Bromocriptine self-administration and bromocriptine-reinstatement of cocaine-trained and heroin-trained lever pressing in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 100, 355–360.
- Woolverton, W.L., et al., 1984. Intravenous self-administration of dopamine receptor agonists by rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 230, 678–683.
- Ye, Z., et al., 2010. Pramipexole modulates the neural network of reward anticipation. *Hum. Brain Mapp.*
- Yin, H.H., et al., 2005. The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur. J. Neurosci.* 22, 513–523.
- Yokel, R.A., Wise, R.A., 1978. Amphetamine-type reinforcement by dopaminergic agonists in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 58, 289–296.

Article 4

Levodopa gains psychostimulant-like properties after nigral dopaminergic loss.

Michel Engeln, Stefania Fasano, Serge H. Ahmed, Martine Cador, Veerle Baekelandt, Erwan Bezard, Pierre-Olivier Fernagut.

Annals of Neurology (2013) doi: 10.1002/ana.23881

Dans cet article, nous nous sommes intéressés aux propriétés récompensantes de la L-Dopa afin de voir si ce traitement pouvait être responsable du syndrome de dysrégulation dopaminergique observé chez 3 à 4% des patients. Pour cela, nous avons utilisé un modèle rat de lésion bilatérale de la substance noire compacte par surexpression d' α -synucléine mutée. Une expérience de préférence de place conditionnée nous a ainsi révélé que la L-Dopa présentait des propriétés récompensantes uniquement chez les animaux lésés. Ensuite, un test de préférence pour un renforçateur alternatif (eau sucrée) a montré que la L-Dopa pouvait diminuer l'appétence pour une récompense naturelle, encore une fois, chez les animaux lésés uniquement. Ces deux caractéristiques typiques des psychostimulants nous ont ainsi permis de démontrer qu'avec l'apparition d'une lésion de la voie nigrostriée, la L-Dopa peut acquérir des propriétés récompensantes proches de celles observées pour la cocaïne.

Levodopa Gains Psychostimulant-Like Properties after Nigral Dopaminergic Loss

Michel Engeln, MS,^{1,2}
 Stefania Fasano, PhD,³
 Serge H. Ahmed, PhD,^{1,2}
 Martine Cador, PhD,^{4,5}
 Veerle Baekelandt, PhD,⁶
 Erwan Bezard, PhD,^{1,2,7} and
 Pierre-Olivier Fernagut, PhD^{1,2}

Dopamine dysregulation syndrome shares some core behavioral features with psychostimulant addiction, suggesting that dopamine replacement therapy can acquire psychostimulantlike properties in some patients with Parkinson disease (PD). We here report strong experimental evidence supporting this hypothesis in an α -synuclein rat model of PD. Although levodopa had no effect in controls, it acquired 2 prominent psychostimulantlike properties in Parkinsonian rats: (1) it produced intense reward on its own and in parallel (2) decreased interest in other nondrug reward. These 2 effects may combine to explain the addictive use of levodopa after loss of midbrain dopamine neurons in some PD patients.

ANN NEUROL 2013;00:000–000

Symptomatic treatment of Parkinson disease (PD) with dopamine replacement therapy (DRT) is not without important limits. Besides its inability to alleviate nonmotor symptoms, chronic DRT leads to a number of motor (eg, dyskinesia and motor fluctuations) and nonmotor side effects. Nonmotor side effects include the dopamine dysregulation syndrome (DDS), occurring in 3 to 4% of PD patients taking L-dopa and/or apomorphine. DDS is characterized by compulsive DRT-seeking and hoarding, self-medication, and withdrawal syndrome.¹ Growing evidence for an activation of the reward pathways by different types of DRT has been provided.² Compulsive DRT use shares features with psychostimulant addiction.³ This study therefore investigated whether L-dopa possesses psychostimulantlike properties by evaluating its rewarding properties using conditioned place preference (CPP) and its ability to affect a nondrug reward in a sweet taste preference paradigm. The influence

of an altered dopaminergic function on the emergence of compulsive DRT use⁴ was assessed using bilateral lesions of the substantia nigra pars compacta (SNc) induced by viral-mediated overexpression of α -synuclein.

Materials and Methods

Animals

Fifty-three male Wistar Han rats (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) with water and regular rodent chow available ad libitum were used. All experiments were performed in accordance with French (87-848, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt) and European Communities Council Directive (2010/63/EU) guidelines for the care of laboratory animals and were approved by the institutional ethical committee.

Stereotaxic Viral-Mediated Lesion

Experimental parkinsonism was achieved with a bilateral lesion of the SNc using an AAV2–9 vector expressing human A53T α -synuclein under the control of synapsin I promoter (7.0×10^{12} viral vector genomes (vg)/ml). Sham rats received an AAV2–9 vector expressing green fluorescent protein (2.85×10^{12} vg/ml). Motor function was assessed using the stepping test⁵ at baseline, 8 weeks after surgery, and at the end of the third CPP pairing with L-dopa. α -Synuclein overexpression in parkinsonian rats induced a significant bilateral stepping deficit (-24.05% ; Wilcoxon, $p < 0.001$ vs vehicle) significantly improved with 12mg/kg L-dopa intraperitoneally (i.p.; $+15.4\%$; Wilcoxon, $p < 0.01$ vs vehicle; Fig 1A).

Rats were euthanized with a lethal injection of chloral hydrate (600mg/kg; VWR, Fontenay-sous-Bois, France) and perfused with 4% paraformaldehyde. Forty-micrometer-thick free-floating serial coronal sections were collected throughout the mesencephalon and processed for tyrosine hydroxylase (TH), ubiquitin and synuclein immunohistochemistry with

From the ¹Institute of Neurodegenerative Diseases, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France, University of Bordeaux, Bordeaux, France; ²Institute of Neurodegenerative Diseases, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France, National Center for Scientific Research, Bordeaux, France; ³Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience, San Raffaele Research Institute, Milan, Italy; ⁴Aquitaine Institute of Cognitive and Integrative Neurosciences, University of Bordeaux, Bordeaux, France; ⁵Aquitaine Institute of Cognitive and Integrative Neurosciences, National Center for Scientific Research, Bordeaux, France; ⁶Laboratory for Neurobiology and Gene Therapy, Catholic University, Leuven, Belgium; ⁷Neurology Service, Bordeaux University Hospital Center, Pessac, France.

Address correspondence to Dr Bezard, CNRS UMR 5293, Institute of Neurodegenerative Diseases, Université Bordeaux Segalen, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France. E-mail: erwan.bezard@u-bordeaux2.fr

Received Nov 2, 2012, and in revised form Jan 29, 2013. Accepted for publication Mar 1, 2013.

View this article online at wileyonlinelibrary.com. DOI: 10.1002/ana.23881

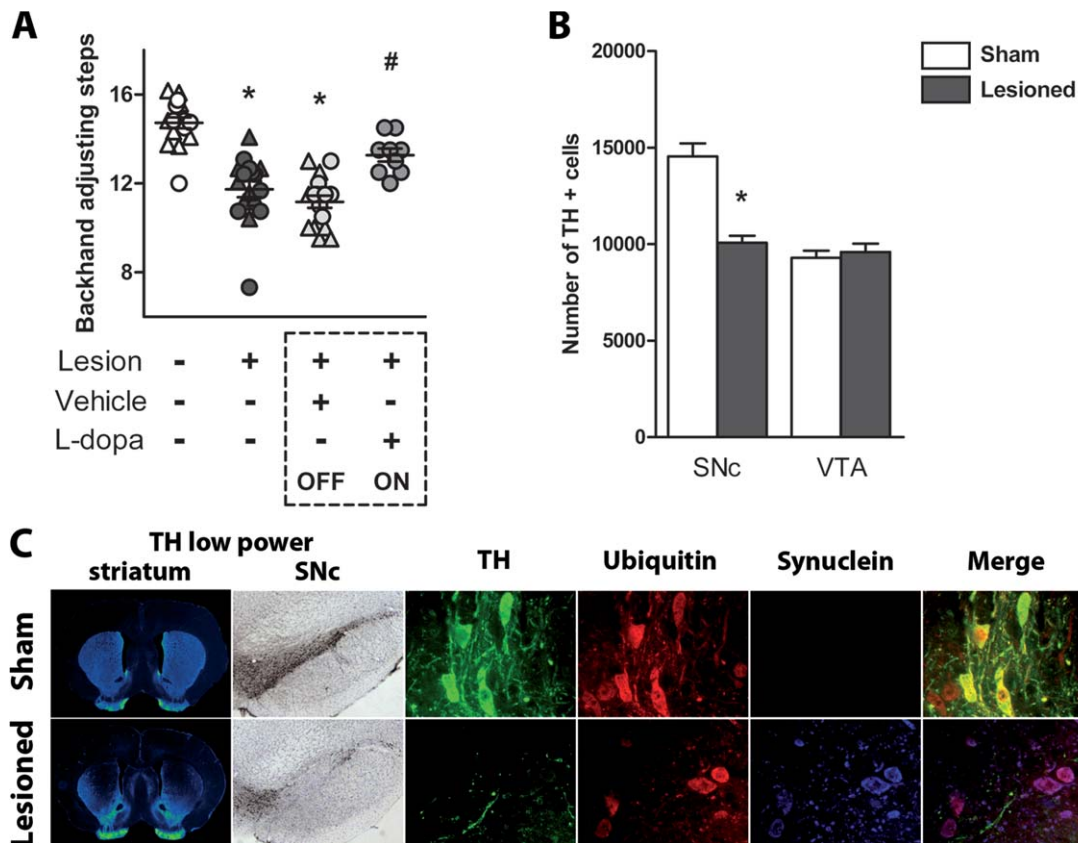


FIGURE 1: Viral-mediated lesion of substantia nigra. AAV2-9 vector expressing human A53T α -synuclein and AAV2-9 vector expressing the green fluorescent protein (for sham rats) were injected under isoflurane anesthesia in 2 rostrocaudal sites in each substantia nigra pars compacta (SNc; $1\mu\text{l}$ per site) at the following coordinates (in millimeters from bregma and dura)¹⁸: anteroposterior (AP), -4.9 ; mediolateral (ML), ± 2.2 ; dorsoventral (DV), -8 and AP, -5.4 ; ML, ± 2 ; DV, -8 . (A) Motor impairments measured by stepping test before the surgery (white), after the surgery (dark gray; Wilcoxon $*p < 0.05$ vs before surgery), with benserazide injection (OFF state, light gray; $*p < 0.05$ vs before the surgery), and after the surgery with L-dopa 12mg/kg injection (ON state, medium gray; $\#p < 0.01$ vs after the surgery with benserazide injection). Values are mean \pm standard error of the mean (SEM); triangles represent vehicle animals and dots represent L-dopa-treated animals. (B) Stereological counts of tyrosine hydroxylase (TH)-positive cells in SNc and ventral tegmental area (VTA; $*p < 0.0001$ vs sham animals). Values are mean \pm SEM. (C) Histological characterization of the viral-mediated α -synuclein overexpression is highlighted: a loss of TH-positive neurons in both striatum and SNc (first column: striatum, pseudo-color; monoclonal mouse anti-TH antibody MAB 318 [Millipore, Molsheim, France]; second column: SNc; original magnification, $\times 2.5$; monoclonal mouse anti-TH antibody MAB 318 [Millipore]; third column: SNc, original magnification, $\times 40$; polyclonal sheep anti-TH antibody Ab113 [Abcam, Cambridge, UK] + polyclonal donkey anti-goat Alexa 488 [Invitrogen, Carlsbad, CA]), ubiquitin inclusion in TH-positive SNc neurons of lesioned rats (fourth column: original magnification, $\times 40$; polyclonal rabbit anti-ubiquitin U5379 [Sigma-Aldrich] + antirabbit Envision System horseradish peroxidase [HRP]-labeled polymer [Dako, Carpinteria, CA] + anti-HRP Dylight 549 [Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA]), synuclein accumulation in remaining TH-positive SNc cells of lesioned animals (fifth column: original magnification, $\times 40$; monoclonal mouse antisynuclein Neo marker MS-1572-P1 [Thermo Scientific, Loughborough, UK] + polyclonal goat antimouse Alexa Cys5 [Invitrogen]), and merge (sixth column). Our viral-mediated lesion model exhibits some of the cellular and behavioral features present in Parkinson disease. Thus, in addition to inducing TH-positive cell death in SNc, α -synuclein accumulation certainly contributed to worsening stepping test performances by causing inflammation, proteasome and lysosomal impairments, and synaptic dysfunction leading to axonopathy in the surviving neurons, as shown by Lundblad et al¹⁹ and Decressac et al.²⁰

Nissl counterstaining. Unbiased stereological sampling was used to estimate the total number of TH-positive neurons and Nissl-stained cells in the SNc and ventral tegmental area (VTA) using Mercator v7.8.9 (Explora Nova, La Rochelle, France).⁶ Viral-mediated expression of α -synuclein induced a 30.7% loss of dopaminergic neurons in the SNc (t test, $t = 5.887$, $df = 51$, $p < 0.0001$; see Fig 1B, C).

Conditioned Place Preference for L-dopa

The CPP apparatus consisted of 2 square chambers ($30 \times 30 \times 45\text{cm}$) linked by a central neutral room ($30 \times 15 \times 45\text{cm}$) with 2 guillotine doors. Each chamber had a unique configuration with different visual patterns on the walls and a different floor texture. The apparatus was homogeneously lighted with dim light (30 lux; protocol adapted from Fasano et al⁷). For the

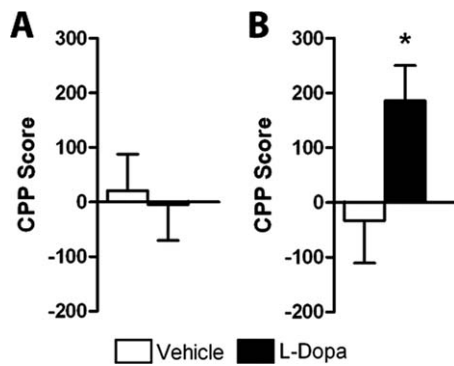


FIGURE 2: Rewarding properties of L-dopa in lesioned rats. The first day, a 20-minute habituation period allowed exploration of the apparatus (pretest). Time spent in each chamber was analyzed using EthoVision v3 (Noldus Information Technology, Wageningen, the Netherlands). Time spent in each room during pretest was used to determine the drug-paired chamber. The following days, animals received either L-dopa on days 1, 3, 5, and 7 or vehicle (benserazide) on days 2, 4, 6, and 8 and were placed in the paired chamber for 40 minutes. Controls groups received benserazide during all conditioning sessions. The day following the last conditioning session, a probe test was performed with 20-minute free access to the apparatus. Conditioned place preference (CPP) scores were calculated for each animal as follow: (time in the drug side \times session time) / (time in left side + time in right side). (A) CPP score in sham animals for vehicle and L-dopa (12mg/kg; $n=10$ and $n=8$, respectively). (B) CPP score in lesioned animals for vehicle and L-dopa (12mg/kg; $n=8$ and $n=9$, respectively; $*p<0.05$; mean \pm standard error of the mean for both graphs).

conditioning, 35 animals received either L-dopa (12mg/kg + a dopamine decarboxylase inhibitor, benserazide, 15 mg/kg i.p. in 0.9% saline; both from Sequoia Research Products, Pangbourne, UK) or benserazide alone (protocol detailed in the legend to Fig 2). Place preference scores were calculated as the difference in time spent in the drug-paired chamber between probe test and pretest. Rats that spent $>70\%$ of the time in the central compartment during probe test were excluded.

Sweet Taste Preference

Sweet taste preference⁸ was performed in single cages (50 \times 25 \times 20cm) equipped with 2 drinking spouts containing 0.5ml of either tap or saccharin (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) sweetened water with automatic refilling (iMetronic, Pessac, France). The experimental schedule consisted of training of the 18 rats for 9 days (0.2% saccharin), surgery (+8 weeks for α -synuclein accumulation), 9 days of rebaselining (0.2% saccharin), dose-response curve (0.04%, 0.008%, and 0.0016% saccharin; alternated with 0.2% saccharin), and drug test (L-dopa: 0, 6, and 12mg/kg, injected i.p. 30 minutes before the test; alternated with vehicle sessions).

Data Analysis

Data were subjected to a Wilcoxon matched pairs test for stepping test. Stereological counts and CPP scores were analyzed using Student unpaired t test. For sweet taste preference data, 2-way analysis of variance (ANOVA) and 2-way ANOVA with

repeated measures (RM-ANOVA) were run with Newman-Keuls post hoc test. All data are presented as mean \pm standard error of the mean with a threshold for statistical significance at $p < 0.05$.

Results

Rewarding Properties of L-dopa in Lesioned Animals

Whereas L-dopa did not induce a place preference in sham animals (see Fig 2A), it induced a significant place preference in bilaterally lesioned rats ($t=2.17$, $df=15$, $p < 0.05$; see Fig 2B), indicating that L-dopa is rewarding only in parkinsonian animals.

L-dopa Decreases Sweet Taste Preference in Lesioned Animals

During baseline saccharin (0.2%) discrimination training, consumption rapidly increased as indicated by RM-ANOVA (session: $F_{8, 161} = 11.89$, $p < 0.001$). From session 2 onwards, saccharin intake significantly differed from the first session in both groups (Newman-Keuls, $p < 0.05$; Fig 3A). After the lesion, saccharin (0.2%) consumption was rebaselined. No differences between groups and no differences between all rebaselining sessions and the last training session were found, indicating that the lesion had no effect on the discrimination capacities of the rats at this dose. We then tested the preservation of discriminative abilities after the lesion. Two-way ANOVA revealed a concentration effect ($F_{3,71} = 41.64$, $p < 0.001$) but no difference between groups for the 3 different doses (0.04%, 0.008%, and 0.0016%). Animals from both groups drank significantly less 0.04% saccharin compared with 0.2%, but significantly more compared with 0.008% and 0.0016% (Newman-Keuls, $p < 0.05$ for each). The 0.04% concentration was thus chosen to avoid a ceiling effect.

Different L-dopa doses were then tested on saccharin intake. Two-way ANOVA revealed a significant effect of lesion ($F_{1, 53} = 8.35$, $p < 0.01$), and post hoc analysis highlighted a significant difference between both groups for the 12mg/kg dose (Newman-Keuls, $p < 0.05$; see Fig 3B). Differential saccharin intake during L-dopa sessions highlighted a general decrease in saccharin consumption for lesioned rats, whereas sham animals remained at comparable level regardless of the L-dopa dose (1-sample t test, $t=2.82$, $df=9$, $p < 0.05$; see Fig 3C). Correction for multiple comparisons would however reach only trend level ($p=0.07$), suggesting the finding requires further replication. In cumulated saccharin consumption following 12mg/kg L-dopa, an interaction between group and time ($F_{9, 179} = 3.87$, $p < 0.001$) indicates that bilaterally lesioned animals drank significantly less saccharin from minute 18 onward compared with sham animals

(Newman–Keuls, $p < 0.05$). The absence of significant increase from minute 18 to minute 27 (see Fig 3D) indicates that L-dopa–treated bilaterally lesioned animals displayed a reduced interest for a natural reward.

Discussion

The present study demonstrates rewarding properties of L-dopa at therapeutically relevant doses. Interestingly,

such rewarding effect was observed only in lesioned animals, indicating that midbrain neurodegeneration is critical for the expression of this behavior. Moreover, L-dopa decreased sweetened water consumption in lesioned rats, suggesting that, like psychostimulants, L-dopa affects the palatability of a nondrug reward.

In patients suffering from DDS, L-dopa is reported to share behavioral and affective features of cocaine or amphetamine addiction and induce similar withdrawal signs.^{1–3,9} Interestingly, in healthy subjects, L-dopa fails to generate a psychostimulantlike mood elevation.¹⁰ To test whether dopaminergic loss may reveal psychostimulantlike properties of L-dopa, we used a bilateral lesion model induced by viral-mediated accumulation of α -synuclein in SNc with L-dopa–responsive motor impairments. Our CPP experiment revealed that an L-dopa dose that alleviates motor symptoms was rewarding exclusively in lesioned rats. Such differential effect might reflect a supersensitivity of postsynaptic receptors,^{11–13} accounting for a preferential action of L-dopa on altered dopaminergic pathways, as occurs in PD.^{1,14}

An optimal dopaminergic activity is required for expressing both motivation and rewarding properties of food.^{15,16} In our experiments, the dopaminergic lesion alone affected neither discrimination between tap and sweetened water nor the palatability of saccharin. However, after L-dopa administration, although preference for saccharin was preserved, the lesioned animals drank significantly less sweetened water than sham animals. Previous work by Heffner et al¹⁵ showed that L-dopa or amphetamine in 6-hydroxydopamine–lesioned rats had the same anorexic effect as amphetamine in normal rats. Here, we can extend these observations to a noncaloric

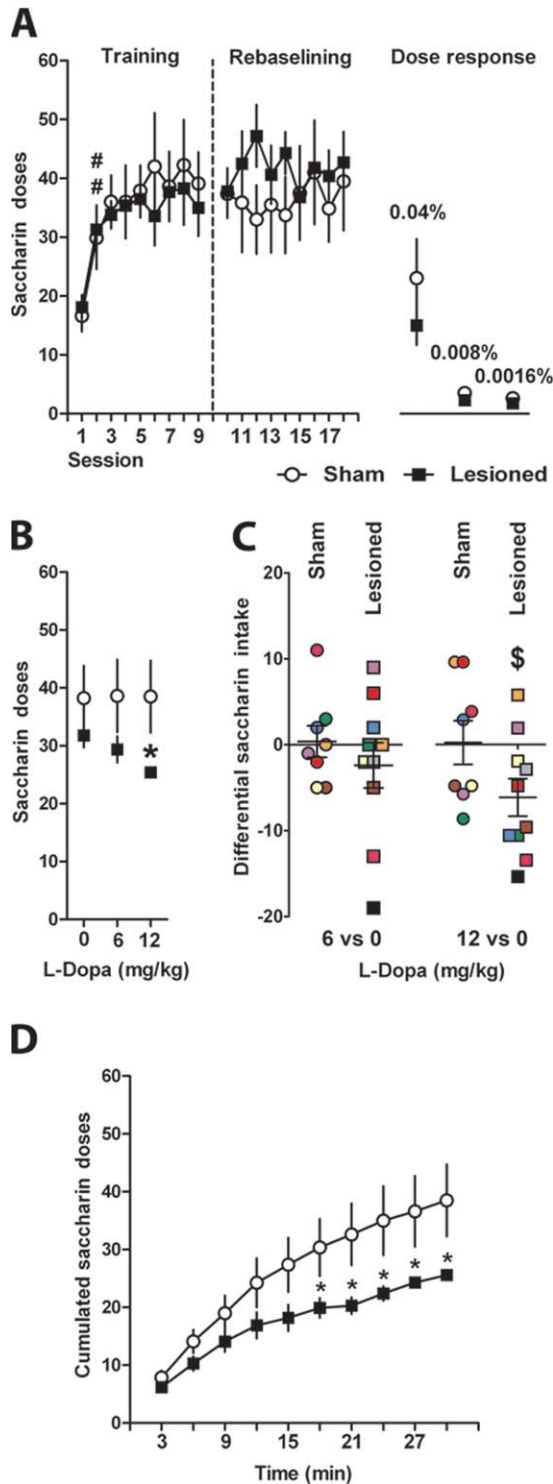


FIGURE 3: L-dopa decreases sweet taste preference. In the test cages, position of sweetened water was counterbalanced every day. Rats acquired the task during 9 daily 30-minute sessions, choosing between tap and 0.2% saccharin sweetened water. Eight weeks after surgery (dashed line illustrates the surgery), rats were rebaselined for 9 additional days. The dose–response curve was established on following days using 0.04%, 0.008%, and 0.0016% saccharin alternated with 0.2% saccharin sessions. Finally, doses of L-dopa (0, 6, and 12mg/kg, injected 30 minutes before the test) alternated with vehicle sessions. (A) Saccharin consumption during training, rebaselining (saccharin 0.2%; $n = 8$ for sham and $n = 10$ for lesioned animals; $\#p < 0.05$ vs session 1 for both groups), and dose response test. (B) Effect of L-dopa on saccharin (0.04%) intake ($*p < 0.05$ vs sham animals). (C) Differential saccharin intake (ie, intake for 6mg/kg vs intake for 0mg/kg L-dopa and intake for 12mg/kg vs intake for 0mg/kg L-dopa). A positive score indicates an increased intake, whereas a negative score indicate a decreased intake. 0 indicates no changes between both sessions. Colors represent individual animals, and lines represent mean \pm standard error of the mean ($\$p < 0.05$ vs 0). (D) Cumulated saccharin (0.04%) consumption for the 12mg/kg L-dopa session ($*p < 0.05$ vs sham animals).

reward, accounting for mechanisms linked to motivation and/or hedonic perception rather than to satiety. L-dopa might have “overdosed” the altered nigrostriatal pathway, leading to a diminished interest for saccharin. As previously proposed,^{15,17} drugs that overflow the dopaminergic activity might outweigh the prominence of gustatory reward, leading to a decrease in their consumption. Whether mechanisms involved in psychostimulant-induced devaluation of natural rewards operate similarly with L-dopa will need to be addressed in future studies.

Together, these data demonstrate that, at a therapeutic dose, L-dopa has rewarding properties and can reduce the consumption of a nondrug reward in individuals with a dopaminergic lesion restricted to the SNc. These psychostimulant behavioral features suggest that dopaminergic neurodegeneration triggers the emergence of cocaine-like properties of L-dopa, which may contribute to the subsequent development of DDS. Whether additional degeneration of VTA neurons can trigger DDS by enhancing such psychostimulant-like properties in vulnerable individuals needs to be assessed. Experimental models of PD are thus amenable to investigate the cellular and molecular mechanisms leading to compulsive use of L-dopa as well as to identify predictive and inductive factors that may lead to DDS.

Acknowledgment

This work was supported by Agence Nationale de la Recherche grants (ANR-07-MNP-Trafinlid, E.B.).

We thank S. Lelgouach, S. Dovero, and A. Estager for their excellent technical support and O. Gaucher for administrative support. The Université Bordeaux Segalen and the Centre National de la Recherche Scientifique provided infrastructural support.

Potential Conflicts of Interest

E.B.: board membership, Michael J Fox Foundation for Parkinson Research; France Parkinson, Parkinson UK; consultancy, Motac Neuroscience; grants/grants pending, Michael J Fox Foundation, Agence Nationale de la Recherche, European Research Council; stock/stock options, Motac Holding. P.-O.F.: grants/grants pending, Association France Parkinson.

References

1. Lawrence AD, Evans AH, Lees AJ. Compulsive use of dopamine replacement therapy in Parkinson's disease: reward systems gone awry? *Lancet Neurol* 2003;2:595–604.
2. O'Sullivan SS, Evans AH, Lees AJ. Dopamine dysregulation syndrome: an overview of its epidemiology, mechanisms and management. *CNS Drugs* 2009;23:157–170.
3. Giovannoni G, O'Sullivan JD, Turner K, et al. Hedonistic homeostatic dysregulation in patients with Parkinson's disease on dopamine replacement therapies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68:423–428.
4. Voon V, Fernagut PO, Wickens J, et al. Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson's disease: from dyskinesias to impulse control disorders. *Lancet Neurol* 2009;8:1140–1149.
5. Olsson M, Nikkhah G, Bentlage C, Bjorklund A. Forelimb akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test. *J Neurosci* 1995;15(5 pt 2):3863–3875.
6. Engeln M, Ahmed SH, Vouillac C, et al. Reinforcing properties of pramipexole in normal and parkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 2012;49C:79–86.
7. Fasano S, D'Antoni A, Orban PC, et al. 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* 2009;66:758–768.
8. Vendruscolo LF, Gueye AB, Darnaudery M, et al. Sugar overconsumption during adolescence selectively alters motivation and reward function in adult rats. *PLoS One* 2010;5:e9296.
9. Evans AH, Lawrence AD, Cresswell SA, et al. Compulsive use of dopaminergic drug therapy in Parkinson's disease: reward and anti-reward. *Mov Disord* 2010;25:867–876.
10. Liggins J, Pihl RO, Benkelfat C, Leyton M. The dopamine augmenting L-DOPA does not affect positive mood in healthy human volunteers. *PLoS One* 2012;7:e28370.
11. Iversen SD, Creese I. Behavioral correlates of dopaminergic supersensitivity. *Adv Neurol* 1975;9:81–92.
12. Costall B, Naylor RJ. Actions of dopaminergic agonists on motor function. *Adv Neurol* 1975;9:285–297.
13. Roberts DC, Koob GF, Klonoff P, Fibiger HC. Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 1980;12:781–787.
14. Evans AH, Pavese N, Lawrence AD, et al. Compulsive drug use linked to sensitized ventral striatal dopamine transmission. *Ann Neurol* 2006;59:852–858.
15. Heffner TG, Zigmond MJ, Stricker EM. Effects of dopaminergic agonists and antagonists of feeding in intact and 6-hydroxydopamine-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1977;201:386–399.
16. Wise RA. Dual roles of dopamine in food and drug seeking: the drive-reward paradox. *Biol Psychiatry* 2012 Oct 5. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.09.001. [Epub ahead of print]
17. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Swanson JM. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol Psychiatry* 2004;9:557–569.
18. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed: Waltham, MA: Academic Press, 2009.
19. Lundblad M, Decressac M, Mattsson B, Bjorklund A. Impaired neurotransmission caused by overexpression of alpha-synuclein in nigral dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:3213–3219.
20. Decressac M, Mattsson B, Bjorklund A. Comparison of the behavioural and histological characteristics of the 6-OHDA and alpha-synuclein rat models of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2012;235:306–315.

Expérience 5

Longitudinal assessment of impulsivity trait after a bilateral nigral lesion and subsequent dopaminergic replacement therapies in a rat model of Parkinson's disease.

Michel Engeln*, Emilie Dugast*, Solène Ansquer*, Nathalie Dutheil, Erwan Bezard, David Belin[‡], Pierre-Olivier Fernagut[‡]

Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer comment l'impulsivité, la dénervation dopaminergique et la nature pharmacologique du traitement interagissent pour favoriser le développement de TCI. Pour cela, nous avons utilisé une approche longitudinale originale chez le rat associant à un modèle expérimental de maladie de Parkinson la mesure de l'influence de divers traitements dopaminergiques sur plusieurs mesures de contrôle inhibiteur. Cette approche, basée sur une manipulation lésionnelle des voies dopaminergiques et des procédures de psychologie expérimentale nous a permis de déterminer l'effet de la lésion dopaminergique et des principaux traitements dopaminergiques sur le contrôle des impulsions. Les mesures d'impulsivité réalisées en condition de base ont également permis d'identifier rétrospectivement des facteurs de vulnérabilité potentiellement impliqués dans le développement de ces effets secondaires particulièrement dévastateurs.

Les animaux ont été soumis à des exercices quotidiens (30 min chacun) de DRL et de FCN en condition basale durant 53 séances, afin d'acquérir la tâche, de présenter des performances stable et ainsi permettre la distinction de 3 sous-populations d'animaux : faiblement, moyennement et fortement 'impulsifs'. Pour cela, un score d'impulsivité (résultats DRL et FCN) a été déterminé sur la base de la somme des 'z-scores' de chaque individu dans chacun des tests. Le 'z-score de DRL se calcule ainsi : (efficacité moyenne individuelle des 2 dernières séances – moyenne du groupe)/écart type du groupe. De même le 'z-score' FCN se calcule : (longueur de la chaîne comportementale moyenne individuelle des 2 dernières séances – moyenne du groupe)/écart type du groupe. Enfin le 'z-score composite' est la somme des 'z-scores' de DRL et de FCN. Un 'z-score' positif correspond à un faible niveau d'impulsivité, alors qu'un 'z-score' négatif correspond à un fort niveau d'impulsivité.

Nous avons alors pu constituer deux groupes expérimentaux homogènes : un groupe contrôle (n=21) et un groupe lésé (n=23), chacun constitués de 3 sous-groupes : faiblement impulsifs, intermédiaires et hautement impulsifs.

Après la chirurgie, les animaux ont été ré-entraînés durant 28 séances puis soumis aux 4 tests pharmacologiques (chacun séparé par une séance de ‘wash-out’).

La lésion bilatérale de la substance noire compacte engendre des déficits moteurs améliorés par les traitements dopaminergiques.

Les performances motrices des pattes antérieures, mesurées avec le stepping test, montrent que l’injection de virus induisant la surexpression d’ α -synucléine dans la SNc (AAV-A53T) diminue progressivement les performances des animaux lésés comparativement aux animaux contrôles (AAV-GFP) (Two-way ANOVA à mesures répétées : Groupe x Semaines : $F_{[3,126]}=365,7$; $p<0,0001$). Ces différences sont visibles dès 4 semaines (Newman-Keuls, $p<0,001$) et s’aggravent encore à 8 ($p<0,001$) et 12 semaines ($p<0,001$) post-chirurgie (**Figure 11A**). A 12 semaines après la chirurgie, les performances motrices ne diffèrent pas entre les différents traits comportementaux au sein d’un même groupe (**Figure 11A**). Ensuite, lorsque les performances motrices sont testées après l’injection des différents traitements dopaminergiques on observe une amélioration des déficits moteurs (One-way ANOVA : $F_{[5,73]}=298,8$; $p<0,0001$). Les tests post-hoc révèlent une amélioration performances motrices avec le Pramipexole (0,3mg/kg) (Newman-Keuls ; $p<0,001$) avec un effet plus marqué pour la dose d’1mg/kg ($p<0,001$). De même, une dose de 0,1mg/kg d’Apomorphine améliore significativement les altérations motrices ($p<0,001$). Enfin, la L-Dopa injectée à 12mg/kg présente la plus grande efficacité puisqu’elle permet une amélioration des performances ($p<0,001$), significativement supérieure à tous les autres traitements ($p<0,001$ comparativement à chaque traitement) (**Figure 11B**). Enfin, les comptages stéréologiques devront être réalisés pour évaluer la diminution des cellules TH-positives dans la SNc et l’ATV. Selon nos résultats antérieurs (Engeln et al., 2013) et les tests réalisés au laboratoire (Figures 7-8), on estime le pourcentage de lésion entre 50 et 60% pour la SNc et on ne s’attend pas à retrouver de perte neuronale au niveau de l’ATV.

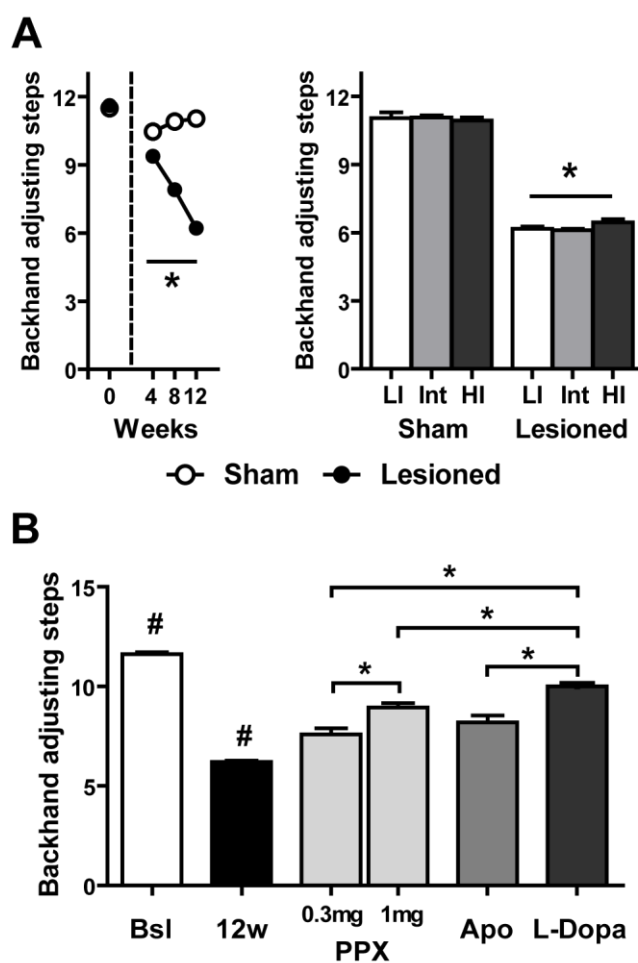


Figure 11 : Evaluation de la lésion bilatérale de la SNc et de l'effet des traitements dopaminergiques.

A. La lésion bilatérale produit un déficit moteur évalué par le stepping test à 4, 8 et 12 semaines post-chirurgie (* $p < 0,001$ par rapport aux animaux contrôles), les performances ne varient pas selon le trait d'impulsivité (* $p < 0,001$ par rapport aux animaux contrôles) (LI=faiblement, Int=moyennement, HI=fortement impulsif) ; **B.** Les performances de stepping test sont améliorées par les traitements dopaminergiques (# $p < 0,01$ par rapport à toutes les conditions ; * $p < 0,001$).

La lésion bilatérale de la substance noire compacte modifie les traits d'impulsivité.

Tout d'abord nous pouvons voir que la lésion de la SNc modifie les 'z scores composites' (One-way ANOVA : Lésion : $F_{[1,38]}=14,797$; $p < 0,001$). En effet, les scores d'impulsivité après la lésion sont significativement différents entre les deux groupes par rapport à ceux observés au niveau basal (Two-way ANOVA : Lésion x pre/post: $F_{[1,38]}=16,79$; $p < 0,001$). Alors que les scores pré-chirurgie étaient comparables entre les deux

groupes, les tests post-hoc nous indiquent que les animaux lésés faiblement ‘impulsifs’ ont des scores significativement plus faibles que leurs homologues du groupe contrôle (Newman-Keuls ; $p < 0,01$) (**Figure 12**).

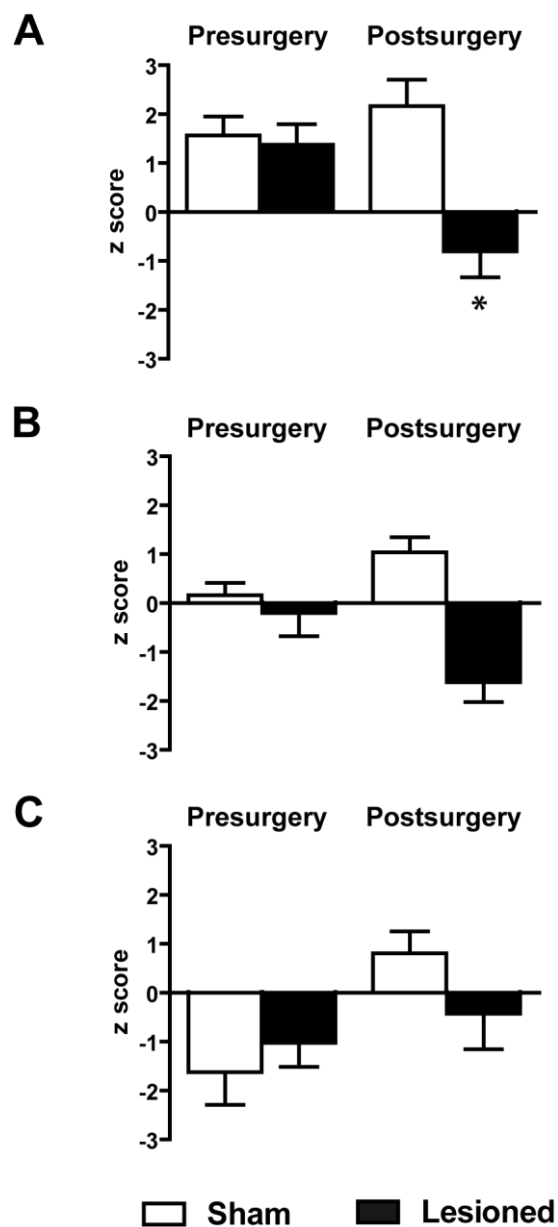


Figure 12 : Effet de la lésion bilatérale de la substance noire sur les scores d’impulsivité.
A. ‘z-score composite’ chez les animaux peu ‘impulsifs’ (* $p < 0,05$ par rapport à pré-chirurgie) ; **B.** ‘z-score composite’ chez les animaux moyennement ‘impulsifs’ ; **C.** ‘z-score composite’ chez les animaux fortement ‘impulsifs’.

Effet de la lésion bilatérale de la substance noire sur l'impulsivité d'action.

Lorsque les tests comportementaux sont repris, 8 semaines après la chirurgie, le nombre de récompenses obtenues par animaux lésés est significativement diminué en DRL (Two-way ANOVA : Période x Groupe : $F_{[2,76]}=3,87$; $p<0,05$) (**Figure 13A**). On note également que les performances sont affectées différemment selon le trait comportemental : Two-way ANOVA : Période x Trait : $F_{[4,76]}=7,86$; $p<0,001$). Pour analyser ces évolutions nous avons séparé les résultats en 3 périodes : 'Pré-chirurgie' correspond aux performances de base, 'Post-chirurgie' correspond aux 10 séances de ré-acquisition de la tâche après la lésion et 'Pré-traitement' correspond aux 10 séances après stabilisation des performances. Ainsi, en période 'post-chirurgie' les récompenses obtenues sont diminuées chez les animaux peu et moyennement 'impulsifs' des deux groupes (Newman-Keuls ; $p<0,05$ pour chaque). Cette baisse reflète probablement l'effet des 8 semaines durant lesquelles les animaux n'ont pas réalisé la tâche. Enfin, en période 'pré-traitement' la majorité des animaux contrôles retourne aux niveaux des performances 'pré-chirurgie' excepté pour les animaux moyennement 'impulsifs' (Newman-Keuls ; $p<0,05$). Chez les animaux lésés, seuls les animaux fortement 'impulsifs' retournent à des niveaux de base (Newman-Keuls ; $p<0,01$ pour faiblement et moyennement 'impulsifs').

Pour l'efficacité à réaliser la tâche, ces différences sont également retrouvées (Two-way ANOVA : Période x Groupe : $F_{[2,76]}=4,07$; $p<0,05$) (**Figure 13B**). Comme précédemment, l'efficacité est affectée différemment selon le trait comportemental : Two-way ANOVA : Période x Trait : $F_{[4,76]}=10,02$; $p<0,0001$). Ainsi, en période 'post-chirurgie' l'efficacité est diminuée chez les animaux peu et moyennement 'impulsifs' des deux groupes (Newman-Keuls ; $p<0,05$ pour chaque). Le même profile est retrouvé en période 'pré-traitement' (Newman-Keuls ; $p<0,05$ pour chaque).

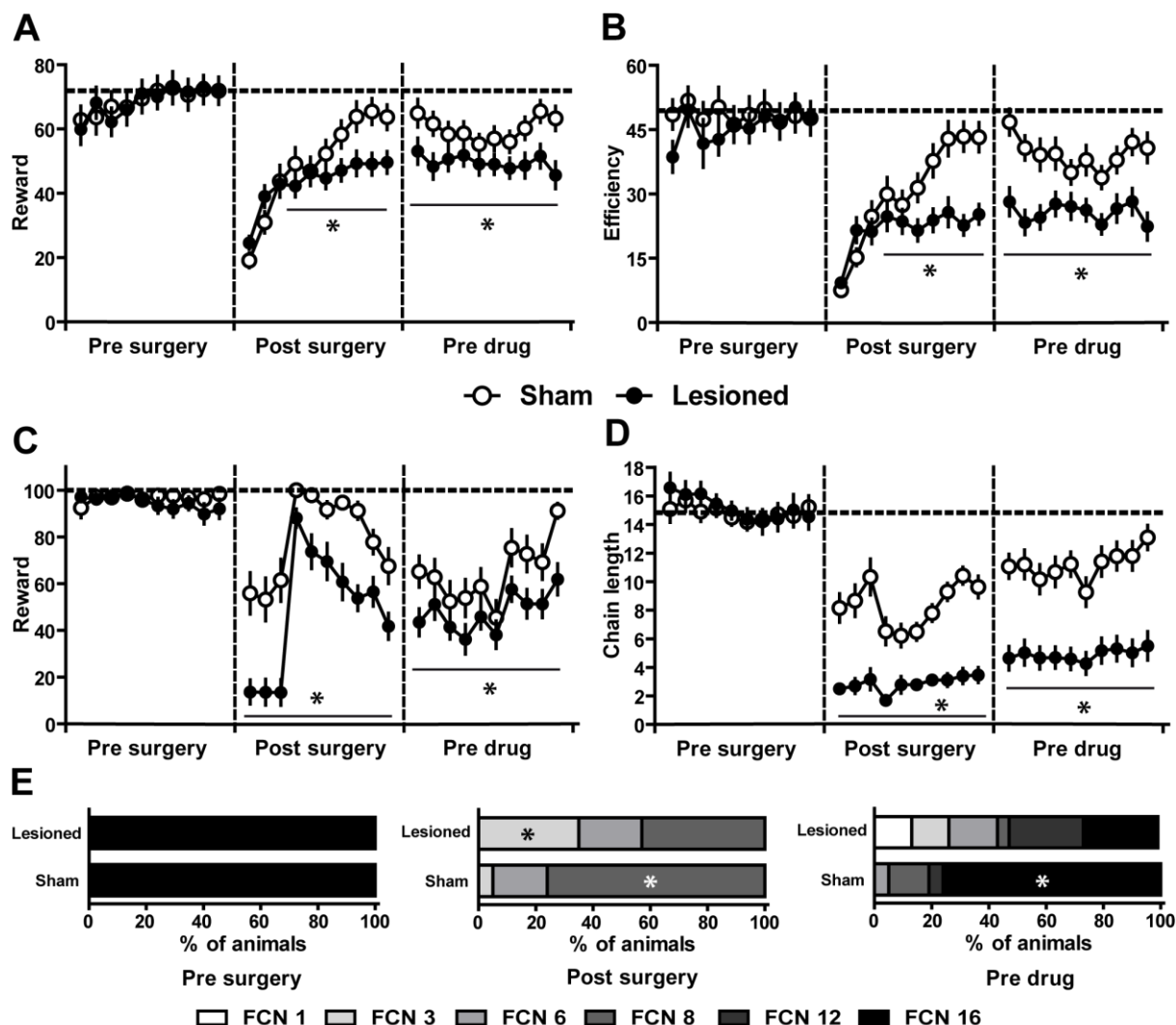


Figure 13 : La lésion bilatérale de la substance noire compacte affecte l’impulsivité d’action et de choix.

A. Le nombre de récompense en DRL est diminué chez les animaux lésés en période post-chirurgie et pré-traitement (* $p < 0,05$ par rapport à pré-chirurgie) ; **B.** L’efficacité en DRL est réduite chez les animaux lésés en période post-chirurgie et pré-traitement (* $p < 0,05$ par rapport à préchirurgie) ; **C.** Le nombre de récompense en FCN est diminué chez les animaux lésés en période post-chirurgie et pré-traitement (* $p < 0,01$ par rapport à pré-chirurgie) ; **D.** La longueur de la chaîne comportementale est réduite chez les animaux lésés en période post-chirurgie et pré-traitement (* $p < 0,01$ par rapport à préchirurgie) ; **E.** Répartition des animaux selon leur stade de FCN (* $p < 0,05$ (* noire : par rapport au groupe contrôle ; *blanche : par rapport au groupe lésé)).

Effet de la lésion bilatérale de la substance noire sur l'impulsivité de choix.

A 8 semaines après la chirurgie, le nombre de récompenses obtenues en FCN est significativement différent entre les 2 groupes (Two-way ANOVA : Période x Groupe : $F_{[2,76]}=7,31$; $p<0,01$) (**Figure 13C**). On note également que les performances sont affectées différemment selon le trait comportemental. En effet, chez les animaux contrôles, seuls les animaux fortement 'impulsifs' sont affectés durant la période 'post-chirurgie' (Newman-Keuls ; $p<0,05$) alors que chez les animaux lésés tous les sous-groupes sont affectés ($p<0,05$ pour chaque).

En ce qui concerne la longueur de la 'chaîne comportementale', ces différences sont encore plus marquées (Two-way ANOVA : Période x Groupe : $F_{[2,76]}=5,39$; $p<0,01$) (**Figure 13D**). Comme précédemment, les performances sont affectées différemment selon le trait comportemental. Ainsi, en période 'post-chirurgie', seuls les animaux contrôles peu 'impulsifs' sont affectés alors que les performances de l'ensemble des sous-groupes d'animaux lésés sont diminuées (Newman-Keuls ; $p<0,05$ pour chaque). Enfin, en période 'pré-chirurgie', les animaux contrôles retournent à leur niveau de base alors que chez les animaux lésés, les sous-groupes peu et moyennement 'impulsifs' ont toujours des performances altérées ($p<0,05$ pour chaque).

L'observation de la répartition des animaux selon leur stade de FCN indique que durant la période 'post-chirurgie' il y a significativement plus d'animaux lésés (35%) que d'animaux contrôle (5%) en stade FCN 3 (χ^2 ; $p<0,05$) (**Figure 13E**). A l'inverse, durant cette même période, on retrouve plus de rats contrôle (76%) que de rats lésés (43%) en stade FCN 8 (χ^2 ; $p<0,05$). Ensuite, durant la période 'pré-traitement', il y a davantage d'animaux contrôles (76%) que d'animaux lésés (26%) au stade FCN 16 (χ^2 ; $p<0,01$).

Effet des traitements dopaminergiques sur l'impulsivité d'action.

La tâche de DRL est ensuite réalisée sous l'effet des traitements dopaminergiques (**Figure 14A**). On observe alors des effets différents selon les groupes (Two-way ANOVA : Traitement x Groupe : $F_{[4,168]}=8,01$; $p<0,0001$). Les tests post-hoc révèlent pour les animaux contrôles une très forte diminution de l'obtention des récompenses sous PPX aux 2 doses (Newman-Keuls ; $p<0,0001$ pour chaque par rapport à Saline). Nous pouvons voir chez les animaux contrôles que les 3 sous-groupes réagissent de la même manière aux traitements. Cependant chez les animaux lésés, l'analyse de l'interaction entre traitement et trait impulsif

révèle une tendance à un effet différent du traitement en fonction du trait (Two-way ANOVA : Traitement x Trait : $F_{[8,80]}=1,80$; $p=0,08$). Ainsi, une ANOVA à analyse de contrastes avec comparaisons planifiées révèle une différence entre les animaux faiblement ‘impulsifs’ et les animaux fortement ‘impulsifs’ pour la dose de 0,3mg/kg de PPX ($F_{[1,20]}=4,50$; $p<0,05$) (Figure 14B).

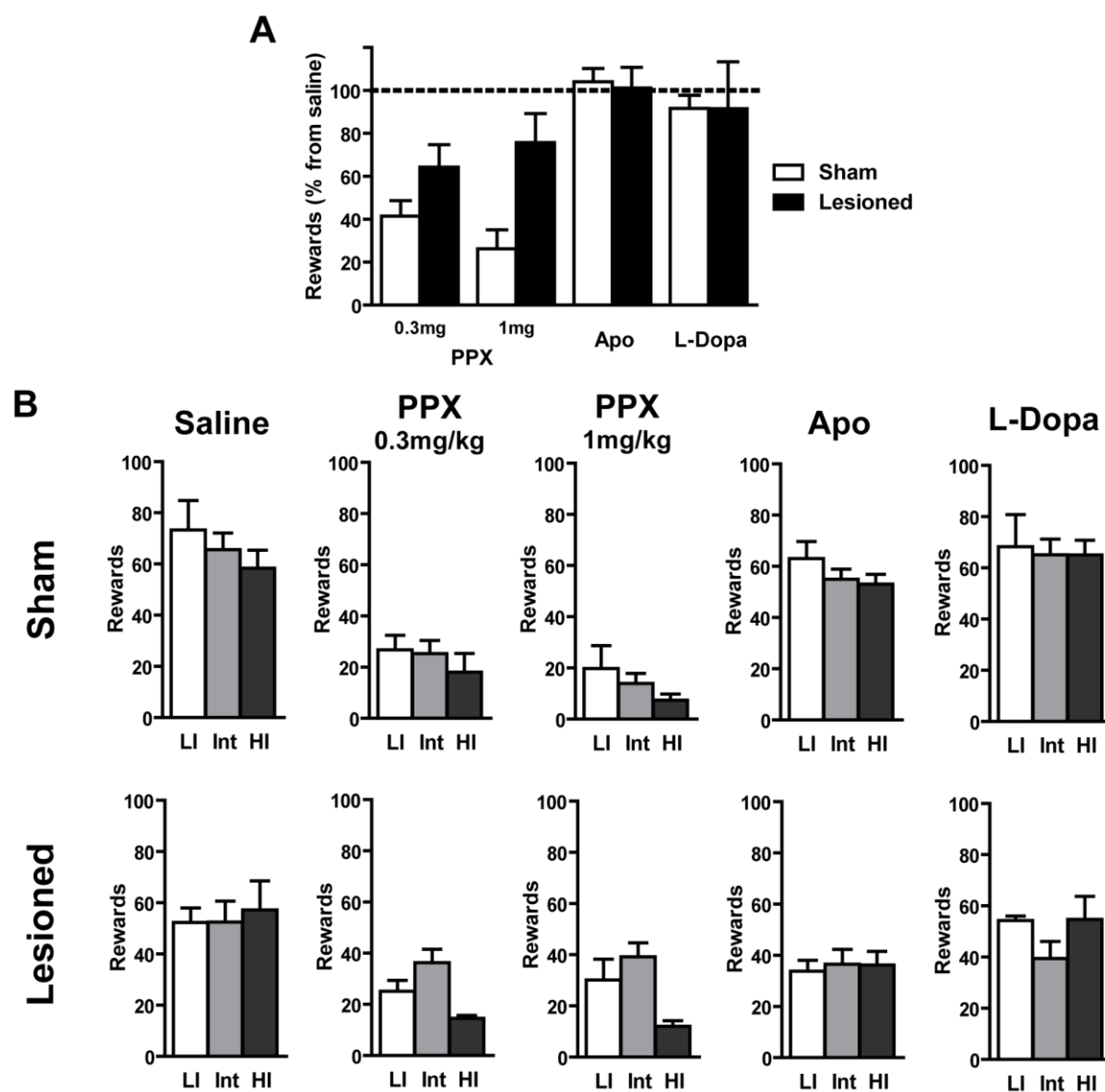


Figure 14 : Effet des traitements dopaminergique sur l’impulsivité d’action en DRL.

A. Le nombre de récompenses est diminué dans les deux groupes d’animaux par les deux doses de Pramipexole (PPX) (* $p<0,05$ par rapport à la solution saline) ; **B.** Les animaux lésés fortement ‘impulsifs’ obtiennent moins de récompenses que les animaux faiblement ‘impulsifs’ (# $p<0,05$; * $p<0,05$ par rapport à la solution saline).

Effet des traitements dopaminergiques sur l'impulsivité de choix.

L'effet des traitements dopaminergiques a été testé sur le nombre de récompenses obtenues. On observe alors des effets différents selon les groupes (Two-way ANOVA : Traitement x Groupe : $F_{[4,168]}=11,30$; $p<0,0001$) (**Figure 15A**). Ainsi, les tests post-hoc révèlent pour les animaux contrôles une très forte diminution de l'obtention des récompenses sous PPX aux 2 doses (Newman-Keuls ; $p<0,0001$ pour chaque par rapport à Saline). De même une diminution plus modérée des performances sous Apomorphine est observée ($p<0,05$ par rapport à Saline). Chez les animaux lésés, le même profil de résultats est observé. Les performances sont fortement altérées aux 2 doses de PPX ($p<0,0001$ pour chaque par rapport à Saline) ainsi que pour l'Apomorphine ($p<0,0001$ par rapport à Saline).

Il faut noter que la distinction entre les sous-groupes n'est pas possible pour les 2 doses de PPX du fait d'un effet 'plancher'. Par exemple, dès la dose de 0,3mg/kg de PPX, 43% des animaux contrôles et lésés n'obtient aucune récompense.

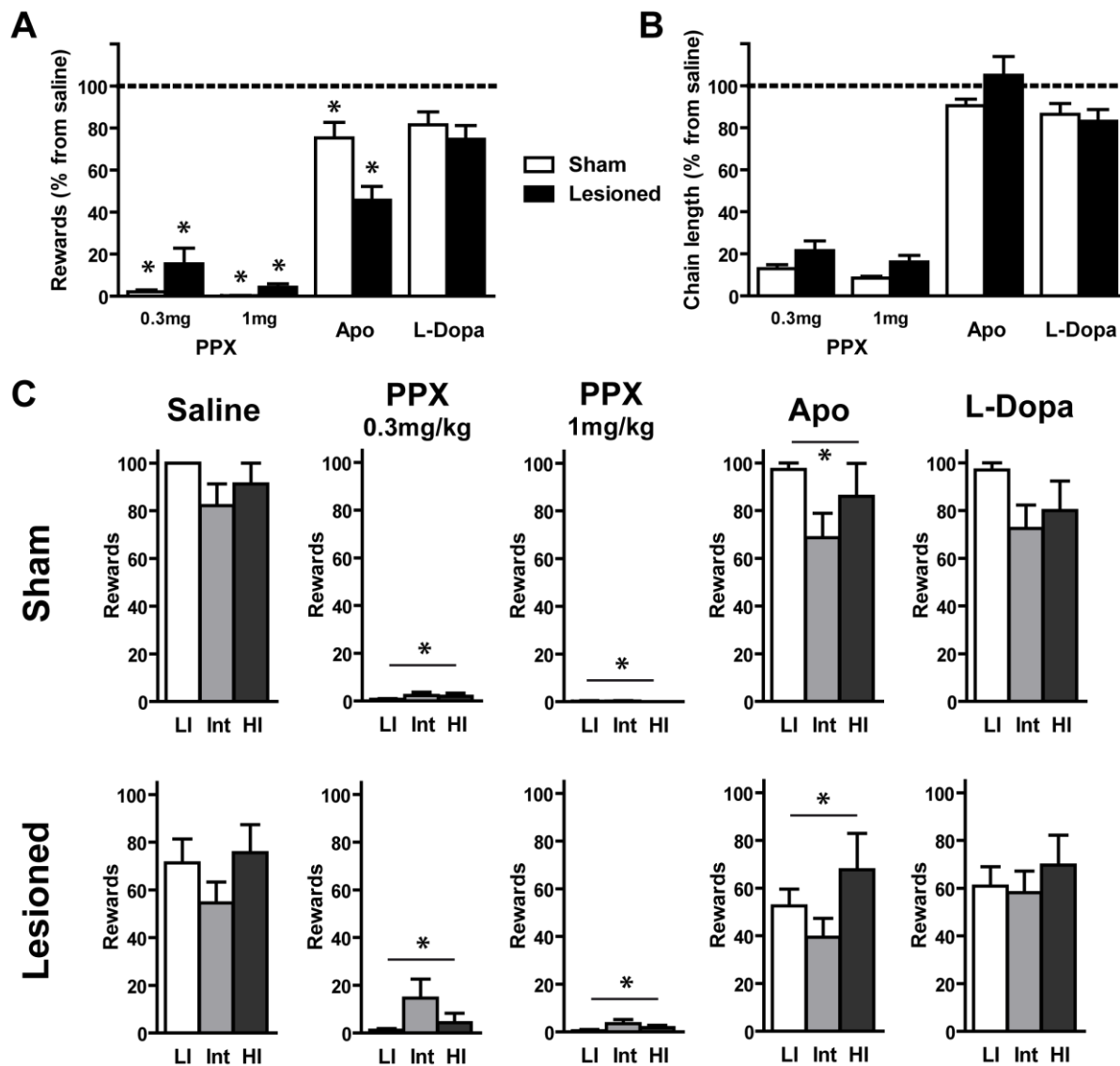


Figure 15 : Effet des traitements dopaminergique sur l'impulsivité de choix en FCN

A. Le nombre de récompenses est très fortement diminué dans les deux groupes d'animaux par les deux doses de Pramipexole (PPX) (* $p < 0,001$ par rapport à la solution saline) ; **B.** Longueur de la chaîne comportementale (données non-analysées) ; **C.** Le nombre de récompenses est fortement diminué dans l'ensemble des sous-groupes.

Discussion

Discussion

Malgré le bénéfice thérapeutique indéniable qu'offrent les traitements dopaminergiques aux patients parkinsoniens, ils sont également responsables d'effets secondaires importants. Ceux-ci sont très handicapants dans la vie quotidienne et peuvent également être à l'origine de graves problèmes juridiques et sociaux.

Avec ce travail de thèse, nous avons tout d'abord cherché à mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent les DLI. Nous avons ainsi pu montrer que l'accumulation de Δ FosB dans le striatum était associée à des modifications du fonctionnement neuronal responsables de l'expression des dyskinésies. Ensuite, nous avons pu déterminer chez le primate qu'un traitement à la L-Dopa était capable non seulement d'influencer les différents systèmes monoaminergiques, mais aussi d'affecter diverses structures cérébrales aussi bien motrices que non-motrices. L'action des traitements dopaminergiques au niveau de régions impliquées dans les fonctions cognitives nous a également amené à considérer les mécanismes qui pourraient mener au SDD et au TCI dans le contexte de la MP. Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux propriétés intrinsèques de ces traitements et avons pu montrer qu'une lésion modérée de la voie nigrostriée conférait à la L-Dopa des propriétés de type psychostimulant qui pourraient ainsi favoriser l'émergence d'un SDD chez les individus vulnérables. Par ailleurs, nous avons pu déterminer que les propriétés renforçantes du pramipexole (PPX) n'étaient pas affectées par une dégénérescence des voies dopaminergiques mais plutôt par une sensibilité individuelle aux effets du traitement. Ceci nous a ensuite conduit à étudier les interactions entre les effets de la lésion, du traitement et du trait comportemental pour mieux comprendre leur implication respective dans le TCI. Nous avons ainsi mis en évidence qu'une lésion de la SNc peut affecter le contrôle inhibiteur, préférentiellement chez les animaux faiblement 'impulsifs'. Un traitement au PPX à des effets délétères sur l'ensemble des animaux mais qui sont majorés chez les rats lésés 'impulsifs'.

Ces différents résultats nous donnent un aperçu de l'éventail des modifications engendrées par les traitements dopaminergiques utilisés dans la MP. Par ailleurs, il a été largement démontré que les ganglions de la base forment un réseau impliqué à la fois dans les fonctions motrices volontaires mais aussi plus largement dans les fonctions cognitives comme

les émotions (Marchand, 2010), la prise de décision (Mink, 1996), la récompense (Nestler and Carlezon, 2006; Schultz, 2006). Ainsi, dans une vision intégrative du réseau des ganglions de la base, nous essayerons de comprendre comment l'altération de la réponse dopaminergique liée à la MP et à son traitement peut avoir des conséquences allant des dyskinésies aux troubles du contrôle des impulsions.

Les dyskinésies sont un des effets secondaires moteurs les plus courants du traitement à la L-Dopa (Bezard et al., 2001). Leurs mécanismes exacts sont encore mal connus mais parmi les modifications moléculaires associées, une accumulation de Δ FosB a été présentée comme un marqueur associé à leur présence, aussi bien chez le rat (Cenci et al., 1999) que chez l'homme (Tekumalla et al., 2001). Depuis de nombreuses années des observations, issues du domaine de l'addiction, ont décrit une accumulation de cette protéine dans des structures du circuit de récompense comme le NAc, et l'ont associé à la dépendance aux drogues d'abus (Nestler, 1992). Ainsi, la surexpression de Δ FosB dans le striatum dorsal augmente la sensibilité à la récompense (Muschamp et al., 2012) alors que la surexpression de Δ JunD (un dominant négatif de Δ FosB qui réduit sa transcription) dans le cortex orbitofrontal inhibe les effets cognitifs de la cocaïne (Winstanley et al., 2007). Des travaux ultérieurs ont indiqué que Δ FosB était plus largement impliqué dans le maintien à long terme des comportements liés à la stimulation de la fonction dopaminergique (McClung et al., 2004). Ainsi, il a été montré qu'en réduisant l'accumulation de Δ FosB par l'injection d'oligonucléotides antisense FosB ou de vecteurs viraux pour surexprimer Δ JunD, on pouvait réduire l'apparition (Andersson et al., 1999) et l'expression des dyskinésies (Chen et al., 2006; Berton et al., 2009). Cependant, bien que ces travaux renseignent sur les substrats moléculaires des dyskinésies, la relation entre l'accumulation de Δ FosB et l'activité électrophysiologique des NEM dans les DLI n'avait jamais été évaluée. Nos travaux ont ainsi permis de montrer que l'inhibition sélective de l'activité électrophysiologique des neurones du striatum exprimant Δ FosB permet de réduire l'expression des dyskinésies. Ceci suggère que la stimulation chronique par la L-Dopa engendre des modifications moléculaires et cellulaires capables de modifier l'activité des neurones du striatum. Ensemble, les travaux issus du domaine de l'addiction et ceux issus de l'étude des dyskinésies démontrent l'implication de Δ FosB dans un ensemble de conditions physiopathologiques où les altérations de la signalisation dopaminergique sont associées à des anomalies de plasticité

synaptique. Ceci fait notamment intervenir les modifications de la signalisation des récepteurs D1, puisqu'il a été montré qu'une stimulation chronique à la L-Dopa était capable d'augmenter l'expression et la sensibilité des récepteurs D1 en condition dyskinétique (Aubert et al., 2005; Guigoni et al., 2007). Cette régulation, qui est suspectée d'induire une altération des mécanismes de plasticité synaptique, serait alors un des mécanismes à l'origine des dyskinésies (Picconi et al., 2003). Par ailleurs, les modifications engendrées par la L-Dopa sur les récepteurs D1 pourraient également faire intervenir Δ FosB. Ainsi, des travaux récents ont révélé que la stimulation des récepteurs D1 du NAc par la cocaïne amplifierait l'expression de Δ FosB, augmentant ainsi la transcription de CaMKII α , qui à son tour phosphorylerait Δ FosB lui conférant ainsi une plus grande stabilité (Robison et al., 2013). Cette stabilité accrue soutiendrait l'adaptation chronique à la stimulation dopaminergique. En effet, chez les souris ayant une délétion du gène codant pour FosB, une plus grande sensibilité aux effets activateurs de la cocaïne est observée (Hiroi et al., 1997). Ceci suggère que Δ FosB pourrait être impliqué dans des mécanismes de tolérance et de plasticité suite à la stimulation chronique par des agents dopaminergiques. Ces processus de régulation pourraient être également retrouvés dans la sensibilisation de la réponse à la L-Dopa et dans la genèse des dyskinésies.

De nombreux travaux ont décrit les modifications striatales liées au traitement à la L-Dopa, notamment aux niveaux cellulaires et moléculaires, comme nous venons de le voir avec l'exemple de Δ FosB. Le réseau des ganglions de la base n'est cependant pas exclusivement impliqué dans les fonctions motrices. En effet de nombreuses fonctions cognitives y sont reliées (discuté dans l'Introduction : I.2.c.). Ainsi, un dysfonctionnement du système dopaminergique peut engendrer à la fois des altérations motrices et cognitives. Des travaux menés au laboratoire évaluant les changements métaboliques de structures motrices et non-motrices liés aux dyskinésies, ont mis en évidence chez les animaux dyskinétiques une activation de la partie ventrale du NST (Guigoni et al., 2005). Cette région est connue pour être la région associative et limbique du NST (Parent and Hazrati, 1995b). Il a donc été suggéré que les territoires associatifs et limbiques des ganglions de la base pouvaient être impliqués dans les dyskinésies. De plus, des études ont déjà indiqué que la L-Dopa pouvait agir plus largement dans différentes régions du cerveau et en modifier la neurochimie (Navailles et al., 2010; Eskow Jaunarajs et al., 2012). Nos travaux évaluant les modifications

neurochimiques dans des régions motrices et non-motrices ont ainsi cherché à étendre ces observations en mesurant les variations des niveaux de monoamines en lien avec les dyskinésies. Nous avons pu mettre en évidence qu'une forte augmentation des taux de dopamine était présente dans des territoires cognitifs et limbiques comme le cortex frontal, l'hippocampe et l'amygdale chez les animaux dyskinétiques. En outre, nous avons pu montrer que ces augmentations étaient corrélées avec la sévérité des dyskinésies (Engeln et al., soumis). Il est alors possible que les altérations générales de la neurochimie en réaction à un traitement chronique à la L-Dopa puissent sous-tendre les problèmes cognitifs (Schneider et al., 2012), affectifs (Aarsland et al., 2012) ou psychiatriques (Carey et al., 1995) observés dans la MP. Cependant, ces modifications dans les territoires associatifs et limbiques en relation avec la sévérité des dyskinésies pourraient également participer de manière directe à l'expression de ces mouvements anormaux. En effet, il est souvent rapporté que l'intensité des dyskinésies peut augmenter lors d'un stress ou d'émotions fortes (Voon et al., 2009). Des connexions entre la SNc et l'amygdale ont été décrites et un réseau entre le cortex préfrontal, le striatum ventral et l'amygdale a été placé au cœur du traitement des émotions et de la motivation (Haber and Knutson, 2010). De même, des études récentes ont montré que l'amygdale interagissait avec le striatum dorsolatéral dans la formation des habitudes comportementales (Lingawi and Balleine, 2012). Ainsi, un dysfonctionnement du réseau des ganglions de la base dû à la L-Dopa pourrait également impliquer l'amygdale. De la même manière, des circuits entre les ganglions de la base et le cortex préfrontal sont impliqués dans l'inhibition d'actions non désirées et leurs dysfonctions a été décrite dans la MP (Wylie et al., 2010). La stimulation de ces réseaux par la L-Dopa pourrait alors participer aux mouvements anormaux involontaires retrouvés dans les dyskinésies. Ensemble, ces structures limbiques pourraient ainsi participer à l'expression des dyskinésies. Cela pourrait notamment être expliqué par les concepts issus du fonctionnement en spirale des ganglions de la base (Haber et al., 2000) dans lequel l'information chemine à travers différents territoires fonctionnels dont les connexions sont aussi bien associatives/limbiques que purement motrices.

Pour évaluer de manière précise l'implication des territoires associatifs et limbiques dans l'expression des dyskinésies, il serait désormais intéressant de cibler ces régions avec la technique du Daun02 afin de déterminer si l'inactivation des neurones du cortex frontal, de l'hippocampe ou de l'amygdale peut directement affecter l'expression des dyskinésies.

De même, un autre mécanisme impliquant le striatum et ses connexions avec les territoires limbiques pourrait nous aider à comprendre le lien entre les dyskinésies et d'autres comportements anormaux liés à la L-Dopa. En effet, des similarités entre les mouvements répétitifs observés durant les dyskinésies et les mouvements stéréotypés retrouvés lors du 'punding' ont été proposées. Les agents dopaminergiques comme l'amphétamine ou la cocaïne (Wolgin, 2012) mais également les agonistes dopaminergiques comme l'apomorphine (Mason, 1991) sont connus pour engendrer des comportements stéréotypés. De manière intéressante, il a été observé chez le rat que les procédures de traitement permettant d'induire des stéréotypies sont proches de celles utilisées pour induire des dyskinésies (Graybiel et al., 2000). Une étude réalisée chez l'homme a ainsi montré que les patients présentant des comportements de 'punding' présentaient des dyskinésies plus sévères et que la sévérité du 'punding' corrélait avec la sévérité des dyskinésies (Silveira-Moriyama et al., 2006). Encore une fois, on observe que ces deux comportements impliquent l'accumulation de Δ FosB et des membres de la famille *fos* dans le striatum (listés dans (Graybiel et al., 2000)). Le modèle des ganglions de la base à trois voies proposé par Graybiel indique qu'en plus des 'classiques' voies directes et indirectes, une troisième voie impliquant des 'striosomes' recevant des afférences de neurones issues de populations corticales distinctes modulerait l'activité des deux autres voies (Graybiel et al., 2000). Ainsi la partie médiane du striatum recevrait des afférences de territoires limbiques, alors que la partie dorsale recevrait des afférences sensorimotrices. Dans ce modèle, il a été montré que les stéréotypies induisaient une expression de gènes de réponse précoce (de type *fos*) dans la 'matrice' dans la partie médiane du striatum et que les dyskinésies induisaient ce type de réponses dans la partie dorsale du striatum. Cependant chez certains individus, on pourrait imaginer que l'activation liée aux dyskinésies de 'striosomes' à l'interface des territoires limbiques et sensorimoteurs engagerait des réseaux limbiques et ainsi engendrerait des comportements de type 'punding'. En effet, des études menées sur des animaux contrôles et sur des animaux ayant une déplétion dopaminergique ont suggéré qu'une augmentation du tonus dopaminergique conduirait à une implication plus globale du striatum (accumulation de FosB) et activerait de manière conjointe des réseaux auparavant distincts (Saka et al., 1999).

Il est intéressant de noter que le rôle de Δ FosB dans le maintien à long terme de comportements pathologiques est observé à la fois pour l'addiction et pour les dyskinésies.

On peut alors imaginer que des troubles tels que le TCI ou le SDD pourraient émerger dans des circuits neuronaux sensibilisés par l'accumulation de Δ FosB, comme cela semble être le cas pour les dyskinésies. En effet, nos travaux sur les propriétés renforçantes du PPX ont montré une accumulation de Δ FosB dans le striatum dorsal des animaux lésés (Engeln et al., 2012), c'est-à-dire dans le quadrant où l'on retrouve une accumulation de Δ FosB liée aux dyskinésies (Cenci et al., 1999). De même, la motivation de ces animaux pour obtenir du PPX était corrélée à l'expression de Δ FosB dans le 'core' du NAc, une région dont le rôle dans l'addiction a été abondamment décrit (Pettit et al., 1984; Caine and Koob, 1994; Hall et al., 2001; Ito et al., 2004). De plus chez les animaux contrôles, la motivation pour l'obtention du PPX était corrélée à l'accumulation de Δ FosB dans le striatum dorsal une structure décrite à la fois dans la recherche de drogue (Yin et al., 2005) et dans la fonction motrice (Carlsson et al., 1957; Carlsson et al., 1958). Les différences de topographie d'accumulation de Δ FosB entre animaux contrôles et lésés suggèrent que la lésion dopaminergique modifie l'implication des boucles cortico-sous-corticales en réponse au traitement. En effet, chez les animaux lésés, on observe une accumulation accrue de Δ FosB dans les parties médianes du striatum qui n'est pas retrouvée chez les animaux contrôles. Ainsi chez des individus à risque, la sensibilisation de réseaux mettant en lien des structures motrices et des structures impliquées dans le traitement de la récompense pourrait sous-tendre l'apparition d'effets secondaires non moteurs. De plus, cette sensibilisation pourrait faire intervenir d'autres acteurs. En effet, les travaux issus de l'addiction ont également mis en évidence le rôle de la signalisation des kinases extracellulaires (ERK) dans les effets à long terme des drogues d'abus (Lu et al., 2006). Ainsi, l'accumulation d'analogues de ERK a été observée dans le striatum dorsal après administration de cocaïne (Valjent et al., 2006) et pour les comportements orientés vers un but (Shiflett et al., 2010). Cette protéine a alors été associée aux mécanismes de plasticité synaptique liée aux drogues d'abus (Mazzucchelli et al., 2002; Pascoli et al., 2011). De manière intéressante, l'accumulation de ERK a également été mise en évidence dans le striatum d'animaux dyskinétiques (Bezard et al., 2005) et associée à des anomalies de plasticité synaptique responsables des dyskinésies (Fasano and Brambilla, 2011). Il semble donc que les mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'addiction et ceux sous-tendant les dyskinésies partagent de nombreux substrats moléculaires communs retrouvés dans des structures similaires. Ceci conduit à des altérations de plasticité synaptique, caractérisées notamment par des anomalies de dépotentialisation à long terme qui ont été

décrites aussi bien pour l'addiction à la cocaïne (Kasanetz et al., 2010) que dans l'expression des dyskinésies (Picconi et al., 2003). Par ailleurs, cette sensibilisation s'exprime non seulement au niveau post-synaptique comme illustré avec l'accumulation de Δ FosB et de ERK dans les neurones dopaminoceptifs mais également au niveau pré-synaptique. En effet, au pic de dose de L-Dopa, les niveaux synaptiques de dopamine sont plus élevés dans le striatum dorsal des patients dyskinétiques. Cette augmentation des niveaux de dopamine a été associée aux dyskinésies de pic de dose (de la Fuente-Fernandez et al., 2004). De manière intéressante, une étude utilisant la même technique (déplacement de liaison de raclopride) chez des patients atteints de SDD a montré une forte augmentation de dopamine dans le striatum ventral lors du pic de dose de L-Dopa. Cette augmentation a été corrélée avec un désir de L-Dopa chez les patients atteints de SDD (Evans et al., 2006).

Ainsi, on constate que l'addiction aux drogues et l'expression des dyskinésies partagent certains substrats moléculaires. En considérant les interfaces limbiques/cognitives et motrices proposées par le modèle en spirale des boucles striato-nigro-striatales (Haber et al., 2000), les relations entre striatum ventral et dorsal sensibilisées par un traitement à la L-Dopa, pourraient donner lieu à une hyper activation d'un réseau faisant intervenir Δ FosB et ERK pour engendrer ces troubles moteurs et non-moteurs.

Bien que souvent considérée comme uniquement motrice, la voie nigrostriatale est également impliquée dans le traitement de la récompense (Wise, 2009). Des travaux récents ont d'ailleurs montré qu'une part importante des neurones du striatum dorsal présentant une activité pour une tâche motrice est modulée par l'attente d'une récompense (Isomura et al., 2013). De plus, les voies mésolimbiques et nigrostriées possèdent des zones de projection qui se chevauchent (Dahlstrom and Fuxe, 1964; Fallon and Loughlin, 1995) et l'auto-stimulation électrique des neurones de la substance noire est récompensante chez le rat (Corbett and Wise, 1980). Ainsi, comme nous avons pu le montrer dans un modèle présentant une lésion restreinte à la SNc induisant des déficits moteurs, la L-Dopa peut acquérir des propriétés récompensantes semblables à celles observées pour les psychostimulants comme la cocaïne (Engeln et al., 2013). En effet, outre la préférence de place qu'elle génère, la L-Dopa est capable de réduire la consommation d'une récompense naturelle que l'eau sucrée. Il est également intéressant d'observer ces comportements malgré une lésion modérée de la SNc, soulignant qu'une atteinte importante des voies dopaminergiques n'est pas nécessaire à

l'expression des propriétés récompensantes de la L-Dopa. Ceci renforce l'importance de la voie nigrostriée dans le traitement de la récompense et alimente les preuves que l'atteinte des neurones de la SNc peut avoir un retentissement aussi bien moteur que cognitif. Le caractère modéré de la lésion de la SNc observée dans notre modèle (environ 30%) ne nous a cependant pas permis d'observer des dyskinésies. Il serait alors intéressant, avec des animaux présentant une lésion plus importante (rats Sprague-Dawley par exemple) et un traitement plus long, d'évaluer si la préférence de place demeure malgré l'apparition de dyskinésies, ou si l'expression de dyskinésies peut entraîner au contraire une aversion de place. Cela nous permettrait en outre de voir si les scores individuels de préférence de place corrèlent par la suite avec la sévérité des dyskinésies. En effet, des travaux ont montré chez l'homme que les patients atteints de SDD présentaient davantage de dyskinésies (Solla et al., 2011). De même, nous pourrions évaluer si le score de préférence de place peut prédire la rapidité d'apparition ou l'intensité des dyskinésies afin de mieux comprendre les mécanismes partagés par ces deux troubles. Enfin, nous pourrions tirer parti de la technique d'inactivation cellule spécifique avec le Daun02 pour inactiver les neurones du striatum dorsal impliqués dans les dyskinésies et en observer l'effet sur le comportement de préférence de place pour la L-Dopa. Ainsi, une diminution de la préférence pour le compartiment associé à la L-Dopa nous indiquerait que l'activité des NEMs du striatum dorsal participerait au codage de l'effet récompensant de la L-Dopa.

Ainsi, la lésion des voies dopaminergiques semble un élément important dans l'émergence des effets non-moteurs des traitements. Il faut toutefois mentionner que les TCI sont également retrouvés chez environ 7 à 17% des patients atteints du syndrome de Willis-Ekbom (Cornelius et al., 2010; Voon et al., 2011b). Ce trouble neurologique n'est pas associé à une perte du tonus dopaminergique et des études récentes ont même montré une augmentation des taux synaptiques de dopamine (Earley et al., 2013). Cependant, ces patients sont traités avec des agonistes dopaminergiques semblables à ceux utilisés dans la MP. Dans ce cas, on peut imaginer qu'un surdosage de la fonction dopaminergique serait impliqué dans ces troubles (Voon et al., 2011a). Une stimulation prolongée par les agonistes dopaminergiques de réseaux sensibilisés (pour la MP) ou préservés, voire augmentés (pour le SWE) pourrait participer à l'émergence des TCI.

Nous avons pu voir que des mécanismes communs semblent exister entre les dyskinésies et l'altération du traitement de la récompense, et qu'une altération globale de la réponse dopaminergique peut avoir des effets moteurs et non-moteurs. Il est cependant important de noter que si les dyskinésies affectent à terme la quasi-totalité des patients sous traitement à la L-Dopa, l'âge d'apparition et la sévérité de ces troubles varient entre les individus (Grandas et al., 1999). De même, les altérations du traitement de la récompense n'affectent que 3 à 14% des patients parkinsoniens (Lawrence et al., 2003; Weintraub et al., 2010b). Il est donc nécessaire de comprendre quels pourraient être les mécanismes qui font qu'avec un même traitement, tous les patients ne sont pas égaux devant l'apparition des effets secondaires moteurs et non-moteurs.

Une des hypothèses qui pourrait expliquer ces différences interindividuelles serait la distribution de la perte dopaminergique. Une atteinte plus importante des voies dopaminergiques chez certains individus pourrait engendrer une dysrégulation plus sévère des fonctions liées à la dopamine. En effet, des travaux ont mis en évidence, chez des patients parkinsoniens, une atteinte plus importante des voies mésolimbiques chez les individus souffrant de dépression postopératoire suivant l'implantation d'électrodes de stimulation à haute fréquence (Thobois et al., 2010). Une altération préférentielle des projections vers les régions frontales, le striatum ventral et l'amygdale a été retrouvée, montrant un motif de dégénérescence spécifique chez ces personnes. Il est alors intéressant de noter que dans notre expérience évaluant les effets renforçants du PPX, les animaux présentant les plus grandes réponses pour le PPX sont les animaux (dans les groupes contrôles et lésés) qui présentent le nombre de cellules TH-positives le plus bas (Engeln et al., 2012). De plus, ces mêmes animaux étaient ceux qui avaient une expression de Δ FosB parmi les plus élevée dans les structures impliquées dans la motivation pour le PPX. Ainsi, des particularités cellulaires au sein de chacun des groupes suggèrent qu'il existe un lien entre les caractéristiques du système dopaminergique et la sensibilité aux propriétés renforçantes du PPX. Une autre étude mettant en lumière les propriétés renforçantes du PPX par un protocole de CPP a indiqué qu'une dose plus élevée de PPX était nécessaire chez les animaux contrôles pour observer une préférence de place homogène (Riddle et al., 2012). Ces observations pourraient par ailleurs rejoindre celles de certaines études avançant que la sévérité des dyskinésies est liée à la magnitude de la déplétion dopaminergique (Brooks et al., 2000; Putterman et al., 2007). Ceci renforcerait alors la vision intégrative d'une altération de la réponse dopaminergique dans l'émergence des

dyskinésies, du TCI et/ou du SDD. En effet, des travaux récents chez l'homme ont montré que les patients présentant un TCI avaient également des dyskinésies plus sévères (Solla et al., 2011; Voon et al., 2011c). Ces observations sont également en accord avec nos résultats obtenus chez le singe traité au MPTP pour lesquels l'augmentation des niveaux de dopamine dans les régions cognitives telles que le cortex frontal, corrèle avec la sévérité des dyskinésies. Ainsi, une altération plus importante des voies dopaminergiques chez certains individus pourrait participer à la fois à une apparition plus précoce des dyskinésies et à l'émergence d'une altération du traitement de la récompense.

Nous avons pu montrer que les traitements dopaminergiques comme le PPX pouvaient être directement renforçants (Engeln et al., 2012) et leur implication dans le développement des TCI a été largement décrite (Ondo and Lai, 2008; Weintraub et al., 2010b; Weintraub et al., 2010a). Nous avons également pu déterminer que la lésion dopaminergique de la voie nigrostriatale pouvait modifier les propriétés de la L-Dopa éclairant ainsi sur les facteurs qui pourraient conduire au développement du SDD (Engeln et al., 2013). Néanmoins, un troisième élément important actuellement avancé dans l'émergence du TCI est le trait de comportement. En effet, un facteur de susceptibilité individuelle impliquerait une personnalité de recherche de sensations, plus impulsive et/ou moins sensible aux risques (Voon et al., 2011a). Ces traits de caractères seraient présents avant l'apparition de la MP, se manifestant notamment par une histoire familiale de jeu d'argent, une consommation accrue d'alcool ou de drogues illicites (Evans et al., 2005; Weintraub et al., 2010b). On ne sait cependant pas exactement comment les altérations dues à la MP et/ou aux traitements dopaminergiques influencent ces traits. En effet chez l'homme, il est difficile de distinguer l'impact de chacun de ces deux facteurs dans la mesure où les patients suivent systématiquement un traitement. Des études récentes comparant la proportion de TCI chez des patients parkinsoniens *de novo* non traités n'ont pas présenté de différence avec des sujets sains, suggérant que la MP n'augmente pas les risques de développement du TCI (Bastiaens et al., 2013; Weintraub et al., 2013). Cependant les patients décrits dans ces études sont déjà atteints de la MP et une conclusion définitive quant au rôle de la maladie est difficile à avancer car on ne peut pas assurer que le processus pathologique de la MP n'ait pas d'influence sur l'expression du trait impulsif. De plus, les études réalisées chez des patients non traités se sont davantage intéressées au traitement de la récompense, mettant en lumière des altérations de la voie

mésolimbique (Schott et al., 2007). Ainsi, très peu de travaux se sont concentrés sur l'impact de la dégénérescence de la voie nigrostriatale sur les comportements impulsifs, favorisant généralement l'étude de l'impact des traitements pharmacologiques. Néanmoins une étude a montré chez des patients porteurs d'une duplication du gène de l' α -synucléine, qu'avec l'apparition des symptômes parkinsoniens et la réduction du volume du noyau caudé, ces individus favorisaient les récompenses immédiates dans une tâche de 'delay discounting' (Szamosi et al., 2013). Nos résultats chez le rat indiquent également que la lésion de la SNc (même protocole que (Engeln et al., 2013) affecte fortement le contrôle inhibiteur. On va ainsi retrouver une incapacité à réaliser une longue séquence comportementale ou à inhiber une réponse motrice prépotente en vue d'obtenir une récompense. De plus, cette altération induite par la lésion va être plus marquée chez les animaux faiblement 'impulsifs'. Bien que surprenante, cette observation correspond néanmoins à des cas décrits dans les premiers travaux relatant de l'apparition de TCI (Molina et al., 2000; Dodd et al., 2005). En effet, certains cas cliniques ne rapportent aucun comportement pathologique avant l'apparition de la MP. Une étude rapporte même le cas d'un patient dont les problèmes de jeu pathologique coïncident avec le diagnostic de la MP, deux ans avant l'instauration d'un traitement à la L-Dopa (Molina et al., 2000). Ainsi, il semble que l'altération de la voie nigrostriatale pourrait entraîner une augmentation de l'impulsivité de choix, qui serait davantage visible chez des individus d'ordinaire peu impulsifs.

Le striatum dorsal est une des cibles principales de la voie nigrostriée, et a été impliqué dans la formation des habitudes comportementales liées à la récompense (Yin et al., 2004). Ainsi, l'altération du fonctionnement du réseau des ganglions de la base observée dans la MP a notamment été associée à un déficit d'inhibition d'action motrices 'automatisées' (Mink, 1996). De plus, des travaux ont montré que les patients parkinsoniens avaient une réduction de la capacité à supprimer leurs pulsions pour les réponses incorrectes (Wylie et al., 2010). De manière intéressante, cette altération a été corrélée avec la sévérité des symptômes moteurs. Dans notre expérience, le nombre de récompenses obtenues par les animaux lésés est significativement diminué et on observe également que cette lésion diminue l'efficacité à exécuter l'exercice, c'est-à-dire à inhiber la réponse comportementale. Encore une fois, cette altération est plus marquée chez les animaux faiblement 'impulsifs'. Ainsi, une lésion restreinte à la SNc peut augmenter l'impulsivité d'action. Ceci pourrait refléter une implication différentielle des voies dopaminergique nigrostriée et mésolimbique en relation

avec le niveau d'impulsivité. En effet, il a été montré que les animaux fortement 'impulsifs' ont une activité maintenue de la voie mésolimbique dans les comportements liés à la récompense alors que les animaux faiblement 'impulsifs' engagent progressivement le striatum dorsal et la voie nigrostriée dans le développement des habitudes comportementales (Belin et al., 2013; Besson et al., 2013). Ainsi, une lésion de la SNc aurait davantage d'impact sur les animaux faiblement 'impulsifs'.

Ensembles, ces résultats suggèrent que la lésion dopaminergique de la SNc observée dans la MP peut effectivement modifier le niveau d'impulsivité, notamment en diminuant la 'retenue' de certains individus et contribuer à l'émergence de choix impulsifs et à une perte du contrôle inhibiteur.

L'influence des traitements dopaminergiques a été largement mise en cause dans le développement du TCI (Ondo and Lai, 2008; Weintraub et al., 2010b; Weintraub et al., 2010a). Encore une fois la majorité des études faites chez l'homme a été réalisée sur des patients parkinsoniens dont l'effet du traitement sur le contrôle des impulsions peut être modulé par l'importance de la déplétion dopaminergique. Ceci rend difficile l'évaluation du rôle distinct du traitement de celui du processus neurodégénératif. Cependant, l'apparition de TCI chez les patients atteints du syndrome de Willis-Ekbom (SWE) suggère un effet direct du traitement (Cornelius et al., 2010). De même, nos expériences d'auto-administration de PPX montrent qu'une lésion des voies dopaminergiques n'est pas nécessaire à l'expression d'une sensibilité aux effets renforçants du PPX (Engeln et al., 2012). Ainsi, dans notre dernière expérience on note tout d'abord un effet délétère du PPX sur le contrôle inhibiteur, chez les rats normaux et chez les rats lésés. En effet, la L-Dopa et l'apomorphine n'ont que peu ou pas d'effets délétères sur les performances. Ceci rejoint les observations cliniques décrivant un effet principal des agonistes D2/3 sur le développement des TCI (Voon et al., 2006b; Weintraub, 2009). Aux deux doses de PPX, on observe que les animaux des deux groupes expriment davantage d'actions impulsives et obtiennent moins de récompenses. Par ailleurs, l'analyse de contraste révèle que les animaux lésés 'impulsifs' ont des performances plus dégradées sous PPX. Ceci suggère que les individus possédant un trait de personnalité impulsive seraient plus sensibles aux effets délétères du PPX. Ainsi, des études ont montré que les niveaux d'expression des récepteurs D2/3 dans le NAc (Dalley et al., 2007) ou dans le mésencéphale (Ray et al., 2012) variaient selon le trait de personnalité. De ce fait, les

agonistes dopaminergiques auraient un impact différent chez les individus impulsifs, augmentant alors le risque de développement de TCI (Ray et al., 2012). De même, il a été montré dans des modèles animaux de la MP que la lésion des voies dopaminergiques diminuait l'expression des récepteurs D3. Par la suite, une stimulation par la L-Dopa augmente leurs niveaux d'expression et semblent impliquer ces récepteurs dans l'expression des dyskinésies (Bordet et al., 1997; Bezard et al., 2003). Ainsi, des différences d'expression des récepteurs D2/3 dues au trait comportemental et au traitement pharmacologique pourraient participer à l'expression du TCI.

De manière plus importante, l'impulsivité de choix est largement augmentée par le PPX dans les deux populations. On remarque également que les performances sont altérées chez les animaux lésés alors qu'ils présentaient déjà des résultats fortement diminués en réponse à la lésion. Une étude utilisant le 'delay discounting task' chez l'homme indique que le nombre de choix impulsifs était lié à la médication dopaminergique chez les patients parkinsoniens (Voon et al., 2010). Alors que l'étude de Voon et collaborateurs indiquent que seuls les patients présentant des TCI voient leur nombre de réponses impulsives augmenter avec le traitement dopaminergique, tous nos animaux montrent des performances altérées quel que soit leur trait comportemental. Chez les animaux contrôles, les mauvaises performances pourraient à nouveau être expliquées par l'effet des doses de PPX, montrant encore une fois que les agonistes D2/3 peuvent avoir un effet direct sur les comportements impulsifs. Par ailleurs, l'augmentation drastique des choix impulsifs comparativement aux actions impulsives sous PPX chez les animaux lésés renseigne sur les mécanismes pouvant conduire à l'apparition du TCI. En effet, les choix impulsifs mettent principalement en jeu la voie mésolimbique (Basar et al., 2010). Ainsi, chez des patients parkinsoniens présentant du jeu pathologique, il a été montré que les agonistes dopaminergiques 'désactivaient' les circuits fronto-limbiques engendrant une perte d'inhibition dans la prise de décision (van Eimeren et al., 2010). Chez nos animaux lésés, des mécanismes similaires pourraient être en jeu, notamment par une 'overdose' des voies mésolimbiques préservées dans notre modèle (Voon et al., 2011a) et conduisant à une augmentation des choix impulsifs. Cependant, du fait d'un effet 'plancher' obtenu dès la plus faible dose de PPX dans notre test d'impulsivité de choix, nous ne pouvons pas distinguer si une sous population d'animaux pourrait être plus sensible aux effets du traitement.

Ensemble, nos résultats sur l'effet des traitements dopaminergiques sur les comportements impulsifs indiquent que seul le PPX a des conséquences délétères sur les niveaux d'impulsivité. Chez les animaux contrôles il induit systématiquement une augmentation des réponses impulsives démontrant ainsi sa capacité à altérer le contrôle inhibiteur. Chez les animaux lésés, il engendre préférentiellement des choix impulsifs mais favorise également les réponses prématurées des animaux présentant un trait comportemental impulsif.

Ainsi, cette dernière expérience nous apporte une meilleure compréhension des différents mécanismes en jeu dans l'apparition du TCI. Le suivi longitudinal des animaux avant et après une lésion de la SNc, puis sous l'influence des traitements pharmacologiques nous a permis d'évaluer la contribution spécifique du trait comportemental, de l'impact de la déplétion dopaminergique et du rôle des agonistes D2/3 sur le développement du TCI. Nous avons pu observer que le contrôle inhibiteur d'animaux d'ordinaire peu 'impulsifs' était plus altéré par la lésion, conduisant à des choix et des actions impulsives. Ensuite, nous avons pu montrer que le PPX altérait grandement les performances de la plupart des animaux mais augmentait davantage les réponses prématurées des animaux lésés 'impulsifs'. Ceci nous amène à penser que les causes du TCI sont multifactorielles et pourraient varier selon les individus. Il serait alors nécessaire de distinguer selon les patients si l'apparition de ces troubles est liée à la MP ou à son traitement, de manière à proposer une prise en charge plus adaptée.

Les déficits du contrôle des réponses motrices ont été associés à la sévérité des symptômes moteurs de la MP (Wylie et al., 2010), à l'atteinte du striatum (Szamosi et al., 2013) et à l'intensité des dyskinésies (Silveira-Moriyama et al., 2006; Voon et al., 2011c). Nos lésions de la SNc ont produit un déficit en stepping test similaire sur l'ensemble des animaux, ne permettant pas de conclure à une différence de sévérité des symptômes moteurs entre nos différents sous-groupes. Des tests permettant une évaluation plus fine des altérations motrices tel que le 'paw-reaching' nous permettraient éventuellement de mettre en évidence ce type de déficit. De plus, il serait intéressant de voir si l'expression des dyskinésies levodopa induites est plus sévère dans un de nos trois sous-groupes. Ceci nous permettrait de souligner un lien plus direct entre les détériorations motrices dues à la MP et/ou à son traitement et l'émergence du TCI.

Dans ce travail de thèse, nous avons utilisé différents modèles animaux pour répondre à nos questions. La lésion unilatérale de FMT chez le rat présente un avantage pour la mesure du comportement moteur après stimulation dopaminergique induisant des dyskinésies et le singe intoxiqué au MPTP reproduit un grand nombre des altérations motrices et non-motrices de la MP (Schneider et al., 2012). La mise en place d'un modèle lésionnel par surexpression d' α -synucléine chez le rat nous a permis d'obtenir une lésion bilatérale progressive compatible avec les exigences de nos tests comportementaux. De plus, l'accumulation d' α -synucléine reproduit en partie les altérations cellulaires retrouvées dans la MP, comme les dysfonctions synaptiques (Decressac et al., 2012b), permettant de modéliser des mécanismes physiopathologiques plus proches de la maladie humaine en comparaison à ce qui est traditionnellement obtenu avec les neurotoxines (Decressac et al., 2012a). Il est cependant important de considérer que les modèles des dysfonctions motivationnelles que nous avons utilisé ne rendent pas compte de tous les paramètres pouvant influencer l'apparition du SDD et du TCI chez les patients. En effet, le SDD est décrit chez 3 à 4% des patients parkinsoniens. Une telle incidence n'est pas nécessairement retrouvée dans tous nos modèles rongeurs. Une procédure de sélection d'animaux enclins aux comportements de type addictifs (Deroche-Gamonet et al., 2004; Lenoir et al., 2013) nous permettrait peut-être de répondre en partie à cette limitation. Un nombre très important d'animaux serait néanmoins nécessaire à une bonne puissance statistique. De même, dans le TCI et notamment pour les individus présentant du jeu pathologique, le coût financier est un élément majeur à prendre en compte. La notion d'une perte financière chez le rat est difficile à modéliser et nécessiterait le passage à une espèce plus complexe, comme le primate non-humain. L'utilisation de modèles rongeurs nous a néanmoins permis de rendre compte de nombreux éléments sous-tendant les troubles moteurs et non-moteurs de la MP et ouvrent de nouvelles pistes d'études pour mieux comprendre les altérations de la réponse dopaminergique à l'œuvre dans cette pathologie.

L'ensemble des travaux réalisés dans ce travail de thèse nous apporte un éclairage plus large de l'altération de la réponse dopaminergique dans la MP. En nous intéressant à la fois aux modifications cellulaires et neurochimiques sous-tendant les dyskinésies et à l'altération du traitement de la récompense, nous avons pu voir que des mécanismes communs intervenaient au sein du réseau des ganglions de la base. Les symptômes moteurs et non-

moteurs liés à la MP ainsi qu'à son traitement engagent des modifications moléculaires communes menant à des anomalies de plasticité en faisant intervenir notamment Δ FosB. De plus, les altérations neurochimiques engendrées par la MP puis par son traitement à la L-Dopa induisent des modifications profondes de la neurotransmission monoaminergique affectant aussi bien les structures motrices que cognitives et limbiques, soulignant ainsi les modifications globales retrouvées dans cette maladie. Enfin nous avons vu que les altérations de la récompense mettaient en jeu des interactions complexes entre les processus neurodégénératifs, les traitements dopaminergiques et les traits comportementaux. Ceci rappelle encore une fois que les altérations de la voie nigrostriée ne sous-tendent pas uniquement les troubles moteurs de la MP et que sa lésion peut avoir des répercussions beaucoup plus larges sur le comportement. Il serait désormais nécessaire d'approfondir le lien entre dyskinésies et altérations du traitement de la récompense par des expériences mettant en jeu l'inhibition sélective de populations neuronales pouvant être impliquées dans ces deux phénomènes. Ceci pourrait être investigué chez le rat, avec les différentes pistes évoquées dans cette discussion, puis chez le singe. En effet, le modèle primate cumule l'avantage d'une bonne modélisation de la MP par le MPTP et de pouvoir effectuer des tâches plus complexes que le rat. Ainsi, des tâches modélisant le jeu pathologique avec gain et perte (de nourriture par exemple) nous permettrait de mieux comprendre les altérations cognitives responsables des TCI ainsi que leurs substrats neuronaux.

La prise en compte des mécanismes impliqués à la fois dans les altérations motrices et non-motrices offre une vision plus intégrative du fonctionnement des noyaux gris centraux. En effet, ces travaux rappellent que les comportements ne sont pas uniquement moteurs mais qu'ils sont également motivés. Ainsi, l'altération des fonctions assurées par le réseau des ganglions de la base dans la MP doit être observée de manière plus globale afin de proposer une prise en charge plus holistique de la maladie.

Bibliographie

Bibliographie

- Aarsland D, Pahlhagen S, Ballard CG, Ehrt U, Svenningsson P (2012) Depression in Parkinson disease--epidemiology, mechanisms and management. *Nature reviews Neurology*. 8: 35-47.
- Agid Y (1991) Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet*. 337: 1321-1324.
- Agid Y, Graybiel AM, Ruberg M, Hirsch E, Blin J, Dubois B, Javoy-Agid F (1990) The efficacy of levodopa treatment declines in the course of Parkinson's disease: do nondopaminergic lesions play a role? *Advances in neurology*. 53: 83-100.
- Agid Y, Ruberg M, Javoy-Agid F, Hirsch E, Raisman-Vozari R, Vyas S, Faucheux B, Michel P, Kastner A, Blanchard V, et al. (1993) Are dopaminergic neurons selectively vulnerable to Parkinson's disease? *Advances in neurology*. 60: 148-164.
- Ahmed SH, Koob GF (2005) Transition to drug addiction: a negative reinforcement model based on an allostatic decrease in reward function. *Psychopharmacology (Berl)*. 180: 473-490.
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci*. 12: 366-375.
- Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci*. 13: 266-271.
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual review of neuroscience*. 9: 357-381.
- American-Psychiatric-Association (2000) Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV-TR, 4th Edition. Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Anden NE, Magnusson T, Rosengren E (1964) On the presence of dihydroxyphenylalanine decarboxylase in nerves. *Experientia*. 20: 328-329.
- Andersson M, Hilbertson A, Cenci MA (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.

- Aubert I, Guigoni C, Hakansson K, Li Q, Dovero S, Barthe N, Bioulac BH, Gross CE, Fisone G, Bloch B, Bezard E (2005) Increased D1 dopamine receptor signaling in levodopa-induced dyskinesia. *Ann Neurol.* 57: 17-26.
- Avanzi M, Baratti M, Cabrini S, Uber E, Brighetti G, Bonfa F (2006) Prevalence of pathological gambling in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 21: 2068-2072.
- Aziz TZ, Peggs D, Sambrook MA, Crossman AR (1991) Lesion of the subthalamic nucleus for the alleviation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism in the primate. *Mov Disord.* 6: 288-292.
- Bardo MT, Bevins RA (2000) Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology (Berl).* 153: 31-43.
- Basar K, Sesia T, Groenewegen H, Steinbusch HW, Visser-Vandewalle V, Temel Y (2010) Nucleus accumbens and impulsivity. *Prog Neurobiol.* 92: 533-557.
- Bastiaens J, Dorfman BJ, Christos PJ, Nirenberg MJ (2013) Prospective cohort study of impulse control disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 28: 327-333.
- Baunez C, Nieoullon A, Amalric M (1995) In a rat model of parkinsonism, lesions of the subthalamic nucleus reverse increases of reaction time but induce a dramatic premature responding deficit. *J Neurosci.* 15: 6531-6541.
- Bearn J, Evans A, Kelleher M, Turner K, Lees A (2004) Recognition of a dopamine replacement therapy dependence syndrome in Parkinson's disease: a pilot study. *Drug Alcohol Depend.* 76: 305-310.
- Belin D, Belin-Rauscent A, Murray JE, Everitt BJ (2013) Addiction: failure of control over maladaptive incentive habits. *Current opinion in neurobiology.* 23: 564-572.
- Benazzouz A, Gross C, Feger J, Boraud T, Bioulac B (1993) Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. *Eur J Neurosci.* 5: 382-389.
- Benazzouz A, Boraud T, Feger J, Burbaud P, Bioulac B, Gross C (1996) Alleviation of experimental hemiparkinsonism by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus in primates: a comparison with L-Dopa treatment. *Mov Disord.* 11: 627-632.
- Bennett BD, Bolam JP (1994a) Synaptic input and output of parvalbumin-immunoreactive neurons in the neostriatum of the rat. *Neuroscience.* 62: 707-719.

- Bennett BD, Bolam JP (1994b) Localisation of parvalbumin-immunoreactive structures in primate caudate-putamen. *The Journal of comparative neurology*. 347: 340-356.
- Bergman H, Wichmann T, DeLong MR (1990) Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science*. 249: 1436-1438.
- Bergman H, Wichmann T, Karmon B, DeLong MR (1994) The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol*. 72: 507-520.
- Berke JD, Paletzki RF, Aronson GJ, Hyman SE, Gerfen CR (1998) A complex program of striatal gene expression induced by dopaminergic stimulation. *J Neurosci*. 18: 5301-5310.
- Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev*. 28: 309-369.
- Berthet A, Porras G, Doudnikoff E, Stark H, Cador M, Bezard E, 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.
- Berton O, Guigoni C, Li Q, Bioulac BH, Aubert I, Gross CE, Dileone RJ, Nestler EJ, Bezard E (2009) Striatal overexpression of DeltaJunD resets L-DOPA-induced dyskinesia in a primate model of Parkinson disease. *Biol Psychiatry*. 66: 554-561.
- Besson M, Pelloux Y, Dilleen R, Theobald DE, Lyon A, Belin-Rauscent A, Robbins TW, Dalley JW, Everitt BJ, Belin D (2013) Cocaine Modulation of Frontostriatal Expression of Zif268, D2, and 5-HT2c Receptors in High and Low Impulsive Rats. *Neuropsychopharmacology*. 38: 1963-1973.
- Besson M, Belin D, McNamara R, Theobald DE, Castel A, Beckett VL, Crittenden BM, Newman AH, Everitt BJ, Robbins TW, Dalley JW (2010) Dissociable control of impulsivity in rats by dopamine d2/3 receptors in the core and shell subregions of the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*. 35: 560-569.
- Bezard E, Brotchie JM, Gross CE (2001) Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci*. 2: 577-588.
- Bezard E, Gross CE, Qin L, Gurevich VV, Benovic JL, Gurevich EV (2005) L-DOPA reverses the MPTP-induced elevation of the arrestin2 and GRK6 expression and enhanced ERK activation in monkey brain. *Neurobiol Dis*. 18: 323-335.

- Bezard E, Ferry S, Mach U, Stark H, Leriche L, Boraud T, Gross C, Sokoloff P (2003) Attenuation of levodopa-induced dyskinesia by normalizing dopamine D3 receptor function. *Nature medicine*. 9: 762-767.
- Biglan KM, Holloway RG, Jr., McDermott MP, Richard IH (2007) Risk factors for somnolence, edema, and hallucinations in early Parkinson disease. *Neurology*. 69: 187-195.
- Birkmayer W, Hornykiewicz O (1961) [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia]. *Wiener klinische Wochenschrift*. 73: 787-788.
- Black DW (2007) A review of compulsive buying disorder. *World Psychiatry*. 6: 14-18.
- Bloem BR (1992) Postural instability in Parkinson's disease. *Clinical neurology and neurosurgery*. 94 Suppl: S41-45.
- Boeve BF, Silber MH, Saper CB, Ferman TJ, Dickson DW, Parisi JE, Benarroch EE, Ahlskog JE, Smith GE, Caselli RC, Tippman-Peikert M, Olson EJ, Lin SC, Young T, Wszolek Z, Schenck CH, Mahowald MW, Castillo PR, Del Tredici K, Braak H (2007) Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. *Brain*. 130: 2770-2788.
- Bolam JP, Smith Y (1990) The GABA and substance P input to dopaminergic neurones in the substantia nigra of the rat. *Brain Res*. 529: 57-78.
- Bordet R, Ridray S, Carboni S, Diaz J, Sokoloff P, Schwartz JC (1997) Induction of dopamine D3 receptor expression as a mechanism of behavioral sensitization to levodopa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94: 3363-3367.
- Bossert JM, Stern AL, Theberge FR, Cifani C, Koya E, Hope BT, Shaham Y (2011) Ventral medial prefrontal cortex neuronal ensembles mediate context-induced relapse to heroin. *Nat Neurosci*. 14: 420-422.
- Bostan AC, Dum RP, Strick PL (2010) The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107: 8452-8456.
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rub U (2002) Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol*. 249 Suppl 3: III/1-5.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 24: 197-211.

- Brooks DJ, Piccini P, Turjanski N, Samuel M (2000) Neuroimaging of dyskinesia. *Ann Neurol.* 47: S154-158; discussion S158-159.
- Brown RG, Marsden CD (1990) Cognitive function in Parkinson's disease: from description to theory. *Trends Neurosci.* 13: 21-29.
- Caballol N, Marti MJ, Tolosa E (2007) Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson disease. *Mov Disord.* 22 Suppl 17: S358-366.
- Caine SB, Koob GF (1994) Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained by cocaine and food. *Journal of the experimental analysis of behavior.* 61: 213-221.
- Caparros-Lefebvre D, Elbaz A (1999) Possible relation of atypical parkinsonism in the French West Indies with consumption of tropical plants: a case-control study. *Caribbean Parkinsonism Study Group. Lancet.* 354: 281-286.
- Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science.* 292: 2499-2501.
- Carey RJ, Pinheiro-Carrera M, Dai H, Tomaz C, Huston JP (1995) L-DOPA and psychosis: evidence for L-DOPA-induced increases in prefrontal cortex dopamine and in serum corticosterone. *Biol Psychiatry.* 38: 669-676.
- Carle TL, Ohnishi YN, Ohnishi YH, Alibhai IN, Wilkinson MB, Kumar A, Nestler EJ (2007) Proteasome-dependent and -independent mechanisms for FosB destabilization: identification of FosB degron domains and implications for DeltaFosB stability. *Eur J Neurosci.* 25: 3009-3019.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T (1957) 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature.* 180: 1200.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T, Waldeck B (1958) On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science.* 127: 471.
- Carta M, Carlsson T, Kirik D, Bjorklund A (2007) Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain.* 130: 1819-1833.
- Cenci MA, Lee CS, 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 MA, Whishaw IQ, Schallert T (2002) Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nat Rev Neurosci.* 3: 574-579.
- Cenci MA, Ohlin KE, Rylander D (2009) Plastic effects of L-DOPA treatment in the basal ganglia and their relevance to the development of dyskinesia. *Parkinsonism Relat Disord.* 15 Suppl 3: S59-63.
- Cenci MA, Ohlin KE, Odin P (2011) Current options and future possibilities for the treatment of dyskinesia and motor fluctuations in Parkinson's disease. *CNS & neurological disorders drug targets.* 10: 670-684.
- Cenci MA, Tranberg A, Andersson M, Hilbertson A (1999) Changes in the regional and compartmental distribution of FosB- and JunB-like immunoreactivity induced in the dopamine-denervated rat striatum by acute or chronic L-dopa treatment. *Neuroscience.* 94: 515-527.
- Centonze D, Gubellini P, Picconi B, Calabresi P, Giacomini P, Bernardi G (1999) Unilateral dopamine denervation blocks corticostriatal LTP. *J Neurophysiol.* 82: 3575-3579.
- Chen J, Kelz MB, Zeng G, Sakai N, Steffen C, Shockett PE, Picciotto MR, Duman RS, Nestler EJ (1998) Transgenic animals with inducible, targeted gene expression in brain. *Molecular pharmacology.* 54: 495-503.
- Chen Z, Guan Q, Cao X, Xu Y, Wang L, Sun S (2006) Effect of antisense FosB and CREB on the expression of prodynorphin gene in rats with levodopa-induced dyskinesias. *Journal of Huazhong University of Science and Technology Medical sciences = Huazhong keji daxue xuebao Yi xue Ying De wen ban = Huazhong keji daxue xuebao Yixue Yingdewen ban.* 26: 542-544.
- Cohen G (1984) Oxy-radical toxicity in catecholamine neurons. *Neurotoxicology.* 5: 77-82.
- Coldwell MC, Boyfield I, Brown T, Hagan JJ, Middlemiss DN (1999) Comparison of the functional potencies of ropinirole and other dopamine receptor agonists at human D2(long), D3 and D4.4 receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *Br J Pharmacol.* 127: 1696-1702.
- Cools R, Barker RA, Sahakian BJ, Robbins TW (2001) Enhanced or impaired cognitive function in Parkinson's disease as a function of dopaminergic medication and task demands. *Cereb Cortex.* 11: 1136-1143.

- Coon S, Stark A, Peterson E, Gloi A, Kortsha G, Pounds J, Chettle D, Gorell J (2006) Whole-body lifetime occupational lead exposure and risk of Parkinson's disease. *Environ Health Perspect.* 114: 1872-1876.
- Corbett D, Wise RA (1980) Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain Res.* 185: 1-15.
- Cornelius JR, Tippmann-Peikert M, Slocumb NL, Frerichs CF, Silber MH (2010) Impulse control disorders with the use of dopaminergic agents in restless legs syndrome: a case-control study. *Sleep.* 33: 81-87.
- Costa A, Peppe A, Dell'Agnello G, Caltagirone C, Carlesimo GA (2009) Dopamine and cognitive functioning in de novo subjects with Parkinson's disease: effects of pramipexole and pergolide on working memory. *Neuropsychologia.* 47: 1374-1381.
- Cotzias GC, Papavasiliou PS, Gellene R (1969) Modification of Parkinsonism--chronic treatment with L-dopa. *N Engl J Med.* 280: 337-345.
- Cox PA, Sacks OW (2002) Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam. *Neurology.* 58: 956-959.
- Dahlstroem A, Fuxe K (1964) Evidence for the Existence of Monoamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. I. Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. *Acta Physiol Scand Suppl.* SUPPL 232:231-255.
- Dahlstrom A, Fuxe K (1964) Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia.* 20: 398-399.
- Dalley JW, Fryer TD, Brichard L, Robinson ES, Theobald DE, Laane K, Pena Y, Murphy ER, Shah Y, Probst K, Abakumova I, Aigbirhio FI, Richards HK, Hong Y, Baron JC, Everitt BJ, Robbins TW (2007) Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science.* 315: 1267-1270.
- Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM (1999) The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain.* 122 (Pt 8): 1437-1448.
- Davie M (2007) Pathological gambling associated with cabergoline therapy in a patient with a pituitary prolactinoma. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 19: 473-474.
- de la Fuente-Fernandez R, Sossi V, Huang Z, Furtado S, Lu JQ, Calne DB, Ruth TJ, Stoessl AJ (2004) Levodopa-induced changes in synaptic dopamine levels increase with

- progression of Parkinson's disease: implications for dyskinesias. *Brain*. 127: 2747-2754.
- de Lau LM, Breteler MM (2006) Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 5: 525-535.
- de Rijk MC, Tzourio C, Breteler MM, Dartigues JF, Amaducci L, Lopez-Pousa S, Manubens-Bertran JM, Alperovitch A, Rocca WA (1997) Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European Community Concerted Action on the Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 62: 10-15.
- Decressac M, Mattsson B, Bjorklund A (2012a) Comparison of the behavioural and histological characteristics of the 6-OHDA and alpha-synuclein rat models of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 235: 306-315.
- Decressac M, Mattsson B, Lundblad M, Weikop P, Bjorklund A (2012b) Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV-mediated overexpression of alpha-synuclein in midbrain dopamine neurons. *Neurobiol Dis*. 45: 939-953.
- Dehay B, Martinez-Vicente M, Caldwell GA, Caldwell KA, Yue Z, Cookson MR, Klein C, Vila M, Bezdade E (2013) Lysosomal impairment in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 28: 725-732.
- Del Dotto P, Gambaccini G, Caneparo D, Berti C, Bernardini S, Bonuccelli U (2003) Bedtime cabergoline in Parkinson's disease patients with excessive daytime sleepiness induced by dopamine agonists. *Neurol Sci*. 24: 170-171.
- Deleersnijder A, Gerard M, Debyser Z, Baekelandt V (2013) The remarkable conformational plasticity of alpha-synuclein: blessing or curse? *Trends in molecular medicine*. 19: 368-377.
- DeLong MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci*. 13: 281-285.
- Delwaide PJ, Sabbatino M, Delwaide C (1986) Some pathophysiological aspects of the parkinsonian rigidity. *Journal of neural transmission Supplementum*. 22: 129-139.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science*. 305: 1014-1017.

- DiFiglia M, Pasik P, Pasik T (1976) A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* 114: 245-256.
- Djamshidian A, O'Sullivan SS, Wittmann BC, Lees AJ, Auerbach BB (2011) Novelty seeking behaviour in Parkinson's disease. *Neuropsychologia.* 49: 2483-2488.
- Dodd ML, Klos KJ, Bower JH, Geda YE, Josephs KA, Ahlskog JE (2005) Pathological gambling caused by drugs used to treat Parkinson disease. *Arch Neurol.* 62: 1377-1381.
- Doty RL (2012) Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiol Dis.* 46: 527-552.
- Driver-Dunckley E, Samanta J, Stacy M (2003) Pathological gambling associated with dopamine agonist therapy in Parkinson's disease. *Neurology.* 61: 422-423.
- Dunnett SB, Lelos M (2010) Behavioral analysis of motor and non-motor symptoms in rodent models of Parkinson's disease. *Prog Brain Res.* 184: 35-51.
- Dunnett SB, Rosser AE (2011) Clinical translation of cell transplantation in the brain. *Current opinion in organ transplantation.* 16: 632-639.
- Earley CJ, Kuwabara H, Wong DF, Gamaldo C, Salas RE, Brasic JR, Ravert HT, Dannals RF, Allen RP (2013) Increased synaptic dopamine in the putamen in restless legs syndrome. *Sleep.* 36: 51-57.
- Ehringer H, Hornykiewicz O (1960) [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]. *Klinische Wochenschrift.* 38: 1236-1239.
- Engeln M, Ahmed SH, Vouillac C, Tison F, Bezard E, Fernagut PO (2012) Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats. *Neurobiol Dis.* 49C: 79-86.
- Engeln M, Fasano S, Ahmed SH, Cador M, Baekelandt V, Bezard E, Fernagut PO (2013) L-dopa gains psychostimulant-like properties after nigral dopaminergic loss. *Ann Neurol.*
- Eskow Jaunarajs KL, George JA, Bishop C (2012) L-DOPA-induced dysregulation of extrastriatal dopamine and serotonin and affective symptoms in a bilateral rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 218: 243-256.
- Evans AH, Lawrence AD, Potts J, Appel S, Lees AJ (2005) Factors influencing susceptibility to compulsive dopaminergic drug use in Parkinson disease. *Neurology.* 65: 1570-1574.

- Evans AH, Katzenschlager R, Paviour D, O'Sullivan JD, Appel S, Lawrence AD, Lees AJ (2004) Punding in Parkinson's disease: its relation to the dopamine dysregulation syndrome. *Mov Disord.* 19: 397-405.
- Evans AH, Pavese N, Lawrence AD, Tai YF, Appel S, Doder M, Brooks DJ, Lees AJ, Piccini P (2006) Compulsive drug use linked to sensitized ventral striatal dopamine transmission. *Ann Neurol.* 59: 852-858.
- Everitt BJ, Dickinson A, Robbins TW (2001) The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Res Brain Res Rev.* 36: 129-138.
- Fahn S (1998) Medical treatment of Parkinson's disease. *J Neurol.* 245: P15-24.
- Fallon JH, Loughlin SE (1995) Substantia Nigra. In: *The Rat Nervous System*, 2nd edn Edition (Paxinos G, ed), pp 215-237: Academic Press.
- Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy K, Wszolek Z, Dickson D, Langston JW (2004) Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol.* 55: 174-179.
- Fasano S, Brambilla R (2011) Ras-ERK Signaling in Behavior: Old Questions and New Perspectives. *Frontiers in behavioral neuroscience.* 5: 79.
- Filion M (1979) Effects of interruption of the nigrostriatal pathway and of dopaminergic agents on the spontaneous activity of globus pallidus neurons in the awake monkey. *Brain Res.* 178: 425-441.
- Gallagher DA, O'Sullivan SS, Evans AH, Lees AJ, Schrag A (2007) Pathological gambling in Parkinson's disease: risk factors and differences from dopamine dysregulation. An analysis of published case series. *Mov Disord.* 22: 1757-1763.
- Garavan H, Pankiewicz J, Bloom A, Cho JK, Sperry L, Ross TJ, Salmeron BJ, Risinger R, Kelley D, Stein EA (2000) Cue-induced cocaine craving: neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. *Am J Psychiatry.* 157: 1789-1798.
- Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ, Jr., Sibley DR (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science.* 250: 1429-1432.
- Gibb WR, Scott T, Lees AJ (1991) Neuronal inclusions of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 6: 2-11.

- Giovannoni G, O'Sullivan JD, Turner K, Manson AJ, Lees AJ (2000) Hedonistic homeostatic dysregulation in patients with Parkinson's disease on dopamine replacement therapies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 68: 423-428.
- Goetz CG, Lutge W, Tanner CM (1986) Autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Neurology*. 36: 73-75.
- Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C (2005) Evidence-based medical review update: pharmacological and surgical treatments of Parkinson's disease: 2001 to 2004. *Mov Disord*. 20: 523-539.
- Goldman JE, Yen SH, Chiu FC, Peress NS (1983) Lewy bodies of Parkinson's disease contain neurofilament antigens. *Science*. 221: 1082-1084.
- Grandas F, Galiano ML, Taberner C (1999) Risk factors for levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J Neurol*. 246: 1127-1133.
- Grant JE, Levine L, Kim D, Potenza MN (2005) Impulse control disorders in adult psychiatric inpatients. *Am J Psychiatry*. 162: 2184-2188.
- Graybiel AM, Canales JJ, Capper-Loup C (2000) Levodopa-induced dyskinesias and dopamine-dependent stereotypies: a new hypothesis. *Trends Neurosci*. 23: S71-77.
- Grueter BA, Robison AJ, Neve RL, Nestler EJ, Malenka RC (2013) FosB differentially modulates nucleus accumbens direct and indirect pathway function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110: 1923-1928.
- Guigoni C, Doudnikoff E, Li Q, Bloch B, Bezard E (2007) Altered D(1) dopamine receptor trafficking in parkinsonian and dyskinetic non-human primates. *Neurobiol Dis*. 26: 452-463.
- Guigoni C, Li Q, Aubert I, Dovero S, Bioulac BH, Bloch B, Crossman AR, Gross CE, Bezard E (2005) Involvement of sensorimotor, limbic, and associative basal ganglia domains in L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced dyskinesia. *J Neurosci*. 25: 2102-2107.
- Haber SN, Knutson B (2010) The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*. 35: 4-26.
- Haber SN, Fudge JL, McFarland NR (2000) Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum. *J Neurosci*. 20: 2369-2382.
- Hall J, Parkinson JA, Connor TM, Dickinson A, Everitt BJ (2001) Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour. *Eur J Neurosci*. 13: 1984-1992.

- Halliday GM, Macdonald V, Henderson JM (2005) A comparison of degeneration in motor thalamus and cortex between progressive supranuclear palsy and Parkinson's disease. *Brain*. 128: 2272-2280.
- Halliday GM, Li YW, Blumbergs PC, Joh TH, Cotton RG, Howe PR, Blessing WW, Geffen LB (1990) Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 27: 373-385.
- Hariri AR, Brown SM, Williamson DE, Flory JD, de Wit H, Manuck SB (2006) Preference for immediate over delayed rewards is associated with magnitude of ventral striatal activity. *J Neurosci*. 26: 13213-13217.
- Hassler R (1938) Zur Pathologie der Paralysis agitans und des postenzephalitischen Parkinsonismus. *J Psychol Neurol*. 48: 387-476.
- Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW (2008) Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends Pharmacol Sci*. 29: 322-329.
- Hely MA, Morris JG, Reid WG, Trafficante R (2005) Sydney Multicenter Study of Parkinson's disease: non-L-dopa-responsive problems dominate at 15 years. *Mov Disord*. 20: 190-199.
- Hiroi N, Brown JR, Haile CN, Ye H, Greenberg ME, Nestler EJ (1997) FosB mutant mice: loss of chronic cocaine induction of Fos-related proteins and heightened sensitivity to cocaine's psychomotor and rewarding effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94: 10397-10402.
- Hirsch E, Graybiel AM, Agid YA (1988) Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature*. 334: 345-348.
- Holman AJ (2009) Impulse control disorder behaviors associated with pramipexole used to treat fibromyalgia. *J Gambl Stud*. 25: 425-431.
- Hoshi E, Tremblay L, Feger J, Carras PL, Strick PL (2005) The cerebellum communicates with the basal ganglia. *Nat Neurosci*. 8: 1491-1493.
- Hubner CB, Koob GF (1990) The ventral pallidum plays a role in mediating cocaine and heroin self-administration in the rat. *Brain Res*. 508: 20-29.
- Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ (2006) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual review of neuroscience*. 29: 565-598.
- Isoda M, Hikosaka O (2008) Role for subthalamic nucleus neurons in switching from automatic to controlled eye movement. *J Neurosci*. 28: 7209-7218.

- Isomura Y, Takekawa T, Harukuni R, Handa T, Aizawa H, Takada M, Fukai T (2013) Reward-modulated motor information in identified striatum neurons. *J Neurosci.* 33: 10209-10220.
- Ito R, Robbins TW, Everitt BJ (2004) Differential control over cocaine-seeking behavior by nucleus accumbens core and shell. *Nat Neurosci.* 7: 389-397.
- Jankovic J (2008) Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 79: 368-376.
- Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM, Snyder SH (1985) Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 -tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82: 2173-2177.
- Javoy-Agid F, Agid Y (1980) Is the mesocortical dopaminergic system involved in Parkinson disease? *Neurology.* 30: 1326-1330.
- Jellinger KA (1991) Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. *Molecular and chemical neuropathology / sponsored by the International Society for Neurochemistry and the World Federation of Neurology and research groups on neurochemistry and cerebrospinal fluid.* 14: 153-197.
- Jellinger KA (2009) Formation and development of Lewy pathology: a critical update. *J Neurol.* 256 Suppl 3: 270-279.
- Joel D, Weiner I (1994) The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience.* 63: 363-379.
- Kaplan HI, Saddock BJ, Grebb JA (1994) *Synopsis of Psychiatry, 7th edition Edition.* Baltimore: William & Wilkoins.
- Kasanetz F, Deroche-Gamonet V, Berson N, Balado E, Lafourcade M, Manzoni O, Piazza PV (2010) Transition to addiction is associated with a persistent impairment in synaptic plasticity. *Science.* 328: 1709-1712.
- Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995) Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18: 527-535.
- Ki CS, Stavrou EF, Davanos N, Lee WY, Chung EJ, Kim JY, Athanassiadou A (2007) The Ala53Thr mutation in the alpha-synuclein gene in a Korean family with Parkinson disease. *Clinical genetics.* 71: 471-473.
- Kim S, Lee D (2010) Prefrontal Cortex and Impulsive Decision Making. *Biol Psychiatry.*

- Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N (1998) Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*. 392: 605-608.
- Klaidman LK, Adams JD, Jr., Leung AC, Kim SS, Cadenas E (1993) Redox cycling of MPP+: evidence for a new mechanism involving hydride transfer with xanthine oxidase, aldehyde dehydrogenase, and lipoamide dehydrogenase. *Free radical biology & medicine*. 15: 169-179.
- Klos KJ, Bower JH, Josephs KA, Matsumoto JY, Ahlskog JE (2005) Pathological hypersexuality predominantly linked to adjuvant dopamine agonist therapy in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord*. 11: 381-386.
- Knie B, Mitra MT, Logishetty K, Chaudhuri KR (2011) Excessive daytime sleepiness in patients with Parkinson's disease. *CNS Drugs*. 25: 203-212.
- Knutson B, Adams CM, Fong GW, Hommer D (2001) Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. *J Neurosci*. 21: RC159.
- Koob GF, Bloom FE (1988) Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*. 242: 715-723.
- Koob GF, Le Moal M (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*. 278: 52-58.
- Koya E, Golden SA, Harvey BK, Guez-Barber DH, Berkow A, Simmons DE, Bossert JM, Nair SG, Uejima JL, Marin MT, Mitchell TB, Farquhar D, Ghosh SC, Mattson BJ, Hope BT (2009) Targeted disruption of cocaine-activated nucleus accumbens neurons prevents context-specific sensitization. *Nat Neurosci*. 12: 1069-1073.
- Kreiss DS, Mastropietro CW, Rawji SS, Walters JR (1997) The response of subthalamic nucleus neurons to dopamine receptor stimulation in a rodent model of Parkinson's disease. *J Neurosci*. 17: 6807-6819.
- Kulisevsky J, Berthier ML, Gironell A, Pascual-Sedano B, Molet J, Pares P (2002) Mania following deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Neurology*. 59: 1421-1424.
- Langston JW (1996) The etiology of Parkinson's disease with emphasis on the MPTP story. *Neurology*. 47: S153-160.
- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I (1983) Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*. 219: 979-980.

- Langston JW, Forno LS, Rebert CS, Irwin I (1984) Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res.* 292: 390-394.
- Lannuzel A, Hoglinger GU, Champy P, Michel PP, Hirsch EC, Ruberg M (2006) Is atypical parkinsonism in the Caribbean caused by the consumption of Annonaceae? *Journal of neural transmission Supplementum.* 153-157.
- Larsen JP, Worm-Petersen J, Siden A, Gordin A, Reinikainen K, Leinonen M (2003) The tolerability and efficacy of entacapone over 3 years in patients with Parkinson's disease. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies.* 10: 137-146.
- Lawrence AD, Evans AH, Lees AJ (2003) Compulsive use of dopamine replacement therapy in Parkinson's disease: reward systems gone awry? *Lancet Neurol.* 2: 595-604.
- Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, Woodham BL, Board PG (1999) Pesticides and Parkinson's disease. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie.* 53: 122-130.
- Lebouvier T, Chaumette T, Paillusson S, Duyckaerts C, Bruley des Varannes S, Neunlist M, Derkinderen P (2009) The second brain and Parkinson's disease. *Eur J Neurosci.* 30: 735-741.
- Lees AJ, Shaw KM, Stern GM (1977) "Off period" dystonia and "on period" choreoathetosis in levodopa-treated patients with Parkinson's disease. *Lancet.* 2: 1034.
- Lenoir M, Augier E, Vouillac C, Ahmed SH (2013) A choice-based screening method for compulsive drug users in rats. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N Crawley [et al]. Chapter 9: Unit9* 44.
- Lenz JD, Lobo MK (2013) Optogenetic insights into striatal function and behavior. *Behav Brain Res.*
- Leroy E, Boyer R, Auburger G, Leube B, Ulm G, Mezey E, Harta G, Brownstein MJ, Jonnalagada S, Chernova T, Dehejia A, Lavedan C, Gasser T, Steinbach PJ, Wilkinson KD, Polymeropoulos MH (1998) The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature.* 395: 451-452.
- Levy R, Dubois B (2006) Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cereb Cortex.* 16: 916-928.

- Lim SY, Evans AH, Miyasaki JM (2008) Impulse control and related disorders in Parkinson's disease: review. *Ann N Y Acad Sci.* 1142: 85-107.
- Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D, Benabid AL (1998) Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 339: 1105-1111.
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Le Bas JF, Broussolle E, Perret JE, Benabid AL (1995) Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet.* 345: 91-95.
- Lindvall O, Brundin P, Widner H, Rehnström S, Gustavii B, Frackowiak R, Leenders KL, Sawle G, Rothwell JC, Marsden CD, et al. (1990) Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science.* 247: 574-577.
- Lingawi NW, Balleine BW (2012) Amygdala central nucleus interacts with dorsolateral striatum to regulate the acquisition of habits. *J Neurosci.* 32: 1073-1081.
- Liu Y, Roghani A, Edwards RH (1992) Gene transfer of a reserpine-sensitive mechanism of resistance to N-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89: 9074-9078.
- Lobo MK, Covington HE, 3rd, Chaudhury D, Friedman AK, Sun H, Damez-Werno D, Dietz DM, Zaman S, Koo JW, Kennedy PJ, Mouzon E, Mogri M, Neve RL, Deisseroth K, Han MH, Nestler EJ (2010) Cell type-specific loss of BDNF signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science.* 330: 385-390.
- Lovic V, Saunders BT, Yager LM, Robinson TE (2011) Rats prone to attribute incentive salience to reward cues are also prone to impulsive action. *Behav Brain Res.* 223: 255-261.
- Lu L, Koya E, Zhai H, Hope BT, Shaham Y (2006) Role of ERK in cocaine addiction. *Trends Neurosci.* 29: 695-703.
- Lu XY, Ghasemzadeh MB, Kalivas PW (1998) Expression of D1 receptor, D2 receptor, substance P and enkephalin messenger RNAs in the neurons projecting from the nucleus accumbens. *Neuroscience.* 82: 767-780.
- Lundblad M, Andersson M, Winkler C, Kirik D, Wierup N, Cenci MA (2002) Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci.* 15: 120-132.

- Luquin MR, Scipioni O, Vaamonde J, Gershanik O, Obeso JA (1992) Levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: clinical and pharmacological classification. *Mov Disord.* 7: 117-124.
- MacDonald V, Halliday GM (2002) Selective loss of pyramidal neurons in the pre-supplementary motor cortex in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 17: 1166-1173.
- Mallet N, Ballion B, Le Moine C, Gonon F (2006) Cortical inputs and GABA interneurons imbalance projection neurons in the striatum of parkinsonian rats. *J Neurosci.* 26: 3875-3884.
- Marchand WR (2010) Cortico-basal ganglia circuitry: a review of key research and implications for functional connectivity studies of mood and anxiety disorders. *Brain Struct Funct.* 215: 73-96.
- Markey SP, Johannessen JN, Chiueh CC, Burns RS, Herkenham MA (1984) Intraneuronal generation of a pyridinium metabolite may cause drug-induced parkinsonism. *Nature.* 311: 464-467.
- Mason G (1991) Stereotypies: a critical review. *Anim Behav.* 41: 1015-1037.
- Mayer RA, Walters AS, Heikkila RE (1986) 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) administration to C57-black mice leads to parallel decrements in neostriatal dopamine content and tyrosine hydroxylase activity. *Eur J Pharmacol.* 120: 375-377.
- Mazzucchelli C, Vantaggiato C, Ciamei A, Fasano S, Pakhotin P, Krezel W, Welzl H, Wolfer DP, Pages G, Valverde O, Marowsky A, Porrazzo A, Orban PC, Maldonado R, Ehrengruber MU, Cestari V, Lipp HP, Chapman PF, Pouyssegur J, Brambilla R (2002) Knockout of ERK1 MAP kinase enhances synaptic plasticity in the striatum and facilitates striatal-mediated learning and memory. *Neuron.* 34: 807-820.
- McClung CA, Ulerly PG, Perrotti LI, Zachariou V, Berton O, Nestler EJ (2004) DeltaFosB: a molecular switch for long-term adaptation in the brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 132: 146-154.
- McClure SM, Laibson DI, Loewenstein G, Cohen JD (2004) Separate neural systems value immediate and delayed monetary rewards. *Science.* 306: 503-507.
- McElroy SL, Keck PE, Jr., Pope HG, Jr., Smith JM, Strakowski SM (1994) Compulsive buying: a report of 20 cases. *J Clin Psychiatry.* 55: 242-248.

- Meissner WG, Frasier M, Gasser T, Goetz CG, Lozano A, Piccini P, Obeso JA, Rascol O, Schapira A, Voon V, Weiner DM, Tison F, Bezard E (2011) Priorities in Parkinson's disease research. *Nature reviews Drug discovery*. 10: 377-393.
- Migliore L, Coppede F (2009) Genetics, environmental factors and the emerging role of epigenetics in neurodegenerative diseases. *Mutat Res*. 667: 82-97.
- Mink JW (1996) The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog Neurobiol*. 50: 381-425.
- Mitchell IJ, Sambrook MA, Crossman AR (1985) Subcortical changes in the regional uptake of [3H]-2-deoxyglucose in the brain of the monkey during experimental choreiform dyskinesia elicited by injection of a gamma-aminobutyric acid antagonist into the subthalamic nucleus. *Brain*. 108 (Pt 2): 405-422.
- Miyasaki JM (2010) Evidence-based initiation of dopaminergic therapy in Parkinson's disease. *J Neurol*. 257: S309-313.
- Miyasaki JM, Al Hassan K, Lang AE, Voon V (2007) Punding prevalence in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 22: 1179-1181.
- Mobini S, Body S, Ho MY, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM (2002) Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)*. 160: 290-298.
- Molina JA, Sainz-Artiga MJ, Fraile A, Jimenez-Jimenez FJ, Villanueva C, Orti-Pareja M, Bermejo F (2000) Pathologic gambling in Parkinson's disease: a behavioral manifestation of pharmacologic treatment? *Mov Disord*. 15: 869-872.
- Montastruc JL, Rascol O, Rascol A (1989) A randomised controlled study of bromocriptine versus levodopa in previously untreated Parkinsonian patients: a 3 year follow-up. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 52: 773-775.
- Muschamp JW, Nemeth CL, Robison AJ, Nestler EJ, Carlezon WA, Jr. (2012) DeltaFosB enhances the rewarding effects of cocaine while reducing the pro-depressive effects of the kappa-opioid receptor agonist U50488. *Biol Psychiatry*. 71: 44-50.
- Navailles S, Bioulac B, Gross C, De Deurwaerdere P (2010) Serotonergic neurons mediate ectopic release of dopamine induced by L-DOPA in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 38: 136-143.
- Nestler EJ (1992) Molecular mechanisms of drug addiction. *J Neurosci*. 12: 2439-2450.

- Nestler EJ (2001) Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci.* 2: 119-128.
- Nestler EJ, Carlezon WA, Jr. (2006) The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry.* 59: 1151-1159.
- Nestler EJ, Barrot M, Self DW (2001) DeltaFosB: a sustained molecular switch for addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98: 11042-11046.
- Nicholas AP, Lubin FD, Hallett PJ, Vattem P, Ravenscroft P, Bezard E, Zhou S, Fox SH, Brotchie JM, Sweatt JD, Standaert DG (2008) Striatal histone modifications in models of levodopa-induced dyskinesia. *J Neurochem.* 106: 486-494.
- Nirenberg MJ, Waters C (2006) Compulsive eating and weight gain related to dopamine agonist use. *Mov Disord.* 21: 524-529.
- Nutt JG (1990) Levodopa-induced dyskinesia: review, observations, and speculations. *Neurology.* 40: 340-345.
- Olsson M, Nikkhah G, Bentlage C, Bjorklund A (1995) Forelimb akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test. *J Neurosci.* 15: 3863-3875.
- Ondo WG, Lai D (2008) Predictors of impulsivity and reward seeking behavior with dopamine agonists. *Parkinsonism Relat Disord.* 14: 28-32.
- Packard MG, Knowlton BJ (2002) Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annual review of neuroscience.* 25: 563-593.
- Parent A, Hazrati LN (1995a) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev.* 20: 91-127.
- Parent A, Hazrati LN (1995b) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Brain Res Rev.* 20: 128-154.
- Parkinson-Study-Group (2002) A controlled trial of rasagiline in early parkinson disease: The tempo study. *Archives of Neurology.* 59: 1937-1943.
- Parkinson J (1817) *An essay on the Shaking Palsy*, Sherwood Edition. London: Neely and Jones.
- Parkinson Study G (2000) Pramipexole vs levodopa as initial treatment for parkinson disease: A randomized controlled trial. *JAMA.* 284: 1931-1938.

- Pascoli V, Besnard A, Herve D, Pages C, Heck N, Girault JA, Caboche J, Vanhoutte P (2011) Cyclic adenosine monophosphate-independent tyrosine phosphorylation of NR2B mediates cocaine-induced extracellular signal-regulated kinase activation. *Biol Psychiatry*. 69: 218-227.
- Pasupathy A, Miller EK (2005) Different time courses of learning-related activity in the prefrontal cortex and striatum. *Nature*. 433: 873-876.
- Pettit HO, Ettenberg A, Bloom FE, Koob GF (1984) Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 84: 167-173.
- Pezzella FR, Colosimo C, Vanacore N, Di Rezze S, Chianese M, Fabbrini G, Meco G (2005) Prevalence and clinical features of hedonistic homeostatic dysregulation in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 20: 77-81.
- Picconi B, Centonze D, Hakansson K, Bernardi G, Greengard P, Fisone G, Cenci MA, Calabresi P (2003) Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Neurosci*. 6: 501-506.
- Pollak P, Benabid AL, Gross C, Gao DM, Laurent A, Benazzouz A, Hoffmann D, Gentil M, Perret J (1993) [Effects of the stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson disease]. *Revue neurologique*. 149: 175-176.
- Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, Sanges G, Stenroos ES, Pho LT, Schaffer AA, Lazzarini AM, Nussbaum RL, Duvoisin RC (1996) Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science*. 274: 1197-1199.
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*. 276: 2045-2047.
- Porras G, Berthet A, Dehay B, Li Q, Ladepeche L, Normand E, Dovero S, Martinez A, Doudnikoff E, Martin-Negrier ML, Chuan Q, Bloch B, Choquet D, Boue-Grabot E, Groc L, Bezard E (2012) PSD-95 expression controls L-DOPA dyskinesia through dopamine D1 receptor trafficking. *The Journal of clinical investigation*. 122: 3977-3989.

- Putterman DB, Munhall AC, Kozell LB, Belknap JK, Johnson SW (2007) Evaluation of levodopa dose and magnitude of dopamine depletion as risk factors for levodopa-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 323: 277-284.
- Quik M, Wonnacott S (2011) $\alpha_6\beta_2^*$ and $\alpha_4\beta_2^*$ nicotinic acetylcholine receptors as drug targets for Parkinson's disease. *Pharmacol Rev.* 63: 938-966.
- Quinn NP (1997) Parkinson's disease: clinical features. *Bailliere's clinical neurology.* 6: 1-13.
- Rabinak CA, Nirenberg MJ (2010) Dopamine agonist withdrawal syndrome in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 67: 58-63.
- Ramsay RR, Singer TP (1986) Energy-dependent uptake of N-methyl-4-phenylpyridinium, the neurotoxic metabolite of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, by mitochondria. *J Biol Chem.* 261: 7585-7587.
- Rascol O, Lozano A, Stern M, Poewe W (2011) Milestones in Parkinson's disease therapeutics. *Mov Disord.* 26: 1072-1082.
- Rascol O, Brooks DJ, Korczyn AD, De Deyn PP, Clarke CE, Lang AE (2000) A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N Engl J Med.* 342: 1484-1491.
- Ray NJ, Miyasaki JM, Zurovski M, Ko JH, Cho SS, Pellecchia G, Antonelli F, Houle S, Lang AE, Strafella AP (2012) Extrastriatal dopaminergic abnormalities of DA homeostasis in Parkinson's patients with medication-induced pathological gambling: a [^{11}C] FLB-457 and PET study. *Neurobiol Dis.* 48: 519-525.
- Riddle JL, Rokosik SL, Napier TC (2012) Pramipexole- and methamphetamine-induced reward-mediated behavior in a rodent model of Parkinson's disease and controls. *Behav Brain Res.* 233: 15-23.
- Riederer P, Wuketich S (1976) Time course of nigrostriatal degeneration in parkinson's disease. A detailed study of influential factors in human brain amine analysis. *J Neural Transm.* 38: 277-301.
- Robinson TE, Berridge KC (2001) Incentive-sensitization and addiction. *Addiction.* 96: 103-114.
- Robinson TE, Berridge KC (2003) *Addiction.* *Annu Rev Psychol.* 54: 25-53.

- Robison AJ, Vialou V, Mazei-Robison M, Feng J, Kourrich S, Collins M, Wee S, Koob G, Turecki G, Neve R, Thomas M, Nestler EJ (2013) Behavioral and structural responses to chronic cocaine require a feedforward loop involving DeltaFosB and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in the nucleus accumbens shell. *J Neurosci.* 33: 4295-4307.
- Rodriguez-Oroz MC, Lopez-Azcarate J, Garcia-Garcia D, Alegre M, Toledo J, Valencia M, Guridi J, Artieda J, Obeso JA (2011) Involvement of the subthalamic nucleus in impulse control disorders associated with Parkinson's disease. *Brain.* 134: 36-49.
- Romito LM, Raja M, Daniele A, Contarino MF, Bentivoglio AR, Barbier A, Scerrati M, Albanese A (2002) Transient mania with hypersexuality after surgery for high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 17: 1371-1374.
- Rossi N, Reid L (1976) Affective states associated with morphine injection. *Physiol Psychol.* 4: 269-274.
- Russmann H, Ghika J, Villemure JG, Robert B, Bogousslavsky J, Burkhard PR, Vingerhoets FJ (2004) Subthalamic nucleus deep brain stimulation in Parkinson disease patients over age 70 years. *Neurology.* 63: 1952-1954.
- Rylander G (1972) Psychoses and the punding and choreiform syndromes in addiction to central stimulant drugs. *Psychiatr Neurol Neurochir.* 75: 203-212.
- Saka E, Elibol B, Erdem S, Dalkara T (1999) Compartmental changes in expression of c-Fos and FosB proteins in intact and dopamine-depleted striatum after chronic apomorphine treatment. *Brain Res.* 825: 104-114.
- Samii A, Nutt JG, Ransom BR (2004) Parkinson's disease. *Lancet.* 363: 1783-1793.
- Santone KS, Oakes SG, Taylor SR, Powis G (1986) Anthracycline-induced inhibition of a calcium action potential in differentiated murine neuroblastoma cells. *Cancer research.* 46: 2659-2664.
- Scatton B, Rouquier L, Javoy-Agid F, Agid Y (1982) Dopamine deficiency in the cerebral cortex in Parkinson disease. *Neurology.* 32: 1039-1040.
- Schapira AH (2007) Future directions in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 22 Suppl 17: S385-391.
- Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden CD (1990) Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem.* 54: 823-827.

- Schapira AH, McDermott MP, Barone P, Comella CL, Albrecht S, Hsu HH, Massey DH, Mizuno Y, Poewe W, Rascol O, Marek K (2013) Pramipexole in patients with early Parkinson's disease (PROUD): a randomised delayed-start trial. *Lancet Neurol.*
- Scherman D, Desnos C, Darchen F, Pollak P, Javoy-Agid F, Agid Y (1989) Striatal dopamine deficiency in Parkinson's disease: role of aging. *Ann Neurol.* 26: 551-557.
- Schierring E (1981) Psychopathology induced by "speed drugs". *Pharmacol Biochem Behav.* 14 Suppl 1: 109-122.
- Schneider JS, Pioli EY, Jianzhong Y, Li Q, Bezard E (2012) Levodopa improves motor deficits but can further disrupt cognition in a macaque parkinson model. *Mov Disord.*
- Schott BH, Niehaus L, Wittmann BC, Schutze H, Seidenbecher CI, Heinze HJ, Duzel E (2007) Ageing and early-stage Parkinson's disease affect separable neural mechanisms of mesolimbic reward processing. *Brain.* 130: 2412-2424.
- Schultz W (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol.* 80: 1-27.
- Schultz W (2000) Multiple reward signals in the brain. *Nat Rev Neurosci.* 1: 199-207.
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol.* 57: 87-115.
- Schwartzing RK, Huston JP (1996) The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol.* 50: 275-331.
- Semchuk KM, Love EJ, Lee RG (1992) Parkinson's disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology.* 42: 1328-1335.
- Shiflett MW, Brown RA, Balleine BW (2010) Acquisition and performance of goal-directed instrumental actions depends on ERK signaling in distinct regions of dorsal striatum in rats. *J Neurosci.* 30: 2951-2959.
- Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Iwai K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki T (2000) Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature genetics.* 25: 302-305.
- Shoptaw SJ, Kao U, Heinzerling K, Ling W (2009) Treatment for amphetamine withdrawal. *Cochrane Database Syst Rev.* CD003021.
- Shoulson I, Oakes D, Fahn S, Lang A, Langston JW, LeWitt P, Olanow CW, Penney JB, Tanner C, Kieburtz K, Rudolph A (2002) Impact of sustained deprenyl (selegiline) in levodopa-treated Parkinson's disease: a randomized placebo-controlled extension of

- the deprenyl and tocopherol antioxidative therapy of parkinsonism trial. *Ann Neurol.* 51: 604-612.
- Silveira-Moriyama L, Evans AH, Katzenschlager R, Lees AJ (2006) Punding and dyskinesias. *Mov Disord.* 21: 2214-2217.
- Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muenter M, Baptista M, Miller D, Blancato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K (2003) alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science.* 302: 841.
- Skinner B (1938) *The behavior of organisms: an experimental analysis:* Copley Publishing Group.
- Slutske WS, Caspi A, Moffitt TE, Poulton R (2005) Personality and problem gambling: a prospective study of a birth cohort of young adults. *Archives of general psychiatry.* 62: 769-775.
- Smith KS, Tindell AJ, Aldridge JW, Berridge KC (2009) Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behav Brain Res.* 196: 155-167.
- Smith RJ, Lobo MK, Spencer S, Kalivas PW (2013) Cocaine-induced adaptations in D1 and D2 accumbens projection neurons (a dichotomy not necessarily synonymous with direct and indirect pathways). *Current opinion in neurobiology.*
- Solla P, Cannas A, Floris GL, Orofino G, Costantino E, Boi A, Serra C, Marrosu MG, Marrosu F (2011) Behavioral, neuropsychiatric and cognitive disorders in Parkinson's disease patients with and without motor complications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 35: 1009-1013.
- Solomon RL, Corbit JD (1973) An opponent-process theory of motivation. II. Cigarette addiction. *J Abnorm Psychol.* 81: 158-171.
- Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M (1998) alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 6469-6473.
- Stanley-Jones D (1956) The anatomy of rigidity and tremor. *J Nerv Ment Dis.* 124: 163-166.
- Steeves TD, Miyasaki J, Zurowski M, Lang AE, Pillecchia G, Van Eimeren T, Rusjan P, Houle S, Strafella AP (2009) Increased striatal dopamine release in Parkinsonian

- patients with pathological gambling: a [11C] raclopride PET study. *Brain*. 132: 1376-1385.
- Stoof JC, Booij J, Drukarch B, Wolters EC (1992) The anti-parkinsonian drug amantadine inhibits the N-methyl-D-aspartic acid-evoked release of acetylcholine from rat neostriatum in a non-competitive way. *Eur J Pharmacol*. 213: 439-443.
- Szamosi A, Nagy H, Keri S (2013) Delay discounting of reward and caudate nucleus volume in individuals with alpha-synuclein gene duplication before and after the development of Parkinson's disease. *Neuro-degenerative diseases*. 11: 72-78.
- Tanner CM (1992) Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurologic clinics*. 10: 317-329.
- Tekumalla PK, Calon F, Rahman Z, Birdi S, Rajput AH, Hornykiewicz O, Di Paolo T, Bedard PJ, Nestler EJ (2001) Elevated levels of DeltaFosB and RGS9 in striatum in Parkinson's disease. *Biol Psychiatry*. 50: 813-816.
- Tellez C, Bustamante ML, Toro P, Venegas P (2006) Addiction to apomorphine: a clinical case-centred discussion. *Addiction*. 101: 1662-1665.
- Thobois S, Lhomme E, Klinger H, Ardouin C, Schmitt E, Bichon A, Kistner A, Castrioto A, Xie J, Fraix V, Pelissier P, Chabardes S, Mertens P, Quesada JL, Bosson JL, Pollak P, Broussolle E, Krack P (2013) Parkinsonian apathy responds to dopaminergic stimulation of D2/D3 receptors with piribedil. *Brain*. 136: 1568-1577.
- Thobois S, Ardouin C, Lhomme E, Klinger H, Lagrange C, Xie J, Fraix V, Coelho Braga MC, Hassani R, Kistner A, Juphard A, Seigneuret E, Chabardes S, Mertens P, Polo G, Reilhac A, Costes N, LeBars D, Savasta M, Tremblay L, Quesada JL, Bosson JL, Benabid AL, Broussolle E, Pollak P, Krack P (2010) Non-motor dopamine withdrawal syndrome after surgery for Parkinson's disease: predictors and underlying mesolimbic denervation. *Brain*. 133: 1111-1127.
- Tofaris GK (2012) Lysosome-dependent pathways as a unifying theme in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 27: 1364-1369.
- Troster AI (2008) Neuropsychological characteristics of dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia: differentiation, early detection, and implications for "mild cognitive impairment" and biomarkers. *Neuropsychology review*. 18: 103-119.
- Tsang AH, Chung KK (2009) Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*. 1792: 643-650.

- Uhl GR, Hedreen JC, Price DL (1985) Parkinson's disease: loss of neurons from the ventral tegmental area contralateral to therapeutic surgical lesions. *Neurology*. 35: 1215-1218.
- Uitti RJ, Calne DB (1993) Pathogenesis of idiopathic parkinsonism. *Eur Neurol*. 33 Suppl 1: 6-23.
- Ungerstedt U (1971a) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl*. 367: 1-48.
- Ungerstedt U (1971b) Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl*. 367: 95-122.
- Uslaner JM, Robinson TE (2006) Subthalamic nucleus lesions increase impulsive action and decrease impulsive choice - mediation by enhanced incentive motivation? *Eur J Neurosci*. 24: 2345-2354.
- Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, Muqit MM, Harvey K, Gispert S, Ali Z, Del Turco D, Bentivoglio AR, Healy DG, Albanese A, Nussbaum R, Gonzalez-Maldonado R, Deller T, Salvi S, Cortelli P, Gilks WP, Latchman DS, Harvey RJ, Dallapiccola B, Auburger G, Wood NW (2004) Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science*. 304: 1158-1160.
- Valjent E, Corvol JC, Trzaskos JM, Girault JA, Herve D (2006) Role of the ERK pathway in psychostimulant-induced locomotor sensitization. *BMC neuroscience*. 7: 20.
- van Eimeren T, Ballanger B, Pellecchia G, Miyasaki JM, Lang AE, Strafella AP (2009) Dopamine agonists diminish value sensitivity of the orbitofrontal cortex: a trigger for pathological gambling in Parkinson's disease? *Neuropsychopharmacology*. 34: 2758-2766.
- van Eimeren T, Pellecchia G, Cilia R, Ballanger B, Steeves TD, Houle S, Miyasaki JM, Zurovski M, Lang AE, Strafella AP (2010) Drug-induced deactivation of inhibitory networks predicts pathological gambling in PD. *Neurology*. 75: 1711-1716.
- Vanderschuren LJ, Di Ciano P, Everitt BJ (2005) Involvement of the dorsal striatum in cue-controlled cocaine seeking. *J Neurosci*. 25: 8665-8670.
- Verhagen Metman L, Del Dotto P, van den Munckhof P, Fang J, Mouradian MM, Chase TN (1998) Amantadine as treatment for dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. *Neurology*. 50: 1323-1326.

- Vila M, Levy R, Herrero MT, Faucheux B, Obeso JA, Agid Y, Hirsch EC (1996) Metabolic activity of the basal ganglia in parkinsonian syndromes in human and non-human primates: a cytochrome oxidase histochemistry study. *Neuroscience*. 71: 903-912.
- Vingerhoets FJ, Villemure JG, Temperli P, Pollo C, Pralong E, Ghika J (2002) Subthalamic DBS replaces levodopa in Parkinson's disease: two-year follow-up. *Neurology*. 58: 396-401.
- Voon V, Mehta AR, Hallett M (2011a) Impulse control disorders in Parkinson's disease: recent advances. *Curr Opin Neurol*. 24: 324-330.
- Voon V, Schoerling A, Wenzel S, Ekanayake V, Reiff J, Trenkwalder C, Sixel-Doring F (2011b) Frequency of impulse control behaviours associated with dopaminergic therapy in restless legs syndrome. *BMC neurology*. 11: 117.
- Voon V, Hassan K, Zurowski M, de Souza M, Thomsen T, Fox S, Lang AE, Miyasaki J (2006a) Prevalence of repetitive and reward-seeking behaviors in Parkinson disease. *Neurology*. 67: 1254-1257.
- Voon V, Hassan K, Zurowski M, Duff-Canning S, de Souza M, Fox S, Lang AE, Miyasaki J (2006b) Prospective prevalence of pathologic gambling and medication association in Parkinson disease. *Neurology*. 66: 1750-1752.
- Voon V, Thomsen T, Miyasaki JM, de Souza M, Shafro A, Fox SH, Duff-Canning S, Lang AE, Zurowski M (2007) Factors associated with dopaminergic drug-related pathological gambling in Parkinson disease. *Arch Neurol*. 64: 212-216.
- Voon V, Fernagut PO, Wickens J, Baunez C, Rodriguez M, Pavon N, Juncos JL, Obeso JA, Bezard E (2009) Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson's disease: from dyskinesias to impulse control disorders. *Lancet Neurol*. 8: 1140-1149.
- Voon V, Sohr M, Lang AE, Potenza MN, Siderowf AD, Whetteckey J, Weintraub D, Wunderlich GR, Stacy M (2011c) Impulse control disorders in parkinson disease: A multicenter case-control study. *Ann Neurol*. 69: 986-996.
- Voon V, Reynolds B, Brezing C, Gallea C, Skaljic M, Ekanayake V, Fernandez H, Potenza MN, Dolan RJ, Hallett M (2010) Impulsive choice and response in dopamine agonist-related impulse control behaviors. *Psychopharmacology (Berl)*. 207: 645-659.
- Weintraub D (2009) Impulse control disorders in Parkinson's disease: prevalence and possible risk factors. *Parkinsonism Relat Disord*. 15 Suppl 3: S110-113.

- Weintraub D, Papay K, Siderowf A (2013) Screening for impulse control symptoms in patients with de novo Parkinson disease: a case-control study. *Neurology*. 80: 176-180.
- Weintraub D, Siderowf AD, Potenza MN, Goveas J, Morales KH, Duda JE, Moberg PJ, Stern MB (2006) Association of dopamine agonist use with impulse control disorders in Parkinson disease. *Arch Neurol*. 63: 969-973.
- Weintraub D, Sohr M, Potenza MN, Siderowf AD, Stacy M, Voon V, Whetteckey J, Wunderlich GR, Lang AE (2010a) Amantadine use associated with impulse control disorders in Parkinson disease in cross-sectional study. *Ann Neurol*. 68: 963-968.
- Weintraub D, Koester J, Potenza MN, Siderowf AD, Stacy M, Voon V, Whetteckey J, Wunderlich GR, Lang AE (2010b) Impulse control disorders in Parkinson disease: a cross-sectional study of 3090 patients. *Arch Neurol*. 67: 589-595.
- Werme M, Messer C, Olson L, Gilden L, Thoren P, Nestler EJ, Brene S (2002) Delta FosB regulates wheel running. *J Neurosci*. 22: 8133-8138.
- Widnell K (2005) Pathophysiology of motor fluctuations in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 20 Suppl 11: S17-22.
- Wilson SA (1925) The Croonian lectures on some disorders of motility and muscle tone, with special reference to the corpus striatum. *Lancet*. 209: 53-62.
- Winkler J, Ehret R, Buttner T, Dillmann U, Fogel W, Sabolek M, Winkelmann J, Kassubek J (2011) Parkinson's disease risk score: moving to a premotor diagnosis. *J Neurol*. 258: S311-315.
- Winstanley CA, Bachtell RK, Theobald DE, Laali S, Green TA, Kumar A, Chakravarty S, Self DW, Nestler EJ (2009) Increased impulsivity during withdrawal from cocaine self-administration: role for DeltaFosB in the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex*. 19: 435-444.
- Winstanley CA, LaPlant Q, Theobald DE, Green TA, Bachtell RK, Perrotti LI, DiLeone RJ, Russo SJ, Garth WJ, Self DW, Nestler EJ (2007) DeltaFosB induction in orbitofrontal cortex mediates tolerance to cocaine-induced cognitive dysfunction. *J Neurosci*. 27: 10497-10507.
- Wise RA (2009) Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. *Trends Neurosci*. 32: 517-524.

- Wolgin DL (2012) Amphetamine stereotypy, the basal ganglia, and the "selection problem". *Behav Brain Res.* 231: 297-308.
- Wylie SA, Ridderinkhof KR, Bashore TR, van den Wildenberg WP (2010) The effect of Parkinson's disease on the dynamics of on-line and proactive cognitive control during action selection. *J Cogn Neurosci.* 22: 2058-2073.
- Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci.* 7: 464-476.
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW (2004) Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. *Eur J Neurosci.* 19: 181-189.
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci.* 22: 513-523.
- Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, Chui HC (2003) Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch Neurol.* 60: 337-341.
- Zheng D, Oka T, Bokura H, Yamaguchi S (2008) The key locus of common response inhibition network for no-go and stop signals. *J Cogn Neurosci.* 20: 1434-1442.
- Zhou C, Huang Y, Przedborski S (2008) Oxidative stress in Parkinson's disease: a mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann N Y Acad Sci.* 1147: 93-104.