THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale « *Sciences Biologiques & Santé* »

Secteur de Recherche : Neurosciences

Présentée par :

DECOURT Mélina

****

Physiopathologie des effets secondaires non-moteurs des traitements antiparkinsoniens : modélisation multifactorielle

****

Directeur de Thèse : FERNAGUT Pierre-Olivier

Co-directrice de Thèse : BENOIT-MARAND Marianne

****

Soutenue le 23 Mars 2022
devant la Commission d'Examen

****

JURY

Dr Mathieu WOLFF	INCIA, UMR 5287, Bordeaux	Président
Franck DURIF	EA 7280, Clermont-Ferrand	Rapporteur
Karine GUILLEM	IMN, UMR 5293, Bordeaux	Rapportrice
Pierre-Olivier FERNAGUT	LNEC, INSERM U1084, Poitiers	Membre
Marianne BENOIT-MARAND	LNEC, INSERM U1084, Poitiers	Membre

REMERCIEMENTS

Mes premiers mots iront à mes directeurs de thèse, Pierre-Olivier Fernagut et Marianne Benoît-Marand. Merci pour tout. Pour votre disponibilité, votre écoute, vos conseils, votre confiance... Merci d'avoir été la rationalité et l'optimisme. Merci d'avoir su parfois répondre à mes craintes et parfois calmer mes excès. Merci pour votre bienveillance, tant au point de vue professionnel que pour mes projets personnels. Je ne saurai trouver les mots suffisants pour vous rendre à tous les deux ce que vous avez pu m'apporter au cours de ces années à travailler à vos côtés. Cela a été un réel plaisir d'être votre doctorante et je vous suis reconnaissante de me permettre de poursuivre notre collaboration.

Je tiens ensuite à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse : Franck Durif et Karine Guillem pour en être les rapporteurs ainsi que Mathieu Wolff pour en être l'examinateur.

Merci également à Mohamed Jaber de m'avoir accueillie au sein de son unité, tout d'abord pour la réalisation de mon stage de Master 2 et pour la poursuite de mes recherches en doctorat.

Merci à tous les membres de l'unité avec qui j'ai pu échanger de quelques mots jusqu'à de longues discussions, notamment à Virginie et Emilie. Un merci particulier aux membres de l'équipe, principalement à Éric pour m'avoir apporté un grand nombre de fois de l'aide au niveau informatique, comportement et décryptage de codes ainsi qu'à Anaïs.

Mais je me dois d'adresser un merci tout particulier à Maureen… Merci pour tout. D'abord pour ton implication sans faille dans tous mes projets de recherche. Merci pour les longues heures passées au cryostat, pour les longues mises au point d'immuno et pour le nombre incalculable de coupes montées. Mais merci également pour tout le reste. Pour m'avoir soutenue les jours de moins bien, pour m'avoir écoutée me plaindre (parfois), avoir peur (d'autres fois) et pour ces innombrables discussions à la paillasse de l'IBMIG en écoutant RTL2, au cryostat ou simplement dans le couloir de ton bureau. Merci d'avoir été et d'être toujours là.

Audrey, bien que tu fasses parti du labo, tu es bien plus qu'une collègue. Merci pour tout ce que tu m'as apportée tout au long de ces années, ton soutien, ta franchise, ton aide, ta joie de vivre (tes GIF toujours bien trouvés et nos 50 messages quotidiens) et pour m'avoir souvent remonté le moral et aidé à prendre les choses du bon côté. Rien n'aurait été pareil sans toi. Ne change rien !

Maëlig et Mathieu, merci pour ces moments de bienveillance et de tolérance. Ils m'ont permis de m'évader un peu, surtout en cette fin de thèse. Vous avez été une petite éclaircie dans mon ciel parfois tout gris (avec ça, j'ai au moins quelques pièces d'avance dans la cagnotte non ?!). Blague à part, ça a été un plaisir de vous côtoyer et de partager votre bureau.

Cloé, mon petit boute-en-train ! Merci d'avoir été là, physiquement tous les jours pendant longtemps et plus à distance par la suite. Se fût un réel plaisir de partager tes journées et de travailler avec toi. Tu rends la vie plus légère. Merci pour les « petites » pauses café, pour tous tes petits mots d'encouragement, pour

tes formidables chansons et pour ton anglais incroyable improbable, mes zygomatiques s'en souviennent !

Je tenais également à remercier l'équipe de PREBIOS, pour la gestion et l'aide apportée.

Angèle et Simon, Angélique et Benoît, merci de m'avoir sortie de mon quotidien de recherche le temps d'un appel (minimum deux heures…), d'une soirée raclette, d'un week-end ou d'un chocolat chaud. Merci de m'avoir soutenue et de parfois avoir fait semblant de comprendre ce que je vous racontais ! Merci d'être encore là, après ces nombreuses (ne pas compter…) années.

Un merci particulièrement empreint d'émotions à mes parents. Merci de croire en moi, je suis celle que je suis actuellement grâce à vous. Merci de passer outre mon caractère parfois « un peu » trempé… de me soutenir et d'accepter de parfois ne pas pouvoir parler quand j'ai trop de choses à raconter. Merci d'être vous et d'être toujours là pour moi, sans condition.

Jacques, je vis avec toi le plus merveilleux rôle de ma vie. Merci d'être là pour sécher mes larmes et accueillir mes bonheurs. Merci pour ton honnêteté et ton amour. Je me passerais d'un long discours, tu sais déjà l'essentiel.

Merci Daphnée, mon bébé d'amour. Pour tes doux sourires et ton rire communicatif. Un peu moins pour le manque de sommeil mais apparemment c'est le jeu ! Tu m'as permis de prendre du recul et te retrouver est mon petit bonheur quotidien. Tu égayes mes journées, mes soirées et rien ne vaut ton regard pétillant. Merci pour tout ça.

RÉSUMÉ

Mon travail de thèse porte sur l'étude des troubles du contrôle des impulsions (TCI) induits après la prise de traitement aux agonistes dopaminergiques dans le cadre de la maladie de Parkinson (MP). Cette stratégie pharmacologique permet une restauration des déficits moteurs de la MP mais engendre ces effets secondaires après quelques mois à quelques années de traitements. Les études que j'ai menées avaient pour but d'explorer l'impact d'une dégénérescence dopaminergique de la voie nigrostriée et d'un traitement chronique au pramipexole (agoniste dopaminergique D3/D2) sur différents comportements. De ce fait, le premier axe de ma thèse est focalisé sur l'étude de la flexibilité cognitive dans un modèle de rat de MP. J'ai ainsi mis en évidence une susceptibilité individuelle quant à l'effet délétère de la dégénérescence dopaminergique et du pramipexole sur cette fonction exécutive, les animaux caractérisés comme flexibles étant les plus impactés. D'autre part, il n'existe pas de modèle de TCI courant, reproductible et facile à mettre en place. Le second axe de mon travail a donc été d'en générer un en se basant sur différents tests comportementaux, spontané (l'amassement de nourriture) ou opérant (le Post-Training Signal Attenuation ou PTSA). Nous n'avons pas mis en évidence d'impact cumulé de la dégénérescence dopaminergique et du traitement chronique au pramipexole dans le test d'amassement de nourriture. En revanche, une augmentation de l'interaction avec la nourriture est induite par le traitement, chez les individus contrôles et lésés. Le test opérant de PTSA s'est révélé plus discriminant. Effectivement, les animaux dénervés dans la voie nigrostriatale et sous traitement chronique au pramipexole sont ceux qui réalisent le plus d'essais non complétés dans la phase d'extinction du signal bien que cet effet soit modeste. Par la suite, l'implication du cortex orbitofrontal dans les fonctions exécutives et son désengagement après dénervation

nigrostriatale et traitement au pramipexole nous a amené à étudier la boucle associative dans la voie cortex orbitofrontal vers le striatum dorsomédian. Des travaux antérieurs sur les boucles motrices ont mis en évidence des déficits de plasticité synaptique dans le cadre des dyskinésies et nous avons cherché à faire le parallèle avec de possibles altérations de la plasticité synaptique dans les boucles associatives dans le cadre des effets secondaires non moteurs que sont les TCI. Pour finir, ce dernier axe de ce travail s'est donc basé sur l'étude électrophysiologique des paramètres de plasticité synaptique dans la voie cortex orbitofrontal et striatum dorsomédian. Cette étude nous a permis de mettre en évidence une inversion de plasticité induite par la lésion de la voie nigrostriée ainsi que par le traitement au pramipexole tandis que la combinaison des deux ne restaure pas la plasticité synaptique normale.

Nos travaux ont donc permis de renforcer nos connaissances sur la physiopathologie des effets secondaires non moteurs induits par le traitement au pramipexole en identifiant des facteurs de risques individuels comme le niveau prémorbide de fonctions exécutives. En effet, les performances prémorbides de flexibilité cognitive détermineraient l'impact de la lésion et du traitement. Cependant, ces résultats sont encore à étayer et le développement d'un modèle animal reproduisant les TCI observés chez les patients reste un objectif à atteindre. Nous avons effectivement obtenu des résultats différents sur l'étude des comportements spontanés et opérants avec respectivement des effets du pramipexole seul et des effets combinés de la lésion et du traitement. De plus, notre investigation électrophysiologique a permis de mettre en évidence un impact identique de la lésion, du pramipexole, et de la lésion combinée au traitement au pramipexole sur les boucles associatives médiée par la voie cortex orbitofrontal / striatum dorsomédian, visualisé par un défaut de plasticité synaptique.

ABSTRACT

My thesis project focuses on the study of impulse control disorders (ICD) induced after treatment with dopaminergic agonists in the context of Parkinson's disease (PD). Indeed, this pharmacological strategy allows a restoration of motor deficits of PD but generates these side effects after a few months to a few years of treatment. These studies investigate the impact of dopaminergic degeneration of the nigrostriatal pathway and chronic pramipexole treatment (dopaminergic agonist D3/D2) on different behaviours. Thus, the first axis of my thesis project is focused on the study of cognitive flexibility in a rat model of PD and highlighted an individual susceptibility for the deleterious effect of dopaminergic degeneration and pramipexole on this executive function. Flexible animals are the most impaired. In addition, there is no ICD animal model which would be common, reproducible and easy to set up. Then, a second axis of my thesis project has been to develop a model of ICD, based on the study of different behavioural tests, spontaneous (food hoarding) or operant compulsive behaviour (Post Training Signal Attenuation task, PTSA). We did not find any cumulative impact of dopaminergic degeneration and chronic pramipexole treatment in tests based on the study of animals' natural behaviours. In contrast, an increase of the interaction with food pellets was induced by the pramipexole treatment, in sham and lesioned animals. The operant behavioural PTSA test turned out to be more discriminating. Indeed, the nigrostriatal denervation followed by a pramipexole treatment induced an increase of uncompleted trials during the extinction phase although this effect was modest. Then, the involvement of the orbitofrontal cortex in executive functions and its compromised engagement after nigrostriatal denervation and treatment led us to study the associative loop in the orbitofrontal cortex toward dorsomedian striatum pathway. Previous studies on motor

loops highlighted synaptic plasticity deficits in a context of dyskinesias after treatment of PD and we wanted to draw a parallel with some possible alterations of synaptic plasticity on associative loops in a context of non-motor side effects (ICD) after dopaminergic treatment. Finally, the last axis of this project is based on the electrophysiological study of synaptic plasticity parameters in the orbitofrontal cortex and dorsomedian striatum pathway. This project allowed us to highlight an inversion of plasticity induced by nigrostriatal pathway degeneration and by pramipexole treatment while the combination of the two does not restore it.

Our studies strengthened our knowledge of the pathophysiology of pramipexole induced ICD identifying individual risk factors such as the premorbid abilities on executive function. In fact, the premorbid abilities in cognitive flexibility would determine the impact of nigrostriatal lesion and pramipexole treatment. However, these results still need to be underpinned and the development of an animal model mimicking strongly the ICD remains a goal to reach. We have obtained different results on the study of spontaneous and operant behaviour respectively with an impact of pramipexole treatment only and by the combination effects of nigrostriatal lesion and pramipexole treatment. Moreover, our electrophysiological investigation highlights a similar effect of nigrostriatal lesion, pramipexole treatment and nigrostriatal lesion combined with pramipexole treatment on the associative loop mediated by the orbitofrontal cortex / dorsomedian striatum pathway and visualized by a synaptic plasticity deficit.

TABLE DES MATIÈRES

ABBRÉVIATIONS **15**

TABLE DES ILLUSTRATIONS **17**

AVANT-PROPOS **19**

INTRODUCTION **21**

CHAPITRE 1 – LA MALADIE DE PARKINSON 22

1. ÉPIDÉMIOLOGIE 23

2. PHYSIOPATHOLOGIE 26

2.1. Les ganglions de la base 26

2.1.1. Physiologie 26

2.1.2. Noyaux et voies dopaminergiques 28

2.1.3. Récepteurs dopaminergiques (RcD) 30

2.1.4. Pathologie, cas de la Maladie de Parkinson 31

3. L'ALPHA-SYNUCLÉINE 33

3.1. Structures et fonctions 33

3.1.1. Structures physiologiques et pathologiques 33

3.1.2. Fonctions physiologiques 35

3.2. Processus pathologique d'agrégation de l'alpha-synucléine 37

4. AUTRES DYSFONCTIONS - NEURODÉGÉNÉRESCENCE 39

4.1. Dysfonction mitochondriale et stress oxydatif 39

4.2. Niveau de fer 39

4.3. Niveau de calcium 40

4.4. Dégénérescence des neurones dopaminergiques 40

5. LES MODÈLES ANIMAUX DE Maladie de Parkinson 41

CHAPITRE 2 – LES SYMPTÔMES DE LA MALADIE DE PARKINSON 45

1. Les symptômes moteurs 46

1.1. La rigidité 46

1.2. La bradykinésie 46

1.3. Les tremblements de repos 47

1.4. L'instabilité posturale 47

2. Les symptômes non-moteurs 47

2.1. Anosmie 49
2.2. Altérations du rythme circadien 49
2.3. Dysfonctions du système nerveux autonome 50
2.4. Troubles de l'humeur 50
2.5. Fatigue et douleurs 51
2.6. Troubles cognitifs 52
2.6.1. Mémoire à court terme et attention. 52
2.6.2. Mémoire à long terme et apprentissage. 53
2.6.3. Contrôle inhibiteur. 53
2.6.4. Flexibilité cognitive. 54
2.7. Démence 55
CHAPITRE 3 – LES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES 57
1. LES DIFFÉRENTS TYPES DE TRAITEMENTS 58
1.1. IMAO-B 60
1.2. L-DOPA 60
1.3. Agonistes dopaminergiques 61
2. LES EFFETS SECONDAIRES DES TRAITEMENTS 63
2.1. Dyskinésies L-DOPA induites 63
2.2. Troubles du contrôle de impulsions (TCI) 65
2.2.1. Le jeu pathologique 67
2.2.2. L'hypersexualité 68
2.2.3. Les troubles du contrôle de la prise alimentaire. 68
2.2.4. Les achats compulsifs. 69
2.2.5. Le « punding », le « hoarding » et le « hobbyism » 69
2.3. Hypothèse de l'overdose dopaminergique 72
***OBJECTIFS DE LA THÈSE* 73**
***MÉTHODES* 75**
CHAPITRE 1 – CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES 76
CHAPITRE 2 – EXPÉRIMENTATIONS 79
1. INDUCTION DE LA LÉSION DOPAMINERGIQUE ET TRAITEMENT AU PRAMIPEXOLE 80
1.1. Chirurgie 80
1.2. Traitement 81
2. TESTS COMPORTEMENTAUX 81

2.1. Le stepping test 81
2.2. Le test de flexibilité cognitive 82
2.3. Le test d'amassement 84
2.4. Le test de « signal attenuation » 86
3. ÉLECTROPHYSIOLOGIE 88
4. ANALYSES POST-MORTEM 90
4.1. Coupes et Immunohistochimie 90
4.2. Evaluation de la neurodégénérescence par comptage stéréologique des neurones TH positifs et de la densité de neurones c-fos positifs 90
4.3. Statistiques 91
RÉSULTATS 92
1. Flexibilité cognitive et MP, identification d'une susceptibilité individuelle. 93
1.1. Résultats principaux 93
ARTICLE 1 – LOSS OF BEHAVIOURAL FLEXIBILITY DEPENDS ON INDIVIDUAL PREMORBID PERFORMANCES IN EXPERIMENTAL PARKINSONISM 96
1.2. Résultats complémentaires 119
2. Comportement spontané et opérant : quel impact de la dénervation nigrostriatale et du pramipexole ? 121
2.1. Comportement spontané : l'amassement. 121
2.2. Comportement opérant : le « Post-Training Signal Attenuation » (PTSA). 122
ARTICLE 2 – ASSESSMENT OF REPETITIVE AND COMPULSIVE BEHAVIOURS INDUCED BY PRAMIPEXOLE IN RATS: EFFECT OF ALPHA-SYNUCLEIN-INDUCED NIGROSTRIATAL DEGENERATION 125
2.3. Analyses supplémentaires 139
3. Plasticité synaptique fronto-striatale : quel impact de la dénervation nigrostriatale et du pramipexole ? 142
PROJETS COLLABORATIFS 147
1. Susceptibilité interindividuelle à la dénervation dopaminergique de rats hétérozygotes ou homozygotes pour le gène ATP13A2. 148
2. Recherche d'un biomarqueur précoce de maladie de Parkinson. 152
DISCUSSION GÉNÉRALE 154
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 173

ANNEXES **.....178**

ANNEXE 1 : REVUE DECOURT ET AL., 2021 .....

NEUROPSYCHIATRIC AND COGNITIVE DEFICITS IN PARKINSON'S DISEASE AND THEIR MODELING IN RODENTS 179

ANNEXE 2 : PROJET COLLABORATIF AVEC L'EQUIPE DE SABRINA BOULET ET FLORENCE FAUVELLE (GIN) .....

A METABOLIC BIOMARKER FOR EARLY STAGE OF PARKINSON'S DISEASE IN PATIENTS AND ANIMAL MODELS . 207

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES **.....258**

ABBRÉVIATIONS

5-HT : 5-hydroxytryptamine

6-OHDA : 6-hydroxy-dopamine

AADC : Dopa décarboxylase

AAV : Adeno Associated virus

AP : Antéro-postériorité

ARNm : Acide Ribonucléique messager

ATV : Aire Tegmentale Ventrale

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CNO : Clozapine-N-Oxide

COMT : Catechol-O-methyltransferase

CTL : Contrôle

DAT : Dopamine Active Transporter

DLT : Dépression Long Terme

DOPAC : Acide dihydroxyphénylalcétique

DMS : Striatum dorsomedian

DREADD : Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug

ELP-C/U : Extra lever-press in completed/uncompleted

FLEX : Flexible

GABA : Acide γ-aminobutyrique

GFP : Green Fluorescent Protein

GPe/i : Globus Pallidus externe/interne

HET : Hétérozygote

HOMO : Homozygote

IMAO : Inhibiteur de monoamine-oxydase

IMN : Institut des Maladies Neurodégénératives

INFLEX : Inflexible

INT : Intermédiaire

KO : Knock-out

L : Latéralité

L-DOPA : (L)-3,4 dihydroxyphénylalanine

LP : Lever Press Training

LR : Levier Renforçant

LV : Lentivirus

MAO : Monoamine-oxydase

MP : Maladie de Parkinson

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

MT : Magazine Training

NAcc : Noyau Accumbens

NEM : Neurone épineux de taille moyenne

NST : Noyau Sous-Thalamique

OFC : Cortex orbitofrontal

P : Profondeur

PFC : Cortex préfrontal

PPF : Fibrilles Préformées

PLT : Potentialisation Long Terme

PPX : Pramipexole

PTSA : Post Training Signal Attenuation

RcD : Récepteur Dopaminergique

ROS : Reactive oxygen species

SHF : Stimulation Haute Fréquence

SNARE : Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment protein REceptor

SNc/r : Substance noire pars compacte/pars réticulée

STR : Striatum

TCI : Troubles du contrôle des impulsions

TH : Tyrosine hydroxylase

TOC : Trouble Obsessionnel Compulsif

VMAT : Vesicule Monoanime Transporter

WCST : Winconsin Card Sorting Test

WPRE : Woodchuch Hepatitis Virus Post Transcriptional Response Element

WT : Wild-type

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

FIGURE 1 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA PREVALENCE DE LA MALADIE DE PARKINSON..... 23
FIGURE 2 : MECANISMES D'ACTION DES MOLECULES TOXIQUES ENVIRONNEMENTALES INDUISANT UNE DEGENERESCENCE DOPAMINERGIQUE ET IMPLIQUEES DANS LA MALADIE DE PARKINSON (CICCHETTI ET AL., 2009.). 25
FIGURE 3 : ORGANISATION ANATOMO-FONCTIONNELLE DES GANGLIONS DE LA BASE (OBESO ET AL., 2008)..... 27
FIGURE 4 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ORGANISATION DES GANGLIONS DE LA BASE, AVEC LA MODULATION DOPAMINERGIQUE DE LA SNC (RODRIGUEZ-OROZ ET AL., 2009). 28
FIGURE 5 : CHANGEMENTS IMPLIQUES DANS LE CIRCUIT MOTEUR DES GANGLIONS DE LA BASE APRES DEGENERESCENCE DES NEURONES DOPAMINERGIQUES DE LA SNC (POEWE ET AL., 2017). 32
FIGURE 6 : SCHEMA REPRESENTANT LES DIFFERENTES CONFORMATIONS DE L'ALPHA-SYNUCLEINE, PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES (BURRE ET AL., 2015). 35
FIGURE 7 : PROGRESSION THEORIQUE DES AGREGATS D'ALPHA-SYNUCLEINE DANS LA MALADIE DE PARKINSON D'APRES L'ECHELLE DE BRAAK (BRAAK ET AL., 2003; JELLINGER, 2014). 38
FIGURE 8 : ILLUSTRATION DE LA PROGRESSION DES SYMPTOMES NON-MOTEURS DE LA MP DANS LA POPULATION PARKINSONIENNE EN FONCTION DU TEMPS, AVANT ET APRES DIAGNOSTIC. 48
FIGURE 9 : ILLUSTRATION DE L'ENSEMBLE DES SYMPTOMES MOTEURS ET NON MOTEURS DE LA MP. 56
FIGURE 10 : DESCRIPTIF DES DIFFERENTES ALTERNATIVES MEDICAMENTEUSES PROPOSEES AUX PATIENTS PARKINSONIENS (HAS, GUIDE DU PARCOURS DE SOINS, MALADIE DE PARKINSON, SEPTEMBRE 2016). 58
FIGURE 11 : CIBLES DES TRAITEMENTS DOPAMINERGIQUES DE LA MP (POEWE ET AL., 2017)..... 59
FIGURE 12 : RECAPITULATIF DES DIFFERENTS FACTEURS DE RISQUES DEMOGRAPHIQUES, CLINIQUES, PREMORBIDES, NEURONAUX, ASSOCIES AU DEVELOPPEMENT DE TCI DANS LA MP (D'APRES WEINTRAUB AND CLAASSEN, 2017). 66
FIGURE 13 : ILLUSTRATION DU TEST DE FLEXIBILITE COMPORTEMENTALE REALISE EN CAGE OPERANTE. 83
FIGURE 14 : IMAGE EXTRAITE D'UN TEST D'AMASSEMENT. 85
FIGURE 15 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU TEST DE "SIGNAL ATTENUATION". 86
FIGURE 16 : RECAPITULATIF DU PROTOCOLE DE STIMULATION HAUTE FREQUENCE..... 89

FIGURE 17 : EFFETS DE LA DEGENERESCENCE DOPAMINERGIQUE ET DU PRAMIPEXOLE SUR LES SCORES D'INFLEXIBILITE. 95
FIGURE 18 : EXPRESSION DE C-FOS DANS LE STRIATUM, LE NOYAU ACCUMBENS, LE CORTEX PREFRONTAL ET LE CORTEX ORBITOFRONTAL. 120
FIGURE 19 : RECAPITULATIF GRAPHIQUE DES DONNEES D'AMASSEMENT ET DE PTSA. 123
FIGURE 20 : RESULTATS COMPLEMENTAIRES DE L'ANALYSE DU COMPORTEMENT EN PTSA. 141
FIGURE 21: SCHEMATISATION DES MESURES DES PARAMETRES DE DUREE ET DE LATENCE DE REPONSE DES NEURONES DU STRIATUM DORSOMEDIAN APRES UNE REPONSE DE LA STIMULATION DU CORTEX ORBITOFRONTAL. 143
FIGURE 22 : PROBABILITES DE REPONSE DES NEURONES STRIATAUX APRES UNE STIMULATION DU CORTEX ORBITOFRONTAL. 145
FIGURE 23 : ESTIMATION DE L'AKINESIE PAR STEPPING TEST DES RATS FEMELLES ET MALES, WT, HETEROZYGOTES (HET) ET HOMOZYGOTES (HOMO) POUR LE GENE ATP13A2. 149
FIGURE 24 : RESULTATS DU PANEL DE TESTS NEURODEVELOPPEMENTAUX DE SHIRPA DES INDIVIDUS ATP13A2 EN FONCTION DU GENOTYPE ET DU GENRE. 151
FIGURE 25 : RESUME GRAPHIQUE DU PROJET COLLABORATIF AVEC L'EQUIPE DU GRENOBLE INSTITUT NEUROSCIENCES. 153

Tableau

TABLEAU 1 : RECAPITULATIF DES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES AGONISTES DOPAMINERGIQUES EN FONCTION DE LEUR AFFINITE POUR LES DIFFERENTS TYPES DE RCD (1 A 5) ET AUTRES RECEPTEURS (5-HT : SEROTONINERGIQUES, A : ADRENERGIQUES). 62

AVANT-PROPOS

La maladie de Parkinson est principalement caractérisée par la dégénérescence dopaminergique de la voie nigrostriée associée à la présence d'agrégats protéiques d'alpha-synucléine induisant des déficits moteurs largement décrits (rigidité, bradykinésie, tremblements de repos et instabilité posturale) ainsi que des déficits non-moteurs, plus ou moins précoces (Jellinger, 2017; Samii et al., 2004). Les stratégies pharmacologiques proposées aux patients induisent des effets secondaires (i) moteurs, appelés dyskinésies, notamment après la prise de L-DOPA (précurseur de la dopamine) chez la quasi-totalité des patients après 5 à 10 ans de traitements (Bezard et al., 2001), et (ii) non-moteurs, notamment des troubles du contrôle des impulsions (TCI), après la prise d'agonistes dopaminergiques tel que le pramipexole (PPX) chez 30% des patients (Antonini et al., 2017; Weintraub et al., 2010). Les TCI ont un impact non négligeable sur la qualité de vie des patients et de leur entourage, et peuvent avoir des conséquences sociales, financières et légales importantes. Ils sont caractérisés par des addictions comportementales comme de l'hypersexualité, du jeu pathologique, de la prise compulsive de nourriture ou des comportements stéréotypés et répétitifs sans bénéfice notable.

La physiopathologie des TCI et les mécanismes sous-tendant leur développement restent encore largement peu décrits bien que les traitements dopaminergiques soient connus pour induire une stimulation excessive des voies dopaminergiques impactées dans la MP et pouvant mener à ces troubles, proches des comportements addictifs. De plus, quelques études cliniques d'imagerie cérébrale ont permis de mettre en évidence des voies cérébrales impactées par les TCI telle que la voie fronto-striatale du cortex orbitofrontal (OFC) vers le

striatum dorsomédian (DMS) (Carriere et al., 2015; Cilia et al., 2011). Cependant, ces études étant réalisées chez le patient, elles permettent parfois un suivi longitudinal mais l'évaluation comportementale en amont du diagnostic clinique est impossible, et le manque d'un modèle animal validé rend difficile l'analyse des mécanismes sous-jacents.

L'implication de la voie nigrostriée et l'impact des traitements dopaminergiques ont été étudiés dans différents processus cognitifs telle que l'impulsivité (Engeln et al., 2016) mais restaient à décrire dans le processus de flexibilité cognitive. Cette fonction exécutive est connue pour impliquer des structures corticales et notamment le cortex préfrontal et le cortex orbitofrontal (Monchi et al., 2004; Ravizza and Ciranni, 2002), également mis en jeu dans le développement des TCI. De plus, une altération de la transmission entre le cortex moteur et le striatum dorsolatéral a été mise en évidence après une dénervation de la voie nigrostriée dans des modèles animaux de MP : une dysfonction synaptique caractérisée par une perte des mécanismes de plasticité à long-terme, partiellement corrigée par l'administration de L-DOPA mais accompagnée d'une perte des mécanismes de dépression à long-terme pour les individus traités et développant des dyskinésies (Picconi et al., 2003, 2005). Dans le cadre de la physiopathologie des TCI, l'impact de la dégénérescence dopaminergique nigrostriatale sur la transmission entre le cortex orbitofrontal et le striatum dorsomédian reste à étudier.

Mes travaux de thèse se sont donc intéressés à l'élargissement de la compréhension de la physiopathologie des TCI à l'aide de différentes approches stratégiques de modélisation (comportements spontanés *vs* conditionnements opérants) et d'une approche électrophysiologique visant à déterminer l'impact de la dégénérescence dopaminergique nigrostriatale et d'un traitement antiparkinsonien sur la plasticité frontostriatale.

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 –

LA MALADIE DE PARKINSON

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

Premièrement décrite par James Parkinson en 1817 dans « An essay on the shaking palsy » (Parkinson, 2002), la maladie de Parkinson (MP) est actuellement la deuxième maladie neurodégénérative la plus commune après la maladie d'Alzheimer. Elle touche environ 200 000 personnes en France et l'âge moyen de diagnostic est de 58 ans (d'après la circulaire SG/DGOS/R4/DGS/MC3/ DGCS/3A/CNSA no 2015-281 du 7 septembre 2015 relative à la mise en œuvre du plan maladies neurodégénératives 2014-2019). Plusieurs formes précoces ont été décrites, principalement génétiques. La prévalence est dépendante du genre et augmente avec le vieillissement de la population, jusqu'à un âge moyen compris entre 85 et 89 ans (figure 1).

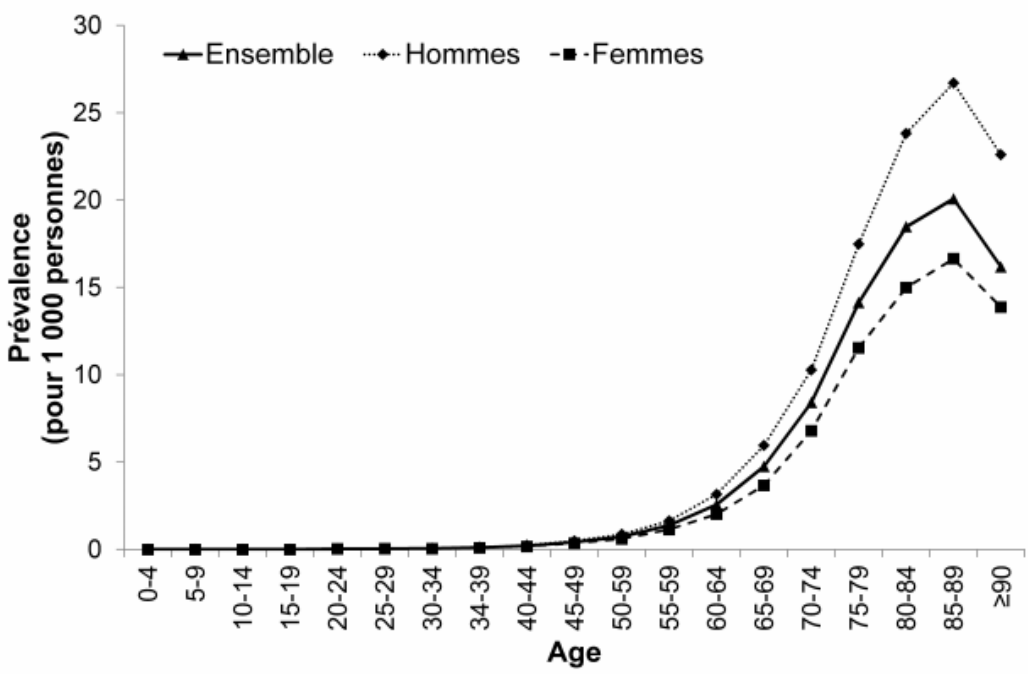


Figure 1 : Représentation graphique de la prévalence de la Maladie de Parkinson en 2015 selon l'âge et le genre des patients (Fréquence de la maladie de Parkinson en France, données nationales et régionales 2010-2015).

La MP est donc une maladie neurodégénérative progressive, caractérisée par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacte (SNc). Cependant, son étiologie n'est pas encore complètement connue. Elle est dite complexe et multifactorielle, dépendant la plupart du temps de multiples facteurs de risque, environnementaux ou génétiques, bien que la majorité des cas de MP soit sporadique.

L'environnement joue un rôle majeur dans le développement de la maladie (Ascherio and Schwarzschild, 2016). Des disparités géographiques sont retrouvées et les zones les plus impactées sont : les zones à forte ruralité, induisant une exposition prolongée à des produits chimiques comme le paraquat, un herbicide, le maneb, un fongicide (Costello et al., 2009; Liou et al., 1997), ou la roténone, un pesticide (Betarbet et al., 2000) ; et les zones industrielles impliquant une exposition à des solvants organiques et des métaux lourds (Zayed et al., 1990), augmentant la pollution globale de l'environnement. Ces toxines environnementales induisent un dysfonctionnement mitochondrial et une production d'espèces radicalaires aboutissant à une augmentation du stress oxydatif et à la mort neuronale (figure 2).

Des causes génétiques peuvent également induire le développement de la MP. Différents points de mutation sur le gène de l'alpha-synucléine sont connus (comme A30P, E46K, et A53T, A53E, G51D ou H50Q (Krüger et al., 1998; Lesage et al., 2013; Pasanen et al., 2014; Polymeropoulos, 1997)). De plus, la duplication voire la triplication du gène non muté de l'alpha-synucléine peut induire une agrégation protéique pathologique et aboutir à des formes de MP (Ahn et al., 2008; Singleton et al., 2003).

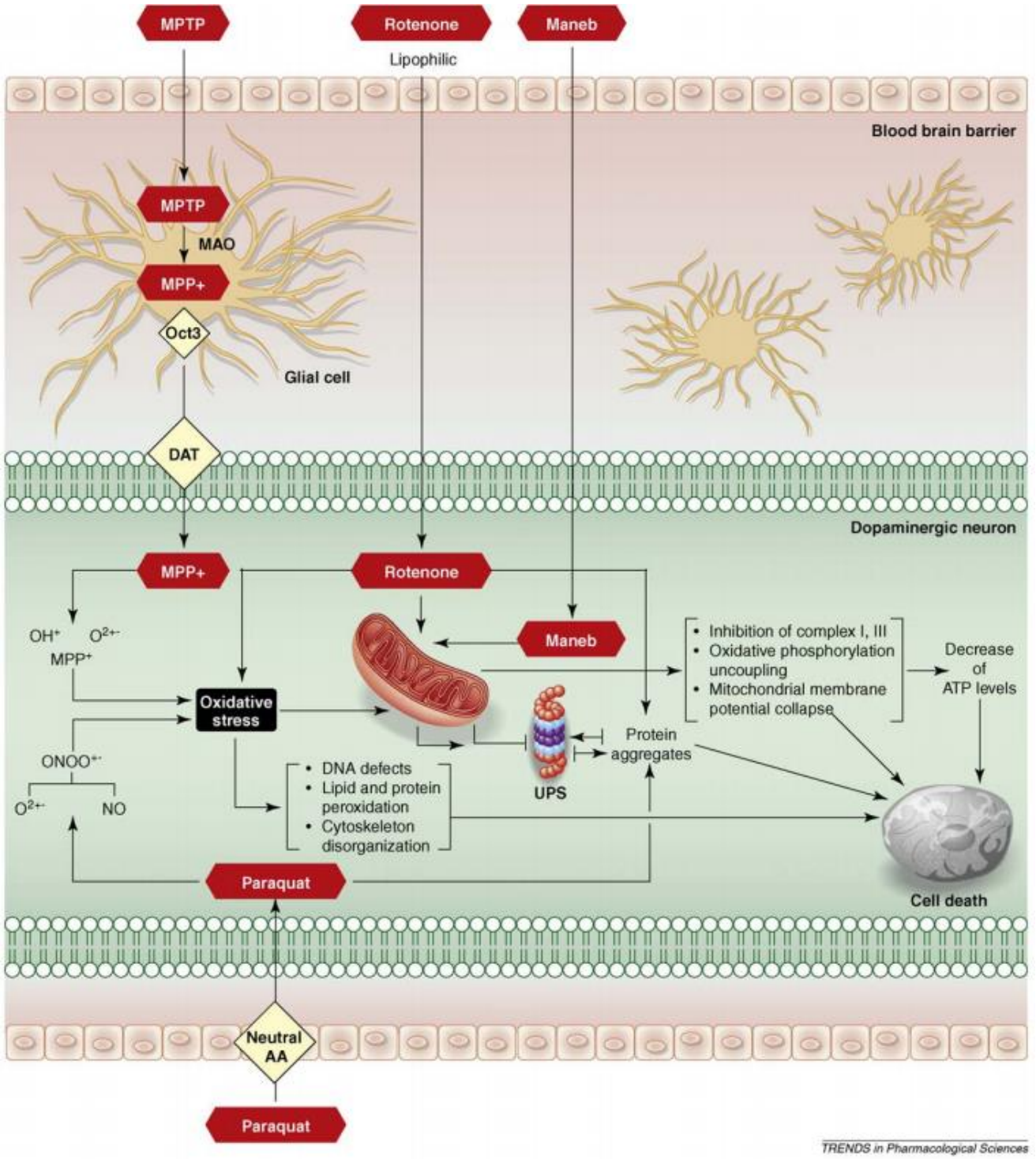


Figure 2 : Mécanismes d'action des molécules toxiques environnementales induisant une dégénérescence dopaminergique et impliquées dans la maladie de Parkinson (Cicchetti et al., 2009.).

MAO : monoamine oxydase, MPTP : 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine, MPP+ : 1-méthyl-4-phénylpyridinium, ATP : Adénosine triphosphate, DAT : transporteur de la dopamine, UPS : ubiquitine proteosome system, Oct 3 : Organic cation transporter 3.

2. PHYSIOPATHOLOGIE

2.1. Les ganglions de la base

2.1.1. Physiologie

Les ganglions de la base, ou noyaux gris centraux, sont un ensemble de structures cérébrales sous-corticales, en relation complexe et étroite avec différentes aires corticales (Albin et al., 1989; Alexander and Crutcher, 1990; Parent, 1990; Smith and Bolam, 1990).

Si les ganglions de la base sont largement impliqués dans la planification et la réalisation des mouvements volontaires, leur rôle ne peut cependant pas être réduit à la motricité. Plusieurs circuits mettant en jeu ces noyaux sont impliqués dans de nombreux processus cognitifs et émotionnels comme la mémoire et l'apprentissage.

Le striatum (STR) et le noyau sous-thalamique (NST) sont définis comme étant les voies d'entrée des ganglions de la base (Gerfen, 2000; Smith et al., 1998), recevant des projections en provenance du cortex. Le STR est très majoritairement (96%) composé de neurones GABAergiques appelés neurones épineux de taille moyenne (NEM) mais contient également des interneurones GABAergiques et cholinergiques. D'autres noyaux sont considérés comme noyaux intermédiaires, permettant une régulation interne *via* leurs efférences glutamatergiques excitatrices ou GABAergiques inhibitrices. Le pôle de sortie est constitué du globus pallidus interne (GPi) et de la substance noire *pars reticulata* (SNr). Ces voies de sortie reçoivent des afférences GABAergiques du STR et glutamatergiques du NST. Le GPi et la SNr projettent sur le thalamus qui lui-même innerve le cortex.

Ainsi, les ganglions de la base sont largement impliqués dans le traitement et l'intégration d'informations. Ils exercent donc une modulation et un rôle primordial de filtre des

informations en provenance du cortex, de par l'effet différentiel de la dopamine sur les deux voies de sortie du STR, directe et indirecte. Trois principaux circuits impliquent les ganglions de la base : le circuit moteur, le circuit associatif et le circuit limbique (figure 3), régulant un large panel de comportements moteurs et cognitifs (François et al., 2004; Obeso et al., 2008).

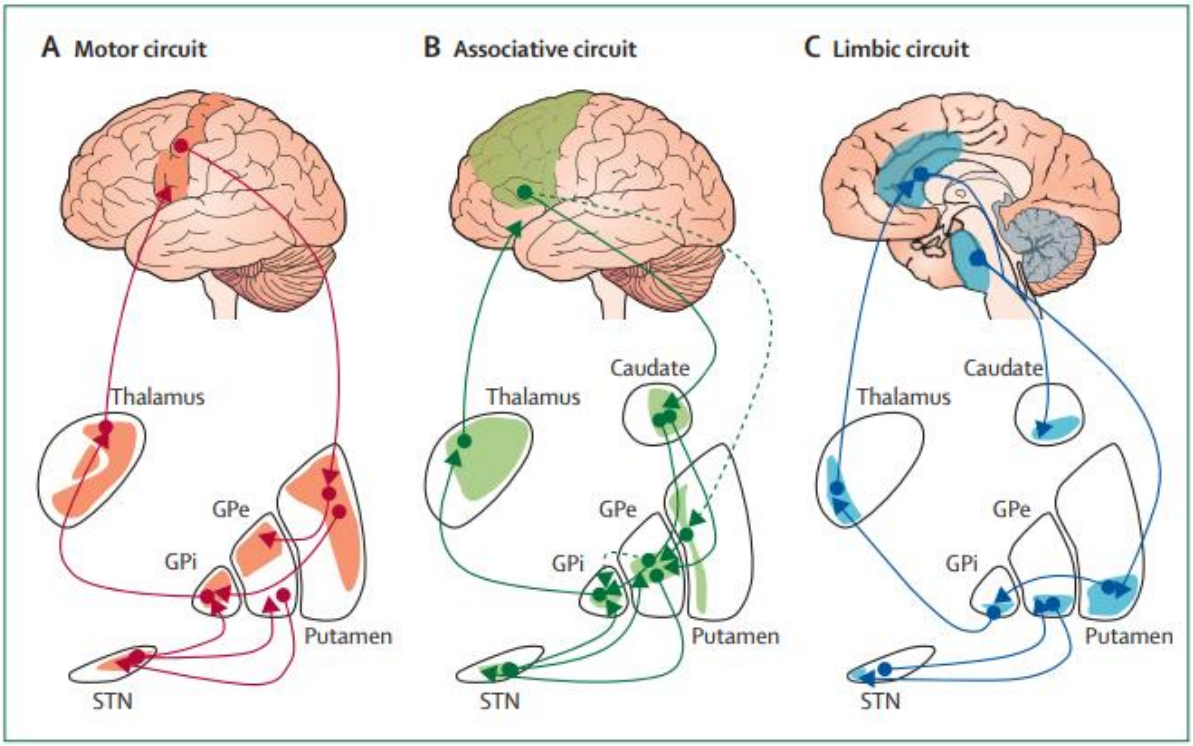


Figure 3 : Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base (Obeso et al., 2008).

En A le circuit moteur, impliquant le putamen et le cortex sensori-moteur. En B le circuit associatif, impliquant le noyau caudé et le cortex préfrontal. En C le circuit limbique, impliquant le NAcc, le cortex cingulaire et le cortex frontal.

Trois principales voies régulant l'activité des ganglions de la base sont décrites (i) la voie directe striato-nigrale sur laquelle la dopamine va exercer une action excitatrice v*ia* les récepteurs dopaminergiques D1 (RcD1) correspondant à la projection des neurones striataux sur le GPi, (ii) la voie striato-pallidale indirecte sur laquelle la dopamine exerce une action inhibitrice *via* les RcD2 correspondant à la projection des neurones striataux sur le globus

pallidus externe (GPe), dont les neurones envoient des projections sur le NST et (iii) la voie subthalamique hyperdirecte correspondant aux projections du cortex vers le NST. Ainsi, les projections des neurones dopaminergiques de la SNc sur le striatum permettent d'exercer une importante modulation dopaminergique. De ce fait, la SNc est considérée comme une structure cérébrale intimement liée aux ganglions de la base (figure 4).

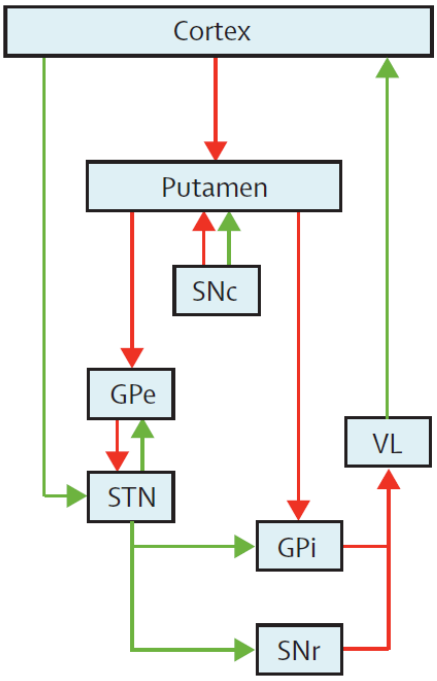


Figure 4 : Représentation schématique de l'organisation des ganglions de la base, avec la modulation dopaminergique de la SNc (Rodriguez-Oroz et al., 2009).

Projections glutamatergiques excitatrices en vert, GABAergiques inhibitrices en rouge.

La voie directe médiée par les RcD1 du putamen et par le GPi, la voie indirecte médiée par les RcD2 du putamen et par le GPe et la voie hyperdirecte médiée par le NST.

GPe/i = globus pallidus externe/interne ; STN = NST, noyau sous-thalamique ; SNc = substance noire compacte ; VL = noyau ventro-latéral du thalamus.

2.1.2. Noyaux et voies dopaminergiques

Les neurones dopaminergiques sont regroupés dans plusieurs noyaux, référencés de A8 à A17. Le noyau A16 regroupe les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif et A17 les neurones dopaminergiques de la rétine. Les noyaux A11 à A15 sont les noyaux dopaminergiques du diencéphale, représentant une faible proportion des neurones dopaminergiques. Effectivement, entre 80 et 90% des neurones dopaminergiques sont

localisés au niveau du mésencéphale, dans l'aire tegmentale ventrale (ATV, A10) et la SNc (A9), décrivant trois voies dopaminergiques majoritaires : la voie mésocorticale et la voie mésolimbique issues des neurones du noyau A10 et la voie nigrostriée issue des neurones du noyau A9 (Gerfen, 2000). Les neurones du noyau A9 projettent en moindre mesure au niveau des GPi/e et du NST. Le noyau dopaminergique A8 est une extension postérieure des noyaux A9 et A10, localisé dans l'aire rétrorubrale.

La voie mésocorticale correspond aux projections de l'ATV vers le cortex préfrontal, sensitif, associatif et limbique, responsables des processus d'attention et de mémoire ainsi qu'émotionnels et motivationnels.

La voie mésolimbique, est particulièrement impliquée dans la récompense et dans l'aversion lui valant son nom de « circuit de la récompense ». Elle est donc responsable des processus de motivation et des capacités émotionnelles. Les corps cellulaires dopaminergiques sont retrouvés dans l'ATV et projettent notamment vers le noyau accumbens (NAcc). Cette voie est donc mise en jeu dans les comportements dirigés vers un but ainsi que dans la survenue et le maintien de l'addiction en condition pathologique (Berke and Hyman, 2000).

La voie nigrostriée est quant à elle majoritairement impliquée dans la régulation de la boucle motrice (Gerfen, 1992) en faisant intervenir les neurones dopaminergiques de la SNc projetant vers le striatum (STR : noyau caudé et putamen).

Cependant, les fonctions présentées pour chaque voie sont les fonctions majoritaires. Il existe plusieurs études qui démontrent un impact non-moteur de la dysfonction de la voie nigrostriée, notamment son rôle dans des fonctions exécutives telle que l'impulsivité ainsi qu'en condition pathologique comme dans l'addiction en médiant la récompense associée (Engeln et al., 2016; Wise, 2009). De plus, l'ATV peut également moduler certaines fonctions

motrices comme leur apprentissage et la coordination. Effectivement, il existerait une voie projetant de l'ATV vers le STR dorsal en passant par la SNc, modulant les fonctions motrices par l'intermédiaires de projections GABAergiques (Bourdy et al., 2014; Ferreira et al., 2008).

2.1.3. Récepteurs dopaminergiques (RcD)

La dopamine exerce ses effets en se liant aux RcD qui sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G. Ils sont répartis en deux familles d'après leur homologie génétique et les conséquences biochimiques de leur activation : les récepteurs de la famille D1 regroupant les RcD1 et RcD5 ; et les récepteurs de la famille D2 incluant les RcD2, RcD3 et RcD4. La variabilité des RcD s'explique notamment par l'existence de différents gènes mais également par la synthèse de différentes protéines issues du même gène, par épissage alternatif. C'est notamment le cas du RcD2 dont on connaît deux isoformes : l'isoforme long (D2L) et l'isoforme court (D2S) (Giros et al., 1989).

Les deux familles de récepteurs se distinguent par (i) leur organisation génique, les récepteurs de la famille D1 ne possèdent pas d'intron dans la région codante tandis que les récepteurs de la famille D2 en contiennent plusieurs, (ii) la protéine G à laquelle ils sont couplés : les récepteurs de la famille D1 sont couplés avec une protéine G_s (activatrice) et les récepteurs de la famille D2 avec une protéine $G_{i/0}$ (inhibitrice). Ainsi, récepteurs de la famille D1 induisent l'activation de l'adénylate cyclase (Brown and Makman, 1972; Monsma et al., 1990) alors que les récepteurs de la famille D2 engendrent son inhibition (Robinson and Caron, 1997). Les RcD sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G (Chien et al., 2010). Le RcD3 présente 52% d'homologie avec le RcD2 (Civelli et al., 1992; Levant, 1997), ils démontrent tous les deux un profil pharmacologique similaire.

Les RcD sont largement exprimés au sein du système nerveux central bien que leurs profils d'expression varient en fonction des différentes aires cérébrales et types de récepteurs. Leur distribution a été étudiée dès les années 1990 à l'aide de techniques d'hybridation *in situ* (distribution des ARNm) ou d'immunohistochimie *via* des anticorps spécifiques. Le RcD1 est le plus largement exprimé et répandu (Mengod et al., 1992), majoritairement dans le STR dorsal et ventral, les tubercules olfactifs et le cortex préfrontal et minoritairement dans d'autres structures sous-corticales (thalamus et hypothalamus).

Les deux isoformes du RcD2 (long et court) sont exprimés dans les mêmes structures cérébrales mais sont distribués différemment en pré et post-synaptique et ne possèdent pas la même affinité pour les agonistes dopaminergiques. Le D2L est localisé en post-synaptique tandis que le D2S est localisé au niveau striatal, en pré-synaptique et fait office d'autorécepteur régulant l'activité de la tyrosine hydroxylase (TH) (Lindgren et al., 2003). Les RcD2 sont majoritairement retrouvés au niveau du STR, dans le tubercule olfactif et le noyau accumbens ainsi que dans le cortex préfrontal et cingulaire, dans l'amygdale et l'hypothalamus (Bouthenet et al., 1991; Mengod et al., 1992). Les RcD3 sont principalement exprimés dans les régions limbiques telles que le NAcc, le tubercule olfactif mais également dans l'hippocampe, le STR ventral, le gyrus denté et dans plusieurs zones corticales (Diaz et al., 1995).

2.1.4. Pathologie, cas de la Maladie de Parkinson

Dans la MP, les neurones dopaminergiques de la SNc dégénèrent progressivement, induisant une diminution drastique des niveaux de dopamine retrouvés dans le STR. Le défaut en dopamine striatale induit un déséquilibre dans les voies de sortie (directe et indirecte) des

ganglions de la base (Albin et al., 1989), en faveur de la voie indirecte par l'intermédiaire des RcD2 (figure 5) de par la plus grande affinité de la dopamine pour les RcD2 que pour les RcD1 (Missale et al., 1998). Ainsi, la dopamine se lie préférentiellement sur les RcD2 striataux ce qui entraîne un déséquilibre dans les voies de sortie des ganglions de base : une augmentation des projections GABAergiques inhibitrices sur le thalamus, promouvant une levée de l'activation glutamatergique de celui-ci sur le cortex moteur induisant des déficits moteurs.

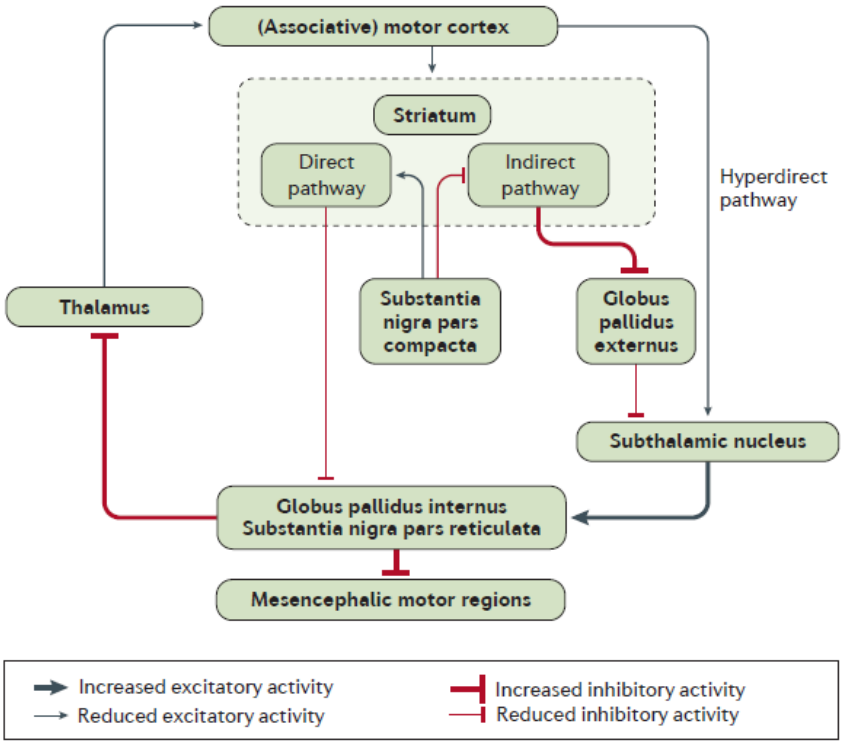


Figure 5 : Changements impliqués dans le circuit moteur des ganglions de la base après dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc (Poewe et al., 2017).

Dans le cadre pathologique de la MP, la balance entre la voie directe et indirecte est dégradée et privilégiée en faveur de la voie indirecte, par l'intermédiaire des RcD2. Ici est illustrée l'augmentation de l'inhibition du STR sur le GPe, induisant une augmentation de la stimulation du GPi par le NST. La résultante étant une inhibition du thalamus plus importante corrélée à une levée d'activation du cortex moteur.

D'autres neurotransmetteurs sont également impactés dans ce cadre pathologique (la noradrénaline, l'acétylcholine et la sérotonine notamment), plus précocement que le système dopaminergique ((Braak et al., 2003), figure 7). En effet, les agrégats d'alpha-synucléine se retrouvent dans différentes structures cérébrales dont l'activité est médiée par ces neurotransmetteurs tels que le locus coeruleus (noyau noradrénergique), le noyau du raphé (sérotoninergique), le noyau basal de Meynert et le noyau pédonculopontin (cholinergiques). Ces altérations engendrent des symptômes tels que des troubles émotionnels et affectifs ainsi que l'instabilité posturale qui seront décrits ultérieurement dans ce manuscrit.

Plusieurs facteurs pathologiques clés sont retrouvés dans la MP : l'agrégation protéique dans les « corps de Lewy », un dysfonctionnement mitochondrial et une augmentation des niveaux de fer et de calcium, agissant en synergie et aboutissant à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la SNc. Les corps de Lewy sont des inclusions cytoplasmiques où s'agrègent de façon anormale plusieurs protéines présentes physiologiquement dans le cerveau, dont l'alpha-synucléine (Jakes et al., 1994; Spillantini et al., 1998). La MP est donc classée dans les pathologies dites « synucléinopathies ».

3. L'ALPHA-SYNUCLÉINE

3.1. Structures et fonctions

3.1.1. Structures physiologiques et pathologiques

L'alpha-synucléine est une protéine composée de 140 acides aminés, encodée par le gène SNCA (Jakes et al., 1994) et présente à des niveaux élevés dans tout le cerveau, majoritairement au niveau des terminaisons synaptiques et des noyaux neuronaux. Elle est

également retrouvée dans différents organites tels que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, la mitochondrie et dans le système endolysosomal (pour revue (Bernal-Conde et al., 2020)). La protéine de l'alpha-synucléine peut être divisée en trois régions (i) la partie N-terminale, siège des mutations connues responsables de la MP et contenant des motifs (répétitions de 11 acides aminés) propices à la formation d'hélices alpha (figure 6) ; (ii) la région centrale, fortement sujette à l'agrégation ; (iii) la région C-terminale riche en proline et chargée très négativement.

Physiologiquement, l'état de l'alpha-synucléine est encore débattu. Certaines études démontrent une conformation physiologique dépliée et soluble dans le cytosol tandis que d'autres présentent l'alpha-synucléine comme pouvant être représentée repliée sous forme d'hélice alpha tétramérique et pouvant alors interagir avec des protéines membranaires (Bartels et al., 2011; Fauvet et al., 2012; Weinreb et al., 1996). L'environnement physico-chimique tels que le stress oxydatif, la concentration en acides gras, en phospholipides ou en ions métalliques, peut conduire l'alpha-synucléine à adopter une conformation en feuillet bêta, étape précédant l'oligomérisation pathologique, la faisant passer d'un état soluble à un état agrégé insoluble (Fink, 2006; Goldberg and Lansbury Jr, 2000; Lashuel et al., 2013). Cependant, il a été démontré que les mutations E35K et E57K inhibant la formation de l'alpha-synucléine en fibrilles et promouvant alors son état oligomère présentaient une toxicité accrue sur les neurones dopaminergiques de la SNc dans un modèle de rat en perturbant potentiellement la dynamique membranaire (Winner et al., 2011). Les mutations de l'alpha-synucléine ont un impact sur la dynamique d'agrégation. Il est admis qu'un équilibre entre la synthèse, l'agrégation et la clairance de l'alpha-synucléine est physiologiquement nécessaire. Une perturbation d'une de ces voies induit des niveaux anormaux de la protéine entrainant la

formation et l'agrégation de formes pathologiques toxiques (Lashuel et al., 2013). Les mécanismes de propagation sont multiples et peuvent se dérouler par endocytose, transmission synaptique ou par l'intermédiaire de récepteurs membranaires. Toutes les formes insolubles d'alpha-synucléine perturbent la voie nigrostriée, cependant la forme fibrillaire est la forme induisant la charge toxique la plus importante (Peelaerts et al., 2015). Les différentes conformations, physiologiques et pathologiques de l'alpha-synucléine sont récapitulées en figure 6.

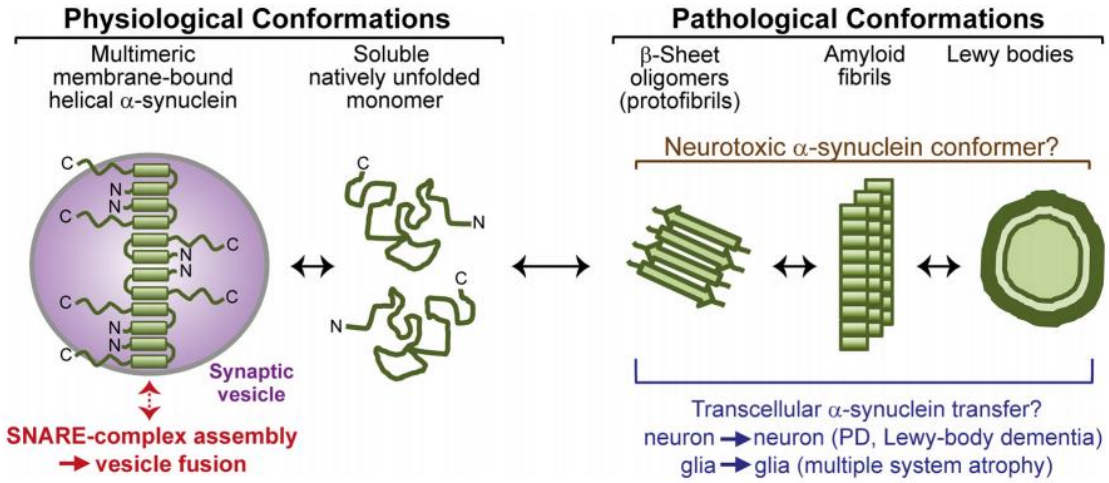


Figure 6 : Schéma représentant les différentes conformations de l'alpha-synucléine, physiologiques pathologiques (Burre et al., 2015).

A gauche, les conformations physiologiques, multimérique et monomérique soluble. A droite, les conformations pathologiques, feuillets beta, fibres amyloïdes et corps de Lewy.

3.1.2. Fonctions physiologiques

Les fonctions physiologiques de l'alpha-synucléine sont encore mal connues mais des études indiquent son implication dans plusieurs mécanismes :

(i) La dynamique vésiculaire : de par des motifs homologues aux protéines liant des acides gras sur ses parties terminales, elle participerait à leur transport et à leur métabolisme (Sharon et al., 2001). Elle pourrait donc se lier aux membranes phospholipidiques et serait impliquée dans le transport et le renouvellement vésiculaire. De plus, l'alpha-synucléine est promotrice de la formation de complexes protéiques impliqués dans la libération du contenu des vésicules synaptiques : les complexes SNARE, par l'intermédiaire notamment de la synaptobrevine (Burre et al., 2015; Burré et al., 2011) (figure 6). De plus, l'alpha-synucléine pourrait contrôler l'exocytose vésiculaire en se liant à différentes protéines telle que la phospholipase 2 (Payton et al., 2004).

(ii) Le métabolisme dopaminergique : elle serait capable d'interagir avec la régulation de la dopamine de par sa forte affinité pour la TH, en l'inhibant directement ou indirectement (Lou et al., 2010; Mor et al., 2017; Perez et al., 2002) et en limitant l'activité de recapture de la dopamine par le transporteur de la dopamine (DAT) (Wersinger and Sidhu, 2003). L'alpha-synucléine en excès serait aussi responsable d'une altération de la recapture de la dopamine dans les boutons synaptiques et aurait un impact négatif sur la réserve vésiculaire (Lundblad et al., 2012).

(iii) La protection neuronale : de par ses multiples interactions, elle est capable de moduler les structures phospholipidiques et de préserver leur intégrité, ainsi que de prévenir et limiter leur oxydation, favorisant la survie cellulaire (Clayton and George, 1999; Zhu et al., 2006). De plus, elle régulerait l'expression de p53 (gène suppresseur de tumeurs) et pourrait avoir un rôle anti-apoptotique (Costa et al., 2002).

3.2. Processus pathologique d'agrégation de l'alpha-synucléine

Les travaux de Braak et de ses collaborateurs (récapitulés en figure 7) ont mis en évidence différents stades de propagation des corps de Lewy reflétant la progression de la MP (Braak et al., 2003). Aux stades 1 et 2, correspondant au stade prodromal de la maladie (symptômes précoces), les patients ne développeront donc pas tous spécifiquement la MP, les corps de Lewy sont retrouvés au niveau du nerf vague, dans le noyau moteur dorsal, dans le bulbe olfactif ainsi que dans le noyau pédonculopontin. La présence de ces inclusions protéiques dans ces noyaux induirait les symptômes précoces non-moteurs qui seront décrits plus loin dans le manuscrit. Des dysfonctionnements du système nerveux autonome peuvent aussi apparaître entraînant par exemple une hypotension orthostatique. La propagation des corps de Lewy passe ensuite au stade 3 et l'atteinte motrice apparaît : les inclusions sont alors retrouvées dans la SNc. Le diagnostic de MP est rendu possible par la dégénérescence dopaminergique d'environ 40% induisant l'apparition des premiers signes cliniques moteurs. Au stade 4, la propagation s'accentue et touche ainsi des régions limbiques et corticales. Les troubles psychiatriques et cognitifs majeurs arrivent avec le développement des stades 5 et 6 de la MP impactant notamment le mésocortex.

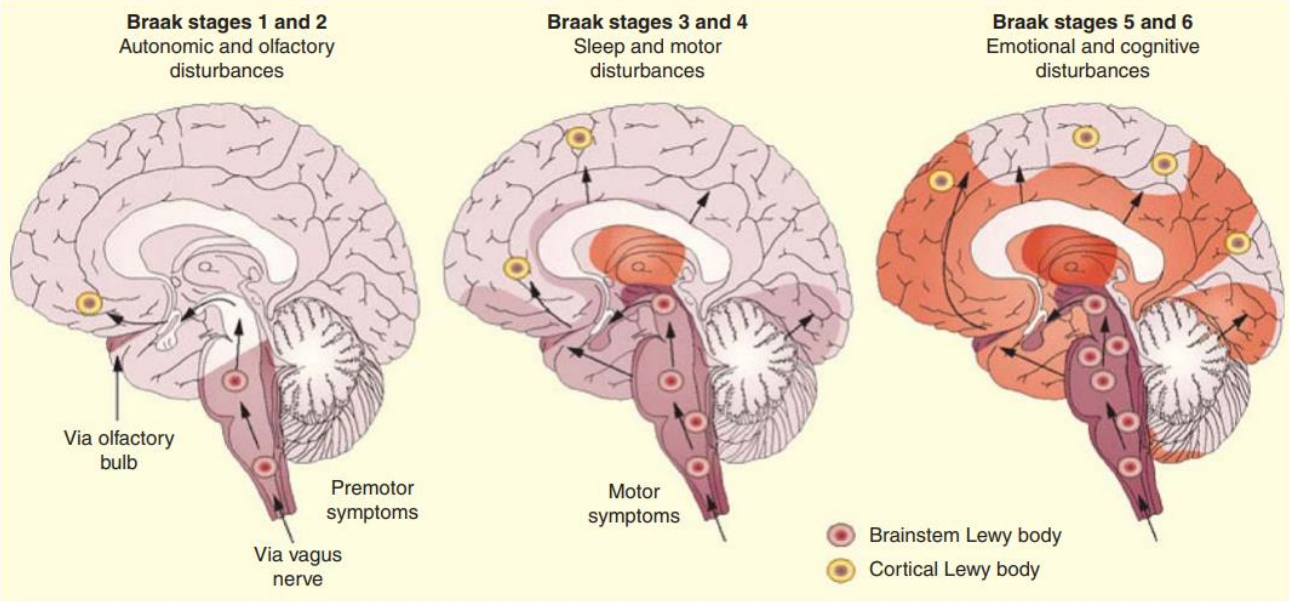


Figure 7 : Progression théorique des agrégats d'alpha-synucléine dans la maladie de Parkinson d'après l'échelle de Braak (Braak et al., 2003; Jellinger, 2014).

Au cours du stade prodromal (stades 1 et 2), les corps de Lewy sont localisés au niveau du bulbe olfactif, du système nerveux entérique, du complexe coeruleus/subcoeruleus. Les stades cliniques (3 et 4), impliquent une atteinte de la substance noire tandis que la phase « tardive » (stades 5 et 6) correspond à une localisation des corps de Lewy au niveau du cortex cérébral.

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse d'un fonctionnement de l'agrégation de l'alpha-synucléine semblable à celui d'une protéine prion. Effectivement, l'alpha-synucléine possède des caractéristiques communes aux protéines prion comme une forme pathologique sous forme agrégée (changement de conformation), le recrutement de la protéine physiologique par la protéine pathologique entrainant un changement de sa conformation, ou sa capacité de propagation vers de nouvelles zones cérébrales (Arotçarena and Dehay, 2018; Brandel et al., 2015). Les synucléinopathies, comme la MP, peuvent donc être caractérisées comme des maladies dites « prion-like ». De plus, dans un contexte de greffe neuronale, plusieurs études démontrent une propagation de l'alpha-synucléine de l'hôte vers le transplant (Kordower et al., 2008; Li et al., 2008; Mendez et al., 2008).

4. AUTRES DYSFONCTIONS - NEURODÉGÉNÉRESCENCE

4.1. Dysfonction mitochondriale et stress oxydatif

Plusieurs études démontrent que la MP est caractérisée par un défaut de fonctionnement mitochondrial, notamment du complexe 1 (González-Rodríguez et al., 2021), induisant une diminution de son activité et une augmentation de stress oxydatif (Keeney et al., 2006; Schapira et al., 1990) médié par la génération d'espèces oxygénées radicalaires (ROS). Ce phénomène est, de plus, promut par l'accumulation d'alpha-synucléine dans le compartiment mitochondrial (Devi et al., 2008).

4.2. Niveau de fer (pour revue (Snyder and Connor, 2009))

Physiologiquement, la SN est la région cérébrale la plus enrichie en fer, comme démontré par plusieurs études d'imagerie (Bartzokis et al., 1999; Zecca et al., 2005), chez l'Homme mais également chez les primates non humains, les rongeurs ou encore les chiens (Francois et al., 1981). Chez des animaux déficients en fer, la densité du DAT est diminuée aussi bien dans le striatum ventral (20%) que dans le caudé/putamen (30%), principalement chez les individus mâles (Erikson et al., 2000) et la densité des RcD1 et 2 est plus faible (d'environ 70%, Beard et al., 2003). Dans le cadre de la MP, des études du taux de fer nigral dans des tissus sains et pathologiques ont démontré une augmentation de 33 à 176% dans ces derniers (disparité due aux différences de stade de la pathologie au moment des autopsies, Sofic et al., 1988). Cependant, cette augmentation ne résulte pas seulement du développement de la MP mais également de l'âge (Bartzokis et al., 1999). Elle pourrait être en lien avec l'activation des cellules de la microglie (Hirsch et al., 2003), présentant intrinsèquement un fort taux de fer.

De plus, il a été montré que le fer promouvait l'agrégation d'alpha-synucléine ainsi que la génération de ROS *via* la réaction de Fenton (Castellani et al., 2000). Des taux importants de fer sont également retrouvés dans les corps de Lewy (Castellani et al., 2000; Golts et al., 2002). L'équilibre physiologique du taux de fer est donc primordial.

4.3. Niveau de calcium

Il est aujourd'hui admis que le taux de calcium est primordial pour l'intégrité des neurones dopaminergiques dans le cadre de la MP. La décharge dopaminergique est dépendante d'influx électrique et de la concentration en calcium, en particulier par l'intermédiaire de canaux calciques de type-L. Un influx calcique continu est alors nécessaire pour moduler la libération dopaminergique des neurones de la SNc. Cependant, un taux trop important de calcium a des conséquences pathologiques non négligeables en engendrant une augmentation du stress métabolique et des dysfonctions mitochondriales (Guzman et al., 2018). De plus, l'alpha-synucléine peut interférer avec la signalisation calcique (Angelova et al., 2016; Rcom-H'cheo-Gauthier et al., 2014). Ces informations sont complétées par une étude basée sur l'utilisation d'isradipine, un bloqueur des canaux calciques de type-L, qui induit une diminution de la charge calcique et donc du stress mitochondrial (Guzman et al., 2018; Surmeier, 2007).

4.4. Dégénérescence des neurones dopaminergiques

Plusieurs études démontrent que la dégénérescence dopaminergique est préalable à l'apparition et à l'agrégation protéique d'alpha-synucléine (Dijkstra et al., 2014; Iacono et al., 2015; Milber et al., 2012). La progression de la maladie ne serait donc pas linéaire mais exponentielle (Parkkinen et al., 2011). La dégénérescence dopaminergique se développe de

manière bilatérale mais asymétrique, principalement dans la voie nigrostriée, induisant une altération du circuit des ganglions de la base. Il est admis que les premiers symptômes sont visibles après une perte de 50 % des neurones dopaminergiques (Brooks, 1998) et une déplétion de 70 % du niveau striatal de dopamine (Scherman et al., 1989). Il ne faut pas sous-estimer l'importance de la dégénérescence dopaminergique dans la voie mésolimbique (de l'ATV vers le NAcc, le cortex préfrontal et l'amygdale) qui peut atteindre 55 % (Uhl et al., 1985). De plus, comme indiqué précédemment, d'autres systèmes sont impactés par la dégénérescence neuronale pouvant atteindre 80% pour le locus coeruleus, 40% pour le noyau du raphé et 50% pour le noyau basal de Meynert et le noyau pédonculopontin (Giguère et al., 2018).

5. LES MODÈLES ANIMAUX DE Maladie de Parkinson

Depuis plusieurs décennies, les modèles animaux de la MP se sont multipliés. Trois principales approches sont utilisées pour modéliser la maladie et induire une dégénérescence sélective des neurones dopaminergiques : l'utilisation de neurotoxines (synthétiques ou environnementales), l'approche transgénique, basée sur la connaissance de facteurs génétiques de la MP et la surexpression protéique à l'aide de vecteurs viraux.

Plusieurs molécules toxiques peuvent être utilisées : des molécules à effets réversibles comme la réserpine ou irréversibles comme la roténone (Betarbet et al., 2000), la 6-OHDA (6-hydroxy-dopamine) et le MPTP (1-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridine), afin d'induire les symptômes moteurs et la physiopathologie de la MP. Cependant, ces modèles ne sont pas parfaits : ils ne sont pas progressifs mais plutôt considérés comme aigus et ne présentent pas

ou peu d'accumulation d'alpha-synucléine. Un modèle de primate non-humain (Burns et al., 1983) par l'injection de MPTP en intraveineuse (dégénérescence dopaminergique dans la SN ainsi qu'une déplétion du niveau striatal de dopamine). ainsi qu'un modèle de souris injecté en intrapéritonéal en MPTP à 30mg/kg (Heikkila et al., 1984) ont été validés. En 1968, Ungerstedt développe le premier modèle animal en injectant la 6-OHDA chez des rats Sprague-Dawley (Ungerstedt, 1968). Ainsi, il démontre que la toxine injectée dans le putamen induit une dégénérescence des axones dopaminergiques locaux tandis qu'injectée dans la SN elle induit non seulement une dégénérescence des noyaux dopaminergiques locaux mais également des axones dopaminergiques du putamen. En revanche, cette méthode peut induire une adipsie et une aphagie marquées lorsque des injections bilatérales sont réalisées (Sakai and Gash, 1994).

Comme indiqué précédemment, une minorité de cas de MP sont génétiques, et peuvent être le support de manipulations expérimentales ayant pour but de modéliser ses caractéristiques pathologiques (Chia et al., 2020). Il a été démontré que des souris homozygotes exprimant l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T présentaient un phénotype sain jusqu'à 7 mois puis un phénotype largement pathologique dès 8 mois avec une absence de toilettage, une perte de poids, une réduction motrice, pouvant aller jusqu'à présenter des tremblements et une paralysie des membres. Plusieurs équipes ont modélisé la MP par ce biais, en utilisant différents promoteurs et différentes formes d'alpha-synucléine (WT, A53T, A30P) permettant de mettre en avant des inclusions protéiques ainsi que des déficits moteurs plus ou moins précoces et sévères (Fernagut and Chesselet, 2004). D'autres manipulations génétiques sont à la base du développement de modèles animaux de MP : du gène parkin (Hennis et al., 2013; Rial et al., 2014; Zhu et al., 2007), de la protéine DJ-1 (Kitada

et al., 2009) ou de PINK-1 (Gispert et al., 2009). Cependant, ces modèles ne reproduisent que peu voire pas les symptômes de la MP et ne sont donc pas efficients.

Un modèle animal alternatif de MP consiste en l'utilisation de fibrilles d'alpha-synucléine préformées (modèle PFF) : leur injection induirait donc une agrégation similaire à celle présente dans les corps de Lewy. Cependant, ce processus est assez rapide en culture mais très long *in vivo*. Il est nécessaire d'attendre jusqu'à six mois après injection pour visualiser les signes neurodégénératifs (Paumier et al., 2015; Peelaerts et al., 2015).

La MP peut également être modélisée par l'induction d'une surexpression protéique, notamment d'alpha-synucléine. Deux approches sont possibles, l'utilisation d'adénovecteurs viraux (AAV) ou de lentiviraux (LV). Cependant, des études ont démontré que l'injection d'AAV était plus efficace sur la déplétion dopaminergique que celle de LV (Ulusoy et al., 2010). Les premières études ont démontré que l'injection d'AAV surexprimant l'alpha-synucléine humaine induisait une dégénérescence dopaminergique progressive de la SNc associée à une déplétion des terminaisons dopaminergiques striatales et au développement de déficits locomoteurs (Kirik et al., 2002). De ce fait, la surexpression protéique d'alpha-synucléine (Dehay and Fernagut, 2016) wild-type (Gombash et al., 2013; Ulusoy et al., 2010) et mutée (Bourdenx et al., 2015), permet d'induire de façon progressive une dégénérescence dopaminergique dans la SN.

La mutation de l'alpha-synucléine en A53T entraîne une forme plus précoce de la MP avec une durée moins longue (Polymeropoulos, 1997). La mutation induit une forme fibrillaire et une agrégation plus rapidement que la forme wild-type (WT) de la protéine (Conway et al., 1998 ; Flagmeier et al., 2016). L'injection d'AAV dans la SN de rats a démontré que le groupe surexprimant l'alpha-synucléine mutée en A53T présentait une dégénérescence

dopaminergique plus importante que le groupe surexprimant l'alpha-synucléine WT et était plus efficace et pertinent pour modéliser la MP (Lu et al., 2015). D'autre part, une étude cellulaire démontre que la surexpression d'alpha-synucléine mutée en A53T induit une déficience plus importante du complexe I mitochondrial et une plus grande production de ROS que la surexpression d'alpha-synucléine WT (Devi et al., 2008). Pour notre étude, nous nous sommes donc basés sur le modèle de surexpression de l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T puisque la dégénérescence des neurones dopaminergiques peut être réalisée de façon bilatérale sans risque pour l'animal, contrairement au modèle 6-OHDA, et est progressive. Cette modélisation permet donc d'induire des déficits moteurs modérés et était idéale puisque bien caractérisée et avec une dégénérescence très progressive à la cinétique connue.

CHAPITRE 2 –

LES SYMPTÔMES DE LA MALADIE DE PARKINSON

Classiquement, la MP est divisée en trois stades : (i) préclinique, où la neurodégénérescence est amorcée sans symptôme visible (ii) prodromal, où certains symptômes sont présents mais insuffisants pour poser un diagnostic de MP (iii) clinique, où les symptômes moteurs caractéristiques apparaissent, permettant de poser le diagnostic (Berg et al., 2015). Ce travail est essentiellement porté sur l'aspect non-moteurs de la MP. De ce fait, ce chapitre ne traitera que brièvement les symptômes moteurs de la maladie pour décrire de façon plus détaillée le large panel des symptômes non moteurs.

1. Les symptômes moteurs

Les symptômes moteurs de la MP sont classiquement qualifiés de tétrade symptomatique, se décomposant en : rigidité, akinésie, tremblements de repos et instabilité posturale (Samii et al., 2004).

1.1. La rigidité

C'est la résultante d'une hypertonie musculaire généralisée, affectant principalement les muscles fléchisseurs. Elle entraîne des douleurs musculaires et tendineuses, menant à une posture fléchie et crispée caractéristique : tête et tronc inclinés en avant, avant-bras en demi-flexion, hanches et genoux légèrement fléchis.

1.2. La bradykinésie

Elle touche toutes les étapes du mouvement : réflexion, initiation et exécution, aboutissant donc à un ralentissement de celui-ci voire à une extinction (akinésie). Elle est souvent détectée

dans les mouvements complexes impliquant la coordination de plusieurs membres. Les mouvements automatiques disparaissent (touchant notamment les mimiques faciales, aboutissant à un visage inexpressif) et les mouvements fins et rapides sont largement impactés : écriture (micrographie), langage (ton monocorde, débit irrégulier et volume moins intense), habillage, marche (hésitation à l'initiation et diminution de l'amplitude des pas).

1.3. Les tremblements de repos

Ils sont souvent décrits comme caractéristiques de la maladie pour le grand public mais ne sont cependant présents qu'environ chez 70% des patients. Ils peuvent se déclarer plusieurs années après le début de la pathologie, généralement de manière unilatérale ou asymétrique (devenant bilatéral avec la progression de la maladie). Le tremblement est alors relativement lent, régulier (4 à 6Hz) et peu ample (Bhidayasiri, 2005; Koller et al., 1989).

1.4. L'instabilité posturale

Ce phénomène résulte des symptômes moteurs précédemment cités. Le patient présente alors une anomalie de la démarche aboutissant à un déséquilibre et à des chutes fréquentes. Ces symptômes sont sensibles au stress et à l'état émotionnel des patients.

2. Les symptômes non-moteurs

De nombreux symptômes non-moteurs sont recensés dans la MP (Chaudhuri et al.; Jellinger, 2017; Schapira et al., 2017; Schrag, 2004). Touchant la quasi-totalité des patients (l'étude PRIAMO (Barone et al., 2009) a démontré que 98,6% des patients en souffraient), ils

peuvent être décelés précocement (Savica et al., 2010) et leur gravité s'accentue avec l'âge et l'évolution de la maladie (figure 8), impactant sévèrement la qualité de vie des patients. La description des symptômes neuropsychiatriques et cognitifs de la MP a fait l'objet d'une revue (annexe 1 (Decourt et al., 2021)).

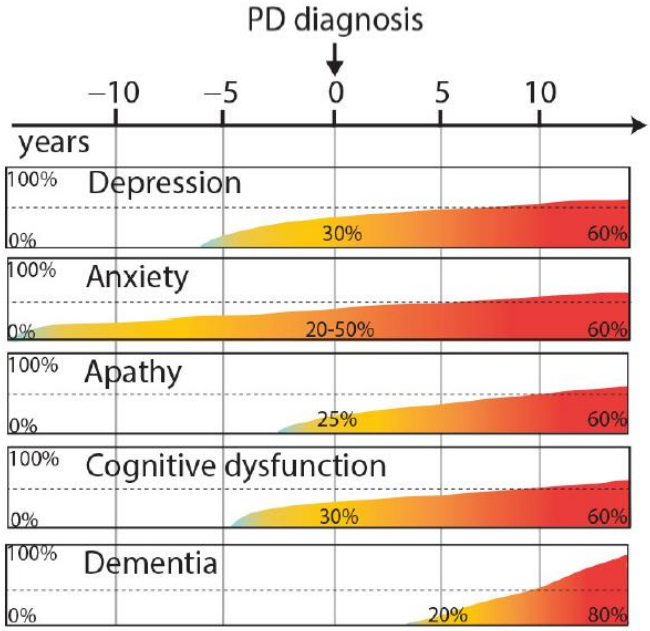


Figure 8 : Illustration de la progression des symptômes non-moteurs de la MP dans la population parkinsonienne en fonction du temps, avant et après diagnostic.

Decourt et al., 2021

Le développement de ces symptômes non-moteurs serait probablement dû à des dysfonctions précoces de plusieurs boucles de transmission (Jellinger, 2017), dopaminergique et non-dopaminergiques : cholinergique (noyau basal de Meynert), noradrénergique (locus coeruleus), sérotoninergique (noyau raphé dorsal). Ils peuvent donc toucher différents systèmes tels que les systèmes sensoriel, circadien, autonome ou encore présenter des dysfonctions neuropsychiatriques (Barone et al., 2009; Erro et al., 2015; Jellinger, 2017; Schapira et al., 2017).

2.1. Anosmie

Ce trouble est défini comme la perte complète de l'odorat, est l'un des symptômes très précoces du développement de la MP, affectant 90% des patients (Doty, 2012) et apparaissant en amont des premiers symptômes moteurs. Ce trouble peut être considéré comme un marqueur préclinique potentiel de la maladie (Doty et al., 1992; Ponsen et al., 2004). La dysfonction olfactive est due à la dégénérescence des neurones du bulbe olfactif et du noyau olfactif antérieur (Pearce et al., 1995). La dégénérescence neuronale impacte particulièrement les neurones cholinergiques de ces structures (Bohnen et al., 2010), plutôt que les neurones dopaminergiques, expliquant pourquoi ce trouble n'est pas impacté par les traitements antiparkinsoniens.

2.2. Altérations du rythme circadien

Ces troubles du sommeil toucheraient 87,4% des patients atteints de MP (Kurtis et al., 2013). L'étude PRIAMO de Barone et ses collaborateurs en 2009 a démontré que sur 1072 patients, 36,9% déclaraient présenter des insomnies, 30% présentaient des mouvements oculaires rapides, 21,2% se plaignaient de somnolence diurne excessive et 15,2% présentaient le syndrome des jambes sans repos. Ces derniers résultats confirmaient ceux de l'étude d'Ondo et ses collaborateurs en 2002 qui le décelait chez 21% des patients (Barone et al., 2009; Ondo et al., 2002). De plus, l'altération du rythme circadien chez les patients Parkinsoniens pourrait être un contributeur et/ou une conséquence de développement d'autres symptômes non-moteurs comme les troubles de l'humeur (Jellinger, 2017; Kurtis et al., 2013). Les systèmes de transmission dopaminergique, sérotoninergique et noradrénergique sont impliqués dans ces perturbations de sommeil (Garcia-Borreguero et al., 2003). Des modèles de primates non-humains traités au MPTP ont démontré des changements dans les caractéristiques de

sommeil, ainsi qu'une modulation des mouvements oculaires rapides après prise de traitement dopaminergique (Barraud et al., 2009; Hyacinthe et al., 2014). De plus, les anticholinergiques moduleraient la latence et le temps des mouvements oculaires rapides.

2.3. Dysfonctions du système nerveux autonome

Ces perturbations impacteraient les patients de façon précoce en touchant le système nerveux sympathique, parasympathique et entérique, notamment les systèmes cardiaque et gastro-intestinal. Ainsi, hypotension orthostatique (prévalence de 30-40% après la pose du diagnostic et donc après les premiers symptômes moteurs, (Jain and Goldstein, 2012; Velseboer et al., 2011)), sialorrhée (sécrétion excessive de salive), dysphagie, nausées et constipation sont recensées. Ces symptômes gagnent en sévérité avec la progression de la MP. D'autres dysfonctions telles que des troubles de l'érection, du système urinaire ou de la sudation impactent également une partie des patients. Dans l'étude de Magerkurth et ses collaborateurs (Magerkurth et al., 2005), 50% des patients interrogés qualifiaient ces troubles comme très handicapants pour la vie quotidienne.

2.4. Troubles de l'humeur

Ainsi, anxiété (appréhension, attaques de panique, inquiétudes ou phobies sociales), dépression (humeur dépressive, diminution de l'intérêt pour le plaisir, perte ou gain d'appétit, insomnie ou hypersomnie, agitation ou retard psychomoteur, perte d'énergie, culpabilité excessive ou inappropriée, capacité de penser ou de se concentrer diminuée et pensées récurrentes de mort) et apathie (perte de motivation et d'intérêt) sont des symptômes largement décrits dans la MP. Ils impactent 20 à 50% des patients au moment du diagnostic et jusqu'à 60% des patients 10 ans après (Aarsland et al., 2007, 2009; Nègre-Pagès et al., 2010;

Pontone et al., 2009). Bien souvent, les troubles anxieux et dépressifs coexistent. De plus, plusieurs études cliniques démontrent que la prévalence de MP dans une population anxieuse est plus importante que dans la population générale (Lin et al., 2015; Shiba et al., 2000). Ces multiples troubles de l'humeur apparaissent en amont des premiers symptômes moteurs. Ils sont notamment dus à des dysfonctions des systèmes sérotoninergiques et noradrénergiques, impactés précocement suite aux agrégations protéiques au niveau du locus coeruleus et du noyau raphé (Braak et al., 2003; Remy et al., 2005).

2.5. Fatigue et douleurs

Ces troubles touchent également une majorité des patients Parkinsoniens, tout au long du développement de la maladie. Ces symptômes sont particulièrement handicapants au quotidien et ont un impact social non négligeable. La fatigue, retrouvée chez la moitié des patients (Del Sorbo and Albanese, 2012), est décrite comme une perte d'énergie et un épuisement, à distinguer de l'apathie. La fatigue n'est pas corrélée à la sévérité ou à la durée de la MP. Elle serait cependant associée à d'autres symptômes non-moteurs tels que la dépression, les perturbations du sommeil ou encore les troubles du système autonome. Des douleurs sont également décrites par 40 à 85% des patients (Del Sorbo and Albanese, 2012; Ford, 2010; O'Sullivan et al., 2008; Zhu et al., 2016), ayant différentes causes comme une dystonie (trouble du tonus musculaire lié à la contraction prolongée et involontaire d'un muscle ou d'un ensemble de muscle) ou encore des douleurs musculo-squelettiques (crampes, rigidité) liées aux symptômes moteurs de la pathologie (Ford, 2010). De nombreuses perturbations sensorielles sont également recensées par les patients : ils présentent des sensations de brûlure, le syndrome de la bouche brulante ou encore une

paresthésie périphérique (trouble du toucher). La perte des connexions dopaminergiques altère les perceptions sensorielles et modifie le seuil de la douleur (Jellinger, 2017).

2.6. Troubles cognitifs

En 2016, Chahine et ses collaborateurs ont mis en évidence que les personnes présentant un taux réduit de DAT ainsi qu'une hyposmie (perte partielle de l'odorat) présentaient également des performances cognitives amoindries : la diminution des facultés d'attention, de mémoire de travail et des fonctions exécutives étudiées pourrait donc être un facteur prédictif de MP (Chahine et al., 2016). Concernant les troubles cognitifs, plusieurs études distinguent les troubles cognitifs mineurs des troubles cognitifs majeurs pouvant aller jusqu'à de la démence et qui impliquent une atteinte de l'autonomie des patients. Les troubles cognitifs mineurs, recensés chez 20 à 57% des patients parkinsoniens à 5 ans post-diagnostic (Caviness et al., 2007; Williams-Gray et al., 2007), sont des marqueurs prédictifs des troubles cognitifs majeurs, présents chez 83% des patients après une moyenne de 20 ans de MP (Hely et al., 2008). La principale caractéristique est un déficit des fonctions exécutives, attribué à un défaut dans les boucles frontostriatales dopamine-dépendantes (Mattay et al., 2002) et dans les voies cholinergiques (Bohnen et al., 2015).

2.6.1. Mémoire à court terme et attention.

La mémoire à court-terme ou mémoire de travail est étroitement liée aux facultés attentionnelles. Elle implique une capacité de manipulation d'informations stockées brièvement. Des déficits attentionnels sont communément retrouvés chez les patients atteints de MP, dès les stades précoces de la maladie. Ils sont liés notamment à une altération du tonus dopaminergique dans les circuits associatifs innervant le cortex préfrontal (Polito et

al., 2012). De façon similaire, des dysfonctionnements de la mémoire de travail sont remarquables chez des patients parkinsoniens non-traités, qui peuvent être liés à une diminution du niveau striatal de dopamine et à la perturbation des voies frontostriatales en résultant (Pillon et al., 1998). L'impact du traitement dopaminergique est controversé : quand des études démontrent une amélioration (Mattay et al., 2002), d'autres indiquent une détérioration des capacités de mémoire de travail/attention (Cools and D'Esposito, 2011) ce qui renforce l'idée qu'un niveau dopaminergique approprié dans le cortex préfrontal est primordial.

2.6.2. Mémoire à long terme et apprentissage.

Les capacités de mémoires à long-terme mettent en jeu de nombreux processus dont l'encodage (encoder un évènement ou un fait en une trace mnésique), le stockage et la récupération de l'information. Des dysfonctions dans plusieurs de ces processus cognitifs sont typiquement retrouvées dans la MP (Bezdicek et al., 2019). La mémoire à long terme est classiquement scindée en deux sous-types (Camina and Güell, 2017) : la mémoire déclarative (épisodique et émotionnelle) et la mémoire non-déclarative (apprentissage procédural). Au cours du processus pathologique, les zones cérébrales gérant chacune de ces facultés cognitives sont différentiellement impactées : l'amygdale et le lobe temporal pour la mémoire déclarative ; lobe frontal, ganglions de la base et cervelet pour la mémoire non-déclarative.

2.6.3. Contrôle inhibiteur.

Composée de l'inhibition comportementale et de l'inhibition cognitive, le contrôle inhibiteur est identifié comme la cessation d'un processus mental avec ou sans intention, permettant l'éviction d'émergence d'impulsions ou de comportements compulsifs (Bari and Robbins, 2013). Une altération du processus cognitif de contrôle inhibiteur a un impact

délétère sur la capacité des sujets à agir avec prévoyance et réflexion et donc sur l'impulsivité de décision, de réflexion ou l'impulsivité motrice. Le lien a été fait entre la prise de traitement dopaminergique (dans le cadre de la MP notamment) et le développement de comportements impulsifs/compulsifs et persévératifs (Jiménez-Urbieta et al., 2015). Les patients parkinsoniens présentent couramment un déficit de contrôle inhibiteur moteur, largement visualisé dans différents exercices cognitifs tels que le test de Stroop, la tâche de signal d'arrêt ou la tâche de Go-NoGo. Une implication d'autres neurotransmetteurs comme la noradrénaline semble jouer un rôle important, ceci est suggéré par l'amélioration de l'inhibition de réponse après traitement à atomoxétine (inhibant sa recapture) en renforçant la connectivité des circuits préfrontaux (Borchert et al., 2016).

2.6.4. Flexibilité cognitive.

Elle est définie comme la capacité d'ajuster son comportement en réponse à des changements dans son environnement (Scott, 1962). Le succès de ce processus d'adaptation est lié à d'autres capacités cognitives, y compris la prise de décision, la sélection de la réponse ou l'inhibition, la mémoire de travail et l'attention. Différents tests ont été développés pour étudier la flexibilité cognitive (tâches de reversal learning ou de set-shifting) avec le test de tri de carte du Wisconsin (WCST) ou le test de Stroop (Brown and Tait, 2010). Les capacités de flexibilité comportementale impliquent notamment le cortex préfrontal, le STR et les boucles frontostriatales associées (Klanker et al., 2013; Monchi et al., 2004). Les patients atteints de MP et les patients atteints de troubles cognitifs présentent des déficiences similaires dans leurs performances par rapport aux témoins sains (Scheffels et al., 2018). En outre, la dopamine est reconnue comme un modulateur important dans les circuits frontostriataux et joue un rôle crucial dans la flexibilité cognitive (Costa et al., 2014; Klanker et al., 2013). Dans

le contexte de la MP, des changements de l'activité du PFC ont été démontrés avec ou sans co-activation striatale (Monchi et al., 2004). Un trouble de la flexibilité cognitive se traduit principalement par la persévérance dans les stratégies précédemment utilisées lorsqu'un changement environnemental a été effectué et qu'elles ne sont plus efficaces et appropriées. Dans le WCST, les patients atteints de MP affichent un taux d'erreur plus élevé et plus d'erreurs persévératives que les sujets contrôles, en lien avec la sévérité des symptômes moteurs (Lange et al., 2016). Toutefois, Cools et ses collègues ont montré que la L-DOPA améliore l'inflexibilité chez les patients atteints de MP, mais augmente leur impulsivité (Cools et al., 2003). Une autre étude indique qu'au cours d'une tâche nécessitant des performances de haute flexibilité cognitive, seuls les patients atteints de MP et présentant de faibles performances s'améliorent sous traitement dopaminergique (Costa et al., 2014). Ces résultats suggèrent que la MP et les stratégies pharmacologiques associées ont un impact différentiel sur les capacités de flexibilité cognitive.

2.7. Démence

Une étude a révélé que 40% des patients Parkinsoniens présentaient une démence, soit un taux six fois plus élevé que dans la population saine. La démence est caractérisée par des troubles de la mémoire sémantique et épisodique ainsi que par des déficits de reconnaissance et de construction spatiale visuelle (Chaudhuri et al., 2006 ; Schapira et al., 2017). Les réseaux cholinergique, dopaminergique et noradrénergique seraient impactés (Emre, 2003). Les régions touchées sont principalement les régions corticales postérieures incluant les lobes pariétaux et temporaux.

Ces symptômes non-moteurs peuvent alerter sur le développement de la maladie mais le diagnostic clinique se basera essentiellement sur la présence de symptômes moteurs. La figure 9 récapitule l'intégralité des symptômes décrits.

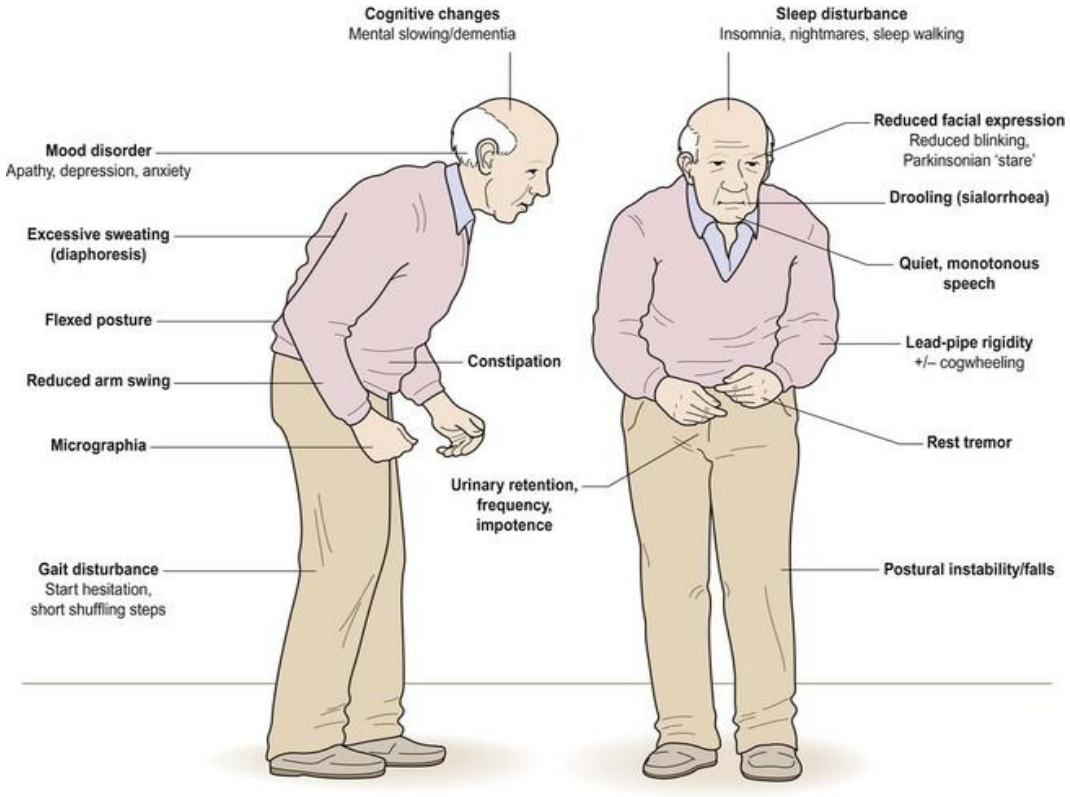


Figure 9 : Illustration de l'ensemble des symptômes moteurs et non moteurs de la MP.

(Ikowledge, Chapter 13, Parkinson's Disease).

La posture caractéristique d'un patient parkinsonien est représentée sur cette figure. Elle est due aux symptômes moteurs précédemment exposés (rigidité, bradykinésie, tremblements de repos et instabilité posturale). Les symptômes non-moteurs de la MP sont également représentés, nous permettant d'avoir une vue d'ensemnle sur la charge handicapante qu'ils représentent.

CHAPITRE 3 –

LES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES

1. LES DIFFÉRENTS TYPES DE TRAITEMENTS

Actuellement, aucun traitement curatif ne peut être proposé aux patients. Il existe cependant des traitements symptomatiques permettant de palier au défaut de dopamine. Plusieurs classes pharmacologiques permettent d'aboutir à une restauration des niveaux striataux de dopamine (figure 10) : l'utilisation d'inhibiteurs de monoamine oxydase B (IMAO-B), de précurseur de la dopamine comme la L-DOPA et d'agonistes dopaminergiques notamment.

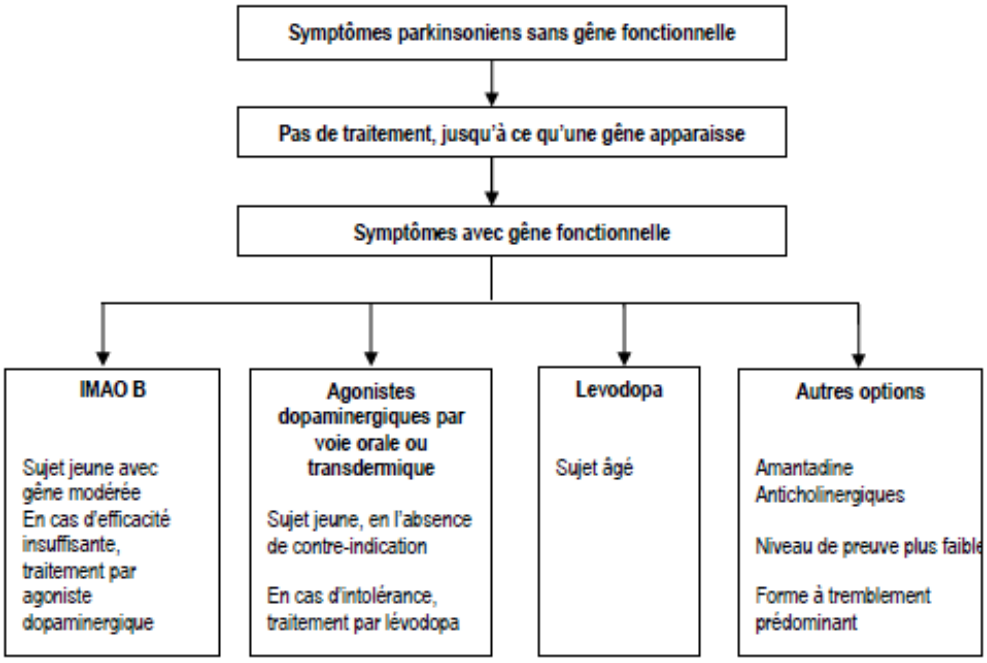


Figure 10 : Descriptif des différentes alternatives médicamenteuses proposées aux patients Parkinsoniens (HAS, Guide du parcours de soins, Maladie de Parkinson, Septembre 2016).

Schématisation de la prise de décision clinique de l'adaptation du traitement : IMAO B indiqué en première intention chez des sujets jeunes à faible gêne, et agonistes dopaminergiques indiqués chez le sujet jeune, notamment en alternative préalable à un traitement à la levodopa (L-DOPA). D'autres options médicamenteuses peuvent être délivrées (l'amantadine, un anti-viral et des anticholinergiques).

Ces approches pharmacologiques sont les plus utilisées en clinique actuellement. Leurs cibles et leurs mécanismes d'action sont décrits dans la figure 11. D'autres approches peuvent également être envisagées comme la prescription d'anticholinergiques, à faible dose dans les phases les plus précoces de la pathologie, réduisant l'hyperactivité cholinergique striatale induite par la levée de l'inhibition dopaminergique mais présentant cependant un nombre non négligeable d'effets secondaires tels que des hallucinations ou des déficits cognitifs / mnésiques ; ou des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine pour les symptômes psychiatriques (Armstrong and Okun, 2020).

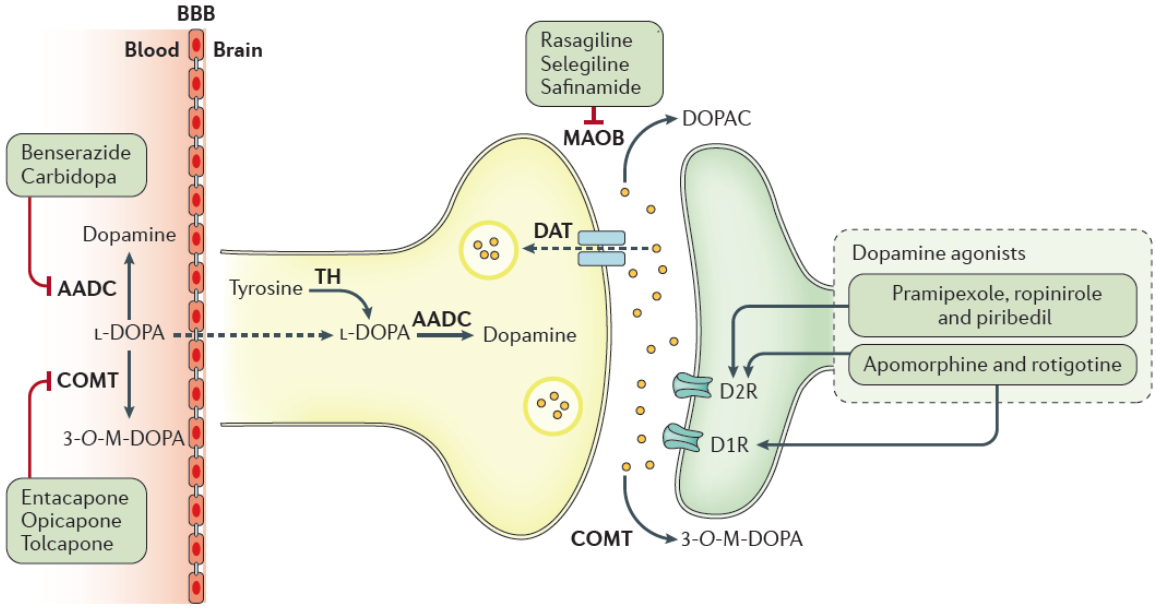


Figure 11 : Cibles des traitements dopaminergiques de la MP (Poewe et al., 2017).

De nombreux intervenants dans la synthèse, la dégradation, la fixation de la dopamine sont des cibles thérapeutiques : ainsi il existe des inhibiteurs de l'AADC (acide aminé décaarboxylase), de la COMT (Catechol-O-methyltransferase) et des MAO ainsi que des agonistes des récepteurs dopaminergiques.

De plus, un traitement chirurgical (Houeto et al., 2000; Rodriguez-Oroz et al., 2005) peut également être envisagé pour certains patients. Cependant, une étude de cas est nécessaire pour l'inclusion d'un patient dans ce type de protocole thérapeutique : il est nécessaire de prendre en considération son âge, sa réponse au traitement médicamenteux à partir de L-DOPA et les fluctuations motrices que celui-ci engendre. Effectivement, la MP induit une perte des neurones dopaminergiques de la SNc entraînant une hyperactivité des neurones du noyau sous-thalamique (NST). Le principe de ce traitement chirurgical est de diminuer l'activité de ces neurones excitateurs afin de rétablir une boucle motrice correcte. Cette alternative ne sera pas plus détaillée dans ce manuscrit puisqu'elle ne correspond pas à l'orientation de notre recherche.

1.1. IMAO-B

Les IMAO-B comme la sélégiline ou la rasagiline peuvent être utilisés dans les phases précoces de la maladie (Fox et al., 2018), à de faibles doses. Effectivement, la monoamine oxydase B est impliquée dans la dégradation de la dopamine (figure 11) et responsable de 80% de l'activité globale des monoamine oxydases (Glover et al., 1977). En inhibant son activité, le taux de dopamine dans la fente synaptique reste plus élevé.

1.2. L-DOPA

Dans les années 60, la découverte de la L-DOPA en traitement oral a démontré des effets étonnamment positifs sur les symptômes moteurs de la MP. En tant que précurseur de la dopamine, la L-DOPA est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) ce qui lui permet d'être métabolisée en dopamine par les fibres dopaminergiques ou sérotoninergiques. Le traitement pharmacologique à la L-DOPA est aujourd'hui associé à un traitement annexe avec des inhibiteurs de la dopa-décarboxylase, permettant d'éviter sa

dégradation périphérique avant son passage de la BHE. La prise de L-DOPA est envisagée pour des sujets plus âgés et ne présentant plus de réponse correcte aux traitement pharmacologiques utilisés en première intention (Olanow et al., 2009). Il reste le traitement le plus utilisé dans le cadre de la MP et améliore significativement les symptômes moteurs et la qualité de vie des patients au cours des 5 à 10 premières années de prise, puis entraîne l'apparition d'effets secondaires moteurs appelées dyskinésies L-DOPA induites.

1.3. Agonistes dopaminergiques

Depuis les années 1970, les agonistes dopaminergiques sont indiqués notamment dans le traitement de la MP, en première intention. Ils représentent une classe de substances pharmacologiques agissant sur les récepteurs et voies dopaminergiques préalablement décrites. Ils sont dits entiers ou partiels (exemple de l'aripiprazole), à action directe ou indirecte. Les agonistes partiels ont une action moindre que celle des agonistes entiers qui produisent l'effet maximal.

Les premiers agonistes dopaminergiques utilisés dans le cadre de la MP étaient dérivés de l'ergot de seigle (bromocriptine, lisuride) mais induisaient de nombreux effets secondaires de par leur affinité pour les récepteurs adrénergiques et sérotoninergiques (tableau 1). Dans les années 1990, les agonistes dopaminergiques non dérivés de l'ergot de seigle comme le pramipexole, le ropinirole, l'apomorphine etc… firent leur apparition clinique (Rascol et al., 2011).

Agoniste	Type de Récepteur et Affinités	
	Récepteurs à la dopamine	**Autres récepteurs**
aripiprazole	très forte pour D2 > D3	forte pour 5-HT1A > 5-HT2A > 5-HT2C
bromocriptine	modérée pour D2 > D3 > D4 >> D1 = D5	moyenne pour 5-HT1 = 5-HT2 ; moyenne pour α2
cabergoline	forte pour D2 = D3 > D4 >> D1 = D5	modérée pour 5-HT1 = 5-HT2 ; moyenne pour α2
pergolide	forte pour D3 > D2 = D4 >> D1 = D5	modérée pour 5-HT1 = 5-HT2 ; moyenne pour α2
pramipexole	forte pour D3 >> D2 = D4 >> D1 = D5	moyenne pour α2
ropinirole	très forte pour D3 > D2 = D4 >> D1 = D5	

Tableau 1 : Récapitulatif des principales caractéristiques des agonistes dopaminergiques en fonction de leur affinité pour les différents types de RcD (1 à 5) et autres récepteurs (5-HT : sérotoninergiques, α : adrénergiques).

Actuellement, différents agonistes dopaminergiques existent, notamment le pramipexole (PPX), le ropinirole, l'apomorphine et la rotigotine qui sont des agonistes entiers. Ces substances présentent des affinités variables pour les différents types de récepteurs dopaminergiques mais se lient principalement et plus ou moins préférentiellement aux RcD2/D3 (Kvernmo et al., 2006; Mierau et al., 1995; Napier and Persons, 2019). Les caractéristiques d'affinités de ces substances pharmacologiques pour les récepteurs dopaminergiques (et autres récepteurs) sont récapitulées dans le tableau 1 ci-dessus (Napier and Persons, 2019).

Le traitement chronique de la MP par des agonistes dopaminergiques entraîne l'apparition d'effets secondaires non moteurs appelés troubles du contrôle des impulsions (TCI).

2. LES EFFETS SECONDAIRES DES TRAITEMENTS

2.1. Dyskinésies L-DOPA induites

Le traitement à la L-DOPA, bien qu'ayant des effets indiscutables sur les symptômes moteurs de la maladie (Cotzias et al., 1967), induit des effets secondaires moteurs appelés dyskinésies L-DOPA-induites (mouvements anormaux) chez la quasi-totalité des patients après 10 ans de traitement (Marsden and Parkes, 1977 ; Obeso et al., 2000 ; Bezard et al., 2001). Il est classiquement admis que le traitement à la L-DOPA se découpe en trois phases (Rascol et al., 2000). La période appelée « lune de miel » peut durer jusqu'à six années après le début de prise du traitement, période pendant laquelle les patients parkinsoniens traités présentent une large amélioration voire une suppression des symptômes moteurs. Après cette période de répit, les fluctuations motrices et les dyskinésies peuvent débuter, variant en intensité d'un patient à un autre, et étant très impactées selon leur état émotionnel. Puis, la L-DOPA perd en efficacité et la MP progresse de façon associée à une diminution des bénéfices du traitement.

Plusieurs types de dyskinésies existent : les dyskinésies de phases-off (posture dystonique et douloureuse, touchant les membres inférieurs) ; les dyskinésies bi-phasiques, apparaissant lorsque les taux de L-DOPA sont soit très élevés soit trop faibles et qui sont particulièrement invalidantes ; et enfin les dyskinésies de pic de dose qui sont les plus couramment retrouvées au cours de mouvements volontaires, au niveau des membres supérieurs, du cou et du visage.

Du fait de l'apparition de ces effets secondaires moteurs qui ne sont pas actuellement traitables, l'utilisation de L-DOPA est donc retardée au maximum par la prescription préalable d'un traitement pharmacologique aux agonistes dopaminergiques ou par la diminution de la

dose de L-DOPA en utilisant une double pharmacologie afin de diminuer les phases-off : L-DOPA couplée à un IMAO B, un inhibiteur de COMT ou un agoniste dopaminergique (Connolly and Lang, 2014).

Chez l'animal, il est suggéré que le développement de dyskinésies L-DOPA induites peut être dû à une plasticité synaptique corticostriatale dysfonctionnelle dans les boucles motrices (Bédard et al., 1999). Dans un contexte physiologique, la stimulation électrique à haute fréquence (SHF) des neurones du cortex moteur induit une augmentation de la transmission cortico-striatale (potentialisation à long terme, PLT) tandis qu'une stimulation basse fréquence produit l'effet inverse, c'est-à-dire une diminution de la transmission cortico-striatale (dépression à long terme, DLT). La lésion de la voie dopaminergique nigrostriée, caractéristique de la MP, altère cette PLT (Picconi et al., 2003). Dans ces mêmes études, le traitement à la L-DOPA des animaux suite à la lésion dopaminergique nigrostriatale a permis d'étudier l'effet du traitement dopaminergique sur ces altérations de plasticité, en fonction des effets secondaires moteurs développés par les animaux. En effet, suite au traitement par la L-DOPA, certains animaux ont développé des mouvements anormaux involontaires similaires aux dyskinésies L-DOPA induites tandis que d'autres n'ont pas développé d'effets secondaires moteurs. Ainsi, l'étude de l'activité neuronale chez les individus dyskinétiques et non dyskinétiques a démontré une amélioration des déficits de plasticité sous traitement à la L-DOPA. En revanche, la L-DOPA chez les individus dyskinétiques ne permet pas de restaurer la dépression à long-terme (diminution de l'activité neuronale) des neurones du striatum dorsolatéral après une stimulation basse fréquence des neurones du cortex moteur, contrairement à ce qui est visualisé pour les animaux non-dyskinétiques (Picconi et al., 2003, 2005).

2.2. Troubles du contrôle de impulsions (TCI)

Les TCI sont définis selon le « Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux » DSM-V comme étant « une incapacité à résister à une tentation, une impulsion, susceptible de nuire à soi-même ou à autrui ».

Le principal facteur de risque d'apparition reste le traitement aux agonistes dopaminergiques (Corvol et al., 2018; Grall-Bronnec et al., 2018) mais plusieurs facteurs associés peuvent intervenir dans leur développement. Certains troubles sont plus largement retrouvés chez les hommes que chez les femmes et vice versa tels que respectivement le jeu pathologique et l'hypersexualité ou les achats compulsifs et la prise compulsive de nourriture. De plus, un début de MP précoce, un historique personnel de dépression (passée ou présente), ainsi que le fait d'être un homme et/ou de ne pas être marié favorise le développement de TCI. Le passé du patient, ses habitudes de consommation de drogues et notamment de drogues dites d'abus (tabac et alcool inclus) ainsi que sa potentielle habitude à jouer à des jeux d'argent contribuent à l'augmentation du risque de développement de TCI (Bastiaens et al., 2013; Marques et al., 2018; Weintraub and Claassen, 2017; Weintraub et al., 2010), figure 12).

La difficulté avec ce type d'étude sur patients déjà sous protocole médicamenteux est l'absence de connaissance du profil individuel avant traitement. Les patients atteints de TCI et surtout leur entourage, reportent notamment des problèmes de jeu pathologique, d'achats compulsifs, d'hypersexualité, d'impulsivité (perte de contrôle), de répétitions d'actions et de prise compulsive de nourriture (Weintraub et al., 2010). Ces effets secondaires non moteurs ont un impact significatif sur la qualité de vie des patients et de leurs aidants, de par leur caractère impulsif / compulsif, répétitif et excessif handicapant. Ils peuvent engendrer des

problèmes financiers, légaux et médicaux importants et se révèlent donc être un enjeu de santé publique majeur. Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence des troubles associés au développement de ces TCI comme des déficits de l'humeur avec notamment la présence de troubles anxieux et dépressifs (de Chazeron et al., 2019; Santos-García et al., 2021)

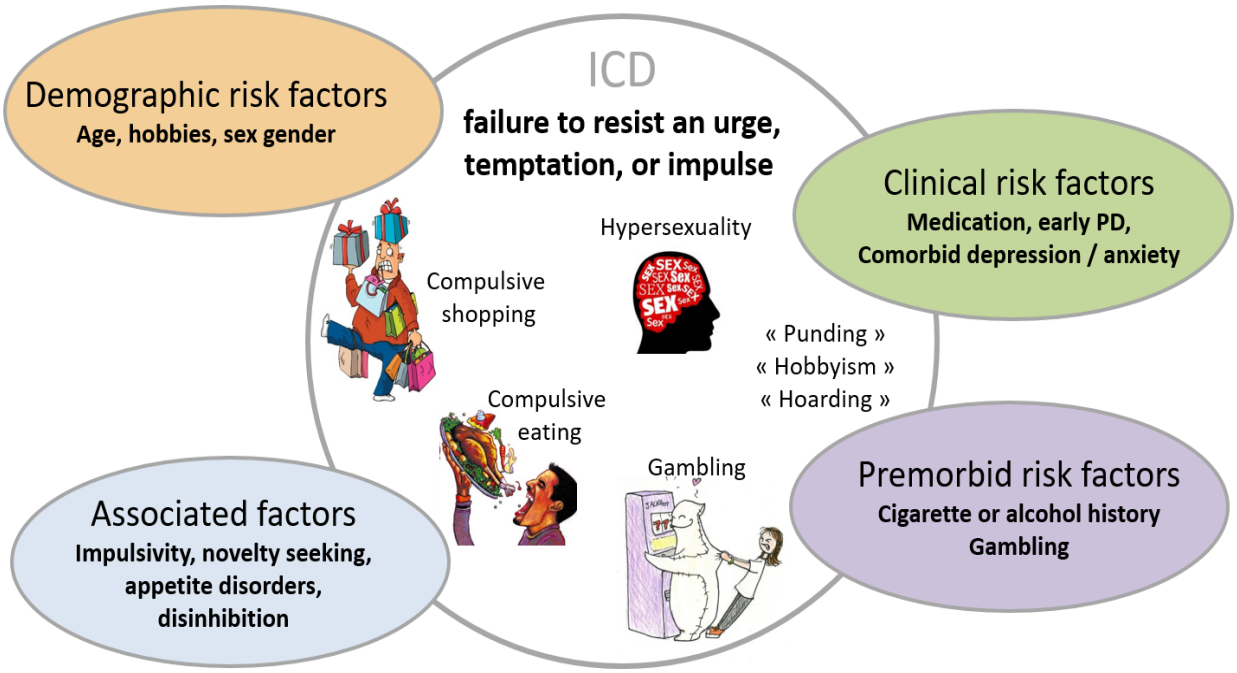


Figure 12 : Récapitulatif des différents facteurs de risques démographiques, cliniques, prémorbides, neuronaux, associés au développement de TCI dans la MP (d'après Weintraub and Claassen, 2017).

ICD = Impulse Control Disorders (ou Troubles du Contrôle des Impulsions, TCI)

La prévalence de ces troubles varie d'une étude et d'un échantillon clinique à l'autre, mais est estimée entre 13 et 30% (Antonini et al., 2017; Corvol et al., 2018; Perez-Lloret et al., 2012; Weintraub et al., 2010). Cependant, ces chiffres sont probablement sous-estimés du fait du manque de déclaration des patients. Une étude a révélé que 40% des patients présentent un nouveau TCI après 21 mois de traitement, tout en sachant que certains patients les

développent plus précocement que d'autres : la première apparition se déclare entre 3 mois et 10 années après le début du traitement (Bastiaens et al., 2013). Une seconde étude démontre que 9% des patients cumulent plusieurs TCI (Antonini et al., 2017).

2.2.1. Le jeu pathologique

Il est rapporté chez les patients parkinsoniens sous traitement dopaminergique à une prévalence d'environ 5 à 6 % (Antonini et al., 2017; Avanzi et al., 2006; Voon and Fox, 2007; Weintraub et al., 2010), majoritairement chez les hommes (Singh et al., 2007). Une étude clinique basée sur le screening de 297 patients (Voon et al., 2006) a démontré que les patients souffrant de ce trouble étaient particulièrement attirés par les jeux à gratification immédiate tels que les jeux de grattage et les machines à sous (Voon et al., 2009), impliquant des actes répétitifs et peu de sollicitation cognitive. De plus, les patients présentent des altérations du traitement de la récompense et de la punition : une hypersensibilité à la récompense et donc au gain dans le jeu est retrouvée, tandis qu'ils sont très peu sensibles à la « punition » et donc à la perte dans le jeu. Plusieurs études ont mis en évidence un état dit « hyperdopaminergique » chez les patients parkinsoniens ayant développé des TCI quand une récompense est présentée, avec une sensibilisation des neurones du striatum ventral induisant une recherche toujours plus importante de la récompense (O'Sullivan et al., 2011; Ray et al., 2012). Ce déficit du circuit de la récompense peut être mis en parallèle d'une augmentation de l'impulsivité chez les patients (Ray and Strafella, 2013) et d'un déficit du contrôle inhibiteur (Haagensen et al., 2020). De plus, des dysfonctions de connectivité entre le striatum et le cortex cingulaire antérieur sont également mises en évidence (Cilia et al., 2011).

2.2.2. L'hypersexualité

Elle est caractérisée par des pensées intrusives, des demandes inappropriées et excessives de rapports sexuels au conjoint, une attirance pour la pornographie. Ce trouble est souvent mal vécu par les patients, qui présentent régulièrement des troubles dépressifs associés (Voon et al., 2009). La prévalence est de 3,5%, plus importante chez les hommes que chez les femmes (Weintraub et al., 2010). Afin d'approfondir les connaissances sur les structures associées au développement de l'hypersexualité chez les patients parkinsoniens, des études d'imagerie médicale ont été réalisées et ont permis de mettre en évidence des altérations dans certaines structures corticales et sous corticales. Ainsi, une augmentation de l'activité du cortex préfrontal antérieur et du cingulaire antérieur et postérieur (Girard et al., 2019) ainsi que du gyrus frontal antérieur (Mata-Marín et al., 2021) ont été révélées.

2.2.3. Les troubles du contrôle de la prise alimentaire.

En règle générale, les patients parkinsoniens sont sujets à une perte de poids relative à une dépense énergétique plus importante expliquée par les symptômes moteurs, notamment par la rigidité mais également relative aux symptômes non moteurs induisant l'apparition plus rapide de la satiété, aux troubles de l'olfaction et de la déglutition. Les patients parkinsoniens présentent des troubles alimentaires, regroupant notamment la prise compulsive de nourriture (consommation non contrôlée et excessive de nourriture) et englobant l'addiction à la nourriture. Ainsi, 12,5% auraient développé des prises de nourriture hors repas (jour et nuit), 7% de la prise alimentaire nocturne et 24,5% de l'addiction à la nourriture (de Chazeron et al., 2021). Ce trouble met alors en jeu des déficits impulsifs et des dysfonctions du contrôle inhibiteur. De plus, des troubles de l'humeur telles que dépression et anxiété sont souvent retrouvés comme facteur de comorbidité chez ces patients (Santos-García et al., 2021). Ce TCI

est également plus largement retrouvé chez les femmes que chez les hommes (de Chazeron et al., 2019, 2021). En 2006, Nirenberg et Waters sont les premiers à avoir mis en lumière des pulsions alimentaires chez les patients parkinsoniens traités au pramipexole : cette étude s'est basée sur 7 patients présentant ces troubles et tous ceux ayant réduit la dose journalière ou arrêté leur traitement les ont vus diminuer (Nirenberg and Waters, 2006).

2.2.4. Les achats compulsifs.

Les patients atteints par ce trouble cèdent à des impulsions d'achats irrépressibles, excessifs et insensés. Ces achats, devenant particulièrement chronophages, ont rapidement un impact social et financier non-négligeable. Les femmes semblent plus particulièrement touchées par ce trouble dont la prévalence générale est de 6% (Antonini et al., 2017; Weintraub et al., 2010) pour les patients sous traitements aux agonistes dopaminergiques.

2.2.5. Le « punding », le « hoarding » et le « hobbyism »

Ces troubles se définissent comme étant des actions répétées, stéréotypées, peu productives et sans but précis. Les activités réalisées sont propres à chaque patient, en fonction de son expérience personnelle, professionnelle et de son vécu (Evans et al., 2004). Ces activités deviennent donc quotidiennes, omniprésentes et prennent le pas sur les activités vitales des patients : manger, dormir et les relations sociales peuvent alors passer au second plan. Les activités consistent souvent à trier, compter, collectionner, démonter / remonter des objets, sans fin, et leur réalisation aboutit à une satisfaction et à un apaisement (Voon et al., 2009). La prévalence de ces troubles est estimée à 14% mais est très probablement sous-diagnostiquée (Evans et al., 2004).

Des altérations des boucles cortico-striato-thalamo-corticales sont connues comme étant contributrices du développement des TCI (Carriere et al., 2015; Cilia et al., 2011; Santangelo et al., 2019), notamment avec l'implication du NAcc (impulsivité, système de la récompense), du cortex préfrontal (planification et jugement) et du striatum ventral et dorsal (compulsivité).

Effectivement les études d'imagerie permettant de visualiser la perfusion cérébrale sous-tendent l'hypothèse d'une perturbation des régions mésolimbiques. Une hyperactivité de l'amygdale, de l'insula, du striatum ventral et du cortex orbitofrontal est donc mise en évidence (Cilia et al., 2008). Le système mésolimbique dégénère tardivement dans la MP et est largement impliqué dans l'encodage de l'erreur de prédiction et de la récompense. Une différence entre les niveaux d'expression des RcD3/D2 dans le striatum ventral et le striatum dorsal est également remarquable. Ceux-ci sont diminués chez les patients parkinsoniens présentant des TCI (Payer et al., 2015; Stark et al., 2018), comme ils le sont également chez les patients consommateurs de drogues d'abus. De façon similaire, une étude post-mortem met également en évidence une expression moindre des RcD3 dans le striatum ventral des patients ayant présenté des TCI (Barbosa et al., 2019). Cependant, il n'est pas clairement défini si cette présence plus faible est due au processus pathologique ou à des différences interindividuelles prémorbides. D'autres études d'imagerie soulignent également une dénervation plus importante dans le striatum ventral chez les patients parkinsoniens présentant des TCI ce qui pourrait étayer l'hypothèse d'une atteinte différentielle de cette zone du système mésolimbique si les patients développent des TCI ou non.

Du fait de la variabilité interindividuelle à développer ou non des TCI pour les patients atteints de MP sous traitement dopaminergique, il est raisonnable de s'intéresser à une possible composante génétique pour étayer notre compréhension de l'induction de ce

phénomène. Plusieurs polymorphismes de gènes peuvent être liés à l'apparition de TCI tels que des polymorphismes touchant le gène du RcD3 (Bhattacharjee et al., 2017; Castro-Martínez et al., 2018), le GRIN2B (sous-unité 2B du récepteur N-méthyl D-aspartate) (Lee et al., 2009) et le RcD2 (Zainal Abidin et al., 2015), OPRM1 (récepteur opioïde) (Cormier-Dequaire et al., 2018), ou HTR2A (sous type du récepteur sérotoninergique 5-HT2) (Lee et al., 2012)

Les patients parkinsoniens développant des TCI présentent des altérations de leur profil cognitif. Plusieurs études cliniques et méta-analyses démontrent un déficit de mémoire de travail, de prise de décision ainsi que de l'impulsivité (Djamshidian et al., 2010; Rossi et al., 2010). Quelques études ont posé la question différemment et complètent en démontrant que chez des patients présentant un comportement de joueur pathologique, la voie dopaminergique mésocorticolimbique (circuit de la récompense) est altérée (Van Holst et al., 2010).

Aujourd'hui, les TCI entraînés par la prise d'agonistes dopaminergiques ne peuvent pas être pharmacologiquement pris en charge. L'alternative proposée aux patients est de diminuer ce traitement pour basculer vers un traitement à la L-DOPA. Une étude clinique (Jeon and Bortolato, 2020) a démontré que les traitements pharmacologiques efficaces contre les TCI idiopathiques – inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (citalopram, escitalopram, fluvoxamine, paroxetine), modulateurs glutamatergiques (memantine, topiramate), ou antipsychotiques (asenapine, clozapine, risperidone, ziprasidone, aripiprazole) – ne sont pas efficaces (modulateurs glutamatergiques et inhibiteurs de la recapture de la 5-HT) ou n'ont pas d'efficacité démontrée (antipsychotiques) pour les TCI induits par un traitement aux agonistes dopaminergiques (ici pramipexole et ropinirole).

2.3. Hypothèse de l'overdose dopaminergique

Le traitement de la MP, notamment aux agonistes dopaminergiques, permet de restaurer l'équilibre dopaminergique de la voie nigrostriée mais parallèlement, stimule de façon excessive la voie méso-cortico-limbique qui reste beaucoup moins impactée par la dénervation (Vaillancourt et al., 2013). Cet excès de stimulation induit une charge dopaminergique trop importante dans le système limbique et dans les structures associées comme le striatum ventral, le noyau caudé et le cortex préfrontal, pouvant induire des dysfonctions cognitives. Il a été démontré que le lobe frontal était largement impliqué dans les fonctions cognitives tels que la mémoire, la flexibilité cognitive, les processus émotionnels ou encore la prise de décision. De ce fait, une activité dopaminergique régulée est essentielle pour ces processus alors qu'une stimulation trop intense ou trop faible du RcD1 induit un dysfonctionnement, notamment sur la mémoire de travail (Floresco, 2013) et sur d'autres fonctions cognitives comme la flexibilité (Cools and D'Esposito, 2011; Cools et al., 2001a). Ainsi, la modulation dopaminergique suivrait une courbe en forme de U-inversé, bien que l'intégrité des efférences glutamatergiques du PFC soit également nécessaire et que le niveau mésocortical de dopamine soit important. Cependant, dans le PFC, l'inactivation de la dopamine se fait principalement par dégradation enzymatique, par l'intermédiaire du COMT puisque sa recapture n'est pas favorisée du fait de la faible expression du DAT (Sesack et al., 1998) induisant une persistance des effets de la dopamine.

OBJECTIFS DE LA THÈSE

Comme indiqué précédemment, le traitement de la MP aux agonistes dopaminergiques aboutit à l'apparition de symptômes non-moteurs très handicapants dans la vie quotidienne des patients et de leur entourage.

Le manque de données relatives à la compréhension des mécanismes sous-tendant leur développement et leur physiopathologie nous a poussé à orienter ce travail de recherche dans cette direction. Nous avons donc étudié les rôles respectifs d'une dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriatale et d'un traitement chronique au pramipexole sur les capacités de flexibilité cognitive afin de mettre en exergue une susceptibilité individuelle de diminution des performances mais également les structures cérébrales différentiellement impliquées (corticales notamment). Par la suite, les propriétés de plasticité synaptique de la voie allant du cortex orbitofrontal vers le striatum dorsomédian ont été étudiées afin de définir les effets du processus neurodégénératif et/ou du pramipexole, en nous basant sur les études préalablement réalisées dans la boucle motrice, mettant en évidence une altération des mécanismes de plasticité induit par la dénervation nigrostriatale et le traitement à la L-DOPA chez les animaux dyskinétiques.

Enfin, l'absence de modèle animal de TCI nous a conduit à orienter un autre axe de ce travail de thèse sur le développement d'un modèle animal. Ainsi, nous avons prioritairement voulu explorer l'impact de la dénervation nigrostriatale et du pramipexole sur le comportement spontané d'amassement de nourriture ainsi que sur un comportement opérant permettant d'évaluer la compulsivité.

MÉTHODES

CHAPITRE 1 –

CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES

Comme décrit précédemment, il existe plusieurs façons de modéliser la MP chez l'animal. Nous avons décidé de nous baser sur la modélisation par une approche virale de surexpression protéique d'alpha-synucléine humaine mutée en A53T. Ce modèle permet de reproduire plusieurs caractéristiques physiopathologiques de la MP, contrairement aux modèles toxiques aigus. Effectivement, il induit les déficits moteurs de la pathologie, de façon progressive. La lésion bilatérale de la SNc n'induit pas de comportement apathique ou d'adipsie / aphagie comme peut induire une lésion bilatérale réalisée à l'aide de la 6-OHDA. De plus, ce modèle présente également des agrégations protéiques d'alpha-synucléine au niveau nigral et striatal aboutissant à une perte neuronale dans la SNc et des terminaisons dopaminergiques dans le STR. Il est connu pour permettre en plus du développement de déficits moteurs, des déficits non moteurs. Ce type de modélisation est le donc plus pertinent pour les expérimentations comportementales et électrophysiologiques que nous avons pu mener. Des rats de souche Sprague-Dawley ont donc été injectés avec un vecteur viral exprimant l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T entre 8 et 10 semaines d'âge, bilatéralement dans la SNc, afin d'induire une dégénérescence dopaminergique d'environ 50% douze semaines après l'induction de la lésion.

Ce manuscrit est basé sur l'étude de la physiopathologie des effets secondaires non-moteurs des traitements aux agonistes dopaminergiques de la MP. Cependant, dans la littérature il n'existe pas de modèle animal de TCI qui soit simple à réaliser, reproductible et sur lequel nous pourrions baser des expériences complémentaires pour l'étude de mécanismes sous-jacents à leur développement. Nous nous sommes donc basés sur les données cliniques de TCI afin de réaliser plusieurs protocoles comportementaux et de générer un modèle pertinent. De plus, nous avons exploré l'implication de boucles cérébrales connues

comme dysfonctionnant chez les patients Parkinsoniens ayant développé des TCI dans une expérience d'électrophysiologie *in vivo* chez le rat anesthésié afin d'étayer nos connaissances sur les mécanismes mis en cause dans leur apparition.

CHAPITRE 2 –

EXPÉRIMENTATIONS

1. INDUCTION DE LA LÉSION DOPAMINERGIQUE ET TRAITEMENT AU PRAMIPEXOLE

1.1. Chirurgie

Comme décrit précédemment, il est possible de modéliser la MP par l'intermédiaire de plusieurs stratégies. Nous avons décidé de nous baser sur un modèle progressif, généré à l'aide d'un adénovecteur viral associé.

Pour cela, une anesthésie gazeuse à l'isoflurane est utilisée, pour son aspect sécuritaire et modulable (induction à 5% isoflurane et 4 litres/minute ; maintien entre 2% et 2,5% isoflurane et 1,5 litre/minute). Une médication pré, péri et post-opératoire est mise en place : injection de kétoprofène (anti-inflammatoire non stéroïdien) à 10mg/kg trente minutes avant et au lendemain de la chirurgie, injection d'une solution saline afin de prévenir la déshydratation, puis de la bétadine et de la xylocaïne (anesthésique local) au niveau du site chirurgical. L'incision du plan cutané au niveau de la boîte crânienne est réalisée afin de prendre les coordonnées d'injection dans la SNc, à partir du bregma : AP -5,1mm et -5,6mm ; L +/-2,2mm et +/-2mm ; P -8mm. Deux injections de 1µL sont effectuées par hémisphère, à une vitesse de 0,20µL/minute.

Deux groupes sont générés à l'issue des chirurgies. Le groupe contrôle, injecté avec un AAV2 (CMVie/SynP-GFPdegron-WPRE, 3.7 10^{13} gcp/mL) exprimant le transgène de la GFP et ayant pour promoteur CMVie/SynP lui permettant une expression neuronale. Le groupe lésé, injecté avec un AAV2 (CMVie/SynP-synA53T-WPRE, 5.2 10^{13} gcp/mL) exprimant le transgène de l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T et ayant le même promoteur (CMVie/SynP).

Cette modélisation permet une mort progressive des neurones dopaminergiques de la SNc. Les déficits moteurs apparaissent donc à partir de quatre semaines post-lésion. La lésion est caractérisée comme étant stable aux environs de neuf semaines (Bourdenx et al., 2015; Decressac et al., 2012). Les tests comportementaux sont réalisés en pré-lésion et à 4 semaines post-chirurgie (stepping test) et/ou à 9 semaines post-chirurgie.

1.2. Traitement

Pour chacun de nos groupes d'animaux (contrôles et lésés), un traitement chronique est mis en place, au pramipexole (PPX) ou à la solution saline. Dépendamment de l'expérience réalisée, ce traitement chronique sera variable, avec une durée minimale de 10 jours. L'injection est réalisée en sous-cutanée, dans le pli du cou des rats, à une dose de PPX de 0,3mg/kg depuis une solution concentrée à 0,3mg/mL. Dans les groupes non traités, un volume équivalent de solution saline à 0,9% est injecté.

2. TESTS COMPORTEMENTAUX

2.1. Le stepping test

L'activité locomotrice des animaux est estimée par le biais du stepping test, permettant d'évaluer l'akinésie des membres antérieurs (Olsson et al., 1995). Ce test s'effectue en réalisant un léger maintien du train postérieur de l'animal, combiné à la contention successive de l'une et l'autre des pattes avant contre le flan de l'animal. Ainsi, l'animal est déplacé de gauche à droite puis de droite à gauche sur une longueur de 90cm. Le nombre de pas d'ajustement est déterminé pour chaque patte, en déplacement aller et retour, et permet de déterminer les déficits moteurs et l'adaptation du mouvement de

l'animal. Deux sessions de test sont effectuées par jour (matin et après-midi) sur quatre jours consécutifs. Dans nos expérimentations, les performances post-lésion sont comparées aux performances pré-lésion.

2.2. Le test de flexibilité cognitive

Le test de flexibilité utilisé est un test de set-shifting (Brady and Floresco, 2015; Darrah et al., 2008; Istin et al., 2017), réalisé en cage opérante (Med-Associates). Chaque cage est équipée de deux leviers, chacun surmonté d'un indice lumineux. L'exercice est basé sur la capacité de l'animal à discriminer deux règles : une règle visuelle et une règle égocentrique. La récompense utilisée dans ce test est une pastille de sucrose (1118251, TestDiet), délivrée à chaque réponse correcte de l'animal.

Les animaux sont hébergés en cycle inversé et placés en restriction alimentaire une semaine avant le début des expérimentations afin de générer une motivation supplémentaire à réaliser l'exercice demandé. Celui-ci est découpé en deux phases : une phase d'entraînement et une phase de test. La phase d'entraînement s'effectue les cinq premiers jours, les deux leviers sont actifs et placés du même côté que la mangeoire, l'indice lumineux ne conditionnant pas la récompense. La phase de test (illustrée en figure 13) est réalisée sur seize jours consécutifs en pré et post-chirurgie ainsi qu'aux jours 1 à 4 et 18 à 21 pendant le traitement. Les leviers sont placés du côté opposé à la mangeoire et seulement un est renforçant.

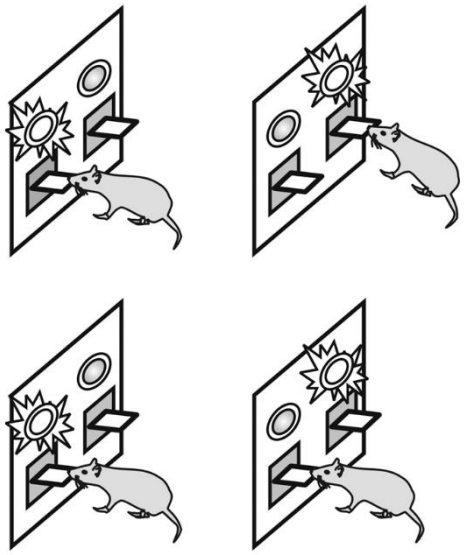


Figure 13 : Illustration du test de flexibilité comportementale réalisé en cage opérante.

En haut, une représentation de la règle visuelle où la position de l'indice lumineux détermine le levier actif. En bas, une représentation de la règle égocentrique où l'indice lumineux ne conditionne plus le levier actif mais où sa position (gauche ou droite) est renforçante (Brady and Floresco, 2015).

Pendant les 45 minutes de l'exercice, les règles visuelle et égocentrique alternent. Pendant la règle visuelle (1), le levier renforçant est conditionné par la position de l'indice lumineux le surplombant. En revanche, au cours de la règle égocentrique, c'est le positionnement du levier, gauche (2) ou droit (3), qui indique le levier actif renforçant. Chaque règle ne se présente pas plus de deux fois à l'animal. De plus, chaque jour l'animal débute l'exercice avec une règle différente. Ainsi sur quatre jours consécutifs, l'enchaînement alterne de la façon suivante : jour 1, 1-2-1-3 ; jour 2, 2-1-3-1 ; jour 3, 1-3-1-2 ; et jour 4, 3-1-2-1. Le changement de règle s'effectue après dix bonnes réponses consécutives. L'indice lumineux ne se présente pas plus de deux fois successives au même endroit.

Plusieurs paramètres sont étudiés au cours de cette phase de test : le pourcentage d'erreur global, le pourcentage d'erreur au sein de chaque règle, le nombre de règles complétées (10 bonnes réponses consécutives). Ainsi, en moyennant les performances des quatre derniers jours afin de prendre en compte les quatre différents enchaînements, un score

d'inflexibilité est obtenu en soustrayant le nombre de règles terminées au pourcentage d'erreur global.

Le score d'inflexibilité ainsi que le pourcentage d'erreur dans chaque règle, également moyenné sur quatre jours consécutifs, sont comparés à trois temps : pré-chirurgie, post-chirurgie et sous PPX aigue (jours 1 à 4) et chronique (jours 18 à 21). Le score d'inflexibilité en pré-chirurgie permet de catégoriser les animaux en trois groupes : les flexibles, les intermédiaires et les inflexibles. Les animaux flexibles sont ceux qui s'adaptent le plus facilement au changement de règles et qui ont les scores d'inflexibilité les plus faibles ; les animaux inflexibles s'adaptent plus difficilement au changement de règle au cours de la phase de test et ont les scores d'inflexibilité les plus hauts.

2.3. Le test d'amassement

Réalisé dans un open-field aux dimensions de 1m x 0.50m x 0.40m, ce test permet d'évaluer un comportement naturel du rongeur : l'amassement, pouvant s'apparenter au comportement de « punding » des patients Parkinsoniens sous traitement aux agonistes dopaminergiques. Effectivement, le « punding » du patient parkinsonien est caractérisé par une fascination intense d'objets communs, faisant partie de son quotidien et pour lequel il va générer des comportement stéréotypés et répétitifs sans but. Ici, l'animal peut mettre en place des séquences répétitives d'interaction avec les croquettes de nourriture classiques qu'il connait dans son quotidien.

Pour ce faire, l'animal est mis en restriction alimentaire à 15 grammes de nourriture par jour, deux jours avant le début des expérimentations afin de créer un léger stress alimentaire. Dans ce test, l'animal dispose de sa cage d'hébergement et des croquettes sont

disposées dans l'autre partie de l'open-field. Celles-ci sont au nombre de vingt-quatre et espacées à distance égale (figure 14).

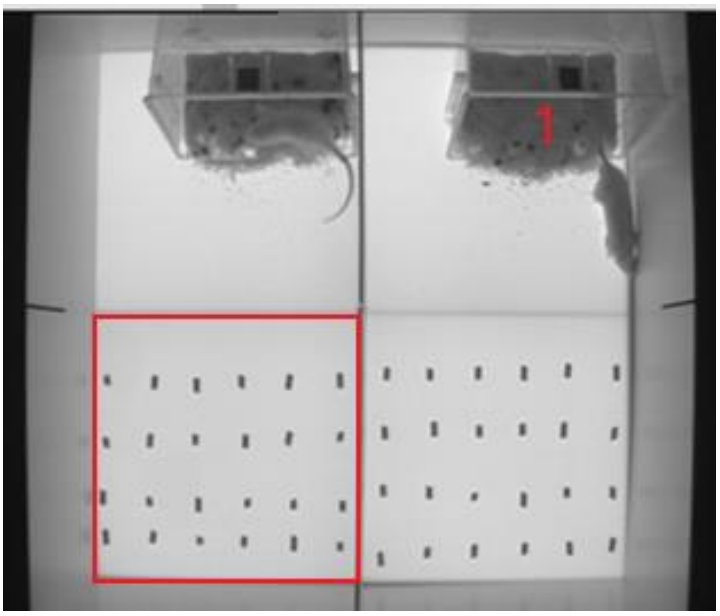


Figure 14 : Image extraite d'un test d'amassement.

Sur cette image sont représentées : en 1 la cage d'hébergement de l'animal, restant à sa disposition tout au long de l'exercice ; la zone croquettes, identifiable par le carré rouge.

Le test est réalisé pendant trente minutes et permet la mesure de plusieurs paramètres tels que : le temps passé dans la « zone croquettes » ainsi que le temps dédié aux interactions avec les croquettes de nourriture, le ratio du temps passé en interaction avec les croquettes sur le temps passé dans la « zone croquettes » et enfin le nombre de croquettes collectées par session. Le test est réalisé sur cinq jours consécutifs en pré et post-chirurgie et sur 10 jours consécutifs sous traitement au PPX. Les rats sont suivis et enregistrés grâce au système de videotracking de ViewPoint. Les vidéos sont ensuite analysées avec le logiciel Solomon Coder. Les données pré-chirurgie, post-chirurgie et sous traitement chronique au PPX sont comparées entre elles.

2.4. Le test de « signal attenuation »

Ce test comportemental permet de mettre en évidence des comportements de type compulsif et est connu pour mettre en jeu des structures impliquées dans le développement de TCI (Dardou et al., 2017). Il est réalisé sous légère restriction alimentaire (15 grammes par jour) et permet d'évaluer les capacités d'atténuation et d'extinction d'un comportement lié à un signal renforçant. Ici, le signal renforçant est un stimulus composite, généré par la présence d'un indice lumineux dans la mangeoire et d'un son. L'exercice est réalisé dans des cages opérantes (Med-Associates) chacune équipée de deux leviers rétractables. Il est décomposé en quatre parties : le « magazine training » ou MT, le « lever press training » ou LP, la phase d'atténuation et la phase d'extinction qui correspond à la phase de test (figure 15).

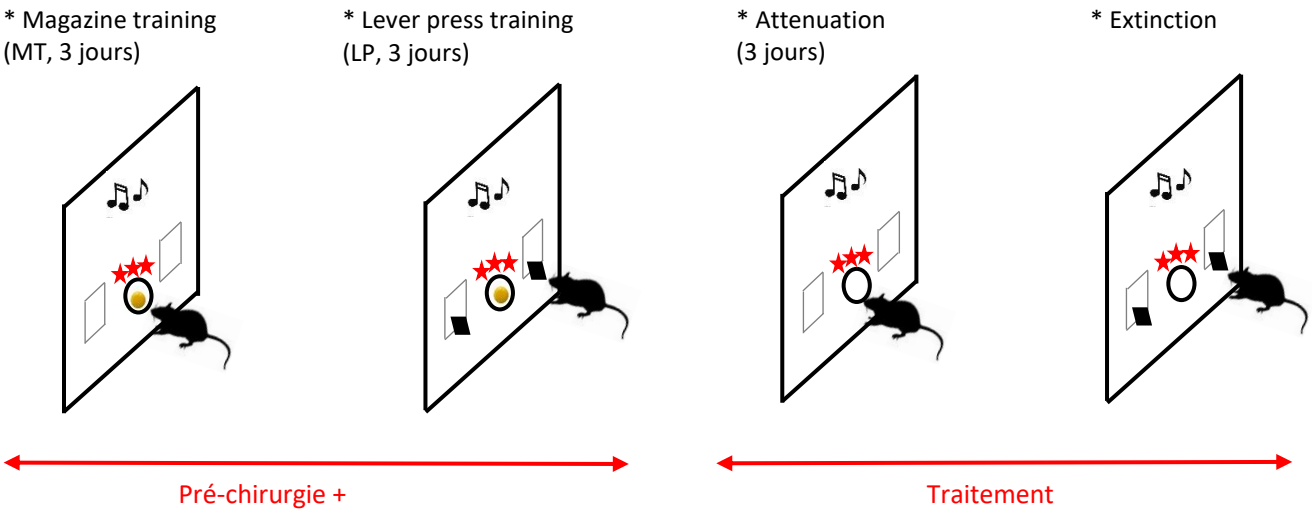


Figure 15 : Représentation schématique du test de "signal attenuation".

ualisation de la présence ou non des leviers, de la délivrance de la pastille de sucrose et du stimulus composite cours des quatre phases de ce test comportemental.

La phase de MT est réalisée sur trois jours consécutifs. Les leviers sont rétractés et le stimulus composite indique la présence d'une pastille de sucrose dans la mangeoire, tombant à intervalle régulier (30 secondes), sans action requise de l'animal. La phase de LP se déroule également sur trois jours consécutifs. Les deux leviers sont présents dans la cage, à disposition de l'animal, mais seulement un est renforçant et permet la délivrance d'une pastille de sucrose, associée au stimulus composite. Ces deux phases de l'exercice sont réalisées en pré-chirurgie et après la lésion dopaminergique de la voie nigrostriée lorsque les animaux sont sous traitement au PPX (ou saline). La phase d'atténuation du signal se déroule sur trois jours consécutifs. Les leviers sont rétractés et le stimulus composite est toujours présent à intervalle régulier mais ne conditionne plus la présence de la pastille de sucrose dans la mangeoire. Cette phase permet d'évaluer la capacité de l'animal à intégrer l'arrêt du renforcement par le stimulus composite. La phase d'extinction du signal appelée phase de test, n'est réalisée que sur une session. Les leviers sont à la disposition de l'animal et à chaque appui sur le levier renforçant, le stimulus composite est présent mais l'appui sur ce levier n'est pas associé à la délivrance d'une pastille de sucrose. Cette phase permet de définir le nombre d'appuis sur chaque levier, renforçant et non renforçant, le nombre de visites à la mangeoire ainsi que le nombre d'appuis sur le levier renforçant (LR) supplémentaire au premier appui permettant la délivrance de la récompense, dans un essai suivi d'une visite à la mangeoire (essai complété – ELP-C) ou non (essai non complété – ELP-U). Les phases d'atténuation et d'extinction ne sont réalisées que sous traitement au PPX. Cet exercice permet donc d'étudier le comportement compulsif de l'animal en comptabilisant les appuis compulsifs sur les leviers présentés.

3. ÉLECTROPHYSIOLOGIE

Nous avons mis en place une exploration électrophysiologique *in vivo* de la plasticité frontostriatale chez le rat anesthésié dans le but d'étudier des dysfonctionnements de cette voie cérébrale connue pour être impliquée dans le développement des troubles du contrôle des impulsions. Différents groupes ont été générés, pour évaluer l'impact de la lésion nigrostriatale et/ou du traitement chronique au pramipexole : un groupe contrôle, un groupe lésé présentant une dénervation de la voie nigrostriée, un groupe contrôle traité chroniquement au pramipexole et un groupe lésé traité chroniquement au pramipexole.

Des enregistrements des neurones striataux suite à une stimulation corticale dans le cortex orbitofrontal ont été effectués. L'électrode de stimulation est placée aux coordonnées suivantes à partir du bregma : AP +3mm ; L -2mm ; P -5,5mm tandis que l'électrode d'enregistrement est descendue progressivement dans le striatum dorsomédian (AP +0,5mm ; L -1,75mm ; -4,5mm < P < -6mm). Lorsqu'un neurone striatal répondant à la stimulation corticale est enregistré, nous cherchons progressivement l'intensité de stimulation qui nous permet d'obtenir une probabilité de réponse de 50%. Nous réalisons ensuite un enregistrement basal de 20 minutes et si la probabilité de réponse du neurone reste stable, nous réalisons une stimulation haute fréquence (SHF) avec deux trains de 100 pulses à 50Hz espacés de 10 secondes à l'intensité de stimulation entrainant une probabilité de réponse de 100%. La probabilité de réponse du neurone à la stimulation corticale permettant d'obtenir 50% de réponse au cours de l'enregistrement basal est de nouveau étudiée, au cours des 45 minutes suivant cette SHF. La réponse obtenue est une augmentation de cette probabilité de réponse, traduisant une potentialisation à long-terme (PLT). Le protocole expérimental est récapitulé dans la figure 16 ci-dessous.

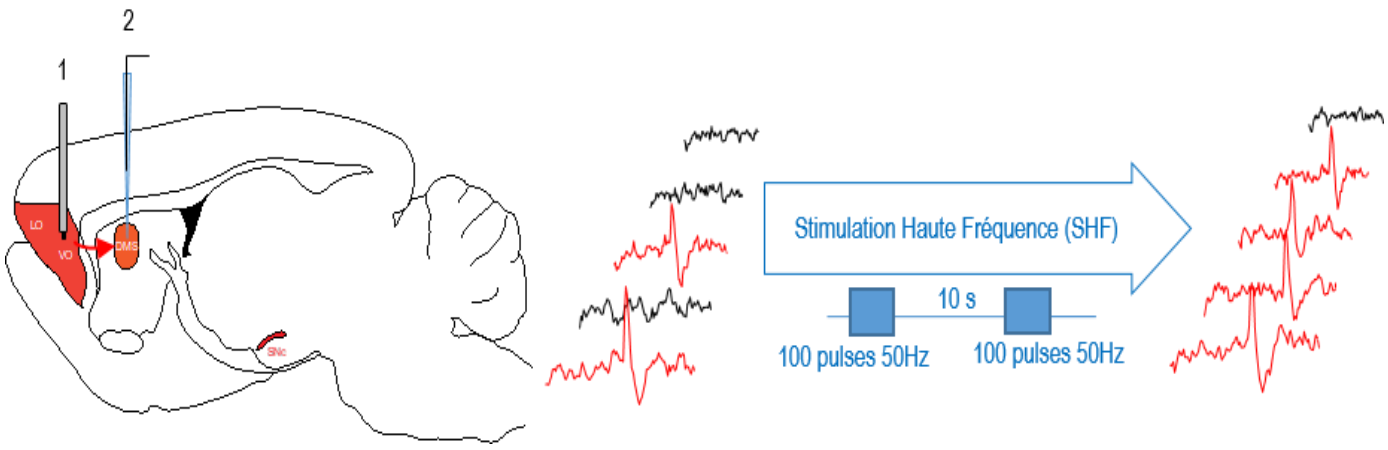


Figure 16 : Récapitulatif du protocole de stimulation haute fréquence.

Schématisation de la localisation des électrodes de stimulation dans le cortex orbitofrontal (1) et d'enregistrement dans le striatum dorsomédian (2). Des exemples de tracés électrophysiologiques permettent de visualiser la réponse d'un neurone épineux de taille moyenne à la stimulation du cortex orbitofrontal, avant (à gauche du protocole) et après stimulation haute fréquence (à droite du protocole). En noir sont représentés des essais de stimulation qui n'induisent pas de réponse striatale tandis qu'en rouge sont représentés les essais de stimulation induisant la genèse un potentiel d'action.

Le rat est ensuite injecté avec une dose sublétale de doléthal (120mg/kg) de façon à induire une profonde anesthésie et à réaliser une perfusion intracardiaque de NaCl 0,9% suivie de paraformaldéhyde 4% pour récupérer le cerveau et réaliser une immunohistochimie anti-TH permettant de visualiser la dégénérescence de la voie nigrostriée. De plus, les coupes de cortex sont contre-colorées au crésyl-violet pour vérifier la localisation de notre électrode de stimulation.

4. ANALYSES POST-MORTEM

4.1. Coupes et Immunohistochimie

Une fois les cerveaux post-fixés et cryoprotégés (dans une solution de sucrose 20%), des coupes coronales de 50µM sont réalisées en 6 séries pour les structures suivantes : cortex, striatum et substance noire. Elles sont ensuite stockées à -20°C dans une solution cryoprotectrice. Des marquages de la TH et de c-fos sont effectués. Pour cela, trois rinçages TBS 1X sont effectués avant de réaliser une extinction de l'activité des péroxydases endogènes par un bain de 10 minutes de H_2O_2. Un bain d'1h30 dans un tampon de blocage 3% BSA (bovin serum albumin) et 0,3% Triton dans du TBS 1X est effectué. L'anticorps primaire anti-TH (1/10000, 22941, Immunostar, USA) ou anti-c-fos (1/4000, sc 271243, Santa Cruz, USA) est incubé respectivement pendant 24 heures ou toute la nuit (soit environ 16 heures) à 4°C dans du tampon de blocage. Après trois rinçages TBS 1X successifs, les coupes sont incubées 1 heure à température ambiante avec l'anticorps secondaire (1/500, BA-9200, Vector Laboratories) dans du tampon de blocage. Puis une nouvelle série de lavage est effectuée avant l'incubation avec le kit de substrat de la péroxydase (SK-4100 kit, Vectorlabs), amplifiée par le kit-ABC (PK-6100, Vectorlabs) afin de révéler le signal. Les coupes sont ensuite montées sur des lames gélatinées et couvertes avec du DePex.

4.2. Évaluation de la neurodégénérescence par comptage stéréologique des neurones TH positifs et de la densité de neurones c-fos positifs

Les neurones TH positifs de la substance noire sont comptés à l'aide de la méthode du fractionneur optique sur une des séries de SNc, comme précédemment décrit (Engeln et al., 2016). Un échantillonnage aléatoire systématique a été réalisé avec le logiciel Mercator Pro

V6.5 (Explora Nova) couplé à un microscope Leica 5500B. Suite à la délimitation de la SNc à l'objectif x5, le comptage a été fait à l'objectif x40.

La densité de neurones c-fos positifs a été évaluée dans le striatum, le noyau accumbens (core et shell), le cortex orbito frontal (ventral et latéral) et le cortex préfrontal médial (A32D et A32V). Les zones ont été délimitées respectivement d'après les coordonnées AP : bregma + 1,68mm pour le striatum et le NAcc ; AP : bregma + 4,68mm pour les structures corticales de l'atlas rat Paxinos et Watson.

4.3. Statistiques

Toutes les données sont exprimées en moyenne plus ou moins l'erreur standard de la moyenne (SEM) et analysées avec le logiciel GraphPad Prism 8. La normalité est systématiquement testée avec le test de Kolmogorov-Smirnov. A la suite de l'étude de distribution des valeurs, les données suivant une loi normale et ayant donc une distribution Gaussienne sont analysées avec une ANOVA (analyse des variances) suivie d'un test de comparaison multiple (post-hoc Tukey). Si seulement deux jeux de données sont analysés, c'est un t-test de Student qui est effectué. En revanche, si les jeux de données ne suivent pas une distribution normale, alors un test de Krukal-Wallis suivi d'un test post-hoc de Dunn ou un test de Mann-Whitney sont appliqués. Quand des corrélations sont effectuées, elles sont réalisées avec une corrélation de Pearson. Un niveau de significativité minimal de $p<0,05$ est retenu pour chaque test statistique.

RÉSULTATS

1. Flexibilité cognitive et MP, identification d'une susceptibilité individuelle.

1.1. Résultats principaux

Notre premier projet s'est intéressé à l'étude de l'impact de la dégénérescence dopaminergique nigrostriatale et du traitement chronique au pramipexole sur les capacités individuelles de flexibilité cognitive (résumé graphique en figure 17).

Effectivement, les patients parkinsoniens peuvent présenter une altération de leurs fonctions exécutives, notamment de flexibilité cognitive. Nous savons que les capacités de flexibilité cognitive reposent notamment sur l'implication de boucles corticostriatales, que l'on connaît comme étant modulées par la dopamine.

Les capacités de flexibilité cognitive sont évaluées en pré-chirurgie, post-chirurgie et sous traitement chronique au pramipexole à l'aide d'une tâche de « set-shifting » présentant une alternance d'une dimension visuelle et d'une dimension égocentrique. Les résultats pré-chirurgie nous permettent de distinguer trois groupes d'animaux présentant des capacités de flexibilité différentes, nommés flexibles (FLEX) pour les meilleurs, intermédiaires (INT), et inflexibles (INFLEX) pour les moins performants. L'objectif de l'étude était d'étudier l'impact de la lésion nigrostriatale, du traitement chronique au pramipexole et des deux cumulés sur les capacités individuelles de flexibilité. Ainsi, nous avons mis en évidence que les performances de flexibilité cognitive sont impactées après la lésion de la voie nigrostriée mais uniquement chez les animaux catégorisés comme étant initialement flexibles. Le traitement chronique au pramipexole détériore les capacités de flexibilité cognitive pour les individus

flexibles contrôles et lésés bien que son effet délétère soit plus important chez les lésés que chez les contrôles. Chez les animaux intermédiaires, le pramipexole induit une augmentation du score d'inflexibilité chez les contrôles et les lésés, plus importante chez les lésés. Les individus inflexibles lésés sont impactés par le traitement chronique au pramipexole, contrairement aux individus inflexibles contrôles.

Lorsque nous nous sommes intéressés aux détails de l'exercice de « set-shifting » nous avons mis en évidence des impacts différents sur les deux dimensions, visuelle et égocentrique, de l'exercice. Ainsi, la dimension visuelle n'est impactée ni par la dénervation de la voie nigrostriée ni par le traitement au pramipexole chez les animaux flexibles et intermédiaires tandis que les animaux inflexibles présentent une augmentation de leur pourcentage d'erreur. Concernant la dimension égocentrique, celle-ci est impactée par la lésion nigrostriatale et par traitement au pramipexole chez les animaux flexibles avec un effet délétère plus important après lésion. L'impact négatif chez les animaux intermédiaires n'est lié qu'au traitement au pramipexole, tandis que les performances des animaux inflexibles dans cette règle égocentrique ne sont pas impactées, ni par la lésion ni par le traitement chronique au pramipexole.

La dénervation de la voie dopaminergique nigrostriée et le traitement au pramipexole impactent différentiellement les capacités de flexibilité cognitive ce qui nous permet de suggérer que la susceptibilité de développer des troubles du contrôle des impulsions après la prise de médication dopaminergique tel qu'un agoniste D3/D2 comme le pramipexole pourrait être dépendante des différences de performances pré-morbides.

Les résultats principaux de ce premier projet sont résumés dans la figure 17 ci-dessus et l'ensemble de ce travail fait actuellement l'objet d'un article en cours de soumission (article 1).

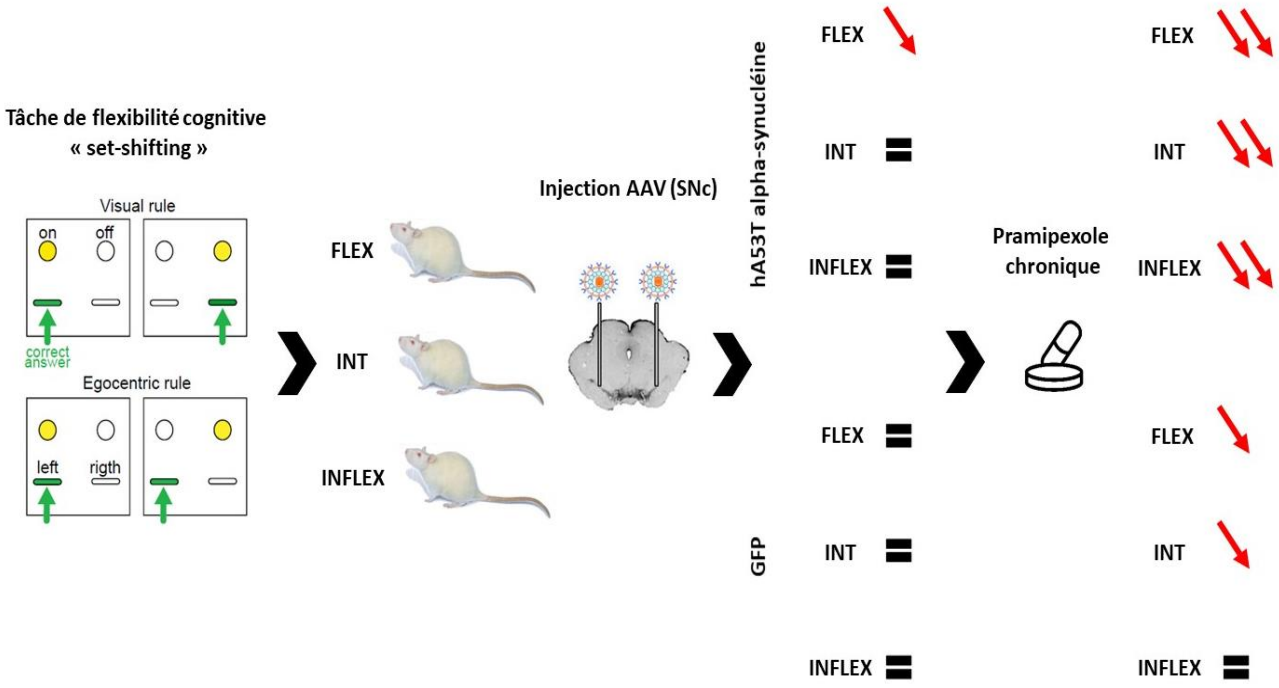


Figure 17 : Effets de la dégénérescence dopaminergique et du pramipexole sur les scores d'inflexibilité.

FLEX = flexible, INT = intermédiaire, INFLEX = inflexible ; AAV : adénovecteur viral ; SNc = Substance noire pars compacte ; GFP = green fluorescente protein.

Les flèches rouges représentent une dégradation des performances dans la tâche de flexibilité cognitive tandis que les signes « égal » noirs correspondent à un maintien des performances.

ARTICLE 1 –

Loss of behavioural flexibility depends on individual premorbid performances in experimental Parkinsonism

Loss of behavioural flexibility depends on individual premorbid performances in experimental Parkinsonism

Mélina Decourt[1], Eric Balado[1], Maureen Francheteau[1], Marcello Solinas[1], Marianne Benoît-Marand[1*], Pierre-Olivier Fernagut[1*]

[1] Université de Poitiers, INSERM, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France

[*] These authors contributed equally to this work.

Corresponding author: Pierre-Olivier Fernagut, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Université de Poitiers, Bâtiment B36, 1 Rue Georges Bonnet BP 633 TSA 51106, 86073 Poitiers cedex 9, France. Tel: +33(5)49453401 ; e-mail: pierre.olivier.fernagut@univ-poitiers.fr

Word count: Abstract: 247 words. Main text: 3567 words

Running title: Dopamine and behavioural flexibility

Key Words: Parkinson's disease; dopamine; impulse control disorders; pramipexole; behavioural flexibility

Conflict of interest: none

Funding sources: This study was supported by Fondation de France (grant #00086205).

ABSTRACT:

Subtle cognitive impairment can occur early in the course of Parkinson's disease and may manifest under different forms of executive dysfunction such as impaired cognitive flexibility. The precise contribution of nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration to these non-motor features of the disease is poorly known. Whether such type of cognitive impairment associated with the disease process may also predate and contribute to the development of non-motor side-effects following dopamine replacement therapy remains largely unknown. Here, we investigated the respective contributions of nigrostriatal degeneration and chronic treatment with pramipexole treatment on behavioural flexibility in a rat model of Parkinson's disease induced by bilateral viral-mediated expression of human α-synuclein in the substantia nigra pars compacta. Behavioural flexibility was assessed at baseline, after nigrostriatal degeneration, and during chronic pramipexole treatment using a set-shifting task requiring switching between a visual and an egocentric rule. Nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration impaired behavioural flexibility in flexible but not in inflexible rats. Pramipexole induced a decrease of behavioural flexibility that was exacerbated in lesioned rats. Furthermore, the deficits observed in lesioned rats affected different rules of the task between flexible and inflexible rats. These results indicate that nigrostriatal degeneration and pramipexole unequally impair behavioural flexibility, suggesting that the susceptibility to develop non-motor features over the course of the disease and impairments upon treatment initiation could primarily depend on pre-morbid differences in behavioural flexibility.

INTRODUCTION

Non-motor features of Parkinson's disease (PD) and non-motor side effects of dopamine replacement therapy are important factors contributing to the decreased quality of life of the patients.[1-3] Within the large spectrum of non-motor symptoms, subtle cognitive impairment can occur early during the course of the disease and may manifest under different aspects of executive dysfunction, such as attentional, memory deficits, as well as decreased cognitive flexibility.[4-6]

Dopamine replacement therapy with dopaminergic D2/D3 agonists is widely used to relieve motor symptoms but is associated with compulsive behaviours designed as impulse control disorders (ICD) in a significant proportion of patients.[7-10] ICD are defined by the inability to refrain the urge to repeatedly engage in behaviours leading to harmful personal, social or financial consequences such as pathological gambling, hypersexuality, binge eating or compulsive shopping.[10] The fact that ICD affect only a subset of PD patients suggests a significant role for an underlying individual vulnerability as a predisposing factor.[3]

Executive functions contribute to develop adapted goal-directed behaviours and several clinical studies have highlighted impairments in PD patients with ICD.[11-13] Particularly, working memory, visual-spatial planning, reward processing and cognitive and behavioural flexibility (set-shifting, task switching) are impaired.[11, 13-15] Cognitive flexibility represents the ability to switch thinking between concepts and behavioural flexibility is defined as the ability to adapt behaviour according to environmental changes. As tests assessing cognitive flexibility require behavioural responses, both constructs are intimately associated.[16] Whether such type of cognitive impairment associated with the disease process may predate and/or contribute to the development of ICD remains largely unknown.

The pathophysiology of executive dysfunction involves dopaminergic and non-dopaminergic (cholinergic, noradrenergic and serotonergic) systems, leading to the dysfunction of frontostriatal circuits.[17] Interestingly, frontostriatal dysfunction has been identified in PD patients with ICD [12, 18],

suggesting some pathophysiological overlap between non-motor symptoms of PD and non-motor side effects of dopamine replacement therapy. The occurrence of these non-motor features early in the course of the disease further suggest a possible contribution of nigral dopaminergic neurons.

Here, we used a rat model of PD induced by viral-mediated expression of α-synuclein in the substantia nigra pars compacta (SNc) [19, 20] to probe the potential contribution of the nigrostriatal pathway to behavioural flexibility and the possible implications for developing further impairments under dopamine replacement therapy. To this end, we investigated interindividual responses to nigrostriatal degeneration on behavioural flexibility in a set-shifting task, as well as the effects of pramipexole (PPX), one of the most widely used dopaminergic treatment that is also implicated in ICD.

METHODS

Subjects

All experiments were approved by the local ethical committee (Comethea Poitou-Charentes C2EA-84, study approval #11562-2017092810291542) and performed under the European Directive (2010/63/EU) on the protection of animals used for scientific purposes. Male Sprague Dawley rats (n=52, 175g, Janvier, France) were housed on a reversed 12h cycle. After seven days of habituation, they were food restricted to 15g per day one week before behavioural studies. Water was available *ad libitum*.

Flexibility procedure

This procedure requires operant chambers (Med Associates, USA) equipped with two identical levers, each surmounted by a light cue. Before assessment of set-shifting abilities, five consecutive training sessions were performed during 1 hour session to train the rat to press the levers and to collect the reward in the magazine. The two levers were active and presses on each allow the obtention of sucrose reward. Behavioural flexibility was assessed before surgery (baseline, 16 sessions, after the training

sessions), 9 weeks after nigrostriatal degeneration (post-AAV surgery, 16 sessions) and during chronic PPX treatment (days 1 to 4, days 10 to 13 and days 18 to 21), with a set-shifting task requiring discriminating between two rules based on two distinct perceptual dimensions: visual and egocentric.[21-23] Experiments were performed daily during 45 minutes sessions. The visual and egocentric dimensions alternated during test sessions. During the visual rule, the active lever was determined by the position of the light cue above it. During the egocentric rule, only one lever (right or left) was active, independently of the position of the light cue (**Fig 1A**). For each rule, the position of the light cue was randomly determined and could occur above the same lever only for two consecutive trials.

A good lever choice led to obtain a 45mg sucrose pellet reward (TestDiet, UK). Otherwise, a sound was triggered, and the house-light was turned on for twenty seconds (time-out). A new trial start automatically, at least after time-out or after the sucrose pellet collection if it occurs after the 20 seconds time-out. Rules alternated after ten correct responses. Each dimension (visual and egocentric) was presented at most twice per session. For each session, the percentage of incorrect responses (error percentage) and the number of completed rules were quantified. An inflexibility score was determined for each rat as the mean error percentage minus the number of completed rules over the last four sessions. Rats were clustered in tertiles, based on their baseline inflexibility score: Flexible (FLEX, n=17), Intermediate (INT, n=17) and Inflexible (INFLEX, n=18). During the PPX treatment, six rats were inactive and not performed any press on levers. These rats were excluded.

AAV- α-synuclein-mediated lesion

Upon completion of baseline testing, FLEX, INT and INFLEX rats were randomly assigned to the sham or lesioned group. Rats were anesthetized with isoflurane and placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments®). Pre-surgical analgesia was performed with ketoprofen (10 mg/kg, i.p.) and local analgesia with 2% xylocaine gel. Two bilateral injections were performed in the SNc (in millimeters from bregma and dura, AP : -5,1 and -5,6 ; ML : +/-2,2 and +/-2 ; DV : -8) with 1µL of AAV2

expressing human A53T α-synuclein (CMVie/SynP-synA53T-WPRE, 5.2 10^{13} gcp/mL) or AAV2 expressing GFP (green fluorescent protein, CMVie/SynP-GFPdegron-WPRE, 3.7 10^{13} gcp/mL) at 0.2µL/min as previously described. [19, 24]. Post-surgical analgesia was performed with ketoprofen (10 mg/kg/day, i.p.). Akinesia was estimated twice a day during four consecutive days using the stepping test as previously described [25] at baseline, 4 and 9 weeks after surgery, and following chronic PPX treatment.

Treatment

PPX (Sequoia Research Products, UK) was prepared daily in sterile saline and administrated subcutaneously at a dose of 0,3mg/kg/day for 21 days (Engeln 2016). Behavioural flexibility was tested 45 minutes after PPX injection (Rokosik and Napier 2012).

Tissue processing and histopathological analysis

Brain collection was performed after the last flexibility session. Sodium pentobarbital (120mg/kg, i.p.) was injected prior to an intracardiac perfusion with 200 mL 0,9% NaCl followed by 200 mL ice-cold 4% paraformaldehyde. Overnight post-fixation in the same fixative and cryoprotection in H_2O/20% sucrose at 4°C were realized. Brains were frozen in isopentane at -40°C and stored at -80°C. Serial 50 µm coronal free-floating sections were collected and stored at -20°C in a cryoprotectant solution. Sections were processed for immunohistochemistry against tyrosine hydroxylase (TH, 1/10000, 22941, Immunostar, USA). TH positive neurons were counted using the optical fractionator method on every 6th section of the SNc as previously described.[24] Systematic random sampling was performed with the Mercator Pro V6.5 (Explora Nova) software coupled with a Leica 5500B microscope. Following delineation of the SNc with x5 objective, counting was done with x40 objective.

Statistical analysis

Data are expressed as mean ± Standard Error of the Mean and analyzed using GraphPad Prism 8 software. Normality was tested with the Kolmogorov-Smirnov test. Data having a Gaussian

distribution were analyzed using two-way analysis of variance (ANOVAs) followed by Tukey's post-hoc multiple comparisons test, except when comparing only two groups where a Student's t-test was performed. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test, or Mann-Whitney test were applied when data did not follow a normal distribution. The following variables were analyzed: lesion (sham vs lesioned), time (baseline, post-AAV, PPX) and flexibility status (FLEX, INT, INFLEX). Correlations were performed with Pearson's correlation. For all analyzes, a p value < 0.05 was considered significant.

RESULTS

Characterization of the population based on basal inflexibility score

Upon completion of baseline sessions, the analysis based on the inflexibility score allowed segregating three different groups ($H = 45.50$, $df = 2$, $p<0.0001$, **Fig 1A**): FLEX, INT and INFLEX (FLEX vs INT: $p<0.01$, INT vs INFLEX: $p<0.01$, FLEX vs INFLEX $p<0.0001$). Baseline error rate was higher for the egocentric dimension than for the visual dimension in all groups ($F_{1, 100} = 47.02$, $p<0.0001$; FLEX: $p<0.05$, INT: $p<0.001$, INFLEX: $p<0.001$, **Fig 1B**) indicating better performances when the active lever was indicated by a visual cue. Moreover, INFLEX animals made more errors than FLEX animals both in the visual and egocentric dimensions ($F_{2, 100} = 14.15$, $p<0.0001$; visual: $p<0.05$, egocentric: $p<0.001$, **Fig 1B**).

Alpha-synuclein-induced nigrostriatal degeneration and motor deficits.

Stereological counts showed that viral-mediated expression of α-synuclein led to a significant loss of TH-positive neurons in the SNc (-42.56%, $t = 9.898$; $df = 51$; $p<0.0001$ **Fig 1C**). The extent of the lesion was independent of baseline flexibility and each group that underwent viral-mediated expression of α-synuclein presented a similar loss of SNc neurons compared to their sham counterparts (**Fig 1D**).Viral-mediated expression of α-synuclein in the SNc induced progressive bilateral motor deficits with a significant effect of the lesion ($F_{1, 204} = 316.8$, $p<0.0001$), time ($F_{3, 204} = 77.04$, $p<0.0001$) and lesion X time interaction ($F_{3, 204} = 45.23$, $p<0.0001$, **Fig 1E**). Motor deficits were significant at 4 weeks post-AAV ($p<0.0001$), worsened at 9 weeks ($p<0.0001$) and were improved by PPX ($p<0.0001$). The magnitude of stepping deficits was similar between all lesioned rats regardless of the initial inflexibility score (**Fig 1F**).

Effects of dopaminergic neurodegeneration and chronic treatment with pramipexole on behavioural flexibility

When considering the entire rat population with no distinction between FLEX, INT and INFLEX groups, there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 153} = 48.88$, $p<0.0001$), time ($F_{2, 153} = 60.75$, $p<0.0001$) and lesion X time interaction ($F_{2, 153} = 12.75$, $p<0.0001$, **Fig 2A**). Viral-mediated expression of α-synuclein had no significant effect on inflexibility score when compared with baseline performances, but lesioned rats displayed worse performances than their sham counterparts after AAV surgery ($p<0.001$). Chronic treatment with PPX induced a significant worsening of behavioural flexibility in both sham and lesioned animals compared with post-AAV ($p<0.0001$, **Fig 2A**). However, this deleterious effect of PPX was more pronounced in lesioned than in sham animals ($p<0.0001$, **Fig 2A**).

When considering individual inflexibility score, this parameter was differentially affected both by nigrostriatal lesion and by PPX (**Fig 2B**, each color rectangle representing an animal). In FLEX animals there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 48} = 18.50$, $p<0.0001$), time ($F_{2, 48} = 32.68$, $p<0.0001$) and lesion X time interaction ($F_{2, 48} = 6.01$, $p<0.001$, **Fig 2C**). Nigrostriatal lesion induced a significant deterioration of set-shifting compared with baseline ($p<0.05$). If PPX treatment worsened the inflexibility score both in sham ($p<0.01$) and lesioned FLEX rats ($p<0.05$), this deleterious effect was more pronounced in lesioned than in sham animals ($p<0.01$). In INT rats, there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 45} = 38.08$, $p<0.0001$), time ($F_{2, 45} = 60.50$, $p<0.0001$) and lesion X time interaction ($F_{2, 45} = 8.43$, $p<0.001$, **Fig 2D**). If baseline performances were not affected by the dopaminergic denervation, PPX induced an increase of the inflexibility score in both sham and lesioned rats ($p<0.0001$), and this deleterious effect was higher in lesioned than in sham rats ($p<0.0001$). In INFLEX rats, there was no difference between sham and lesioned rats at post-AAV, and only lesioned rats were affected by chronic PPX treatment ($p<0.001$ vs post-AAV and vs sham, **Fig 2E**).

These results indicate that α-synuclein induced nigral degeneration impairs behavioural flexibility only in FLEX animals and that the lesion potentiated the deleterious effect of PPX on behavioural flexibility in all animals. Moreover, the magnitude of the deleterious effect of PPX on flexibility negatively correlated with the inflexibility score before PPX treatment both in sham ($r=-0.5841$, $p<0.001$, **Fig 2F**) and lesioned animals ($r=-0.4777$, $p<0.05$, **Fig 2G**).

Effects of dopaminergic neurodegeneration and PPX on each dimension of the set-shifting task. As the set-shifting task involves rules based on two distinct perceptual dimensions (visual and egocentric), we assessed how each dimension was affected by the lesion and by PPX. The visual error rate was not impaired by the dopaminergic lesion or by PPX in FLEX and INT rats (**Fig 3 A-B**). However, in INFLEX rats, there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 48} = 5.25$, $p<0.05$), lesion X time interaction ($F_{2, 48} = 7.18$, $p<0.01$), and PPX increased the visual error rate in INFLEX lesioned animals compared to their sham counterparts ($p<0.001$, **Fig 3C**). Regarding the egocentric dimension, there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 48} = 9.64$, $p<0.01$) and time ($F_{2, 48} = 40.83$, $p<0.0001$) in FLEX animals that displayed a significant deficit after PPX compared to post-AAV (sham: $p<0.001$, lesioned: $p<0.0001$, **Fig 3D**). In addition, this deficit induced by PPX was greater in lesioned that in sham rats ($p<0.01$ **Fig 3D**). The error rates of INT sham and lesioned animals during the egocentric rule were also significantly higher after PPX treatment compared with post-AAV ($p<0.01$, **Fig 3E**). Conversely, the performances of INFLEX sham and lesioned animals in the egocentric dimension were unaffected by the lesion or by PPX (**Fig 3F**).

We also assessed the effect of the dopaminergic lesion and PPX on the number of completed rules during the task. In the FLEX group, there was a significant effect of the lesion ($F_{1, 48} = 12.59$, $p<0.001$), time ($F_{2, 48} = 12.61$, $p<0.001$) and lesion X time interaction ($F_{2, 48} = 4.16$, $p<0.05$). FLEX lesioned rats displayed a smaller number of completed rules at post-AAV compared with their sham counterparts ($p<0.05$, **Fig 3G**) that further decreased after PPX ($p<0.05$). A similar effect was observed in INT rats

(lesion: $F_{1, 45} = 25.8$, $p<0.0001$, time: $F_{2, 45} = 0.0001$ and lesion X time: $F_{2, 45} = 9.6$, $p<0.001$), with lesioned rats displaying less completed rules post-AAV compared with shams ($p<0.01$, **Fig 3H**). The number of completed rules further decreased after PPX (sham: $p<0.05$, lesioned: $p<0.01$, lesioned vs sham: $p<0.0001$, **Fig 3H**). In INFLEX rats, the main effect of the lesion ($F_{1, 48} = 16.12$, $p<0.001$) and time ($F_{2, 48} = 5.68$, $p<0.01$) were evidenced only as a decreased number of completed rules after PPX in lesioned rats ($p<0.01$, **Fig 3I**).

DISCUSSION

Cognitive impairment is a frequent non-motor feature of PD affecting up to 30% of newly diagnosed PD patients [26] and can manifest under different forms including executive dysfunction such as cognitive and behavioural flexibility deficits.[2] Although the pathophysiology of these non-motor symptoms is still incompletely understood, executive dysfunction is at least partially associated with a dopamine-dependent dysfunction of fronto-striatal circuits.[2] Interestingly, altered activity of fronto-striatal circuits, decreased cognitive flexibility and set-shifting have also been reported in PD patients with ICD, [12, 13, 26, 27] suggesting that interindividual differences in executive function prior to treatment initiation could contribute to the increased vulnerability of some patients to develop ICD.

This study aimed at investigating the contribution of nigrostriatal degeneration and dopamine replacement therapy with PPX on interindividual differences in behavioural flexibility. Using a validated set-shifting task performed at the premorbid stage, after nigrostriatal degeneration and following chronic treatment with PPX in a rat model of PD, we demonstrate that nigrostriatal dopaminergic loss unequally affects behavioural flexibility depending on baseline performances. We further show that the deleterious effects of PPX on behavioural flexibility are increased in rats with nigrostriatal degeneration.

Our results provide the first experimental evidence that nigrostriatal dopaminergic neurons contribute to set-shifting abilities and demonstrate a differential implication for set-shifting abilities depending on baseline performances. Indeed, a deleterious effect of nigral neurodegeneration was only observed in FLEX rats, whereas the performances of INT and INFLEX animals were unaffected. Stereological counts of nigral neurons demonstrated a similar level of denervation between FLEX, INT and INFLEX rats, indicating that this effect could not be attributed to a different magnitude of the lesion. These results are in agreement with clinical studies showing that PD patients display cognitive flexibility deficits as shown by an impaired ability to ignore irrelevant/distracting information, increased perseveration and learned irrelevance. [5, 28] Even though the precise mechanisms underlying this involvement of the nigrostriatal pathway on set-shifting remain to be elucidated, there is evidence pointing toward a role for interindividual differences in dopamine homeostasis, as suggested by studies showing associations between polymorphisms in the catechol-O-methyltransferase gene and behavioural flexibility, both in the general population [29] and in PD patients.[30] An association between polymorphisms in the dopamine transporter gene, fronto-striatal activation and set-shifting performances in PD patients further supports a role for interindividual differences in dopamine homeostasis as a substrate underlying behavioural flexibility. [31]

Frontostriatal loops are implicated in behavioural flexibility and can be modulated by dopaminergic pathways at multiple levels. This modulation has been mostly studied in the prefrontal cortex and ventral striatum in rodents, and local infusion of dopamine agonists or antagonists can alter different aspects of behavioural flexibility. In the prefrontal cortex, local infusion of D1 or D2 antagonists impair set-shifting whereas D1 or D2 agonists have no effect. [32] In the nucleus accumbens, blockade of D1 or increased stimulation of D2 receptors both impair set-shifting, suggesting that a critical balance between activation of D1 and D2 receptors is required for optimal performances.[33] Here, we provide evidence for a contribution of D3 receptor activation by demonstrating that systemic administration of PPX decreases behavioural flexibility. Importantly, our results indicate that

nigrostriatal degeneration acts as an aggravating factor since this deleterious effect of PPX was markedly exacerbated in lesioned rats. In non-lesioned rats, PPX was also found to differentially undermine set-shifting abilities depending on basal performances, with FLEX and INT animals being impaired whereas INFLEX animals were unaffected. Conversely, all lesioned rats were impaired by PPX regardless of their basal flexibility status. However, INFLEX lesioned rats showed a significant impairment only in the visual dimension whereas FLEX and INT rats were impaired only in the egocentric dimension, indicating a decreased ability to ignore the irrelevant and distracting visual information in the task. This deleterious effect of a D3 preferring agonist on set shifting abilities in rats with nigrostriatal degeneration is in agreement with previous work showing that a D3 antagonist was able to improve performances in an attentional set-shifting task in parkinsonian monkeys.[34] Our results showing a pro-inflexible effect of PPX are also in line with previous findings showing that D3 knock-out mice display better performances in a set-shifting task.[35]

Even though executive impairment is common in PD, with one third of patients displaying some degree of executive dysfunction at the time of diagnosis [39], there is a noticeable clinical heterogeneity that may reflect the contribution of genetic factors (as discussed above), specific patterns of neurodegeneration and disease progression, as well as premorbid interindividual differences in cognitive performances.[6] In this regard, our preclinical results help understanding such clinical heterogeneity by demonstrating that nigrostriatal degeneration leads to contrasting outcomes on behavioural flexibility depending on premorbid performance levels. Therefore, individuals who were the most flexible prior to nigral neurodegeneration might experience a drastic alteration of their behavioural flexibility, whereas poorly flexible individuals could be much less affected. These findings also have implications for the pathophysiology of ICD in PD since clinical studies have reported impairment in cognitive flexibility and set-shifting in ICD.[13, 15] Our results with PPX highlight that the deleterious effect of this drug is not only exacerbated by the loss of nigrostriatal neurons but involves impairments in different dimensions of the task (egocentric *vs* visual rules) between flexible and

inflexible individuals. Taken together, our results suggest that the vulnerability to develop non-motor impairments upon treatment initiation could depend on pre-morbid interindividual differences in behavioural flexibility.

Acknowledgements: The Université de Poitiers and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale provided infrastructural support. This work was supported by Fondation de France (grant #00086205), région Nouvelle Aquitaine CPER 2015-2020 and FEDER 2014-2020 programs. The authors thank Dr Laure Belnoue for help with some experiments and Dr Erwan Bezard for useful comments and suggestions on the manuscript. This study has benefited from the facilities and expertise of PREBIOS core facility at the University of Poitiers. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Contributors: MD research project organization and execution, statistical analysis, writing of the first draft and review of manuscript. EB conception and execution research project, review and critique of manuscript. MF execution research project, review and critique of manuscript. MS research project conception, review and critique of manuscript. MBM research project conception, organization and execution, statistical analysis, review and critique of manuscript. POF research project conception, organization and execution, statistical analysis, manuscript review and critique.

Financial Disclosures of all authors for the preceding 12 months

EB, MF, MBM: none.

MD has received grant support from France Parkinson.

MS has received grant support from the IRESP « IRESP-19-ADDICTIONS-20», Nouvelle-Aquitaine Regional council and CPER-FEDER.

POF has received grant support from France Parkinson, Nouvelle-Aquitaine Regional council and CPER-FEDER.

References

1. Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AH, National Institute for Clinical E. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. Lancet Neurol 2006;5(3):235-245.
2. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. Nature Reviews Neuroscience 2017;18(7):435-450.
3. Voon V, Napier TC, Frank MJ, et al. Impulse control disorders and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: an update. The Lancet Neurology 2017;16(3):238-250.
4. Barone P, Antonini A, Colosimo C, et al. The PRIAMO study: A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. Movement Disorders 2009;24(11):1641-1649.
5. Cools R, Barker RA, Sahakian BJ, Robbins TW. Mechanisms of cognitive set flexibility in Parkinson's disease. Brain: A Journal of Neurology 2001;124(Pt 12):2503-2512.
6. Kehagia AA, Barker RA, Robbins TW. Neuropsychological and clinical heterogeneity of cognitive impairment and dementia in patients with Parkinson's disease. The Lancet Neurology 2010;9(12):1200-1213.
7. Antonini A, Barone P, Bonuccelli U, Annoni K, Asgharnejad M, Stanzione P. ICARUS study: prevalence and clinical features of impulse control disorders in Parkinson's disease. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry 2017;88(4):317-324.
8. Martini A, Dal Lago D, Edelstyn NMJ, Grange JA, Tamburin S. Impulse Control Disorder in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of Cognitive, Affective, and Motivational Correlates. Frontiers in Neurology 2018;9.
9. Voon V, Fernagut P-O, Wickens J, et al. Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson's disease: from dyskinesias to impulse control disorders. The Lancet Neurology 2009;8(12):1140-1149.
10. Weintraub D, Koester J, Potenza MN, et al. Impulse Control Disorders in Parkinson Disease: A Cross-Sectional Study of 3090 Patients. Archives of Neurology 2010;67(5).
11. Djamshidian A, Jha A, O'Sullivan SS, et al. Risk and learning in impulsive and nonimpulsive patients with Parkinson's disease. Movement Disorders 2010;25(13):2203-2210.
12. Santangelo G, Vitale C, Trojano L, Verde F, Grossi D, Barone P. Cognitive dysfunctions and pathological gambling in patients with Parkinson's disease. Movement Disorders 2009;24(6):899-905.
13. Vitale C, Santangelo G, Trojano L, et al. Comparative neuropsychological profile of pathological gambling, hypersexuality, and compulsive eating in Parkinson's disease. Movement Disorders 2011;26(5):830-836.
14. Cools R, Barker RA, Sahakian BJ, Robbins TW. l-Dopa medication remediates cognitive inflexibility, but increases impulsivity in patients with Parkinson's disease. Neuropsychologia 2003;41(11):1431-1441.
15. Santangelo G, Raimo S, Barone P. The relationship between Impulse Control Disorders and cognitive dysfunctions in Parkinson's Disease: A meta-analysis. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 2017;77:129-147.
16. Uddin LQ. Cognitive and behavioural flexibility: neural mechanisms and clinical considerations. Nat Rev Neurosci 2021;22(3):167-179.
17. Jellinger KA. Neuropathology of Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease. International Review of Neurobiology: Elsevier, 2017:13-62.
18. Cilia R, Cho SS, van Eimeren T, et al. Pathological gambling in patients with Parkinson's disease is associated with fronto-striatal disconnection: a path modeling analysis. Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society 2011;26(2):225-233.
19. Bourdenx M, Dovero S, Engeln M, et al. Lack of additive role of ageing in nigrostriatal neurodegeneration triggered by α-synuclein overexpression. Acta Neuropathologica Communications 2015;3(1).
20. Dehay B, Fernagut P-O. Alpha-synuclein-based models of Parkinson's disease. Revue Neurologique 2016;172(6-7):371-378.
21. Brady AM, Floresco SB. Operant Procedures for Assessing Behavioral Flexibility in Rats. Journal of Visualized Experiments 2015(96).
22. Darrah JM, Stefani MR, Moghaddam B. Interaction of N-methyl-D-aspartate and group 5 metabotropic glutamate receptors on behavioral flexibility using a novel operant set-shift paradigm. Behavioural pharmacology 2008;19(3):225-234.

23. Istin M, Thiriet N, Solinas M. Behavioral flexibility predicts increased ability to resist excessive methamphetamine self-administration: Flexibility and METH addiction. Addiction Biology 2017;22(4):958-966.
24. Engeln M, Ansquer S, Dugast E, Bezard E, Belin D, Fernagut P-O. Multi-facetted impulsivity following nigral degeneration and dopamine replacement therapy. Neuropharmacology 2016;109:69-77.
25. Olsson M, Nikkhah G, Bentlage C, Björklund A. Forelimb akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test. The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience 1995;15(5 Pt 2):3863-3875.
26. Santangelo G, Vitale C, Picillo M, et al. Mild Cognitive Impairment in newly diagnosed Parkinson's disease: A longitudinal prospective study. Parkinsonism & Related Disorders 2015;21(10):1219-1226.
27. Carriere N, Lopes R, Defebvre L, Delmaire C, Dujardin K. Impaired corticostriatal connectivity in impulse control disorders in Parkinson disease. Neurology 2015;84(21):2116-2123.
28. Fallon SJ, Hampshire A, Barker RA, Owen AM. Learning to be inflexible: Enhanced attentional biases in Parkinson's disease. Cortex 2016;82:24-34.
29. Schulz S, Arning L, Pinnow M, Wascher E, Epplen JT, Beste C. When control fails: influence of the prefrontal but not striatal dopaminergic system on behavioural flexibility in a change detection task. Neuropharmacology 2012;62(2):1028-1033.
30. Fallon SJ, Smulders K, Esselink RA, van de Warrenburg BP, Bloem BR, Cools R. Differential optimal dopamine levels for set-shifting and working memory in Parkinson's disease. Neuropsychologia 2015;77:42-51.
31. Habak C, Noreau A, Nagano-Saito A, et al. Dopamine transporter SLC6A3 genotype affects cortico-striatal activity of set-shifts in Parkinson's disease. Brain 2014;137(Pt 11):3025-3035.
32. Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, Vexelman C, Tse MT. Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. Neuropsychopharmacology 2006;31(2):297-309.
33. Haluk DM, Floresco SB. Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. Neuropsychopharmacology 2009;34(8):2041-2052.
34. Millan MJ, Buccafusco JJ, Loiseau F, et al. The dopamine D3 receptor antagonist, S33138, counters cognitive impairment in a range of rodent and primate procedures. Int J Neuropsychopharmacol 2010;13(8):1035-1051.
35. Glickstein SB, Desteno DA, Hof PR, Schmauss C. Mice lacking dopamine D2 and D3 receptors exhibit differential activation of prefrontal cortical neurons during tasks requiring attention. Cereb Cortex 2005;15(7):1016-1024.
36. Svenningsson P, Gunne L, Andren PE. L-DOPA produces strong induction of c-fos messenger RNA in dopamine-denervated cortical and striatal areas of the common marmoset. Neuroscience 2000;99(3):457-468.
37. van Eimeren T, Ballanger B, Pellecchia G, Miyasaki JM, Lang AE, Strafella AP. Dopamine agonists diminish value sensitivity of the orbitofrontal cortex: a trigger for pathological gambling in Parkinson's disease? Neuropsychopharmacology 2009;34(13):2758-2766.
38. van Eimeren T, Pellecchia G, Cilia R, et al. Drug-induced deactivation of inhibitory networks predicts pathological gambling in PD. Neurology 2010;75(19):1711-1716.
39. Decourt M, Jimenez-Urbieta H, Benoit-Marand M, Fernagut PO. Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Parkinson's Disease and Their Modeling in Rodents. Biomedicines 2021;9(6).

Figure legends:

Figure 1: *alpha-synuclein induced similar neurodegeneration and motor deficits regardless of baseline behavioural inflexibility.*

A. Overview of the set shifting task and behavioural inflexibility scores of Flexible (FLEX), Intermediate (INT) and Inflexible (INFLEX) rats at baseline. **B.** Performances of FLEX, INT and INFLEX rats in the visual and egocentric dimensions at baseline. **C.** Stereological counts of tyrosine hydroxylase (TH) positive neurons in the SNc and representative images of the SNc in sham (top) and lesioned rats (bottom). Scale bar = 1 mm. **D.** Magnitude of neurodegeneration in FLEX, INT and INFLEX rats. **E.** Motor impairments induced by viral mediated expression of alpha-synuclein in the SNc at Baseline, 4 and 9 weeks post-AAV injection and alleviated by pramipexole (PPX). **F.** Magnitude of motor impairments at 9 weeks post-AAV injection in FLEX, INT and INFLEX rats. *, $p<0.05$, **, $p<0.01$, ***, $p<0.001$, ****, $p<0.0001$.

Figure 2: *Effects of dopaminergic neurodegeneration and pramipexole on cognitive flexibility.*

A. Inflexibility score of whole sham *vs* lesioned populations at Baseline, post-AAV injection and during chronic PPX treatment (PPX). **B.** Color plot of sham (GFP) and lesioned (α-syn) groups, on color rectangle representing a single animal. Flexibility performances are represented at Baseline, post-AAV injection and following chronic PPX treatment (PPX): dark blue indicates a low inflexibility score and red a high inflexibility score. **C-E.** Inflexibility scores for sham *vs* lesioned group at Baseline, post-AAV injection and following chronic PPX treatment (PPX) for FLEX (**C**), INT (**D**) and INFLEX (**E**) groups. **F-G.** Relationship between the inflexibility score post-AAV injection and following PPX chronic treatment in sham (**F**) and lesioned (**G**) rats. *, $p< 0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$; ****, $p<0.0001$.

Figure 3. *Effects of dopaminergic neurodegeneration and pramipexole on visual and egocentric error rates, and on the number of completed rules.*

A-C. Error rate in the visual rule at Baseline, after AAV injection (post-AAV), and following chronic PPX treatment (PPX) for sham and lesioned animals for FLEX (**A**), INT (**B**) and INFLEX (**C**) groups. **D-F.** Error rate in egocentric rule at Baseline, after AAV injection (post-AAV), and following chronic PPX treatment (PPX) for sham and lesioned animals for FLEX (**D**), INT (**E**) and INFLEX (**F**) groups. **G-I.** Number of completed rules at Baseline, after AAV injection (post-AAV), and following chronic PPX treatment (PPX) for sham and lesioned animals for FLEX (**G**), INT (**H**) and INFLEX (**I**) groups. *, $p< 0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$; ****, $p<0.0001$.

Figure 1: *alpha-synuclein induced similar neurodegeneration and motor deficits regardless of baseline behavioural flexibility*

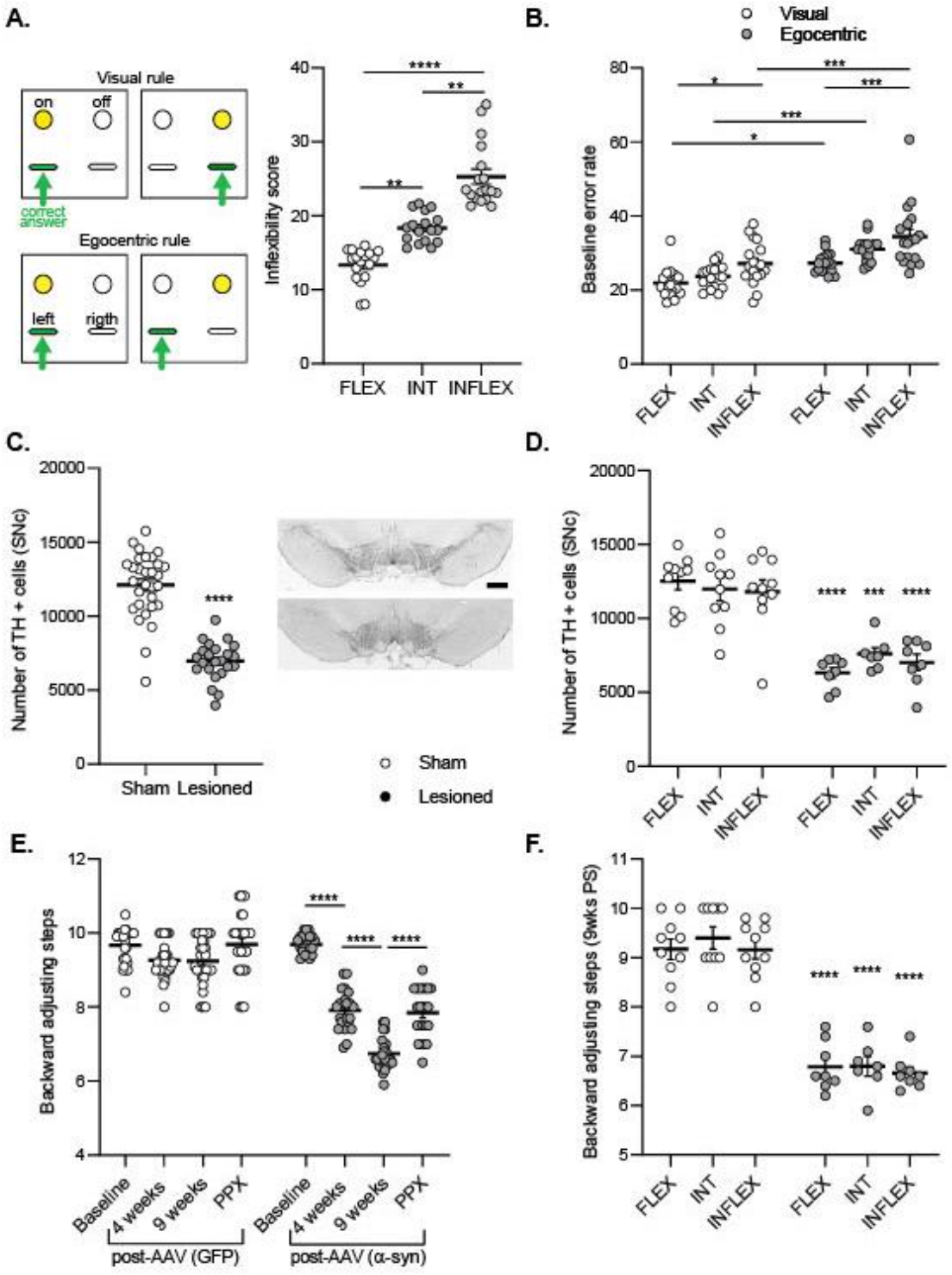


Figure 2: *Effects of dopaminergic neurodegeneration and pramipexole on cognitive flexibility*

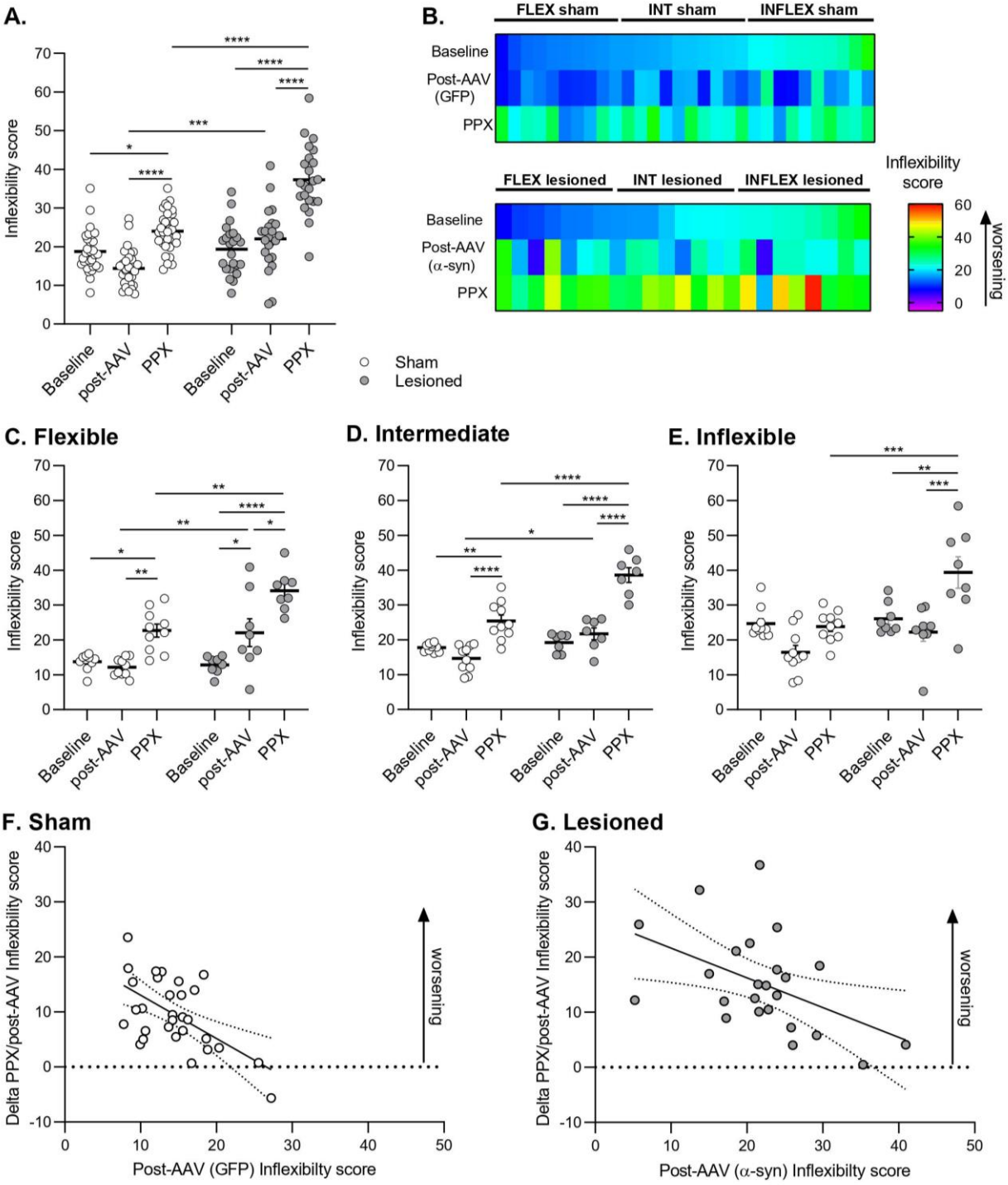
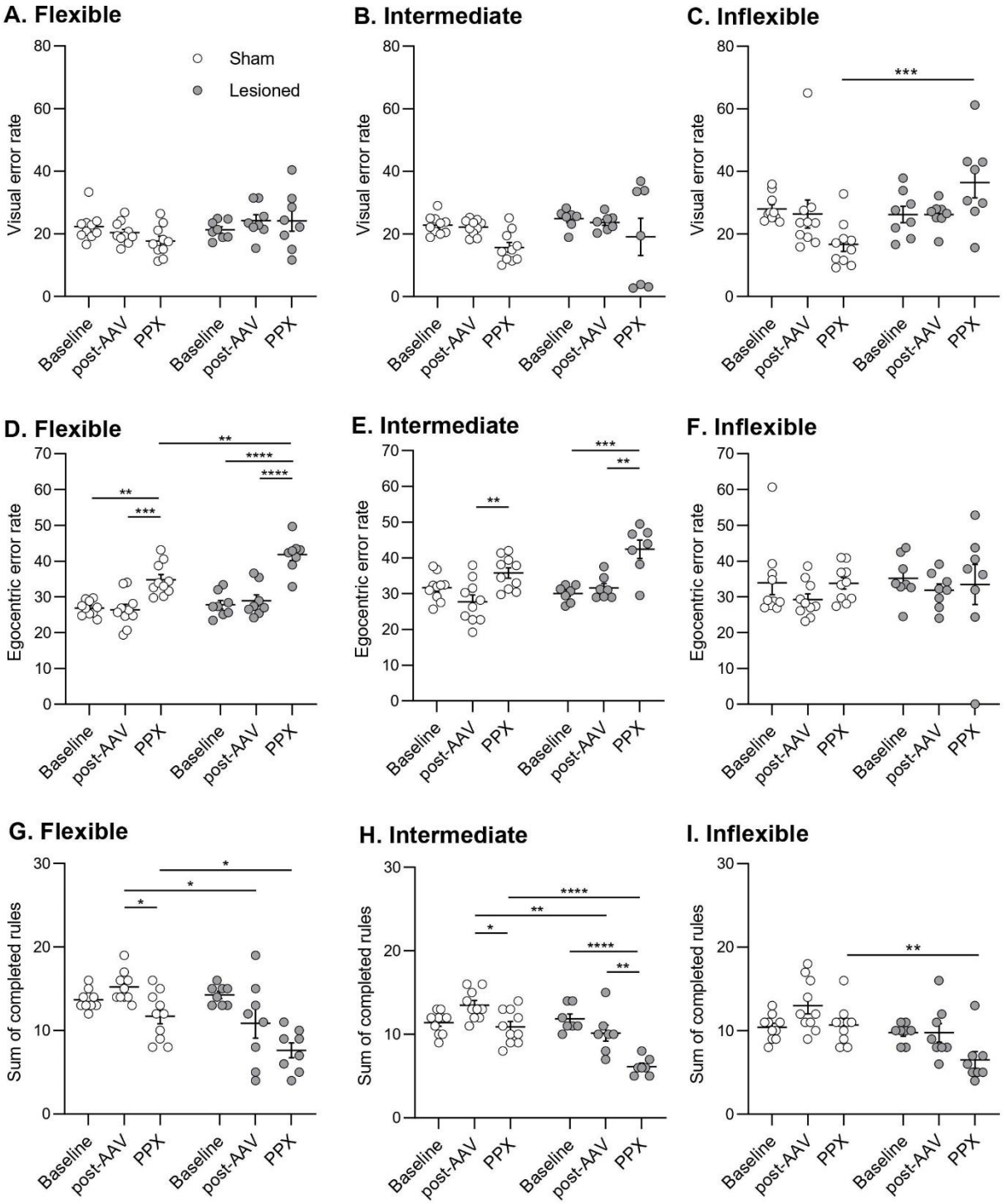


Figure 3: *Effects of dopaminergic neurodegeneration and pramipexole on visual and egocentric error rates, and on the number of completed rule*



1.2. *Résultats complémentaires*

Des expérimentations post-mortem supplémentaires ont été réalisées sur les tissus générés dans ce projet. Ainsi, la densité de neurones c-fos positifs a été quantifiée dans différentes régions corticales et sous corticales tels que le cortex orbitofrontal, le cortex préfrontal, le striatum et le noyau accumbens afin d'explorer les effets de la lésion dopaminergique nigrostriatale et du traitement au pramipexole sur les boucles corticostriatales sur lesquelles reposent les capacités de flexibilité cognitive. Ainsi, nous mettons en évidence que les animaux lésés présentent une densité de neurones c-fos positifs plus importante que les animaux contrôles dans le striatum comme attendu après une dénervation nigrostriatale et une exposition chronique au traitement dopaminergique ($p<0.05$, Figure 18A et C). En revanche, la densité de neurones c-fos positifs est identique entre les animaux des groupes contrôles et lésés dans le noyau accumbens (Figure 18D), dans le cortex préfrontal médial (Figure 18E) et dans le cortex orbitofrontal (Figure 18B et F). Cependant, une étude corrélative entre la densité de neurones c-fos positifs dans le cortex orbitofrontal et le score d'inflexibilité mesuré après le traitement au pramipexole nous a permis de mettre en évidence une corrélation négative, uniquement chez les animaux contrôles ($r=0.632$, $p<0.001$, Figure 18G). Ces résultats permettent d'associer une haute densité de neurones c-fos positifs avec une haute performance dans la tâche comportementale de « set-shifting ». L'implication du cortex orbitofrontal est donc dépendante des performances de flexibilité cognitive : un désengagement de cette structure est visualisé après la lésion dopaminergique associée au traitement chronique au pramipexole.

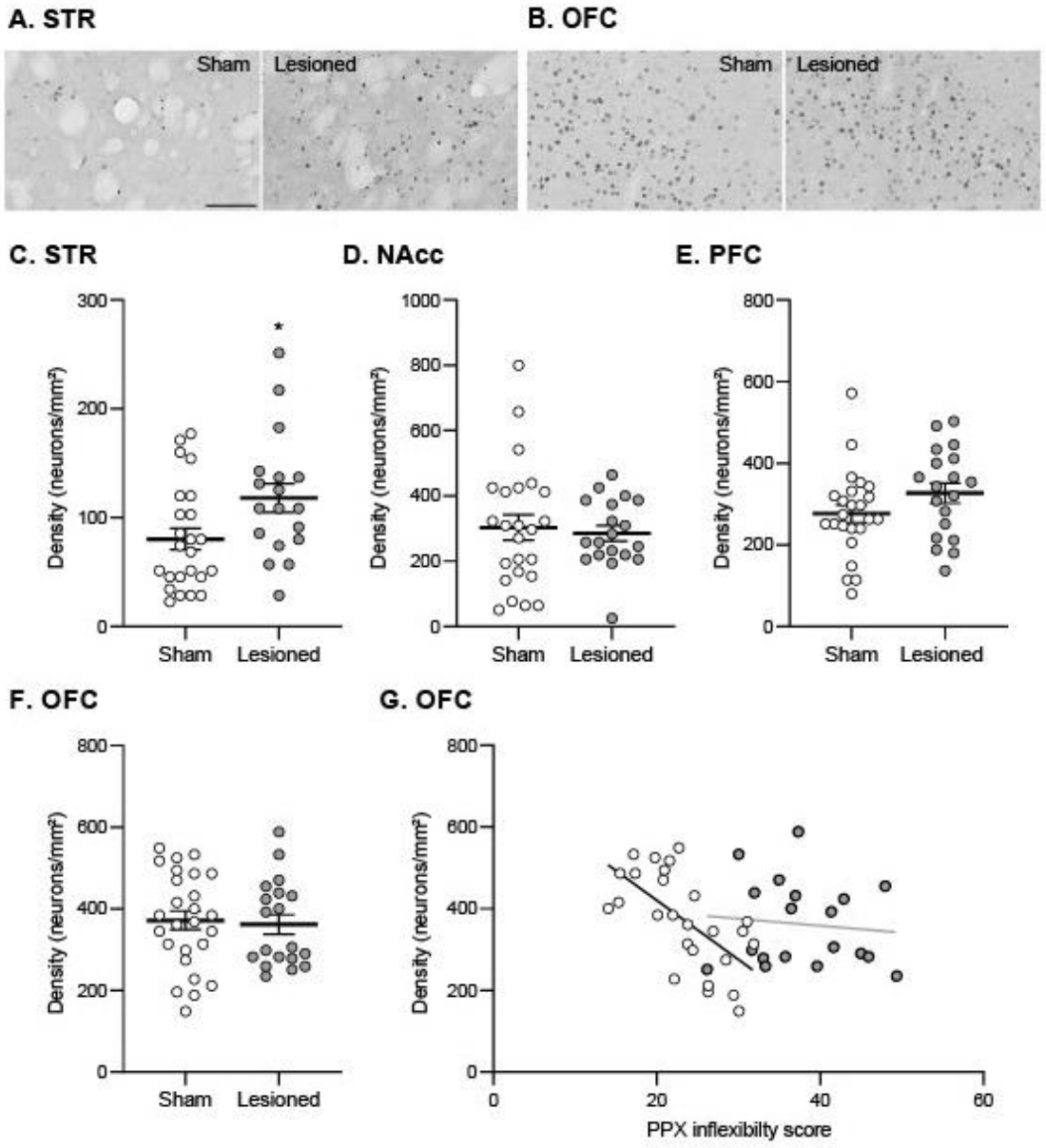


Figure 18 : Expression de c-fos dans le striatum, le noyau accumbens, le cortex préfrontal et le cortex orbitofrontal.

***A-B**. Images représentatives des marquages immunohistochimiques de c-fos dans le striatum (A) et dans le cortex orbitofrontal (B) chez les individus contrôles (sham) et les individus lésés (lesioned). Echelle : 100 µm. **C-F**. Densité des neurones c-fos positifs dans le striatum (STR, C), le noyau accumbens (NAcc, D), le cortex préfrontal (PFC, E) et le cortex orbitofrontal (OFC, F) chez les individus contrôles (cercles blancs) et les individus lésés (cercles gris). **G**. Corrélation entre la densité de neurones c-fos positifs dans le cortex orbitofrontal et le score d'inflexibilité après dénervation nigrostriatale suivie d'un traitement au pramipexole (contrôles : r=-0.632, p<0.001, lésés : r=-0.104, p=0.67). *, p<0.05*

2. Comportement spontané et opérant : quel impact de la dénervation nigrostriatale et du pramipexole ?

Ce deuxième axe de travail s'est porté sur la modélisation des TCI. Nous nous sommes donc basés sur l'étude de deux types de comportements : le comportement naturel et spontané d'amassement de nourriture et le comportement opérant dans une tâche de « post training signal attenuation » (PTSA). Dans ce projet, nous voulions pouvoir modéliser les TCI chez l'animal en gardant leur aspect compulsif dans une tâche spontanée pouvant être mise en parallèle avec les activités quotidiennes des patients et dans une tâche opérante connue pour permettre d'évaluer le niveau de compulsivité.

Le neurodégénérescence induite par la surexpression protéique d'alpha-synucléine dans la SNc est évaluée par le comptage des neurones TH positifs qui démontre une mort cellulaire significative, induisant des déficits moteurs progressifs après 4 et 9 semaines post-lésion, évalués par stepping test.

2.1. Comportement spontané : l'amassement.

La dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriatale n'a pas d'effet sur les différents paramètres analysés avec ce test comportemental d'amassement tandis que le traitement au pramipexole induit plusieurs changements comportementaux, principalement concernant les interactions avec les croquettes de nourriture. En effet, le nombre de croquette amassées après le traitement chronique au pramipexole est diminué, chez les animaux contrôles et les animaux lésés. De plus, on remarque une augmentation du temps passé dans la « zone croquette », et du temps passé en interaction avec les croquettes pour les animaux contrôles et pour les animaux lésés, ainsi qu'une une augmentation du ratio

« temps passé en interaction avec les croquettes » sur « temps passé dans la zone croquettes » après le traitement chronique au pramipexole.

2.2. Comportement opérant : le « Post-Training Signal Attenuation » (PTSA).

Au cours de l'étude des résultats du test de PTSA, nous analyserons les données suivantes : les essais complétés, correspondant aux appuis sur le levier renforçant (LR) et la collecte de la récompense dans la mangeoire ; les essais non complétés, correspondant aux appuis sur le LR non suivi par la collecte de la récompense ; les « extra lever press » ou ELP étant les appuis sur le LR suivant le premier appui, dans un essai complété (ELP-C) ou dans un essai non complété (ELP-U).

De plus, les termes « essai » et « time-out » seront utilisés. L'essai est la période des cinq secondes avant la présentation du stimulus. Pendant les sessions où les leviers sont présents dans les cages opérantes, l'essai contient également le temps où les leviers se présentent à l'animal, jusqu'à ce que celui-ci commence les appuis. Le time-out a une durée de trente secondes.

Comme indiqué précédemment, ce test de PTSA a été mis en place de façon à pouvoir estimer l'aspect compulsif des réponses des animaux d'après leur patron d'appuis sur un levier renforçant. Nous nous sommes donc intéressés à ce comportement compulsif chez des individus contrôles et lésés, après un traitement chronique avec une solution de saline ou de pramipexole. Nos résultats, récapitulés graphiquement en figure 19, démontrent que ni la lésion dopaminergique de la voie nigrostriée ni le traitement chronique au pramipexole n'impactent la capacité des individus à compléter des essais dans les sessions de LP. De façon

similaire, les essais non complétés ne sont pas augmentés. De plus, la phase de test induit une diminution du nombre d'essai complétés et une augmentation des essais non complétés chez tous les groupes, bien que ces effets soient plus importants dans le groupe incluant les individus dénervés et traités que dans les autres groupes.

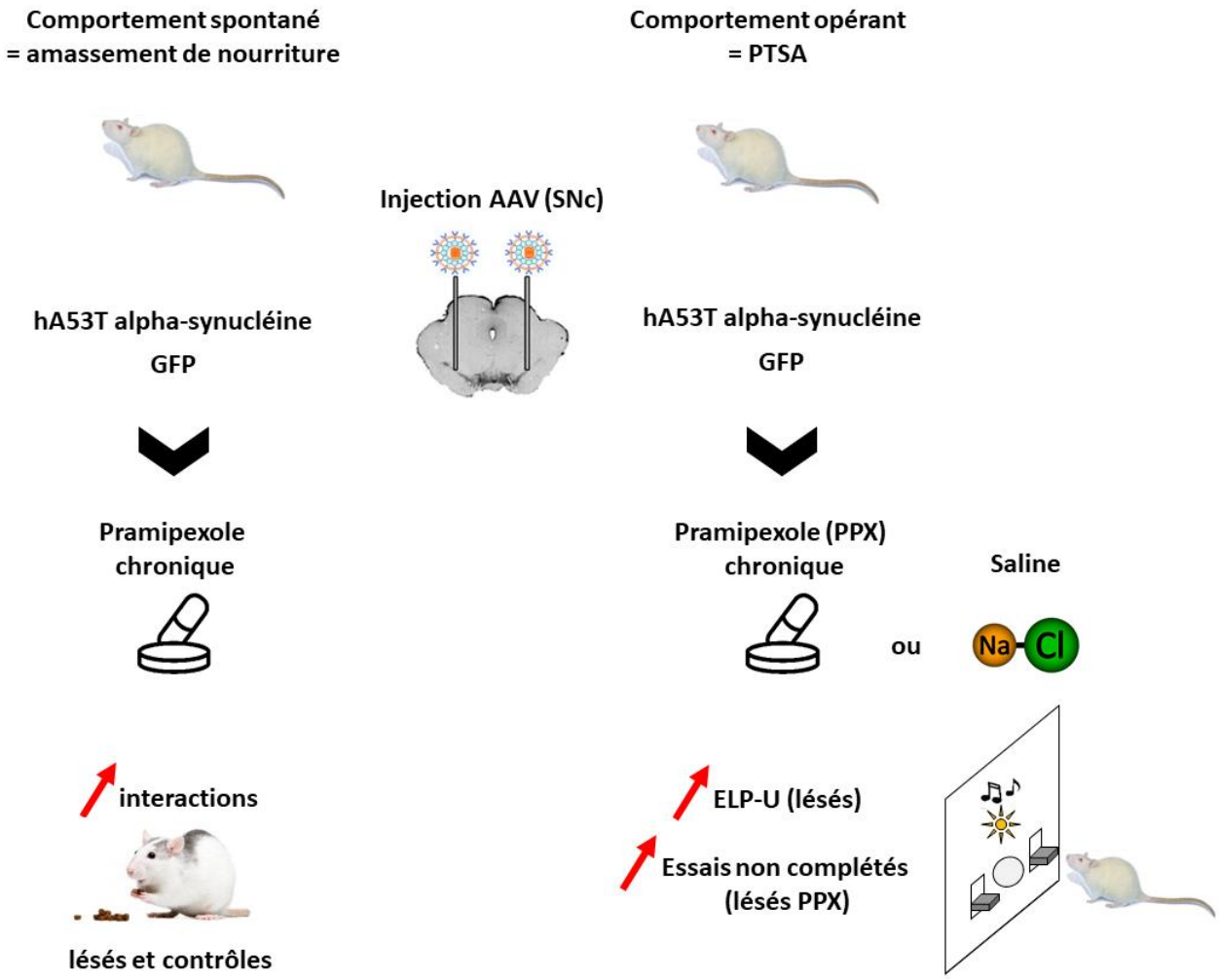


Figure 19 : Récapitulatif graphique des données d'amassement et de PTSA.

PTSA = Post Training Signal Attenuation ; GFP = Green Fluorescent Protein ; AAV : adénovecteur viral ; SNc = Substance noire pars compacte ; PPX = pramipexole. Les flèches rouges symbolisent une augmentation du comportement.

Concernant l'aspect compulsif de ce test comportemental, la lésion nigrostriatale augmente les ELP-C pendant la phase de « lever press training » après la lésion dopaminergique nigrostriatale tandis qu'elle n'impacte pas les ELP-C au cours de la phase d'extinction (test). L'impact de la lésion sur les ELP-C dans la phase de test n'est en revanche pas retrouvé chez les individus lésés et traités au pramipexole. Les ELP-U quant à eux sont augmentés dans tous les groupes indépendamment de la lésion ou du traitement dopaminergique bien que cette augmentation soit plus importante chez les individus dénervés. Les résultats de ces deux tests comportementaux font l'objet d'un article en cours de soumission dans un journal à comité de lecture, ajouté ci-dessous (article 2).

ARTICLE 2 –

Assessment of repetitive and compulsive behaviours induced by pramipexole in rats: effect of alpha-synuclein-induced nigrostriatal degeneration

biomedicines

MDPI

Article

Assessment of repetitive and compulsive behaviours induced by pramipexole in rats: effect of alpha-synuclein-induced nigrostriatal degeneration

Mélina Decourt [1], Eric Balado[1], Haritz Jiménez-Urbieta [1], Maureen Francheteau[1], Pierre-Olivier Fernagut [1*#], Marianne Benoit-Marand [1#]

[1] Université de Poitiers, INSERM, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France
* Correspondence: pierre.olivier.fernagut@univ-poitiers.fr
# Contributed equally

Abstract: Treatment with dopamine agonists in Parkinson's disease (PD) is associated with debilitating neuropsychiatric side-effects characterized by impulsive and compulsive behaviours. The vulnerability to develop such impairments is thought to involve interactions between individual vulnerability traits, types of antiparkinsonian medications and the neurodegenerative process. We investigated the effect of the dopamine D3/D2 agonist pramipexole (PPX) and selective nigrostriatal degeneration achieved by viral-mediated expression of alpha-synuclein on the expression of repetitive and compulsive-like behaviours in rats. In a task assessing spontaneous food hoarding behaviour, PPX increased the time spent interacting with food pellets at the expense of hoarding. This disruption of hoarding behaviour was identical in sham and lesioned rats. In an operant post-training signal attenuation task, the combination of nigrostriatal lesion and PPX decreased the number of completed trials and increased the number of uncompleted trials. The lesion led to an increased compulsive behaviour after signal attenuation, and PPX shifted the overall behavioural output towards an increased proportion of compulsive lever-presses. Given the magnitude of the behavioural effects and the lack of strong interaction between PPX and nigral degeneration, these results suggest that extra-nigral pathology may be critical to increase the vulnerability to develop compulsive behaviours following treatment with D3/D2 agonists.

Keywords: Parkinson's disease; impulse control disorders; pramipexole, substantia nigra; hoarding; post-training signal attenuation

Citation: Lastname, F.; Lastname, F.; Lastname, F. Title. *Biomedicines* 2022, *10*, x. https://doi.org/10.3390/xxxxx

Academic Editor: Firstname Lastname

Received: date
Accepted: date
Published: date

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Chronic treatment with dopamine agonists can lead to a number of cognitive and neuropsychiatric side-effects in a significant proportion of patients with Parkinson's disease (PD). These non-motor side-effects that essentially occur in patients treated with D3/D2 dopamine agonists include different forms of impulsive-compulsive behaviours described as the failure to resist the urge to behave repetitively and compulsively in ways that can be hazardous for oneself or other people and interfere with daily living activities [1,2]. These behaviours are defined as behavioural addictions such as compulsive gambling, shopping, eating or sexual behaviour. Other impulsive compulsive behaviours include "punding" (repetitive, stereotyped and purposeless behaviour), hobbyism (repeated and long-lasting execution of preferred activities such as leisure or work) [3], as well as hoarding behaviour [4]. Since these behaviours are also reported in patients treated with D3/D2 agonists for other non-neurodegenerative conditions such as restless leg syndrome [5] or prolactinoma [6], the respective contributions of the drug and of do-

paminergic neurodegeneration remains poorly understood. Rodent models of PD recapitulate a wide array of cognitive and neuropsychiatric impairments that occur in PD (for review, see [7]) and are also amenable to investigate the pathophysiology of non-motor side-effects of dopamine replacement therapy such as impulsive-compulsive behaviours. Several studies have thus demonstrated that nigrostriatal degeneration decreases various dimensions of inhibitory control [8-10] and that PPX could aggravate these deleterious effects of the lesion [8,9]. Conversely, in tasks assessing risky decision making, the ability of D3/D2 agonists to increase risk-taking behaviour was not altered by a nigrostriatal lesion [11,12]. In PD patients, behaviours such as punding, hobbyism or hoarding involve repetitive and stereotypic sequences of simple or complex actions performed without goal and reward. In other impulsive-compulsive behaviours such as pathological gambling, impaired learning from reward and loss outcomes lead to persistence of the maladaptive behaviour [2]. Perseverance of the behaviour in spite of lack of reward is thus a common process in all impulsive-compulsive behaviours experienced by the patients.

In rodents, both spontaneous behaviours and operant conditioning procedures can be used to investigate how nigrostriatal degeneration and treatment with D3/D2 agonists may affect behaviours that are relevant to those occurring in PD patients. As the behavioural repertoire of rodent involves many repetitive behaviours (food hoarding, nest building, grooming), the assessment of these behaviours can easily be implemented in laboratories. Conversely, operant conditioning procedures require dedicated equipment and training, but allow for the assessment of more complex behaviours and cognitive processes [13]. For instance, the post-training signal attenuation (PTSA) task can be used to investigate the processing of stimulus-outcome associations and their devaluation [14].

In the present study we investigated the effect of the D3/D2 agonist pramipexole (PPX) on repetitive and perseverative behaviours using either spontaneous behaviour in a food hoarding task, or operant responding in the PTSA task in normal rats and in animals with alpha-synuclein-induced degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons.

2. Materials and Methods

2.1. *Animals*

All experiments were approved by the Comethea Poitou-Charentes (C2EA-84, project approval #24114-2020021310245838) and performed under the European Directive (2010/63/EU) on the protection of animals used for scientific purposes. Male Sprague Dawley rats (n= 61, 175-200g upon arrival, Janvier, France) were housed by pair on a reversed 12h light/dark cycle (lights on at 20h00). After seven days of habituation, they were isolated and food restricted to 15g per day (two days before the hoarding task and one week before the PTSA task). Water was available *ad libitum*. Experiments were performed on 7 sham and 8 lesioned rats for the hoarding task (experiment 1) and on 22 sham (12 saline, 10 PPX) and 24 lesioned (13 saline, 11 PPX) rats for the PTSA test (experiment 2).

2.2. *Hoarding task (experiment 1)*

Each hoarding session was performed for 30 minutes, during 5 consecutive days for baseline, 5 consecutive days for post-surgery time-point (9 weeks after surgery, after progressive development of the lesion) and 10 consecutive days during treatment (**Figure 1A**). Animals were video-recorded and their movements tracked with ViewPoint VideoTrack system. The setup was constituted of an open-field corridor (1 m long x 0.5 m wide x 0.4 m high). The area was divided in two zones of same surface (0.5 m long x 0.5 m wide): the food zone and the home zone. In the food zone, 24 food pellets (of approximately 2 grams each) were placed in 4 lines of 6. At the start of each test session, the rat and its home-cage were placed in the home zone with the home-cage placed on its side in a corner of the zone to allow animal access (**Figure 1A**). The following parameters were analyzed with Solomon Coder software: (1) the number of food pellets collected, (2) the time spent in interaction with the food pellets, (3) the time spent in food pellets zone and (4) the interaction with food pellets time and time in food pellets zone ratio.

2.3. Post training signal attenuation test (PTSA, experiment 2)

This test was performed as described before [15] in operant chambers (Med Associates, USA) equipped with two identical retractable levers surmounted by a light cue, a sucrose pellet dispenser, a house light and a tone. Four stages composed this task (**Figure 1B**): the magazine training stage (days 1-3), the lever press training stage (days 4-6), the attenuation stage (days 7-9) and the extinction stage (test, day 10).

Magazine training sessions: The two levers were retracted, and rats were trained to collect a 45mg sucrose pellet reward (1118251, TestDiet) in the pellet dispenser. House light was turned on and a pellet was dropped in the food magazine after 5sec-delay. At same time, house light was turned off while compound stimulus was turned on (tone and pellet dispenser light) until the rat collected the pellet. Between each trial, an interval of 30sec was applied. This first stage's day ends after 30 completed trials or after a total of 40 trials.

Lever press training sessions: Rats were trained to associate lever press, composite stimulus and sucrose reward. To this end, levers are available for pressing but only one is reinforced (RL). Levers were inserted after 5sec-delay. A press on the RL results in the delivery of one pellet in the pellet dispenser, simultaneous with the composite stimulus. The levers were retracted and the house light was turned off after 15sec or after pellet collection. A press on the non-reinforced lever (NRL) had no consequences. 30sec inter-trial intervals were applied. On day 4, rats were trained until 24 completed trials or until performing 60 trials. If rats performed less than 20 trials within the session, they were allowed to perform another session at the end of day. On day 5 and 6, rats were trained until 40 trials were successfully completed or until animals reached 60 trials.

Attenuation sessions: For 30 trials, the rats were exposed to the same configuration as during magazine training sessions except that no food reward was delivered.

Extinction session (test): The levers were available as during the lever press training sessions, but no food reward was delivered in any case. Lever press on RL induced only the compound stimulus. The session lasted for 50 trials.

At baseline, only magazine training and lever press training sessions were performed, the full exercise was realized only during PPX/saline treatment. The following parameters were recorded: (1) the number of presses after the first press on the RL (extra lever press, ELP) in completed trials (ELP-C) and in uncompleted trials (ELP-U), (2) number of lever presses on RL, (3) the number of lever presses on NRL.

2.4. Alpha-synuclein-mediated lesion

Rats were anesthetized with isoflurane and placed in a stereotaxic frame (Kopf Instruments®). Pre-surgical analgesia was performed with ketoprofen (10 mg/kg, i.p.) and local analgesia with 2% xylocaine gel. Two bilateral injections were performed in the substantia nigra *pars compacta* (SNc) (AP : -5.1 and -5.6 ; ML : +/-2.2 and +/-2 ; DV : -8) with 1µL of AAV2 expressing human A53T mutant α-synuclein (CMVie/SynP-synA53T-WPRE, 5.2 10^{13} gcp/mL) at 0.2µL/min [8,16,17]. Control group was injected with 1µL of AAV2 expressing GFP (green fluorescent protein) (CMVie/SynP-GFPdegron-WPRE, 3.7 10^{13} gcp/mL). Post-surgical analgesia was performed with ketoprofen (10 mg/kg/day, i.p.) for two days. Akinesia was estimated twice a day during four consecutive days with the stepping test as previously described [18] at baseline, 4 and 9 weeks after surgery.

2.5. Treatment

PPX (Sequoia Research Products, UK) was prepared daily in sterile saline solution and administrated subcutaneously at a dose of 0.3mg/kg/day for 10 days (experiment 1) or 21 days (experiment 2). Behavioural tests were performed 30 minutes after injection of PPX or vehicle (sterile saline).

2.6. Tissue processing and histopathological analysis

A sublethal dose of sodium pentobarbital (120mg/kg, i.p.) was injected prior to performing an intracardiac perfusion with 200 mL 0.9% NaCl followed by 200 mL ice-cold 4% formaldehyde. Brains were post-fixed overnight in 4% formaldehyde and cryopreserved in H_2O/20% sucrose solution at 4°C for two days. They were then frozen in isopentane at -40°C and stored at -80°C until further processing. Serial 50 µm coronal free-floating sections were collected in a cryoprotectant solution and stored at -20°C.

Immunohistochemistry

After 3 washes in Tris Buffer Saline 1X (TBS, 15 minutes each), sections were incubated 10 minutes in H_2O_2 solution (S202386-2, Agilent Technologies) to quench endogenous peroxidases. After 3 washes, an incubation of 90 minutes in a blocking solution containing 3% BSA (bovin serum albumin) and 0.3% Triton in TBS 1X was performed. Sections were then incubated 24 hours at 4°C with mouse anti-TH (1/5000, MAB318, Sigma-Aldrich) in blocking solution. Sections were washed again 3 times in TBS 1X, and then incubated 1 hour at room temperature (RT) with EnVision HRP system anti-mouse (K400111-2, Agilent Technologies) in blocking solution. Then, sections were washed again three times in TBS 1X and immunoreactions were revealed with DAB peroxidase substrate (K346811-2, Agilent Technologies) was performed. Finally, sections were mounted on gelatin-coated slides and coverslipped with DePeX.

Stereology

TH positive neurons were counted using the optical fractionator method on every 6th section of the SNc as previously described [8]. Systematic random sampling was performed with the Mercator Pro V6.5 (Explora Nova) software coupled with a Leica 5500B microscope. Following delineation of the SNc with x5 objective, counting was done with x40 objective.

2.7. Statistical analysis

Data are expressed as mean ± Standard Error of the Mean and analyzed using GraphPad Prism-9 software. Normality was tested by the Kolmogorov-Smirnov test. Data having a Gaussian distribution were analyzed using one-way or two-way analysis of variance (ANOVAs) followed by Tukey's post-hoc test for multiple comparisons. Student's t-test was used for comparisons between two groups. Mann-Whitney test or Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test were applied whenever appropriate when samples did not follow a normal distribution or variance equality. For all analyses, a p value < 0.05 was considered significant.

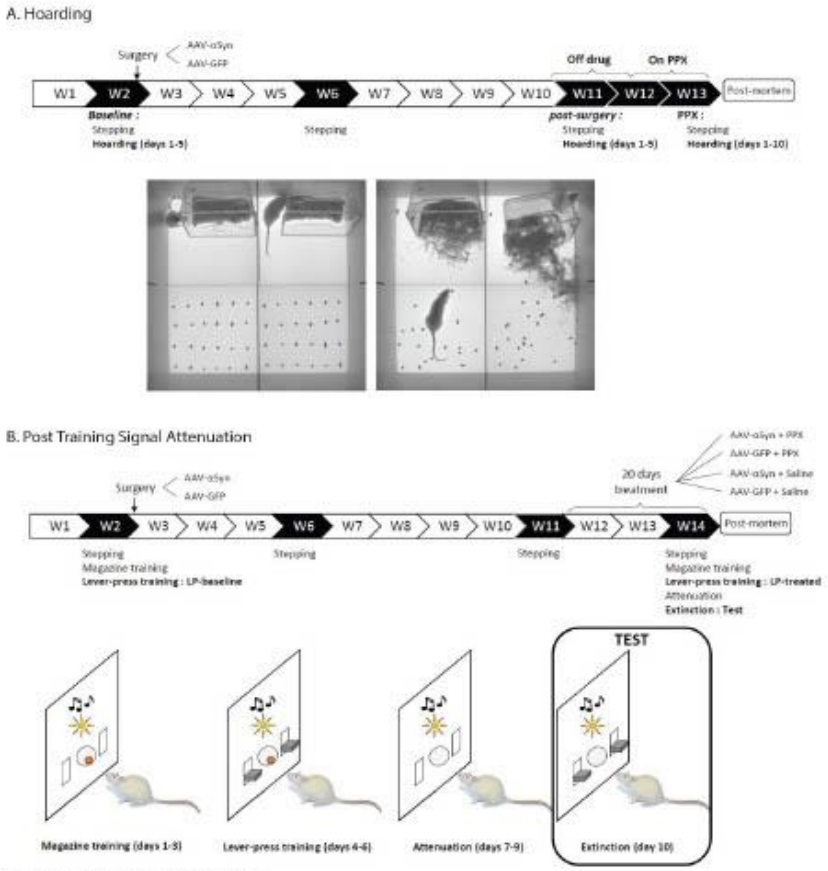


Figure 1. Experimental design

A. Timeline of experiment 1 (hoarding). After baseline assessment of motor function (stepping) and of hoarding behaviour, bilateral lesion of the substantia nigra *pars compacta* was achieved via viral-mediated bilateral overexpression of α-synuclein. Stepping was performed again at 4 and 9 weeks after surgery. Hoarding behaviour was assessed at 9 weeks post-surgery (Off PPX) and at 11 weeks, during 10 days of PPX administration (0.3 mg/kg/day, s.c.). Hoarding behaviour was assessed during 30 minutes session in a 100 X 50 cm open field. Pictures show the configuration of the task at the beginning (left) and at the end of a hoarding session (right). **B.** Timeline of experiment 2 (Post training signal attenuation task). After baseline assessment of motor function (stepping), rats were trained to collect 45mg sucrose pellets from the magazine (magazine training), then to press a reinforced lever in order to obtain a 45mg sucrose pellet reward (Lever-press (LP) training : LP baseline). Bilateral lesion of the substantia nigra *pars compacta* was achieved via viral-mediated bilateral overexpression of α-synuclein and the stepping test was performed again at 4 and 9 weeks after surgery. Animals then received PPX (0.3 mg/kg/day, s.c.) or saline for 20 days. 10 days after the initiation of PPX treatment, magazine training was performed, followed by lever-press training, attenuation and extinction. During magazine training (days 1-3), both levers were retracted and the occurrence of a compound stimulus (light + tone) indicated reward availability in the magazine. During lever-press training (days 4-6), both levers were available and pressing the reinforced lever triggered the presentation of the compound stimulus and the delivery of a food pellet in the magazine. During attenuation (days 7-9), both levers were retracted, and presentation of the compound stimulus was associated with no reward being delivered in the magazine. During extinction (test, day 10), both levers were available and pressing the reinforced lever triggered the presentation of the compound stimulus associated with no reward delivered in the magazine.

3. Results

3.1. α-synuclein-induced degeneration of nigrostriatal TH positive neurons and motor impairment

Dopaminergic cell loss induced by α-synuclein expression was assessed by stereological counts of TH positive neurons in the SNc. Viral-mediated expression of α-synuclein led to a significant loss of TH positive neurons ($p<0.0001$, **Fig 2A, C**) accompanied by progressive bilateral motor deficits (lesion: $F_{(1, 52)} = 724.1$, $p<0.0001$; Time: $F_{(1.770, 92.05)} = 268.3$, $p<0.0001$; Lesion X Time interaction: $F_{(2, 104)} = 285.8$, $p<0.0001$, **Fig 2B**). These deficits were significant 4 weeks ($p<0.0001$) and worsened 9 weeks following surgery ($p<0.0001$). As α-synuclein lesioned rats from both experiments displayed a similar degree of lesion ($F_{(1, 51)} = 1.642$, $p=0.22$) and motor impairment ($F_{(1, 51)} = 0.76$, $p=0.39$), results are shown for the whole population.

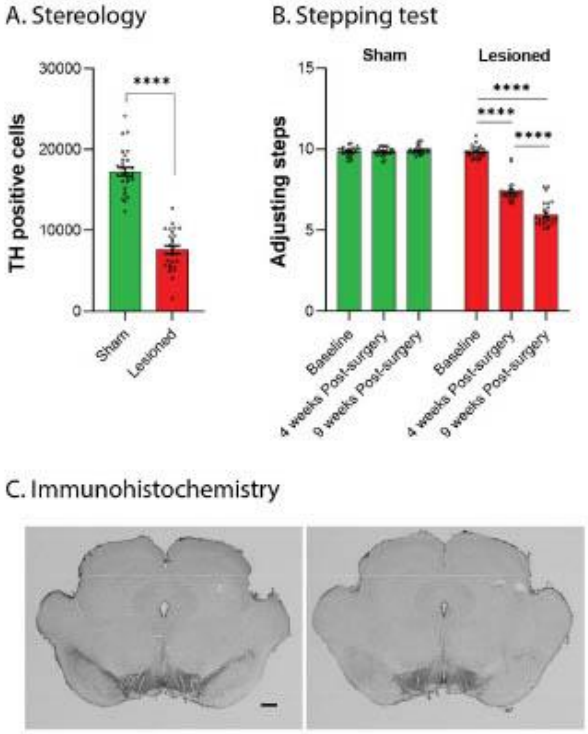


Figure 2. alpha-synuclein-induced neurodegeneration and motor deficits.

A. Stereological counts of the numbers of tyrosine hydroxylase (TH) positive neurons in the substantia nigra *pars compacta* in animals injected with an AAV expressing the green fluorescent protein (GFP, Sham) or human A53T α-synuclein (Lesioned). ****, $p<0.0001$. **B.** Motor performances as assessed with the stepping test at baseline, 4 and 9 weeks after surgery. **C.** Representative images of TH immunohistochemistry in Sham (left panel) and lesioned animals (right panel). Scale bar = 500 µm.

3.2. Hoarding (experiment 1)

Hoarding is a spontaneous behaviour exhibited by most rodents including rats and is sensitive to alterations of dopamine homeostasis [19,20]. After post-mortem analysis, two lesioned rats were excluded due to a lack of nigrostriatal lesion. Accordingly, data are presented for 7 sham and 6 lesioned rats. Viral-mediated expression of α-synuclein had no significant effect on the different parameters analyzed during the hoarding task while

PPX induced several changes in hoarding behaviour (**Fig 3**). The number of pellets collected was markedly decreased after PPX treatment ($F_{(1.95, 23.41)}$=8.19, p<0.01), both in sham (-63%, p<0.05) and lesioned rats (-53%, p<0.05) compared to post-surgery values (**Fig 3A**). In both sham and lesioned groups, PPX induced a marked increase in the time spent interacting with food pellets ($F_{(1.011, 11.13)}$=25.98, p<0.001, in both sham and lesioned rats, p<0.05, **Fig 3B**), in the time spent in the food pellets zone ($F_{(1.041, 11.46)}$=28.68, p<0.001, in both sham and lesioned rats, p<0.05, **Fig 3C**), and in the ratio of interaction time over time in food pellets zone ($F_{(1.247, 13.71)}$=62.60, p<0.0001, both in sham (p<0.05), and lesioned rats (p<0.01), **Fig 3D**). These results indicate that PPX significantly disrupted hoarding behaviour, regardless of nigrostriatal denervation.

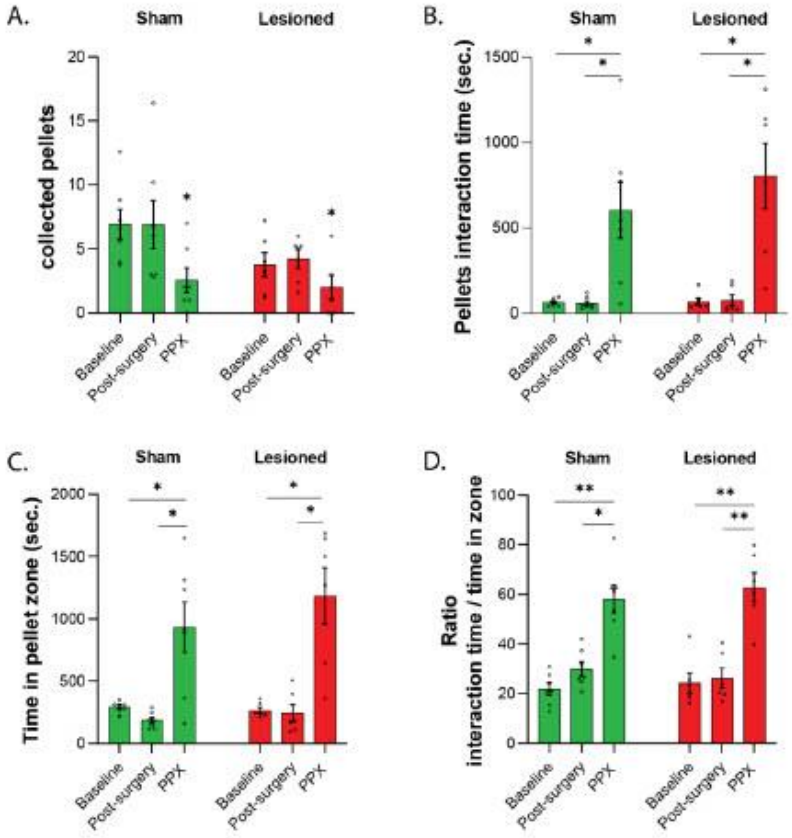


Figure 3. Hoarding (experiment 1).

A. Number of food pellets collected in the home cage at baseline, 9 weeks post-surgery (Off drug) and after 10 days of treatment with PPX. *, p<0.05 vs post-surgery. **B.** Time spent performing interactions with food pellets. *, p<.0.05 ; **, p<0.01. **C.** Time spend in the zone containing food pellets. *, p<0.05. **D.** Ratio of the time spent interacting with food pellets over the time spent in the food pellet zone. *, p<0.05 ; **, p<0.01.

3.3. PTSA (experiment 2)

Joel et al [15,21] tested the production of compulsive-like behaviour in rats by developing a model based on the deficit of response feedback associated with outcomes of goal-directed responses. Such default in response feedback is achieved by extinguishing the contingency between a compound stimulus and reward availability, leading to a pattern of lever-press responding analogous to compulsive behaviour. In the test phase, when

lever-presses are not rewarded, rats increase excessive lever-press followed by magazine entry, as in a regular extinction procedure, (extra lever-presses in completed trials; ELP-C). However, the signal attenuation phase in the PTSA paradigm elicits more lever-presses that are not followed by magazine visit (extra lever-presses in uncompleted trials; ELP-U) that represent a form of compulsive behaviour [14,22,23]. We measured the number of trials on which the rat attempted to collect the food reward (completed trials) and the number of trials in which rats did not attempt to collect the reward (uncompleted trials), as well as ELP-C and ELP-U to assess the effect of SNc dopaminergic neurons lesion and PPX treatment on compulsive behaviour [14,21,24,25].

Experiments were performed on 22 sham (12 saline, 10 PPX) and 24 lesioned (13 saline, 11 PPX) rats. 1 sham rat was excluded for failing to achieve the cut-off of 20 completed trials during lever-press training [21]. Four lesioned rats were excluded due to a lack of nigrostriatal lesion (n=2) or failing to achieve the cut-off of 20 completed trials during lever-press training (n=2). Accordingly, data are presented for 21 sham (n=12 saline, n=9 PPX) and 20 lesioned rats (n=13 saline, n=7 PPX).

All remaining rats performed consistently in completing trials after surgery compared to baseline ($F_{(1,37)}$=0.61, p=0.44). On the test stage, the extinction procedure resulted in a decrease of the number of completed trials in all groups ($F_{(2,74)}$=103.9, p<0.0001, **Fig 4A**). However, the magnitude of this decrease was different between groups ($F_{(6,74)}$=2.5, p<0.05) and was stronger in lesioned rats treated with PPX compared to all other groups (**Fig 4A**). During the test stage, the number of uncompleted trials was markedly increased in all groups ($F_{(2,74)}$=228.3, p<0.0001, **Fig 4B**). As for completed trials, the combination of nigrostriatal lesion and PPX treatment also increased the number of uncompleted trials ($F_{(6,74)}$=3.59, p<0.01).

To further discriminate between the rats' response to the encounter of no reward and the rats' response to the encounter of an attenuated signal, we measured respectively ELP-C and ELP-U as previously described [14]. The number of ELP-C across the stages of the task was different between groups ($F_{(6,74)}$=3.55, p<0.01). SNc dopaminergic lesion induced an increase of ELP-C during the lever press training following surgery and treatment (p<0.001 LP-treated vs LP-baseline, **Fig 4C**). Moreover, whereas saline-treated sham rats showed an increase in ELP-C on the test stage (p<0.05 Test vs LP-baseline), dopaminergic lesion of the SNc did not further alter this parameter on test stage compared to LP-treated stage. Furthermore, the increase in ELP-C observed in saline-treated sham and lesioned groups during the test stage was not found in animals treated with PPX (**Fig 4 C**). The ELP-U responses were increased in all groups on test stage ($F_{(2,74)}$=58.75, p<0.0001, **Fig 4 D**), indicating that all groups displayed some compulsive-like lever-pressing behaviour. However, this effect was stronger in lesioned rats than in sham rats (p<0.05), but PPX treatment did not further affect the number of ELP-U in any of the groups (**Fig 4D**). To compare overall behavioural outputs during the test phase, the numbers of ELP-C and ELP-U within each group were also analyzed. There was a similar number of ELP-C and ELP-U in sham animals treated either with saline or PPX and in lesioned rats treated with saline. However, the number of ELP-U was significantly higher than the number of ELP-C in lesioned rats treated with PPX (p<0.01), indicating that the combination of nigrostriatal denervation and PPX treatment promoted the expression of compulsive lever-press.

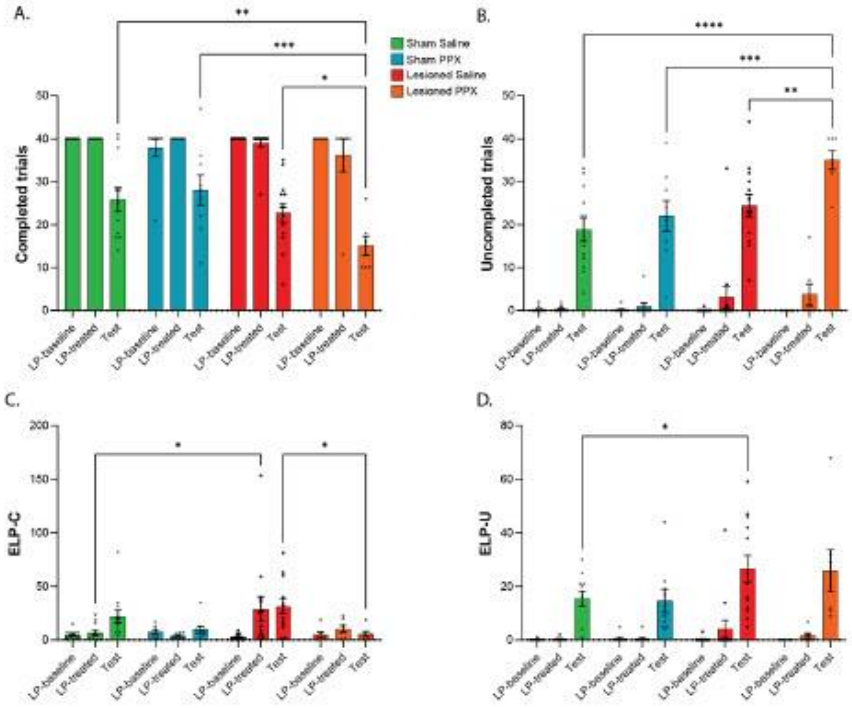


Figure 4. Post training signal attenuation task (experiment 2).

A. Number of completed trials during the different stages of the experiment (LP: Lever-press). **B.** Number of uncompleted trials during the different stages of the experiment. *, p<0.05 ; **, p<0.01 ; ***, p<0.001. **C.** Number of extra lever-press followed by magazine entry (extra lever-presses in completed trials; ELP-C). **D.** Number of extra lever-press not followed by magazine entry (extra lever-presses in uncompleted trials; ELP-U). *, p<0.05.

4. Discussion

Impulsive-compulsive behaviours are increasingly recognized as a major issue related to the chronic treatment with dopamine agonists in PD and other conditions such as restless leg syndrome or prolactinoma [2,5,6]. These addictive behaviours include repetitive, stereotyped and purposeless behaviours (punding, hoarding, wandering) or excessively performed goal-directed behaviours (gambling, shopping, eating or sexual activity). Importantly, the pathophysiology of these non-motor side effects as well as why they only affect a subset of subjects is still poorly understood, although clinical and epidemiological evidences point towards interactions between some pre-existing vulnerability traits, the type of antiparkinsonian medications and the pattern end extent of neurodegeneration.

In this context, developing animal models and behavioural tasks that can recapitulate some of the features of addictive behaviours observed in patients is mandatory for the understanding of their pathophysiology and to provide a testbed for the preclinical evaluation of candidate drugs useful for their mitigation. Here, we used two behavioural tasks to evaluate the effect of a selective lesion of the SNc induced by viral-mediated of human mutated alpha-synuclein and of the treatment with the dopaminergic agonist PPX in triggering repetitive and compulsive behaviours that are relevant to those observed in patients.

Hoarding or food-carrying is a typical behaviour displayed by most rodents including rats and mice. Thus, this hoarding task was chosen as it is a spontaneous behaviour that involves repetitive sequences of actions that can be easily investigated in laboratory

settings with minimal equipment and training. Moreover, this behaviour is dependent on dopamine homeostasis, as shown with a disruption of the behaviour following administration of haloperidol [20] or after 6-hydroxydopamine-induced lesion of the ventral tegmental area (VTA) and its reinstatement with administration of l-dopa in VTA-lesioned rats [19]. Here, we demonstrate that unlike for VTA neurons, degeneration of SNc neurons does not affect hoarding behaviour in rats, suggesting that the dopaminergic control of this behaviour essentially relies on VTA rather than on SNc neurons. We further show that chronic treatment with PPX significantly affects hoarding, as shown with an increased time spent in the food pellet zone and performing repetitive interactions with food pellets. Importantly, such changes occurred at the expense of hoarding itself, as evidenced with a marked decrease of the number of collected pellets. These results indicate that administration of PPX was able to deviate the goal of the behaviour (food pellet hoarding in the home cage) towards repetitive and purposeless manipulations of food pellets, a behaviour reminiscent of punding. In line with a lack of effect of SNc neurodegeneration on hoarding behaviour, the effects of PPX were identical in sham and lesioned rats, indicating a main contribution of the drug for the expression of these repetitive behaviours. These results are in agreement with clinical observations of punding in patients treated with D3/D2 agonists for conditions that are not associated with dopaminergic neurodegeneration such as restless leg syndrome of prolactinoma [2,6] and highlight the usefulness of this simple test to assess the potential of dopaminergic drugs to trigger repetitive sequences of spontaneous behaviours.

The PTSA task allows for the evaluation of compulsive behaviours using a paradigm in which compulsive-like behaviour is induced by a disruption of the association between the response feedback and the performance. As in a regular extinction procedure, when lever-press are not rewarded, rats increase excessive lever-presses followed by magazine entry (ELP-C). However, the signal attenuation elicits lever-presses that are not followed by magazine visit (ELP-U). This PTSA-induced excessive lever pressing behaviour associated with uncompleted trials on test stage has been proposed to bear some similarity with compulsive behaviours observed in humans [14,21,24]. PTSA-induced excessive lever press is enhanced by the D1 antagonist SCH 23390 and the D2 agonist quinpirole [21,22,25].

Whereas a combined dopaminergic lesion encompassing the SNc and ventral tegmental area (VTA) did not modify compulsive behaviour in rats, PPX treatment in lesioned animals induced a strong emergence of compulsive behaviours [24]. In the present study, we restricted the lesion to the SNc in order to model early stages of PD dopamine denervation, when dopamine replacement therapy is initiated. As observed for combined VTA and SNc lesions [24], the SNc lesion alone or PPX treatment alone failed to increase PTSA-induced uncompleted trials, and only the combination of lesion and PPX treatment impacted this behaviour.

Analysis of the number of ELP-U during the test phase as an index of compulsive lever-pressing indicated that degeneration of SNc neurons promoted the expression of compulsive-like behaviour. Furthermore, analysis of the overall behavioural outputs during the test stage (ELP-C vs ELP-U) revealed that the pattern of behaviours was different between groups. Indeed, only lesioned rats treated with PPX displayed a higher number of ELP-U than ELP-C, suggesting that the combination of nigrostriatal lesion and PPX treatment can affect the behavioural output towards the expression of compulsive-like lever-pressing (ELP-U) instead of responses classically observed after a regular extinction (ELP-C). However, unlike what was observed in rats with combined VTA and SNc lesion [24], PPX treatment following the SNc lesion did not enhance PTSA-induced ELP-U, suggesting that the pattern of dopamine denervation may play a critical role for the emergence of compulsive-like behaviours after treatment with dopamine agonists. In line with an involvement of the VTA in the expression of compulsive lever-pressing in the PTSA task, previous work demonstrated that chronic administration of quinpirole led to a decreased activity of VTA neurons, as shown with a reduced number of active neurons and

decreased bursting activity that was correlated with behavioural outputs in this model [22]. Similar to quinpirole, chronic administration of PPX has also been shown to reduce spontaneous and bursting activity of VTA neurons in rats [26].

Together with previous work using the same task [24], our results suggest that VTA degeneration combined to SNc dopamine loss may be required for PPX treatment to strongly induce the emergence of compulsive behaviours. This is in accordance with several imaging studies showing that PD patients with ICD exhibit reduced levels of dopamine transporter in the ventral striatum [27-29]. This is also corroborated by other studies that found a reduced dopamine synthesis capacity [30] and reduced activation of the ventral striatum at rest in patients with ICD [31]. According to a recently proposed vulnerability-stress model [32], such peculiar pattern of dopamine denervation may represent an intrinsic vulnerability that would alter the processing of action-outcome associations and reinforcement mechanisms when exposed to dopamine replacement therapy.

Author Contributions: Study conception and design: MD, POF, MBM. Data acquisition: MD, EB, HJU, MF. Data analysis: MD, EB, POF, MBM. Drafting the article: MD, POF, MBM. All authors contributed to the revision of the manuscript and have approved the final version.

Funding: This work was supported by a grant from Association France Parkinson, région Nouvelle Aquitaine CPER 2015-2020 and FEDER 2014-2020 programs.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Comethea Poitou-Charentes (C2EA-84, project approval #24114-2020021310245838) and performed under the European Directive (2010/63/EU) on the protection of animals used for scientific purposes.

Acknowledgments: The Université de Poitiers and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale provided infrastructural support. This study has benefited from the facilities and expertise of PREBIOS core facility at the University of Poitiers.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Marques, A.; Durif, F.; Fernagut, P.O. Impulse control disorders in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)* **2018**, *125*, 1299-1312, doi:10.1007/s00702-018-1870-8.
2. Voon, V.; Napier, T.C.; Frank, M.J.; Sgambato-Faure, V.; Grace, A.A.; Rodriguez-Oroz, M.; Obeso, J.; Bezard, E.; Fernagut, P.-O. Impulse control disorders and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: an update. *The Lancet Neurology* **2017**, *16*, 238-250, doi:10.1016/S1474-4422(17)30004-2.
3. Weintraub, D.; David, A.S.; Evans, A.H.; Grant, J.E.; Stacy, M. Clinical spectrum of impulse control disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord* **2015**, *30*, 121-127, doi:10.1002/mds.26016.
4. O'Sullivan, S.S.; Djamshidian, A.; Evans, A.H.; Loane, C.M.; Lees, A.J.; Lawrence, A.D. Excessive hoarding in Parkinson's disease. *Mov Disord* **2010**, *25*, 1026-1033, doi:10.1002/mds.23016.
5. Voon, V.; Schoerling, A.; Wenzel, S.; Ekanayake, V.; Reiff, J.; Trenkwalder, C.; Sixel-Doring, F. Frequency of impulse control behaviours associated with dopaminergic therapy in restless legs syndrome. *BMC Neurol* **2011**, *11*, 117, doi:10.1186/1471-2377-11-117.
6. De Sousa, S.M.C.; Baranoff, J.; Rushworth, R.L.; Butler, J.; Sorbello, J.; Vorster, J.; Thompson, T.; McCormack, A.I.; Inder, W.J.; Torpy, D.J. Impulse Control Disorders in Dopamine Agonist-Treated Hyperprolactinemia: Prevalence and Risk Factors. *J Clin Endocrinol Metab* **2020**, *105*, doi:10.1210/clinem/dgz076.
7. Decourt, M.; Jimenez-Urbieta, H.; Benoit-Marand, M.; Fernagut, P.O. Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Parkinson's Disease and Their Modeling in Rodents. *Biomedicines* **2021**, *9*, doi:10.3390/biomedicines9060684.

8. Engeln, M.; Ansquer, S.; Dugast, E.; Bezard, E.; Belin, D.; Fernagut, P.O. Multi-facetted impulsivity following nigral degeneration and dopamine replacement therapy. *Neuropharmacology* **2016**, *109*, 69-77, doi:10.1016/j.neuropharm.2016.05.013.
9. Jimenez-Urbieta, H.; Gago, B.; Quiroga-Varela, A.; Rodriguez-Chinchilla, T.; Merino-Galan, L.; Oregi, A.; Belloso-Iguerategui, A.; Delgado-Alvarado, M.; Navalpotro-Gomez, I.; Marin, C.; et al. Pramipexole-induced impulsivity in mildparkinsonian rats: a model of impulse control disorders in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* **2019**, *75*, 126-135, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2018.11.021.
10. Tedford, S.E.; Persons, A.L.; Napier, T.C. Dopaminergic lesions of the dorsolateral striatum in rats increase delay discounting in an impulsive choice task. *PLoS One* **2015**, *10*, e0122063, doi:10.1371/journal.pone.0122063.
11. Rokosik, S.L.; Napier, T.C. Pramipexole-induced increased probabilistic discounting: comparison between a rodent model of Parkinson's disease and controls. *Neuropsychopharmacology* **2012**, *37*, 1397-1408, doi:10.1038/npp.2011.325.
12. Tremblay, M.; Silveira, M.M.; Kaur, S.; Hosking, J.G.; Adams, W.K.; Baunez, C.; Winstanley, C.A. Chronic D2/3 agonist ropinirole treatment increases preference for uncertainty in rats regardless of baseline choice patterns. *Eur J Neurosci* **2017**, *45*, 159-166, doi:10.1111/ejn.13332.
13. Augustine, A.; Winstanley, C.A.; Krishnan, V. Impulse Control Disorders in Parkinson's Disease: From Bench to Bedside. *Front Neurosci* **2021**, *15*, 654238, doi:10.3389/fnins.2021.654238.
14. Joel, D. The signal attenuation rat model of obsessive-compulsive disorder: a review. *Psychopharmacology (Berl)* **2006**, *186*, 487-503, doi:10.1007/s00213-006-0387-2.
15. Joel, D.; Doljansky, J. Selective alleviation of compulsive lever-pressing in rats by D1, but not D2, blockade: possible implications for the involvement of D1 receptors in obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology* **2003**, *28*, 77-85, doi:10.1038/sj.npp.1300010.
16. Bourdenx, M.; Dovero, S.; Engeln, M.; Bido, S.; Bastide, M.F.; Dutheil, N.; Vollenweider, I.; Baud, L.; Piron, C.; Grouthier, V.; et al. Lack of additive role of ageing in nigrostriatal neurodegeneration triggered by alpha-synuclein overexpression. *Acta Neuropathol Commun* **2015**, *3*, 46, doi:10.1186/s40478-015-0222-2.
17. Engeln, M.; Fasano, S.; Ahmed, S.H.; Cador, M.; Baekelandt, V.; Bezard, E.; Fernagut, P.O. Levodopa gains psychostimulant-like properties after nigral dopaminergic loss. *Ann Neurol* **2013**, *74*, 140-144, doi:10.1002/ana.23881.
18. 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*, 3863-3875.
19. Kelley, A.E.; Stinus, L. Disappearance of hoarding behavior after 6-hydroxydopamine lesions of the mesolimbic dopamine neurons and its reinstatement with L-dopa. *Behav Neurosci* **1985**, *99*, 531-545, doi:10.1037//0735-7044.99.3.531.
20. Li, F.; Cao, W.Y.; Li, M.B.; Xu, Y.; Zhang, J.W.; Zhang, J.Y.; Luo, X.G.; Dai, R.P.; Zhou, X.F.; Li, C.Q. A simple method for detection of food foraging behavior in the rat: involvement of NMDA and dopamine receptors in the behavior. *Neuroscience* **2012**, *205*, 73-80, doi:10.1016/j.neuroscience.2011.12.057.
21. Joel, D.; Avisar, A. Excessive lever pressing following post-training signal attenuation in rats: a possible animal model of obsessive compulsive disorder? *Behav Brain Res* **2001**, *123*, 77-87, doi:10.1016/s0166-4328(01)00201-7.
22. Sesia, T.; Bizup, B.; Grace, A.A. Evaluation of animal models of obsessive-compulsive disorder: correlation with phasic dopamine neuron activity. *Int J Neuropsychopharmacol* **2013**, *16*, 1295-1307, doi:10.1017/S146114571200154X.

23. Szechtman, H.; Ahmari, S.E.; Beninger, R.J.; Eilam, D.; Harvey, B.H.; Edemann-Callesen, H.; Winter, C. Obsessive-compulsive disorder: Insights from animal models. *Neurosci Biobehav Rev* **2017**, *76*, 254-279, doi:10.1016/j.neubiorev.2016.04.019.
24. Dardou, D.; Reyrolle, L.; Chassain, C.; Durif, F. Chronic pramipexole treatment induces compulsive behavior in rats with 6-OHDA lesions of the substantia nigra and ventral tegmental area. *Behav Brain Res* **2017**, *332*, 327-336, doi:10.1016/j.bbr.2017.06.016.
25. Joel, D.; Avisar, A.; Doljansky, J. Enhancement of excessive lever-pressing after post-training signal attenuation in rats by repeated administration of the D1 antagonist SCH 23390 or the D2 agonist quinpirole, but not the D1 agonist SKF 38393 or the D2 antagonist haloperidol. *Behav Neurosci* **2001**, *115*, 1291-1300, doi:10.1037//0735-7044.115.6.1291.
26. Chernoloz, O.; El Mansari, M.; Blier, P. Sustained administration of pramipexole modifies the spontaneous firing of dopamine, norepinephrine, and serotonin neurons in the rat brain. *Neuropsychopharmacology* **2009**, *34*, 651-661, doi:10.1038/npp.2008.114.
27. Cilia, R.; Ko, J.H.; Cho, S.S.; van Eimeren, T.; Marotta, G.; Pellecchia, G.; Pezzoli, G.; Antonini, A.; Strafella, A.P. Reduced dopamine transporter density in the ventral striatum of patients with Parkinson's disease and pathological gambling. *Neurobiol Dis* **2010**, *39*, 98-104, doi:10.1016/j.nbd.2010.03.013.
28. Smith, K.M.; Xie, S.X.; Weintraub, D. Incident impulse control disorder symptoms and dopamine transporter imaging in Parkinson disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **2016**, *87*, 864-870, doi:10.1136/jnnp-2015-311827.
29. Voon, V.; Rizos, A.; Chakravartty, R.; Mulholland, N.; Robinson, S.; Howell, N.A.; Harrison, N.; Vivian, G.; Ray Chaudhuri, K. Impulse control disorders in Parkinson's disease: decreased striatal dopamine transporter levels. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **2014**, *85*, 148-152, doi:10.1136/jnnp-2013-305395.
30. Hammes, J.; Theis, H.; Giehl, K.; Hoenig, M.C.; Greuel, A.; Tittgemeyer, M.; Timmermann, L.; Fink, G.R.; Drzezga, A.; Eggers, C.; et al. Dopamine metabolism of the nucleus accumbens and fronto-striatal connectivity modulate impulse control. *Brain* **2019**, *142*, 733-743, doi:10.1093/brain/awz007.
31. Rao, H.; Mamikonyan, E.; Detre, J.A.; Siderowf, A.D.; Stern, M.B.; Potenza, M.N.; Weintraub, D. Decreased ventral striatal activity with impulse control disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord* **2010**, *25*, 1660-1669, doi:10.1002/mds.23147.
32. Theis, H.; Probst, C.; Fernagut, P.O.; van Eimeren, T. Unlucky punches: the vulnerability-stress model for the development of impulse control disorders in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* **2021**, *7*, 112, doi:10.1038/s41531-021-00253-z.

2.3. Analyses supplémentaires

D'autres résultats peuvent être extraits de ce test comportemental de PTSA, pouvant nous permettre d'extrapoler une dimension relative à de la persévération et de l'impulsivité d'attente. Ainsi, nous avons également étudié le nombre de visites à la mangeoire pendant l'essai, qui ne varie pas en fonction de la lésion et/ou du traitement ($k=3.335$, $p=0.3427$, Figure 20A) ainsi que le nombre de visites à la mangeoire pendant les temps de time-out qui est significativement augmenté ($k=21.33$, $p<0.0001$, Figure 20B) chez les individus lésés après traitement au pramipexole en comparaison des individus contrôles traités ($p<0.01$). De plus, le nombre de visites à la mangeoire au cours de l'essai de « lever press training » ($k=26.70$, $p<0.0001$, Figure 20C) est augmenté après la lésion nigrostriatale seule ($p<0.001$, Figure 20C) et par le traitement au pramipexole après lésion nigrostriatale par rapport au traitement seul ($p<0.05$, Figure 20C). Le nombre de visites à la mangeoire pendant les temps de « time-out » des sessions de « lever press training » ($k=26.23$, $p<0.0001$, Figure 20D) est augmenté chez les animaux lésés comparativement aux animaux contrôles ($p<0.05$, Figure 20D) et après le cumul de la lésion et du traitement chronique au pramipexole comparativement au traitement seul ($p<0.001$, Figure 20D). Ainsi, la dégénérescence dopaminergique de la SNc cumulée au traitement chronique au pramipexole pourrait induire une augmentation de l'impulsivité d'attente visualisée par l'augmentation des visites à la mangeoire alors que la récompense n'est pas présente, qu'il soit nécessaire pour les animaux de réaliser une action (sessions de « lever press training ») ou non (sessions de « magazine training »). La lésion seule permet d'extrapoler également la mise en place d'une impulsivité d'attente mais de manière moindre et uniquement dans les sessions de « lever press training » où une action est requise. Les appuis totaux sur le levier renforçant au cours de la session d'extinction (test) tendent à être

diminués (p=0.1534) chez les individus lésés et traités en comparaison des individus lésés bien que cette différence ne soit pas significative ($F_{3, 37}$=2.265, p=0.0298, Figure 20E). En revanche, les appuis sur le levier non renforçant dans les sessions d'extinction sont significativement augmentés (k=13.45, p<0.01, Figure 20F) après la lésion associée au traitement au pramipexole en comparaison de la lésion seule (p<0.05) tandis que le traitement seul n'a pas d'effet. L'impact cumulé de la lésion et du traitement entraînerait un changement de comportement des animaux qui essaieraient une nouvelle stratégie qui n'a cependant jamais été renforçante.

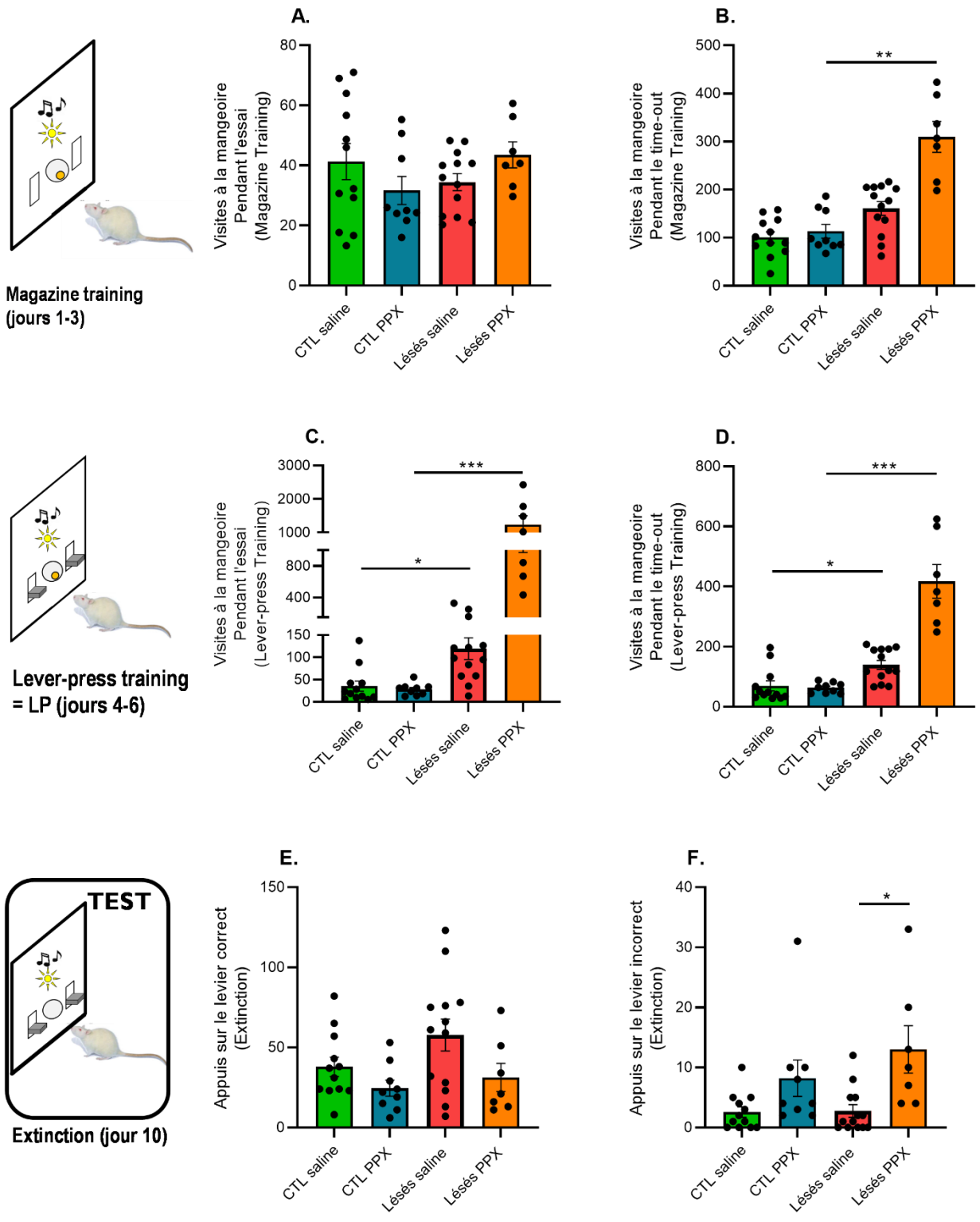


Figure 20 : Résultats complémentaires de l'analyse du comportement en PTSA.

***A-D**. Nombre de visites à la mangeoire des animaux contrôles (CTL) et lésés, saline ou traités au pramipexole (PPX) dans les sessions de « magazine training » (A et B) et de « lever press training » (C et D) pendant l'essai (A et C) et pendant les temps de « time-out » (B et D). **E-F**. Nombre total d'appuis pendant la session d'extinction, sur le levier renforçant (D) et non renforçant (E). * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.*

3. Plasticité synaptique fronto-striatale : quel impact de la dénervation nigrostriatale et du pramipexole ?

Les propriétés de plasticité synaptique des boucles associatives ont été étudiées afin de définir les effets du processus neurodégénératif et/ou du pramipexole. Nous nous sommes basés sur les études préalablement réalisées dans la boucle motrice, mettant en évidence une altération des mécanismes de plasticité induit par la dénervation nigrostriatale à la 6-OHDA et le traitement à la L-DOPA chez les animaux dyskinétiques et non-dyskinétiques (Belujon et al., 2010; Picconi et al., 2003).

L'hypothèse que nous avons cherché à tester est comment la dénervation dopaminergique et/ou le traitement chronique au pramipexole pouvaient impacter l'efficacité synaptique des neurones épineux de taille moyenne du striatum dorsomédian (DMS) après une stimulation du cortex orbitofrontal (OFC), et dans quelle mesure son dysfonctionnement pouvait participer au développement des TCI. Pour cela, quatre groupes d'animaux ont été générés : les animaux contrôles (n=6), contrôles traités chroniquement au pramipexole (n=4), les animaux lésés (n=6) et les animaux lésés traités chroniquement au pramipexole (n=7). Comme pour nos autres travaux, la modélisation de dégénérescence de la voie nigrostriée a été effectuée à l'aide d'un vecteur viral surexprimant l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T dans la SNc de rats de huit semaines et les groupes contrôles ont été injectés aux mêmes coordonnées avec un adénovecteur viral exprimant la GFP. Les animaux ont ensuite été soumis au protocole d'électrophysiologie décrit précédemment dans les méthodes afin d'enregistrer la réponse d'un neurone épineux de taille moyenne du striatum dorsomédian suite à une stimulation du cortex orbitofrontal. Le marquage des neurones TH positifs permet

de valider la lésion nigrostriatale. D'après nos résultats, il est possible de déduire que ni la dénervation nigrostriatale, ni le traitement chronique au pramipexole, ni la combinaison des deux, n'impactent les paramètres neuronaux de durée de potentiel d'action (F=1.699 et p=0.2011, Figure 21B) et de latence après la stimulation corticale (k=1.740 et p=1.740, Figure 21C). La figure 21 ci-dessous indique comment sont mesurés les paramètres de durée (Figure 21A) et de latence (Figure 21B).

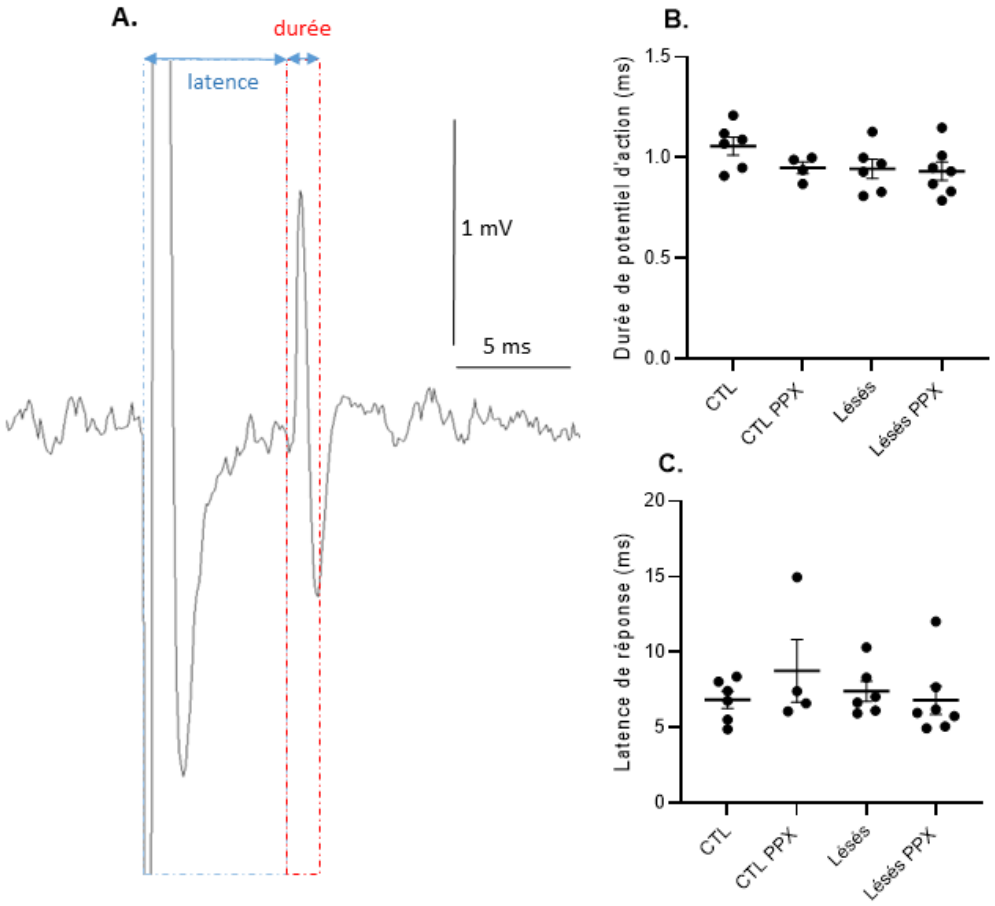


Figure 21: Schématisation des mesures des paramètres de durée et de latence de réponse des neurones du striatum dorsomédian après une réponse de la stimulation du cortex orbitofrontal.

***A**. Potentiel d'action d'un neurone du striatum dorsomédian après la stimulation du cortex orbitofrontal extrait d'un enregistrement, permettant la visualisation des bornes définissant sa latence de réponse en bleu et sa durée en rouge. **B-C.** Durées (B) et latence de réponse (C) des potentiels d'action des neurones striataux enregistrés après une stimulation du cortex orbitofrontal, des animaux contrôles (CTL), contrôles traités au pramipexole (PPX), lésés et lésés traités PPX.*

La durée du potentiel d'action est mesurée entre le début de la dépolarisation et le pic de l'hyperpolarisation. Un neurone dont la réponse à la stimulation électrique présente une latence supérieure à 20ms est exclu de la suite de l'analyse. Effectivement, une latence trop importante pourrait refléter une réponse neuronale poly-synaptique à la stimulation du cortex orbitofrontal c'est-à-dire que cette réponse pourrait être médiée par un relais synaptique et non être une réponse directe du neurone enregistré.

L'étude de la plasticité de cette voie indique que les animaux contrôles présentent une augmentation de l'efficacité synaptique ($p<0.05$, $t=3.829$ et $df=5$, Figure 22B) à la suite d'un protocole de SHF (100 pulses 50Hz-10s-100 pulses 50Hz). Les différents paramètres de stimulation et d'acquisition réalisés avant, pendant et après la SHF sont décrits précédemment, dans les méthodes. Le protocole de SHF réalisé dans l'OFC conduit à une PLT des neurones épineux de taille moyenne du DMS (Figure 22A). Ces observations nous serviront donc de contrôles pour déterminer les changements de réponse et d'efficacité synaptique induits par la dénervation nigrostriatale et/ou le traitement chronique au pramipexole. Ainsi, un effet groupe ($F_{3, 19}=31.43$, $p<0.0001$) et un effet temps ($F_{4.874, 92.20}=17.10$, $p<0.0001$) permet de mettre en évidence une différence de réponse entre le groupe CTL et les autres groupes expérimentaux (CLT PPX, lésés et lésés PPX), de 30 à 40 minutes après la SHF (Figure 22A, $F_{36, 227}=7.215$, $p<0.0001$). Les contrôles traités ($t=4.998$ et $df=3$, Figure 22C), les animaux lésés ($p<0.01$, Figure 22D), et les animaux lésés traités ($t=6.375$ et $df=6$, Figure 22E) présentent une diminution de l'efficacité synaptique après l'application du même protocole de SHF.

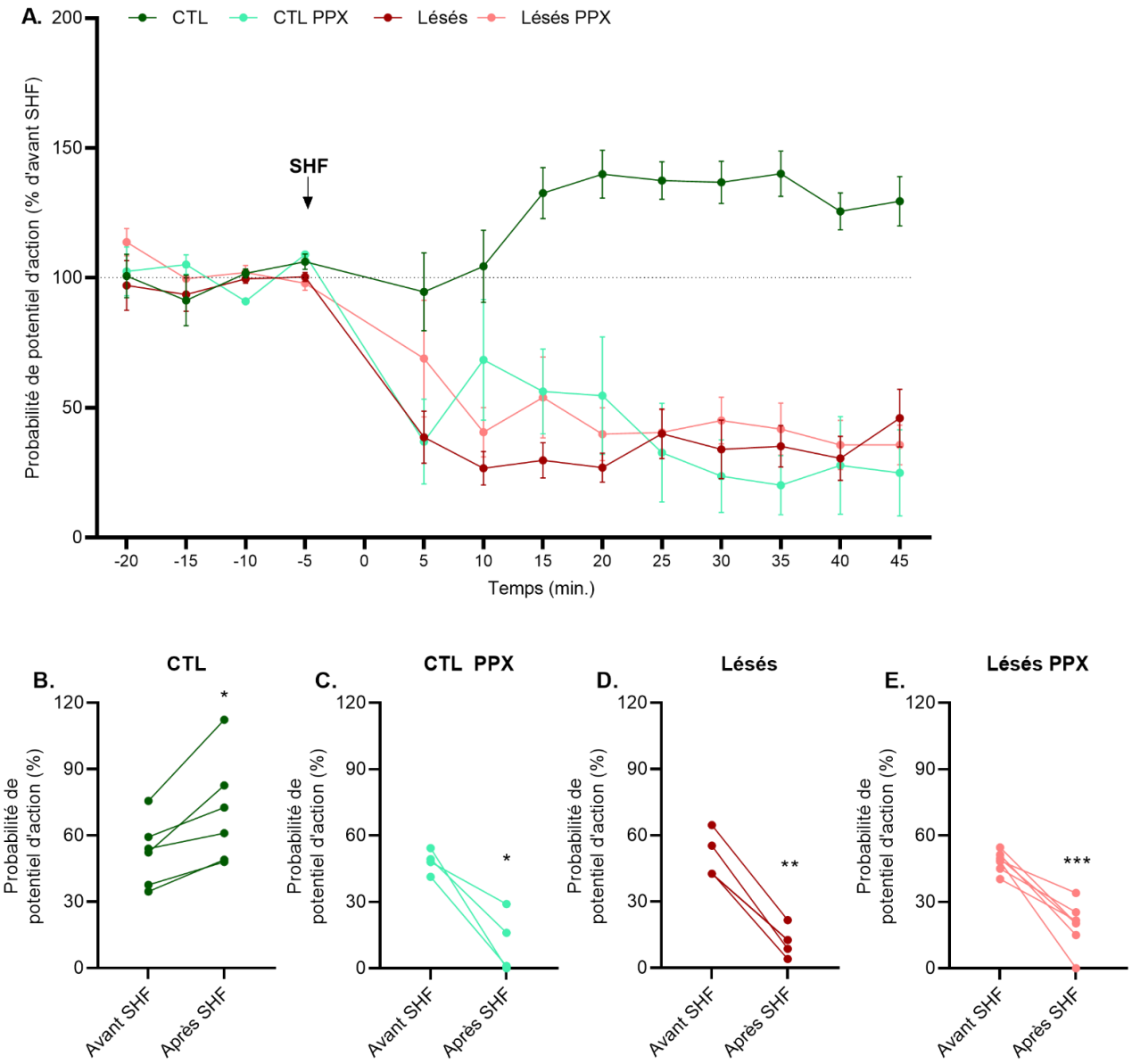


Figure 22 : Probabilités de réponse des neurones striataux après une stimulation du cortex orbitofrontal.

A. *Graphique reprenant les probabilités de réponse (en pourcentage par rapport à la probabilité d'avant la SHF) des neurones striataux en fonction du temps (20 minutes avant SHF et jusqu'à 45 minutes après SHF) pour les individus contrôles en vert foncé, contrôles traités en vert clair, lésés en rouge foncé et lésés traités en rouge clair.* ***B-E.*** *Probabilité de réponse des neurones du striatum dorsomédian en pourcentage avant (moyenne sur 15 minutes) et après le protocole de stimulation haute fréquence (SHF, moyenne entre 30 et 40 minutes) du cortex orbitofrontal pour les animaux contrôles (CTL, B), contrôles traités au pramipexole (CTL PPX, C), lésés (D) et lésés traités (lésés PPX, E).*

Il est donc possible de déduire que la dénervation nigrostriatale, le traitement au pramipexole ainsi que la combinaison des deux, ont un impact délétère sur la transmission frontostriatale en diminuant l'efficacité synaptique. La surexpression protéique d'alpha-synucléine dans la SNc induit une altération de l'efficacité de réponse des neurones épineux de taille moyenne du DMS et donc de la transmission d'informations de l'OFC vers le DMS. Nos résultats montrent un effet similaire après le traitement au pramipexole, seul ou cumulé à la lésion nigrostriatale.

PROJETS COLLABORATIFS

1. Susceptibilité interindividuelle à la dénervation dopaminergique de rats hétérozygotes ou homozygotes pour le gène ATP13A2.

Ce projet collaboratif, porté par Benjamin Dehay de l'équipe « Physiopathologie des syndromes Parkinsoniens » du laboratoire « Institut des Maladies Neurodégénératives » (IMN) de Bordeaux, a pour but de comprendre le rôle du dysfonctionnement du gène ATP13A2 dans le développement de la MP. Une étude longitudinale est réalisée sur un modèle de rat knock-out (KO) pour le gène de l'ATP13A2, codant une ATPase lysosomale de type P, impliqué dans le développement génétique de plusieurs maladies neurodégénératives telles que la MP et le syndrome de Kufor-Rakeb (Park et al., 2015; van Veen et al., 2020). Cette étude est réalisée pour définir l'impact de la perte du gène ATP13A2 sur des modifications comportementales, l'accumulation d'alpha-synucléine et sur la fonction lysosomale. Dans le cadre de cette collaboration, nous avons généré les cohortes de suivi longitudinal des rats WT, hétérozygotes et homozygotes. Une première cohorte de rats a donc été soumise au protocole de stepping test afin d'estimer leurs performances motrices avant et après chirurgie stéréotaxique et injection d'un AAV-2 surexprimant la GFP ou l'alpha-synucléine humaine mutée en A53T dans la SNc. Le suivi longitudinal moteur a été effectué jusqu'à 20 semaines post-chirurgie avant le prélèvement des cerveaux à la suite d'une perfusion intracardiaque. L'intégralité des analyses post-mortem est réalisée à Bordeaux dans l'équipe du porteur de projet.

Les résultats de stepping test montrent un déficit moteur identique après lésion de la voie dopaminergique nigrostriatale dans l'ensemble des groupes d'animaux, WT, hétérozygotes (HET) et homozygotes (HOMO), que ce soit chez les femelles ou chez les mâles (Figure 23). Ces résultats comportementaux sont en accord avec les résultats post-mortem obtenus par l'équipe de recherche de Bordeaux qui montre une dégénérescence dopaminergique des neurones TH positifs dans la SNc identique indépendamment du sexe et du génotype des animaux.

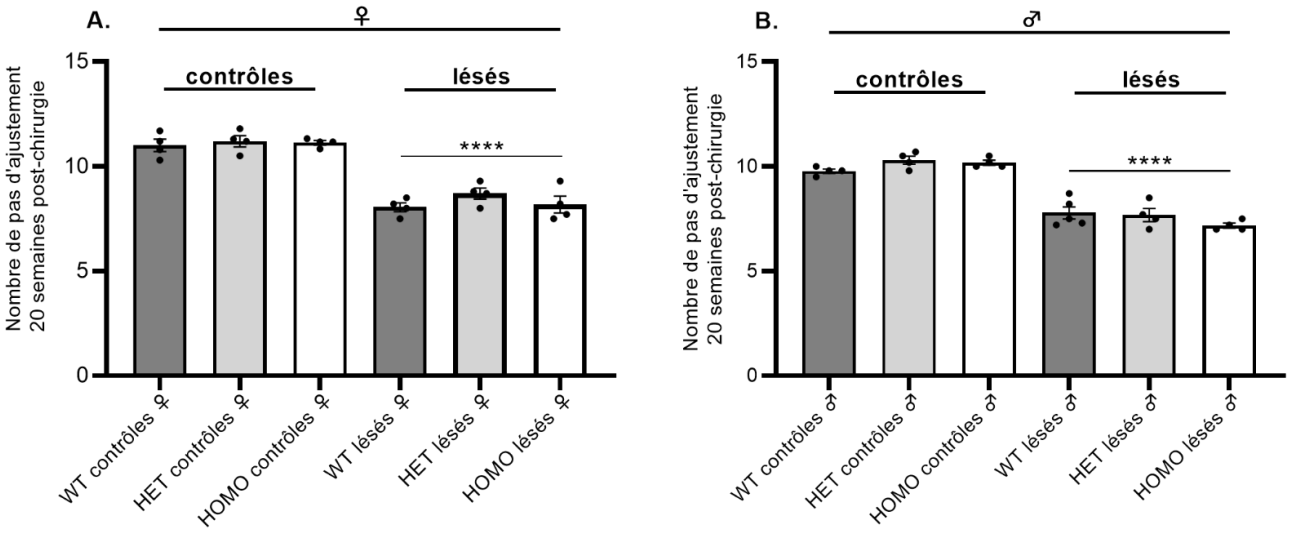


Figure 23 : Estimation de l'akinésie par stepping test des rats femelles et mâles, WT, hétérozygotes (HET) et homozygotes (HOMO) pour le gène ATP13A2.

*Nombre de pas d'ajustement en stepping test pour les individus femelles (A) et mâles (B) montrant un déficit moteur 20 semaines post-injection du vecteur viral surexprimant l'alpha-synucléine mais ne démontrant pas d'effet différentiel de la lésion dopaminergique en fonction du génotype. **** p<0.0001*

Une seconde cohorte de rats a été soumise au protocole de SHIRPA, regroupant un panel de tests neurodéveloppementaux. Nous nous sommes donc intéressés au jour d'ouverture des yeux, au réflexe de retournement (du dos sur les pattes, « righting reflex ») et de

redressement (tête en bas à tête en haut, « negative geotaxis »), au temps nécessaire à l'animal pour sortir d'un périmètre de 15cm (acticité locomotrice spontanée), au réflexe de réaction au bruit et le réflexe de « cliff avoidance » c'est-à-dire le temps nécessaire au raton pour effectuer un recul entier (corps et tête) lorsque sa tête est dans le vide. Quelques différences dépendantes du génotype peuvent être relevées. Les femelles HET mettent plus de temps à se redresser que les femelles WT et les HOMO dans l'exercice de « righting reflex », les jours postnataux 5 et 6 et que les WT au jour postnatal 8 (Figure 24A) contrairement aux mâles où aucune différence n'est relevée (Figure 24B). Au niveau de l'activité locomotrice spontanée, les animaux HOMO femelles (Figure 24C) et mâles (Figure 24D) mettent significativement plus de temps à sortir du périmètre défini, respectivement en comparaison aux WT (jour postnatal 9) et aux WT et HET (jour postnatal 10).

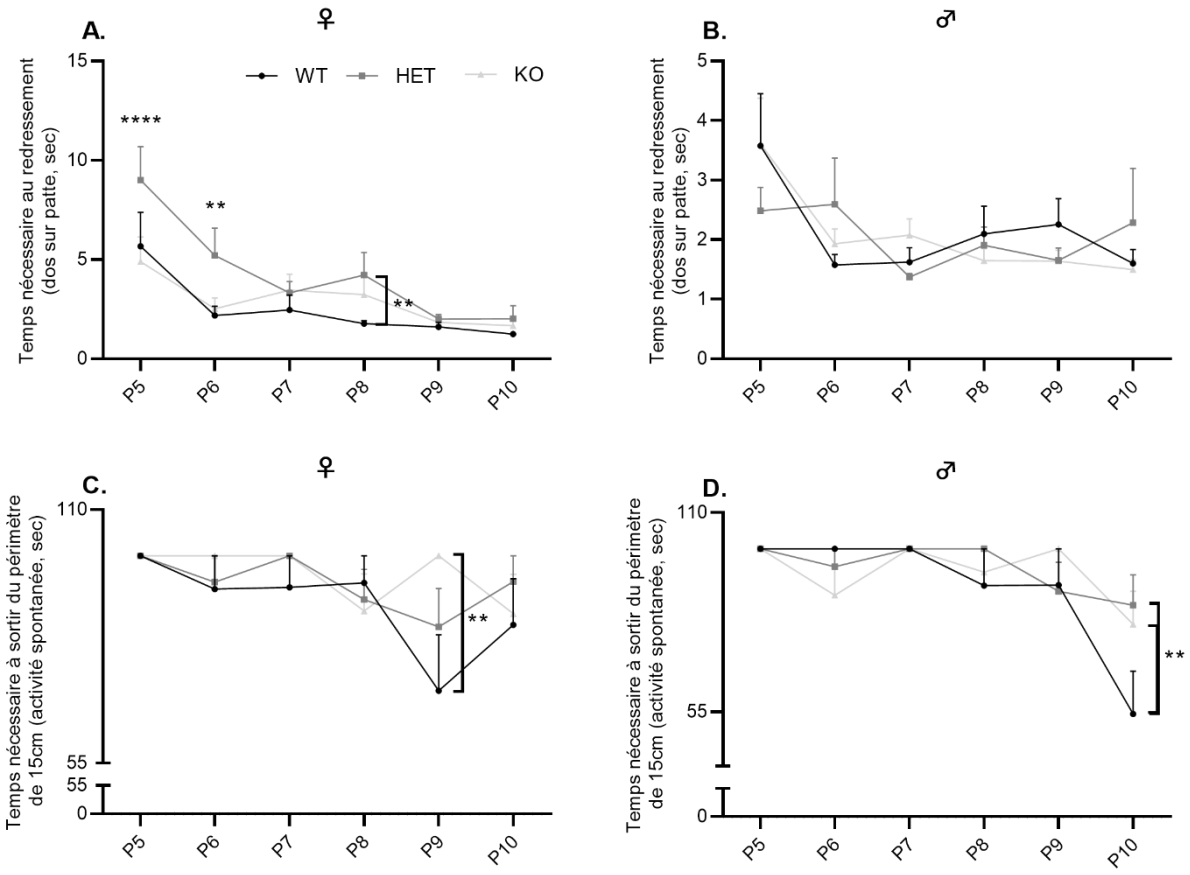


Figure 24 : Résultats du panel de tests neurodéveloppementaux de SHIRPA des individus ATP13A2 en fonction du génotype et du genre.

*Temps nécessaire au redressement (dos sur patte, « righting reflex ») des individus ATP13A2 WT, HET et HOMO, femelles (A) et mâles (B). Temps nécessaire à la sortie d'un périmètre de 15cm des individus ATP13A2 WT, HET et HOMO, femelles (C) et mâles (D). **** p<0.0001, ** p<0.01.*

Les résultats post-mortem sont encore en cours d'acquisition à l'IMN.

2. Recherche d'un biomarqueur précoce de maladie de Parkinson.

Ce projet collaboratif (résumé graphique en figure 25), porté par Sabrina Boulet et Florence Fauvelle, de l'équipe « Physiopathologie de la motivation » du laboratoire « Grenoble Institut Neurosciences », a permis de mettre en évidence des dysrégulations métaboliques communes dans le sérum de plusieurs modèles animaux (macaques MPTP, rats 6-OHDA et rats alpha-synucléine) ainsi que dans deux cohortes de patients parkinsoniens, par spectroscopie de résonnance magnétique nucléaire. Ce travail (voir annexe 2) permet de démontrer que certaines dysrégulations métaboliques apparaissent en amont des symptômes moteurs de la MP et peuvent représenter des biomarqueurs précoces de celle-ci, permettant de réaliser un diagnostic précoce. L'analyse a effectivement permis de définir un biomarqueur composé de six métabolites : acetoaceate, betaine, β-hydroxybutyrate, creatine, pyruvate et valine. Dans le cadre de cette collaboration, nous avons fourni l'intégralité des échantillons de sérum des rats alpha-synucléine (n=11) et contrôles (injectés avec le vecteur viral surexprimant la GFP, n=12), prélevés en condition basale avant chirurgie puis à 3 et à 9 semaines après l'injection virale.

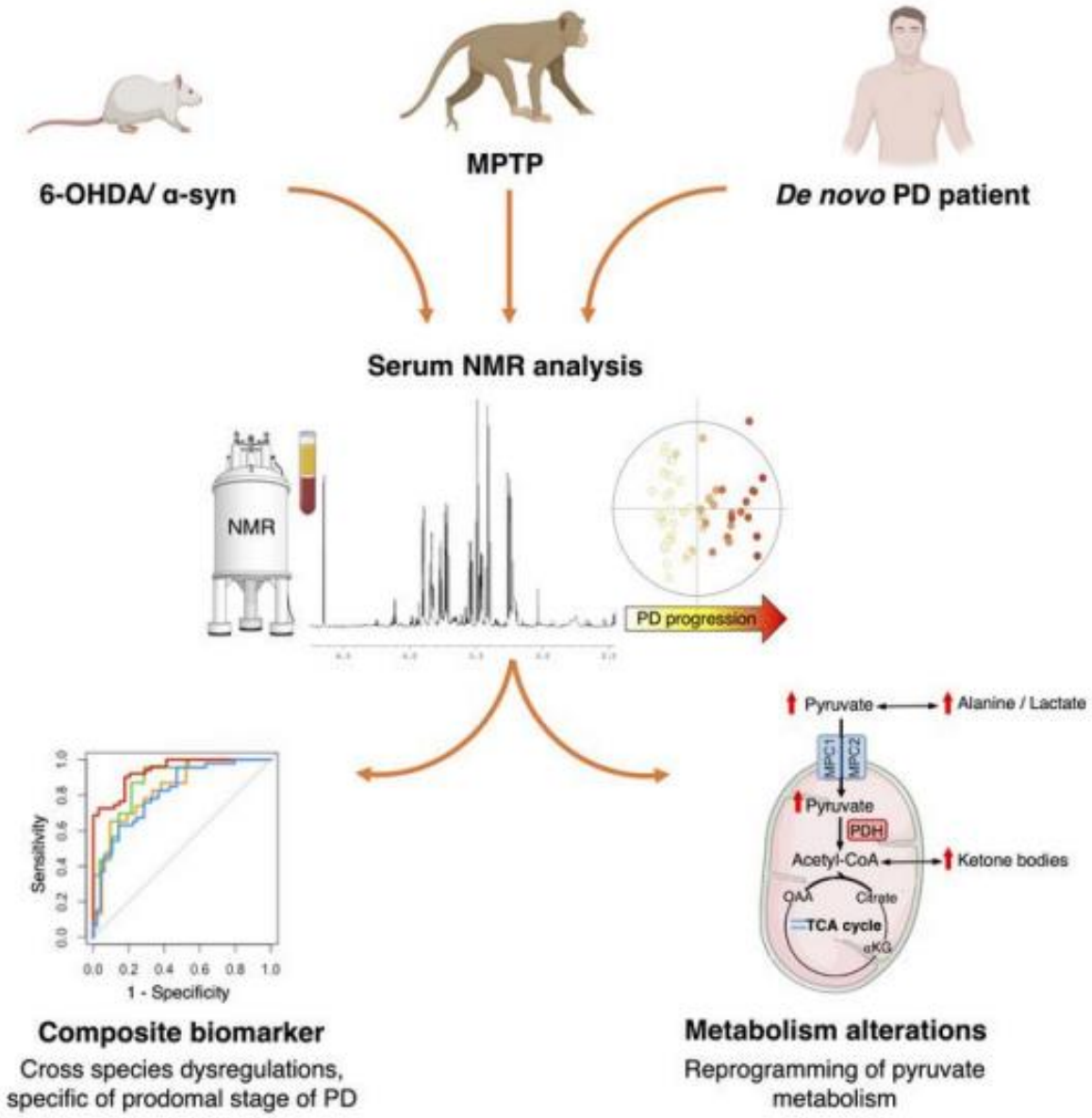


Figure 25 : Résumé graphique du projet collaboratif avec l'équipe du Grenoble Institut Neurosciences.

NMR : Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ; PD : Parkinson's Disease (=MP)

Résumé de l'article publié en collaboration avec l'équipe « Physiopathologie de la Motivation » du « Grenoble Institut Neurosciences » étant basé sur une étude par NMR du sérum de cohortes de rats (6-OHDA et alpha-synucléine), de macaques MPTP et de patients parkinsoniens permettant de définir un biomarqueur composite précoce de MP.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Il est aujourd'hui impossible de limiter la maladie de Parkinson aux symptômes moteurs. Les symptômes non-moteurs ne sont pas négligeables et sont très handicapants pour les patients dans leur quotidien, à un degré parfois plus élevé que les symptômes moteurs (Barone et al., 2009). Les traitements pharmacologiques délivrés en clinique révèlent accentuer les troubles neuropsychiatriques et/ou moteurs après une prise à plus ou moins long terme, malgré leurs effets indiscutables sur la tétrade motrice symptomatique (Bezard et al., 2001; Corvol et al., 2018).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons notamment voulu étudier l'impact de la dénervation nigrostriatale et d'un agoniste dopaminergique D3/D2, le pramipexole, sur divers comportements, spontanés ou opérants, dans un modèle rat de MP.

Le premier projet, a porté sur l'étude de la flexibilité cognitive. La flexibilité cognitive est définie comme la capacité à ajuster son comportement en fonction des changements dans son environnement dans le but de générer des réponses appropriées. Plusieurs études démontrent que le vieillissement normal impacte les capacités de flexibilité cognitive et que les patients parkinsoniens présentent une rigidité cognitive exacerbée (McDonald et al., 2018). Les réseaux neuronaux identifiés dans les exercices de flexibilité cognitive sont des réseaux cortico-striataux reposant notamment sur les cortex préfrontal et orbitofrontal et sont dépendants de la dopamine (Habak et al., 2014; Hornak et al., 2004; Monchi et al., 2004; Robbins, 2007; Roberts et al., 1994; Vijayraghavan et al., 2017). Notre étude démontre que la capacité à prendre des décisions de manière flexible, en prenant en considération les changements de son environnement et en s'adaptant à de nouvelles règles est soumis à une importante variabilité interindividuelle, nous permettant de classer les individus en trois groupes au niveau basal de performances significativement différent. Ainsi, un haut niveau de

flexibilité rend les individus plus vulnérables à une diminution de leurs performances après une dénervation nigrostriatale, en comparaison d'individus présentant un niveau basal de flexibilité intermédiaire ou faible, et ce, bien que l'amplitude de lésion soit similaire. Ainsi, les neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée sont impliqués dans les fonctions cognitives, notamment de flexibilité, mais de manière différentielle en fonction du profil individuel initial. De plus, les capacités de flexibilité cognitive dans notre exercice de « set-shifting » requièrent une capacité d'adaptation à un changement de règle. Effectivement, le changement de stratégie au cours de la tâche cognitive implique une capacité à ignorer les indices non pertinents. Ici, dans la dimension visuelle (à faible demande cognitive), il suffit de suivre l'indice lumineux tandis que la dimension égocentrique requiert d'ignorer ce stimulus visuel auparavant pertinent et donc une plus forte demande cognitive. La dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriatale induit un plus grand nombre d'erreurs dans la dimension égocentrique du fait de sa complexité plus importante, et ce, indépendamment des performances de base. De plus, nous pouvons déduire que la diminution des performances après lésion nigrostriatale est également due à une diminution du nombre de phases complétées au cours de l'exercice, corrélée à une altération de la capacité de passer d'une dimension à l'autre. Ces données sont en adéquation avec les études cliniques réalisées chez les patients parkinsoniens démontrant des déficits de flexibilité cognitive ainsi que des difficultés à ignorer des informations non pertinentes, une persévérance importante et des déficits attentionnels (Cools et al., 2001b; Fallon et al., 2016).

Aujourd'hui, nos travaux suggèrent une implication différentielle des neurones dopaminergiques dans le mécanisme cognitif de flexibilité, dépendamment des performances individuelles. Les causes et mécanismes de cette susceptibilité de dégradation de la flexibilité

cognitive ne sont pas encore élucidés mais pourraient être liés à des polymorphismes génétiques et à des défauts d'activité, notamment du DAT et du COMT. En effet, des études ont mis en avant des associations entre le COMT et le DAT, l'activité du cortex orbitofrontal et du cortex préfrontal, et les performances de flexibilité cognitive (Cybulska-Klosowicz et al., 2017; Fallon et al., 2015; Fang et al., 2019; Habak et al., 2014; Tunbridge et al., 2004). L'homéostasie de la dopamine et les enzymes/protéines associées pourraient donc sous-tendre les différences interindividuelles dans les performances cognitives, notamment de flexibilité.

Dans notre étude, nous démontrons également que la prise chronique de pramipexole par voie systémique entraîne des déficits de flexibilité cognitive chez les individus lésés et chez les contrôles, ce qui nous permet de suggérer l'implication du récepteur dopaminergique D3. Les effets délétères du pramipexole sur les capacités de flexibilité cognitive sont d'autant plus importants après une dénervation nigrostriatale, indiquant que la MP serait un facteur aggravant. Ces déficits de flexibilité cognitive après la prise de pramipexole chez les individus contrôles sont également dépendants des performances de base. Nous montrons une plus importante altération de la flexibilité cognitive chez les individus flexibles et intermédiaires tandis que les individus inflexibles restent à un faible niveau de flexibilité cognitive, sans détérioration apparente. En revanche, dans la population lésée, les individus flexibles et intermédiaires présentent une altération de leurs performances dans la dimension égocentrique tandis que les individus inflexibles sont plutôt impactés dans la dimension visuelle. Ces données concordent avec la littérature qui avait permis de mettre en évidence une amélioration des performances dans un exercice de flexibilité cognitive chez des souris

KO au RcD3 (Glickstein et al., 2005) et dans un modèle primate de MP après administration *per os* d'un antagoniste aux RcD3 (S33138) (Millan et al., 2010).

Le traitement au pramipexole entraîne également une altération de l'implication du cortex orbitofrontal. Nos données expérimentales étayent les données bibliographiques, indiquant que la dopamine des circuits fronto-striataux influe considérablement sur les fonctions exécutives, notamment de flexibilité cognitive. En clinique, ces dysfonctions sont retrouvées chez des patients parkinsoniens ayant développé des TCI (van Eimeren et al., 2009). De plus, la modulation par la dopamine a été étudiée dans plusieurs structures cérébrales impliquées dans ces boucles fronto-striatales, comme le cortex préfrontal et le striatum ventral. Ces études ont notamment été réalisées par modulation locale du système dopaminergique avec infusion d'agonistes ou d'antagonistes aux récepteurs de la dopamine, et ont démontré des effets sur les capacités de flexibilité cognitive (Floresco et al., 2006). Elles ont permis de déduire que des capacités optimales de flexibilité cognitive était en partie dépendantes d'un équilibre d'activation entre les RcD1 et RcD2 dans les boucles fronto-striatales (Haluk and Floresco, 2009). Nous utilisons dans cette étude un agoniste D3/D2 qui permet de mettre en évidence la contribution des RcD3 dans les performances de flexibilité cognitive. Effectivement, une stimulation importante des RcD3 engendre des déficits dans cette tâche exécutive.

Nous suggérons de plus que l'implication des boucles fronto-striatales peut être différente en fonction des caractéristiques basales des individus. En effet, le marquage du gène de réponse précoce c-fos a permis de mettre en évidence une augmentation de l'activité neuronale globale dans le striatum des individus ayant une dégénérescence nigrostriatale et reçu un traitement au pramipexole. Ces données sont en accord avec les données de la littérature qui

démontrent également une activité neuronale striatale augmentée après une thérapie de remplacement de la dopamine (traitement à la L-DOPA) dans un modèle de primate non-humain (Svenningsson et al., 2000). Cependant, cette étude montre également une augmentation de l'activité neuronale dans le cortex cérébral dénervé après administration de L-DOPA tandis que nos résultats ne convergent pas en ce sens. Effectivement, nous n'avons retrouvé aucune différence d'activité neuronale par le biais du marquage au c-fos dans le cortex orbitofrontal, le cortex préfrontal ni le noyau accumbens. L'augmentation de l'activité neuronale chez les individus présentant une dénervation nigrostriatale n'est cependant pas liée aux performances initiales de flexibilité cognitive. Nous démontrons en revanche une corrélation négative entre le niveau d'activité neuronale dans le cortex orbitofrontal et les performances des individus contrôles, après traitement chronique au pramipexole. Cette corrélation est perdue lorsqu'une lésion dopaminergique est réalisée. Notre étude sous-tend donc la théorie selon laquelle les boucles fronto-striatales seraient différentiellement impliquées dans les altérations du niveau de flexibilité cognitive induites par le traitement au pramipexole, et que chez les individus contrôles ne présentant pas de dénervation dopaminergique de la voie nigrostriée, les performances sous pramipexole sont dépendantes du cortex orbitofrontal. Nous démontrons que l'implication de l'OFC est compromise après le cumul d'une dénervation nigrostriatale et du traitement au pramipexole dans une tâche de flexibilité cognitive nécessitant des capacités d'adaptation et de traitement des informations pertinentes ou non-pertinentes. Ces résultats sont en concordance avec des études d'imagerie démontrant une implication de l'OFC dans l'intégration des informations récompensantes et punitives modifiant les réponses comportementales de par sa forte connexion avec les structures sous-corticales comme l'amygdale et le striatum ventral (Carmichael and Price, 1995). Après un traitement aux agonistes dopaminergiques, l'activité

de l'OFC et l'incapacité à évaluer les conséquences négatives des actions ne sont plus corrélées (van Eimeren et al., 2009). De plus, l'OFC est une structure centrale dans les TCI. Son inactivation induite par la prise d'agoniste dopaminergique aboutit à un patron d'activité neuronale déficient et à une activation des réseaux inhibiteurs liés notamment au développement de jeu pathologique (van Eimeren et al., 2010).

Avec ces travaux, nous sommes en capacité de conclure que les variabilités interindividuelles avant le début de prise en charge thérapeutique pourraient être liées à une vulnérabilité de développement de TCI. Nous étayons le fait que la dégénérescence dopaminergique de la voie nigrostriée mène à des effets plus ou moins marqués sur les capacités de flexibilité cognitive : les individus préalablement très flexibles seront les plus fortement impactés tandis que les individus les moins flexibles ne seront que beaucoup moins voire pas affectés. Nous élargissons également les pistes explicatives de la physiopathologie des TCI en étudiant la flexibilité cognitive sous traitement au pramipexole et en démontrant (i) une exacerbation des déficits mais également (ii) la présence de déficits dans les deux dimensions de l'exercice (visuelle et égocentrique). Nous suggérons donc que les différences basales de flexibilité cognitive reflétant la variabilité interindividuelle sont un indicateur de sensibilité et de risque de développement de TCI après un traitement au pramipexole.

Les déficits de flexibilité cognitive dans notre modèle animal de MP sont particulièrement intéressants mais les altérations dans cet exercice opérant ne suffisent pas à modéliser les TCI après un traitement aux agonistes dopaminergiques. Effectivement, les capacités de flexibilité cognitive mettent en jeu des dimensions comportementales pouvant être liées à des capacités d'intégration d'informations et de prise de décisions qui rend les

déficits de performances difficilement assimilables à des TCI. De plus, l'expérience de set-shifting est longue : 21 jours avant la chirurgie, 16 jours après la chirurgie et 21 jours pendant le traitement ce qui rend son utilisation en tant qu'exercice permettant de modéliser des troubles cognitifs fastidieuse et chronophage. Nous nous sommes donc intéressés dans un second temps à développer un modèle animal de TCI en nous basant sur l'étude de plusieurs comportements, spontané dans un premier temps puis opérant.

Effectivement, l'impact des effets secondaires non-moteurs après la prise de traitement de la MP aux agonistes dopaminergique est majeur pour les patients mais il n'existe actuellement aucun modèle expérimental de TCI. Certains modèles permettent de révéler quelques caractéristiques de TCI avec les propriétés renforçantes du pramipexole (Engeln et al., 2013), le jeu pathologique et l'impulsivité. Cependant, les caractéristiques de compulsion et d'addiction comportementale ne sont pas évaluées. Plusieurs études ont mis en exergue des modifications comportementales notamment d'impulsivité (Engeln et al., 2016; Jiménez-Urbieta et al., 2019). Les auteurs démontrent que la lésion de la voie dopaminergique nigrostriée entraîne une augmentation de l'impulsivité d'attente (correspondant à un déficit d'inhibition) et de l'impulsivité d'action (motrice) qui est exacerbée par le traitement au pramipexole dans des exercices de « 5-choice serial reaction time », de « Fixed Consecutive Number » ou de « differential reinforcement of low rate of responding ». D'autres études ont mis en place des modèles animaux mimant le jeu pathologique des patients, notamment basés sur le « Iowa gambling task » ou le « rodent betting task » (Tremblay et al., 2017; Zeeb et al., 2009). Effectivement, les agonistes dopaminergiques sont connus pour induire du jeu pathologique chez les patients parkinsoniens. Une étude clinique indique notamment que les patients parkinsoniens ne présentent pas de comportement différent en comparaison aux

patients contrôles tandis que le traitement au pramipexole induit une augmentation de la prise de risque. Les structures cérébrales impliquées chez l'Homme et le rongeur sont identiques : le cortex préfrontal notamment le cortex orbitofrontal, le NAcc, et l'amygdale basolatérale (de Visser et al., 2011).

Dans notre étude nous voulions développer un modèle animal de TCI qui soit rapide à mettre en place, reproductible et reproduisant la nature comportementale compulsive. En clinique, certains TCI comme le « punding » se développent notamment en rapport avec des activités familières aux patients, pour lesquelles ils présentaient un intérêt particulier avant de développer la MP, ou des activités quotidiennes. Nous nous sommes alors basés sur l'étude d'un comportement spontané et naturel du rongeur pour développer notre modèle de TCI : l'amassement de nourriture. Notre première hypothèse était que le traitement chronique au pramipexole après dénervation nigrostriatale impacterait l'amassement de nourriture. Ce modèle est parfois utilisé dans l'étude des comportements appelés troubles obsessionnels compulsifs (TOC), notamment avec l'utilisation de quinpirole (Stuchlik et al., 2016; Szechtman et al., 1998), un agoniste dopaminergique D2/D3, liant préférentiellement le D2. Comme la physiopathologie des TCI, celle des TOC reste à élargir et ces études ont proposé la validation d'un modèle animal par le biais du traitement au quinpirole en démontrant une sensibilisation au quinpirole induisant des comportements stéréotypés répétitifs et compulsifs.

Dans un contexte clinique, l'amassement peut être représenté par l'accumulation d'objets familiers, et est retrouvé chez 30% des patients parkinsoniens traités aux agonistes dopaminergiques (O'Sullivan et al., 2010). Comme indiqué précédemment, l'accumulation de nourriture est un comportement naturel et spontané chez le rongeur, modulé par la photopériode et le climat mais la disponibilité de la source de nourriture reste le facteur le

plus impactant. Ce comportement requiert notamment des capacités de planification, nécessite l'engagement du cortex préfrontal et de l'hippocampe, et est dépendant de la dopamine (Ayers et al., 2014; Deacon et al., 2002, 2003; Lacroix et al., 1998; Stam et al., 1989). La dopamine et ces structures sont également connues pour être impliquées dans le développement des TCI.

Des travaux antérieurs sur le comportement d'amassement de nourriture et la dopamine mésolimbique ont démontré qu'une lésion de la VTA entraîne une réduction drastique voire un arrêt total de ce comportement (Kelley and Stinus, 1985). Nos résultats ne démontrent cependant pas d'impact de la lésion de la SNc sur l'accumulation de nourriture, visualisé par le nombre de croquettes de nourriture collectées. Ce comportement d'amassement serait donc essentiellement médié par la dopamine mésolimbique. Il n'y a pas non plus d'augmentation du temps passé en interaction avec la nourriture qui regroupe le temps de manipulation des croquettes et le temps passé à les manger. En revanche, le traitement chronique au pramipexole provoque une diminution du nombre de croquettes de nourriture amassées et ramenées dans la zone contenant la cage de vie de l'animal. Le traitement induit également une augmentation massive du temps passé en interaction avec la nourriture, chez les individus dénervés et non-dénervés, aboutissant donc à une perturbation significative du comportement naturel. Ces données vont cependant à l'encontre de celles retrouvées dans une étude s'intéressant au comportement d'amassement de nourriture après administration d'halopéridol, un antagoniste D2, et démontrant une diminution du comportement (Li et al., 2012). De ce fait, les comportements développés sous pramipexole que nous mettons en évidence tendraient à se rapprocher du comportement de « punding » caractérisé par des comportements moteurs stéréotypés avec une fascination intense pour des objets qui sont

alors longuement manipulés et examinés. Le « punding » pourrait être considéré comme une forme de compulsion. En clinique, ce comportement peut être retrouvé chez 14% des patients parkinsoniens traités (Evans et al., 2004; Spencer et al., 2011) bien qu'il y ait de nombreuses disparités dans l'évaluation de ce trouble. Cependant, une étude réalisée sur des patients parkinsoniens démontre qu'une monothérapie avec un agoniste D2/D3 n'entraîne que très peu de comportements associés à du « punding », suggérant que ce trouble serait plutôt dépendant des récepteurs D1 et D2 puisqu'étant retrouvé après traitement à la L-DOPA (Sierra et al., 2015; Silveira-Moriyama et al., 2006). En revanche, notre étude irait plutôt dans le sens de l'étude de Fenu et ses collaborateurs qui met en évidence une implication des récepteurs dopaminergiques D3 (Fenu et al., 2009). La limitation de l'exercice comportemental que nous avons mis en place est l'absence de différence après traitement entre le groupe dénervé dans la voie dopaminergique nigrostriée et le groupe non-dénervé. Effectivement, notre but était de mettre en place un modèle animal de TCI se développant après lésion dopaminergique de la SNc afin de mimer les TCI présents chez les patients parkinsoniens. Les animaux dénervés ne présentent pas de vulnérabilité accrue au développement de ce comportement répétitif après traitement au pramipexole.

Les patients ayant développé du « punding » présentent une hypoconnectivité avec le cortex frontal ou hyperconnectivité avec le thalamus et le striatum (Markovic et al., 2017) alors que cette étude d'imagerie clinique sous-tend l'importance de l'équilibre des connections entre les structures liées à la récompense (habenula, amygdale) et les structures corticales et sous-corticales. Les patients présentant des déficits dans ce système seraient donc plus vulnérables au développement de ce TCI. En revanche, les patients présentant des comportements de TOC, pouvant se rapprocher du comportement de « punding », présentent des changements

dans les circuits cortico - ganglions de la base - thalamo - corticaux avec une hyperactivité de l'OFC, du cortex cingulaire antérieur, du noyau caudé et du thalamus (Harrison et al., 2013; Mataix-Cols et al., 2004; Rotge et al., 2008). De plus, une connectivité anormale de l'OFC, notamment avec une connectivité accrue de l'OFC vers le striatum ventral a été démontré (Szechtman et al., 2017). D'après nos précédents résultats, on sait que la dopamine nigrostriatale joue un rôle important dans les performances de flexibilité comportementale qui impliquent un engagement de l'OFC, qui sont largement impactées par le traitement au pramipexole, bien que cet impact soit dépendant des performances prémorbides. Les résultats basés sur l'étude du comportement de « punding » ne démontrent de changement qu'après traitement chronique au pramipexole. L'ensemble de ces résultats sous-tend le rôle important du pramipexole dans l'activité de l'OFC et dans les comportements de type « punding », comme le quinpirole, un autre agoniste D2/D3, dans les modèles de TOC, indépendamment de la lésion nigrostriatale.

Ce premier test basé sur un comportement naturel spontané des rongeurs n'a pas permis de modéliser l'aspect compulsif de la prise de nourriture et n'a pas permis de mettre en évidence des différences comportementales après la lésion de la voie dopaminergique nigrostriée combinée au traitement chronique au PPX. Nous nous sommes donc intéressés au développement d'un modèle de TCI par le biais d'une étude sur un comportement opérant : le « post training signal attenuation » ou PTSA, permettant notamment d'étudier la compulsivité des animaux et déjà utilisé dans la modélisation des TOC (Joel, 2006). Nous sommes partis de l'hypothèse selon laquelle les animaux ayant une dégénérescence de la voie dopaminergique nigrostriée et traités au pramipexole présenteraient un caractère compulsif accru au cours de l'exercice.

Effectivement, de précédentes études ont démontré que la stimulation excessive des récepteurs dopaminergiques D3 semble engendrer l'apparition d'une prise de risque plus importante ainsi que de l'impulsivité chez des animaux dénervés, deux traits comportementaux pouvant être mis en lien avec des déficits dans l'anticipation des conséquences associées aux actions réalisées. Cet aspect déjà étudié présente des similitudes avec les aspects compulsifs des comportements bien que la compulsivité soit plutôt définie comme un comportement persistant et non orienté vers un but et une recherche de plaisir, qui serait plus automatique. La tâche de PTSA permet de mettre en évidence des comportements compulsifs (appuis sur un levier connu comme étant renforçant et délivrant une récompense), caractéristiques d'un déficit d'association entre la résultante d'une réponse et les performances (Joel, 2006). Notre expérience confirme les résultats des études ayant déjà utilisé cette tâche ou une tâche d'extinction du signal classique (sans période d'atténuation) selon lesquels lors de la phase d'extinction les animaux réalisent plus d'appuis sur le levier connu pour être renforçant suivi d'une visite à la mangeoire que lors de la phase d'entraînement (pour rappel, variable appelée ELP-C) (Joel and Avisar, 2001).

En revanche, nous mettons en évidence une augmentation des ELP-U, soit des appuis sur le levier renforçant qui ne sont cette fois pas suivis par une visite à la mangeoire, contrairement à ce que l'on peut retrouver lors d'une tâche d'extinction classique, pouvant être associée à un comportement compulsif. Nos résultats démontrent également une augmentation plus importante de ces ELP-U après lésion dopaminergique de la SNc. En revanche, une lésion restreinte à la SNc ou le traitement seul ne sont pas suffisants pour induire une augmentation des essais non complétés pendant la session d'extinction du signal. De plus, un effet de l'association de la lésion de la SNc et du traitement chronique au pramipexole induit une

augmentation plus importante des essais non complétés comparativement aux autres groupes expérimentaux, ce qui est également retrouvé dans un modèle de lésion combinée de la SNc et de l'ATV (Dardou et al., 2017). Cependant, Dardou et ses collaborateurs démontrent un comportement compulsif important après lésion SNc/VTA et traitement au pramipexole visualisé par l'augmentation du nombre d'ELP-U. Notre lésion dopaminergique limitée à la SNc ne permet pas de mettre en évidence un comportement compulsif aussi important, qui reste modeste dans notre design expérimental. Prises ensemble, nos études suggèrent que la lésion dopaminergique mésolimbique associée à la lésion dopaminergique nigrostriatale seraient nécessaires pour le développement de comportements compulsifs forts après un traitement au pramipexole. Ces résultats indiquent que la modulation des récepteurs dopaminergiques de la famille des RcD2 joue un rôle important dans la genèse de comportements compulsifs et sont corroborés par des études démontrant une augmentation des appuis « excessifs » sur le levier dans la tâche de PTSA par l'antagoniste D1 SCH 23390 et par le quinpirole (agoniste D2) (Joel and Avisar, 2001; Joel and Doljansky, 2003). Il est également possible de mettre en relation ces nouvelles données expérimentales avec des données présentées dans des études d'imagerie clinique, indiquant que les patients ayant développé des TCI présentent une réduction de l'activité du striatum ventral ainsi que du niveau de DAT dans le striatum ventral (voie dopaminergique mésolimbique ATV/striatum ventral) (Cilia et al., 2010; Rao et al., 2010; Voon et al., 2014). Nous pouvons donc extrapoler l'intégralité de ces données de façon à suggérer que le patron de dénervation dopaminergique pourrait représenter un facteur de susceptibilité individuelle à la présentation de comportements compulsifs après traitement dopaminergique.

Au cours de cette tâche de PTSA, nous nous sommes également intéressés à d'autres critères permettant de mettre en évidence des comportements pouvant être assimilés à de l'impulsivité d'attente et de la persévération. D'après nos résultats, la lésion dopaminergique nigrostriatale combinée au traitement chronique au pramipexole induit une augmentation de l'impulsivité d'attente, visualisée par l'augmentation des visites à la mangeoire pendant les temps de time-out des sessions de « magazine training » et de « lever press training ». Ce comportement pourrait être lié à un défaut du contrôle inhibiteur comme retrouvé dans d'autres tests comportementaux étudiant principalement les modifications d'impulsivité dans notre modèle (Engeln et al., 2016; Jiménez-Urbieta et al., 2019). De plus, nos résultats pourraient également révéler un caractère similaire à de la persévération après l'étude du nombre d'appuis total sur le levier renforçant pendant l'extinction. Effectivement, ce paramètre est augmenté chez les animaux dénervés dans la SNc, de la même façon que dans une étude réalisant un test d'extinction d'acquisition d'un stimulus après une lésion partielle à la 6-OHDA (Eagle et al., 2015). Le test de PTSA n'est pas utilisé pour révéler des excès de persévération et ces données devraient être soutenues par la réalisation de tests dédiés à l'étude de ce comportement. Une étude clinique a mis en évidence une augmentation des erreurs persévératives dans une batterie de tests comportementaux mais principalement chez les patients parkinsoniens sous traitement à la L-DOPA (Czernecki et al., 2002). Cependant, les animaux lésés et traités au pramipexole appuient significativement plus sur le levier connu pour être non-renforçant en voyant que le levier connu pour être renforçant ne l'est plus lors de la phase d'extinction (test). Le traitement au pramipexole entraînerait donc quant à lui le développement d'une stratégie autre alors qu'elle n'a jamais été associée à la récompense, plutôt que d'éteindre leur comportement (lors de la phase d'extinction où la récompense n'est plus présente). Il a été démontré que le paramètre de persévération d'action dans la maladie

de Parkinson est régulé notamment par le noyau caudé et le cortex préfrontal (Hughes et al., 2013), structures précédemment citées comme étant également impliquées dans le développement des TCI dans un contexte de MP et de traitement dopaminergique. De plus, il est possible d'associer une haute persévération avec une prise de risque plus importante, ce qui coïnciderait également avec certains aspects connus de la physiopathologie des TCI. L'impulsivité est également augmentée chez les patients parkinsoniens, avec ou sans traitement dopaminergique bien que la prise d'agonistes dopaminergiques la favorise d'autant plus.

La stimulation des récepteurs dopaminergiques de la famille des RcD2, notamment du RcD3, impliquerait donc une altération du contrôle inhibiteur par la favorisation du développement d'impulsivité d'attente et de persévération. Cette extrapolation reste basée sur un test comportemental utilisé normalement pour évaluer la compulsivité des animaux mais va dans le même sens que de précédentes études menées spécifiquement sur ces traits comportementaux (Engeln et al., 2016).

Avec ces deux premiers projets, nous avons pu mettre en évidence que les comportements opérants, présentant des dimensions relatives à la prise de décision, à l'apprentissage et à l'assimilation de stratégies récompensantes dépendantes d'indices environnementaux sont des comportements permettant de déceler un impact de la lésion de la voie dopaminergique nigrostriatale et du traitement au pramipexole, contrairement au comportement naturel et spontané qui ne fut impacté que par le traitement, indépendamment de la dégénérescence nigrostriée.

Le désengagement de l'OFC dans les capacités de flexibilité cognitive après lésion de la voie dopaminergique nigrostriée et du traitement chronique au pramipexole, ainsi que son implication dans les troubles dits compulsifs (Dardou et al., 2017) nous ont poussé à étudier les possibles modifications de plasticité dans la voie OFC/striatum dorsomédian après dénervation nigrostriatale et/ou traitement chronique au pramipexole.

Les données électrophysiologiques que nous avons extraites de cette étude ont permis de démontrer que la dénervation de la voie dopaminergique nigrostriée impacte la plasticité synaptique en réduisant drastiquement l'efficacité de la transmission synaptique dans la voie OFC vers DMS. De plus, le traitement au pramipexole seul induit le même effet et le traitement au pramipexole cumulé à la lésion nigrostriatale ne permet pas de restaurer l'efficacité de réponse des neurones du DMS après stimulation de l'OFC. Ces données sont à mettre en parallèle avec des travaux antérieurs ayant étudié la voie cortex moteur / striatum dans le cadre d'une lésion dopaminergique médiée par la 6-OHDA et d'un traitement à la L-DOPA. Ainsi, après l'application d'un protocole de stimulation haute fréquence (SHF) du cortex moteur, les neurones épineux de taille moyenne du striatum (NEM) des individus lésés présentaient une altération de réponse (Belujon et al., 2010; Picconi et al., 2003). Notre étude diffère cependant de ces précédents travaux puisqu'elle se base sur un modèle animal de MP médié par la surexpression d'alpha-synucléine contrairement aux autres études utilisant le modèle toxique 6-OHDA injecté unilatéralement. De plus, les expérimentations de Picconi et ses collaborateurs sont réalisées sur tranches et non *in vivo* ce qui ne reflète pas intégralement l'intégration des modulations des NEM par les interneurones que l'on sait déjà impliqués dans les dysfonctions motrices de la MP (Maurice et al., 2015). Effectivement, la limitation des

enregistrements sur tranches est le défaut d'intégration du réseau et de ses connections dans leur ensemble.

Les études utilisant une approche pharmacologique médiée par un traitement à la L-DOPA permettent de ségréger les groupes d'animaux en deux sous-groupes : les animaux présentant des dyskinésies et les animaux non-dyskinétiques. Ainsi, il a été mis en évidence que le traitement à la L-DOPA permet de restaurer une plasticité synaptique normale après un protocole de SHF mais cependant, ne permet pas d'inverser le processus (dépotentialisation) après l'application d'un protocole de stimulation basse fréquence chez les individus dyskinétiques (Picconi et al., 2003). Cette étude est également corroborée par les résultats d'une étude clinique démontrant, grâce par stimulation magnétique transcrânienne et stimulation du nerf médian chez des patients parkinsoniens, qu'une plasticité aberrante du cortex moteur est restaurée par la L-DOPA uniquement en l'absence de dyskinésies (Morgante et al., 2006). De plus, certaines études se sont également intéressées à la distinction entre neurones striato-nigraux et striato-pallidaux respectivement associés à la voie directe D1 et indirecte D2, mettant en évidence un impact différentiel de leur protocole de SHF après lésion à la 6-OHDA : les neurones striatopallidaux ne sont pas impactés (Belujon et al., 2010). Dans notre étude, l'intégralité des neurones striataux que nous avons enregistrés répondent de la même manière après SHF de l'OFC. Nous extrapolons donc que les NEM du DMS, qu'importe leur appartenance à la voie directe ou indirecte, suivraient le même schéma de réponse après une SHF de l'OFC, c'est-à-dire une PLT, et auraient le même type de réponse après dénervation nigrostriatale et/ou traitement au pramipexole c'est-à-dire un changement de réponse en faveur d'une DLT. Il pourrait s'avérer intéressant de tout de même discriminer les neurones striato-pallidaux des striato-nigraux en couplant une identification électrophysiologique, par

exemple par stimulation antidromique de la SNr, à une identification neuro-anatomique par détection immunohistochimique post-mortem du neurone enregistré et préalablement marqué à la neurobiotine. Des travaux antérieurs étudiant la réponse de neurones striataux sur coupes de cerveaux issus d'animaux WT ou KO pour le RcD1 ont permis de mettre en évidence l'implication des RcD1 dans le phénomène de PLT (Centonze et al., 2003). Nous résultats quant à eux suggèrent que la stimulation chronique des RcD3, après lésion nigrostriatale ou non, est impliquée dans le phénomène de DLT.

Les fonctions exécutives sont dépendantes de circuits frontostriataux intacts et nécessitent l'intégration correcte d'informations en provenance des aires corticales notamment de l'OFC tandis que le développement de TCI peut être lié à une connectivité corticostriatale aberrante (Carriere et al., 2015). Notre étude électrophysiologique a mis en évidence des déficits dans la boucle associative médiée par une diminution de l'efficacité synaptique après la lésion nigrostriatale, le traitement au pramipexole ou le cumul des deux. Cette étude reste à approfondir. Il serait intéressant de réussir à coupler cette approche électrophysiologique avec une approche comportementale permettant de ségréger les animaux présentant des TCI et n'en présentant pas. Le développement d'un modèle de TCI permettant une division en ces deux sous-groupes comme le développement de dyskinésies L-DOPA induite le permet (Calabresi et al., 2015) reste encore crucial dans une étude comme celle-ci.

CONCLUSIONS

ET PERSPECTIVES

Nos travaux de recherche ont permis d'étayer les connaissances sur la physiopathologie des effets secondaires non-moteurs des traitements antiparkinsoniens dispensés en clinique en nous basant sur l'effet du pramipexole dans un modèle animal de dégénérescence dopaminergique nigrostriatale induite par surexpression d'alpha-synucléine. Effectivement, nous avons mis en évidence une variabilité interindividuelle de déficits dans une tâche de flexibilité cognitive après la lésion nigrostriatale et le traitement chronique au pramipexole permettant de révéler que le niveau de dysfonctions exécutives dans cet exercice reposait notamment sur les performances prémorbides et que le cortex orbitofrontal était impliqué. Ce genre de travaux permet tout d'abord de mieux comprendre les caractéristiques sous-jacentes au développement de TCI mais également d'argumenter en faveur d'une approche plus personnalisée des traitements proposés aux patients en nous basant sur leurs performances individuelles. Cependant, cette approche personnalisée nécessiterait l'évaluation des patients sur un panel de tests cognitifs permettant la réalisation d'un « phénotypage » individuel, ce qui reste difficile à mettre en place couramment en clinique.

De plus, nous avons voulu modéliser le développement des TCI à l'aide de l'évaluation de différents comportements, naturel ou opérant. Cependant, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence un comportement spontané impacté par la lésion nigrostriatale avec des déficits aggravés par le pramipexole. Les variations et dysfonctions comportementales se sont révélées par le biais d'exercices opérants. Les comportements opérants font appels à des fonctions exécutives complexes et mettent en jeu des dimensions d'apprentissage et de prises de décisions qui ne se révèlent pas être le meilleur moyen de modéliser les TCI qui eux, font appels principalement à des comportements spontanés et quotidiens des patients. Dans ce cadre, nous allons nous intéresser à la mise en place d'un test de « binge-eating » (Corwin and

Wojnicki, 2006) soit de prise compulsive de nourriture dans notre modèle animal de lésion de la SNc et de traitement au pramipexole. Ce comportement a déjà été étudié, dans un modèle de lésion toxique à la 6-OHDA, traité à la L-DOPA afin d'étudier en parallèle l'impact sur la plasticité des NEM du STR ventral (Mineo et al., 2019). D'autres comportements spontanés pourraient être évalués telle que l'hypersexualité mais cette modélisation requiert l'utilisation d'un paradigme d'aversion conditionnée, la nécessité d'avoir des femelles ovariectomisées (Kuiper et al., 2017) ainsi qu'une une analyse importante et fastidieuse, bien que cette expérimentation présente un intérêt non négligeable. Certains travaux antérieurs démontraient également des dysfonctions exécutives comme de l'impulsivité (avec le « 5-choice serial reaction time task », mesurant l'impulsivité motrice et la compulsivité ou le « fixed consecutive number »), de la prise de risque ou du jeu pathologique en corrélation avec des études cliniques d'imagerie démontrant une augmentation de l'activation des RcD2 dans le STR ventral, une diminution du taux de DAT striatal et une altération de la connectivité corticostriatale chez les patients parkinsoniens ayant développé des TCI (Augustine et al., 2021).

Nous avons également étudié les dysfonctions synaptiques dans la boucle associative connue pour être le support des fonctions exécutives et du développement des TCI : la voie OFC/DMS. Ces travaux ont permis de mettre en évidence une plasticité synaptique aberrante après lésion nigrostriatale. De plus, le traitement au pramipexole ne corrige pas ce déficit. Cependant, ces travaux méritent d'être approfondis et couplés avec le développement d'un modèle animal mimant les TCI de façon à étudier la ségrégation des réponses comme elles le sont dans la boucle motrice avec la modélisation des dyskinésies L-DOPA induites.

Nos résultats de marquage immunohistochimique du gène de réponse précoce c-fos démontrent une altération de l'engagement de l'OFC après la lésion dopaminergique nigrostriatale et le traitement chronique au PPX. De plus, d'autres résultats - obtenus dans le cadre d'une thèse ayant débuté en Octobre 2021 et dirigée par le Dr Benoit-Marand - démontrent une corrélation entre l'activité de l'OFC et le niveau de flexibilité chez des rats contrôles enregistrés en électrophysiologie *in vivo*. L'ensemble de ces résultats nous conduit à étayer mes expérimentations de thèse et à évaluer l'activité des neurones de l'OFC afin de déterminer comment la lésion et/ou le traitement chronique au PPX impactent l'activité neuronale de cette structure clé dans la physiopathologie des TCI.

En continuité, nous avons également mis en place une manipulation chimiogénétique des neurones de l'OFC. Effectivement, d'après nos résultats comportementaux et histologiques suivant l'expérimentation de flexibilité cognitive, nous avons supposé que l'inhibition des neurones de l'OFC pourrait conduire à une dégradation des performances des animaux flexibles et que leur activation pourrait améliorer les performances des animaux inflexibles dans l'exercice de « set-shifting ». Nous avons donc utilisé la technique de DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) activés par le CNO (Clozpine-N-oxide). Les animaux ont été injectés avec le vecteur viral permettant l'expression de DREADD inhibiteurs dans les neurones de l'OFC, après l'étude de leurs performances de flexibilité cognitive permettant leur ségrégation en animaux flexibles, intermédiaires et inflexibles. Ainsi, après une injection de CNO (Clozapine N-Oxide), les neurones exprimant le DREADD inhibiteur devraient être inhibés et les animaux flexibles devraient présenter une détérioration de leurs performances (test de « set-shifting » réalisé 4 semaines après l'expression des DREADD dans

l'OFC et 1 heure post-injection de CNO). Les premiers tests comportementaux sont en cours de réalisation et d'analyse.

Une autre perspective à ces projets serait d'étudier les adaptations moléculaires et les mécanismes post-synaptiques liés à la dénervation nigrostriatale et au traitement au PPX, possiblement responsables des déficits de plasticité synaptique dans la boucle associative. Cette plasticité est dépendante des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et de leur composition en sous-unités NR2A et NR2B qui est altérée par la dénervation dopaminergique et par les traitements dopaminergiques (Paillé et al., 2010). Elle est également liée à la transmission cholinergique par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques M4 dont l'expression est diminuée après une dénervation dopaminergique (Shen et al., 2015). De plus, les études sur la boucle motrice ont révélé certaines adaptations dans le cadre des dyskinésies, notamment l'augmentation de l'expression de récepteurs dans le STR dorsolatéral comme le RcD2 (Qin et al., 1994), RcD3 (Bézard et al., 2003), le récepteur adrénergique A2A (Calon et al., 2004; Morissette et al., 2006) et glutamatergique mGluR5 (García-Montes et al., 2019; Ouattara et al., 2010). Dans le cadre de notre étude, le PPX est connu pour moduler l'expression de certaines de ces cibles. Effectivement, l'expression des RcD2 et D3 serait augmentée dans le STR chez les animaux non dénervés (Tokunaga et al., 2012) tandis que celle du récepteur mGluR5 le serait après lésion dopaminergique et traitement associé (Loiodice et al., 2017). Toutes ces modifications pourraient être à l'origine, ou du moins jouer un rôle, dans le développement des TCI. Ces travaux sont donc importants pour modéliser les différents aspects du développement des TCI, enrichir nos connaissances sur leur physiopathologie et comprendre les modifications post-synaptiques qui pourraient leur être associées.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Revue Decourt et al., 2021

Neuropsychiatric and cognitive deficits in Parkinson's disease and their modeling in rodents

biomedicines

MDPI

Review

Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Parkinson's Disease and Their Modeling in Rodents

Mélina Decourt, Haritz Jiménez-Urbieta, Marianne Benoit-Marand and Pierre-Olivier Fernagut *

Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université de Poitiers, INSERM U1084, 86000 Poitiers, France;
melina.decourt@univ-poitiers.fr (M.D.); haritz.jimenez@univ-poitiers.fr (H.J.-U.);
marianne.benoit.marand@univ-poitiers.fr (M.B.-M.)
* Correspondence: pierre.olivier.fernagut@univ-poitiers.fr

Abstract: Parkinson's disease (PD) is associated with a large burden of non-motor symptoms including olfactory and autonomic dysfunction, as well as neuropsychiatric (depression, anxiety, apathy) and cognitive disorders (executive dysfunctions, memory and learning impairments). Some of these non-motor symptoms may precede the onset of motor symptoms by several years, and they significantly worsen during the course of the disease. The lack of systematic improvement of these non-motor features by dopamine replacement therapy underlines their multifactorial origin, with an involvement of monoaminergic and cholinergic systems, as well as alpha-synuclein pathology in frontal and limbic cortical circuits. Here we describe mood and neuropsychiatric disorders in PD and review their occurrence in rodent models of PD. Altogether, toxin-based rodent models of PD indicate a significant but non-exclusive contribution of mesencephalic dopaminergic loss in anxiety, apathy, and depressive-like behaviors, as well as in learning and memory deficits. Gene-based models display significant deficits in learning and memory, as well as executive functions, highlighting the contribution of alpha-synuclein pathology to these non-motor deficits. Collectively, neuropsychiatric and cognitive deficits are recapitulated to some extent in rodent models, providing partial but nevertheless useful options to understand the pathophysiology of non-motor symptoms and develop therapeutic options for these debilitating symptoms of PD.

Keywords: Parkinson's disease; non-motor symptoms; rodent models

Citation: Decourt, M.; Jiménez-Urbieta, H.; Benoit-Marand, M.; Fernagut, P.-O. Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Parkinson's Disease and Their Modelling in Rodents. *Biomedicines* **2021**, *9*, 684. https://doi.org/10.3390/biomedicines9060684

Academic Editor: Marc Ekker

Received: 19 May 2021
Accepted: 9 June 2021
Published: 17 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Parkinson's disease (PD), one of the most frequent neurodegenerative diseases, is not only characterized by motor symptoms including akinesia, bradykinesia, tremor, rigidity, and postural instability, but also by several debilitating non-motor symptoms (NMS) that may precede motor dysfunctions by several years. This prodromal phase may last 20 years or more [1] depending on clinical considerations. During this period and the development of PD, various NMS, often misdiagnosed, occur such as olfactory dysfunction (hyposmia, anosmia), gastro-intestinal disorders (constipation), sleep disorders, neuropsychiatric disorders (depression, anxiety and apathy) and cognitive dysfunction (executive dysfunctions, memory and learning impairments) [2,3]. These NMS arise in up to 90% of patients and cause a significant loss of quality of life [4]. The causes of NMS are multifactorial and poorly known. They are not restricted to the degeneration of dopaminergic neurons but are also related to alpha-synuclein aggregation and propagation, and to pathological changes affecting the olfactory bulb, locus coeruleus, raphe nuclei, amygdala, basal nucleus of Meynert (NBM) or limbic and cortical structures [5,6].

In this review, neuropsychiatric and cognitive dysfunctions are covered. A comprehensive review of other NMS such as sleep disturbances, gastro-intestinal disorders and

olfactory dysfunction can be found in the review by Chesselet et al. in the same issue of Biomedicines.

2. Overview of Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in PD

2.1. Neuropsychiatric Disorders

2.1.1. Depression

Depression is a common neuropsychiatric disorder of PD. The diagnosis is based on standard criteria [7], reported in the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM V). These criteria include depressed mood, decreased feelings of pleasure, loss or gain in appetite, insomnia or hypersomnia, psychomotor agitation or retardation, loss of energy, excessive or inappropriate guilt, decreased ability to think or concentrate and recurrent thoughts of death [8]. Different types and severity of depression disorders are seen in PD patients such as minor depression (patients presenting at least two of the nine criteria), major depression (patients presenting five to nine criteria) or persistent depressive disorder (major depressive disorder lasting for at least two years). Moreover, depression can precede motor symptoms [9] appearing more commonly in PD patients five years before the onset of motor symptoms than in age-matched controls [10]. Up to 70% of patients could develop depression, depending on the criteria used [7,11] (Figure 1).

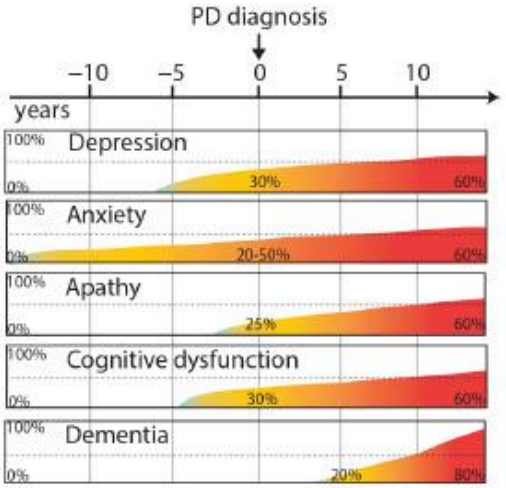


Figure 1. Overview neuropsychiatric and cognitive symptoms in PD, illustrating their approximate progression and temporal relationships with the onset of motor symptoms.

Depression may appear especially because of a dysfunction in the noradrenergic and serotoninergic innervation of locus coeruleus and raphe nuclei early in the disease process. These regions are affected during stage 2 of the Braak staging that defines the progression of alpha-synuclein pathology throughout the course of the disease [5,12]. Furthermore, loss of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area can be associated with depression in PD patients [13]. Other hypotheses involve stress hormones, inflammation and neurotrophic factors in the development of depression [14,15].

A large part of depressive PD patients are not recognized and/or treated. The benefits of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) such as sertraline, citalopram or paroxetine in depressive PD patients are not always optimum [16]. Moreover, non-ergot dopamine agonist like pramipexole (PPX), rotigotine and ropinirole seem to have an antidepressant effect unlike the ergot-derived pergolide [17,18]. In the DoPaMiP study, a French cross-sectional study, the anti-depressant effect of monoamine oxidase B inhibitor (IMAO-B) was evidenced [19].

2.1.2. Anxiety

In a majority of patients, anxiety and depression coexist [20]. Anxiety disorders are characterized mainly by panic attacks, social phobias (such as agoraphobia) or general anxiety disorder. Anxiety is one of the main causes of insomnia in PD patients. Anxiety significantly affects the daily activities of PD patients and is often considered as disabling as the motor symptoms. The clinical diagnosis is based on DSM V criteria [8], specific for each anxiety-related disorder, and completed by the Mini-Mental State Exam (MMSE). Few studies have used the Crown-Crisp Index, a specific test for phobic anxiety [21]. Some studies have focused on the link between anxiety and the subsequent risk of developing PD. Recent results suggest a greater prevalence of PD in the anxious population, independent of depression [10,21]. Several studies have shown that after diagnosis, 29% to 50% of PD patients present anxiety disorder and 20% of them present at least two anxiety diagnoses [10,22]. Like depression, anxiety disorders may manifest before the onset of motor symptoms [10] (Figure 1). Anxiety is more frequent in women, in patients with younger age and a modest positive correlation with PD severity can be observed (longer disease duration, motor complications) [7].

Like depressive symptoms, anxiety behaviors occur concomitantly with Lewy bodies (LB) deposition in noradrenergic and serotoninergic neurons, that are affected in the early stages of PD [5]. A recent review highlights that functional neuroimaging studies reveal that anxiety is associated with changes in limbic cortico-striato-thalomocortical circuits that are significantly affected by the disease process, accounting for a high prevalence of anxiety in PD patients [23].

Several studies have investigated the effects of pharmacological treatments of PD on anxiety-related disorders. A prospective multicenter study demonstrated that anxiety is improved after 6 months of ropinirole treatment in PD patients with motor fluctuations or dyskinesias, probably by the stimulation of D3 receptors on the mesolimbic pathway [24]. SSRI may improve anxiety disorders [25]. In contrast, the DoPaMiP study did not show a correlation between intake of any antiparkinsonian medication (Levodopa (L-DOPA), dopaminergic agonists or IMAO-B) and the presence of anxiety-related disorders [19]. In fact, depression-related anxiety can be improved by dopaminergic treatments although anxiety can remain an underlying disorder, independent of dopaminergic state.

2.1.3. Apathy

Since several years, apathy has been defined as a distinct NMS of PD, that can occur independently of depression [26]. Apathy disorder can be estimated with the MMSE and the Dimensional Apathy Scale (DAS). These tools allow one to assess three different types of apathy: executive apathy (a lack of motivation for organization, attention and planification), emotional apathy (a lack of emotional motivation, indifference or emotional neutrality), and initiation apathy (a lack of initiation of thoughts or behaviors) [27]. PD patients are significantly impaired in executive and initiation apathy compared with age-matched controls [28]. Although apathy is a frequent NMS of PD, the prevalence and pathological basis are not really known and debated. At the early stages of PD, apathy occurs in 20% of patients [4] increasing to 40% after a few years of disease progression [29] and up to 60% when patients become demented [30] (Figure 1). PD patients without dementia and with apathy present a greater motor symptomatology than PD patients without apathy symptoms [31]. Moreover, this study highlighted that apathy in PD is correlated with lower education, executive dysfunctions, and depression. Taking into account the different types of apathy, several brain structures can be involved in the lack of motivation and emotions such as the prefrontal cortex, the antero-cingular cortex, the amygdala, the ventral striatum and the hypothalamus [32,33]. Clinical data suggest an improvement of apathy by the dopaminergic stimulation of D2/D3 receptors [34]. Positive effects of pramipexole and rotigotine are shown in the motivational items but using non-specific

scales for apathy [18,35]. Moreover, for patients with L-DOPA treatment, apathy is reversed in the on-state compared with the off-state [36].

2.2. Cognitive Dysfunction

Deficits in working memory, cognitive flexibility, learning, planning, inhibitory control and attentional abilities are often described at early stages of PD, similar to patients with frontal lobe injury [37]. These symptoms are associated with alterations of dopaminergic and cholinergic systems [38]. Moreover, cognitive performances like working memory or flexibility are highly dependent on dopaminergic circuits and dopamine levels in the prefrontal area [39]. Clinical studies based on functional imaging revealed that attention and executive dysfunctions in PD are linked with changes in frontostriatal circuits [40]. Around 30% of PD patients present mild cognitive impairment at the moment of diagnosis, increasing with the progression of the disease [41]. 30% of PD patients also display social cognition impairments early in the course of the disease, as characterized by an impaired ability to perceive other people's emotions, as well as impaired theory of mind, as characterized by the inability to infer the mental states, beliefs or desires of other people [42,43].

2.2.1. Working Memory and Attention

Short-term memory refers to the information processed by the individual in a short period of time and includes working memory, which is the ability to manipulate or work with an information stored briefly. Importantly, working memory is closely related to attention and are thus considered together as a specific cognitive domain in neuropsychology [44].

Attention deficit is a common feature observed in PD patients from the very early stage of the disease, as measured by tests that are sensitive to dysfunction in executive control [45] or tasks that measure orienting of auditory and visual cues [46].

Notably, dopamine signaling in the prefrontal cortex influences executive function [47] through strong functional connections with the striatum (STR) via parallel dopamine-dependent cortico-striatal loops [48]. Thus, first subtle attentional performance deficits in PD patients without any clinically relevant cognitive impairment could be caused by altered dopaminergic tone within associative circuits innervating the prefrontal cortex [49]. Similarly, visuospatial working memory impairments can be found in recently diagnosed and untreated PD patients without any other remarkable cognitive impairment, which can be attributable to a disturbance of strategic processes and decreased attentional performance caused by striatal dopaminergic depletion and subsequent striato-frontal dysfunction [50]. Indeed, executive function/working memory and global cognition disturbances can even precede the emergence of motor signs in subjects at risk of developing PD later in age [51]. Importantly, executive dysfunction seems to be improved by treatment with dopaminergic agents [52]. However, other aspects of attention control such as reversal-learning seem to be impaired with the treatment, which points out the importance of a proper dopaminergic tone in the prefrontal cortex for adequate behaviorbehavioral control [47].

Voluntary attentional shift control depends upon the so-called "top-down" signals arising from fronto-parietal network comprising prefrontal as well as posterior parietal cortices [53]. Functional imaging studies showed that there is an activation of the fronto-parietal network in non-demented Parkinson's patients when they perform attentional shifting tasks, but this activation seems weaker than in control subjects probably due to a reduced connectivity within prefrontal cortical regions [54]. Interestingly, a study co-registering MRI and FDG-PET scans found that cognitive decline in PD is closely correlated with a progressive pattern of overall dysfunction in frontal and parietal cortices [55]. In PD patients with mild cognitive impairment (MCI), there was also a substantial hypometabolism in regions of that later become atrophied in PD patients with dementia [55]. Although the mechanisms leading to the dysfunction of different cortical areas of PD patients

are probably diverse, the progression of Lewy pathology from the brainstem to upper structures following advanced Braak stages [56] could play a key role.

On the other hand, "bottom-up" automatic orienting of attention seems to be mediated by cholinergic projections from the NBM to the cortex. Thus, the activation of this nucleus increases the attentional significance of the environmental stimuli and facilitates their detection by posterior regions of the fronto-parietal network [57]. Besides, NBM activity is in turn partly modulated by direct inputs coming from the prefrontal cortex, so it can be inferred that NBM is an essential control center for a proper bottom-up as well as top-down attentional performance [57,58].

Importantly, the NBM undergoes progressive degeneration in PD, from a modest 30% of cell loss observed in non-demented PD patients up to 70% degeneration observed in patients with dementia [58]. Therefore, this progressive degeneration directly influences the overall cortical cholinergic innervation in PD, inducing an attenuation of cortical signal processing [59]. In this regard, studies using the acetylcholinesterase inhibitor, Rivastigmine, have shown an improvement of orienting of attention, vigilance and cognitive fluctuation, with patients showing greater attentional deficits benefiting most from the treatment [60]. In addition, other neurotransmitter systems that suffer partial degeneration throughout the disease could also be implicated in the attentional dysfunction observed in PD patients, such as the ascending noradrenergic network arising from the Locus coeruleus [61].

2.2.2. Long-Term Memory and Learning

Memory is a behaviorbehavioral construct that invokes all the cognitive processes implicated in the encoding, storage and retrieval of information, and depends on several systems served by different brain structures. Overall, memory can be classified into two main subtypes, short-term memory (including working memory, as discussed above) and long-term memory. Importantly, a proper processing of memory depends upon the ability of a person to orient attention to a stimulus (to allow encoding), and upon the use of executive function to allow the retrieval of a stored information in a particular context. Thus, multiple behaviorbehavioral deficits, such as the attentional deficit itself, drive the memory impairment typically associated with PD [62].

In PD, memory impairment usually refers to long-term memory impairment. Thus, long-term memory includes declarative or conscious memory and non-declarative/unconscious memories. The first is formed by episodic memory (register for self-notions that occur during life such as facts, moments or concepts) and emotional memory (register for emotionally tagged information) [63]. Non-declarative memory, in contrast, includes implicit memory abilities such as procedural learning and thus, motor skill and habit formation [64]. Importantly, these subtypes of memories are driven by different brain regions and are thus differently affected during the progression of the disease: Declarative memory is mainly driven by amygdala and the temporal lobe of the brain, while the non-declarative memory is mostly processed by frontal cortical areas, basal ganglia and cerebellum [63,64].

Declarative Episodic Memory

Memory seems to be the most commonly impaired cognitive domain at baseline in PD [65]. However, memory deficits in PD patients without dementia are substantially improved after cueing [66]. Thus, this may indicate that these subjects have intact ability to store the information in long term memory, but that there is an impairment in the process of accessing to this stored information. This failure of evocation rather than failure of storage is known as "retrieval failure hypothesis". However, one study specifically assessing learning abilities in non-demented PD subjects has demonstrated that these subjects indeed display impaired ability to acquire new information [67]. Therefore, in addition to a role for executive dysfunction and decreased attentional performance [62], declarative

memory dysfunction reported in the first stages of the disease could be driven by difficulties in the processing of explicit learning. In this regard, the lack of controlling for initial learning in the majority of studies addressing long-term memory performance in non-demented PD patients could directly affect the observed outcomes. This fact should be further addressed in future studies.

However, cross-sectional studies and meta-analyses have demonstrated that recognition memory is affected even with the use of cues in PD patients with dementia [68] suggesting specific long-term storage deficits in PD in at least later stages. In this context, hypoactivation of different regions of the temporal lobe can be detected in PD patients in the first stages, even in an absence of any clinically relevant mnemonic deficits [69]. Moreover, hippocampal CA1-stratum pyramidale (SP) subfield thickness predicts declarative memory impairment in PD after controlling for confounding clinical measures [70], although other studies point towards a main contribution of subfields CA2-3 and subiculum of the hippocampus for episodic recollection [71]. The lack of consensus regarding the respective contribution of CA1 vs CA2-3 on episodic recollection deficits impedes one from extracting better conclusions, thus these outcomes warrant further investigation. Similarly, a meta-analysis of voxel-based morphometry studies have demonstrated that PD patients with dementia display decreased grey-matter volume in both the medial temporal lobe and basal ganglia, and that severity of dementia correlates with left medial temporal lobe atrophy [72]. Thus, despite subtle differences observed between the studies, specific dysfunction in the different regions encoding long-term declarative memory seems to play an important role in the deficits observed, particularly in advanced PD.

Regarding neurotransmitter systems, cholinergic projections arising from the NBM seem to be important in memory encoding, and therefore PD-associated degeneration of the NBM could directly impact not only the orienting of attention to an environmental stimulus but also the cortical connections necessary for a proper encoding of these stimulus into memory (for review see [58]). However, the effect of anticholinergic drugs such as rivastigmine improving some memory outcomes should probably be interpreted as an overall improvement of the general cognitive performance rather than as a specific memory-enhancing effect [73].

Declarative Emotional Memory and Reward-Learning

Reward-mediated or emotional learning is a process subserved by different brain regions of the limbic system. Reward-learning is a learning process directed by the association of rewards to previously neutral stimuli, making the decision-making process to evolve from goal-directed behavior (dependent almost exclusively on rewarded stimuli) to habit-directed behavior (more dependent on emotional experience) [74]. Importantly, the whole process is directed by cortico-basal ganglia networks and spiraling midbrain-STR-midbrain projections that allow the information to be propagated in a hierarchical manner within the STR (i.e., from "reward" related behavior encoded within the nucleus accumbens to "habit" mediated behavior encoded within the dorsal STR) [75]. In addition, the whole process is influenced by dopamine as well as cortical projections that exert a cognitive influence over this adaptive decision-making [76].

In PD patients, reward-mediated learning has been observed to be similar to controls [77,78]. However, a study specifically designed to analyze if the effect of reward on learning is distinct from the effect of corrective feedback (practice) has shown that PD patients displayed significantly less reward-related learning improvements compared to healthy controls [79], suggesting that reward processing is actually altered in PD. Since these results come from medicated PD patients, and given the pivotal role of dopamine in reward-learning, it is difficult to determine whether these outcomes are associated with the disease itself or are influenced by the treatment. In this regard, a recent study in PD patients without clinical cognitive impairment has shown that reward-learning under dopaminergic treatment is different upon the motor phenotype of PD patients. Thus, in non-tremor-dominant PD, dopaminergic medication improved reward-based choice. In contrast,

tremor-dominant PD patients appear to learn from punishment rather than making reward-based choices [80]. Importantly, since non-tremor dominant PD patients display dysfunctions in several cognitive domains at baseline compared with tremor-dominant PD patients [81]. Differences in reward-learning between these two cohorts of PD patients can be directly associated with overall cognitive performance, a hypothesis that should be addressed in future studies.

Non-Declarative Memory

It has been reported that long-term non-declarative memory is less affected in PD than declarative (episodic) memory [82] and that some aspects of implicit cognitive skill learning seems to be preserved in PD patients even in a context of apparent executive dysfunction or declarative memory impairment [83]. However, declarative memory has been much more extensively studied in PD in comparison to non-declarative memory, and studies specifically addressing non-declarative memory in PD have usually focused just on the learning process. Notably, PD patients, in contrast to control subjects, do not display a reduction in reaction/response time over sequential learning tasks [84]. Thus, striatal dopaminergic denervation, and subsequent dysfunction of cortico-basal ganglia pathways could be the main driving factor, as striatal denervation correlates with impaired procedural-learning [85] and dopamine replacement therapy improves motor learning in PD patients [86]. Particularly, the acquisition of a new motor sequence and its stabilization seems to be dependent of a proper cortico-basal ganglia pathways controlling the function of the motor cortex, which could be altered in PD. Supporting this idea, transcranial direct current stimulation of the motor cortex reverses aberrant oscillatory activity in this region, subsequently improving the dysfunctional motor learning [87].

2.3. Inhibitory Control

Inhibitory control is the cognitive operation involved in the ability to stop a mental process, with or without intention. This stopping can be understood as mental suppression of competing information because of limited cognitive capacity and includes both behavioral inhibition and cognitive inhibition, which have to be adequately handled in order to avoid the emergence of impulsive-compulsive behaviors [88]. Impulsivity can be defined as the tendency to act prematurely without foresight, and includes impulsive action or motor impulsivity (the inability to withhold or to stop a movement) and decision impulsivity, encompassing impulsive-choice (the inability to inhibit or defer affectively charged actions) and reflection impulsivity (the tendency to make a decision before gathering and evaluating enough information) [89].

Importantly, the mid to long-term use of dopaminergic drugs has been widely associated to the emergence of aberrant impulsive-compulsive behaviors in PD, including classic impulse control disorders (ICD), perseverative and repetitive behavioral disturbances such as punding or hobbyism as well as excessive dopaminergic drug intake or addiction, known as Dopamine dysregulation syndrome [90]. However, it remains to be elucidated which components of the behavioral constructs of impulsivity and/or compulsivity are most altered in patients with these disturbances. Besides, given the fact that dopaminergic agents are mandatory to control the motor signs of the disease, the study of impulsive-compulsive traits in untreated PD patients have been scarce. Therefore, it is not clear if pathological changes associated with PD could act as a risk factor for treatment-induced impulsive-compulsive behaviors in PD patients.

With regard to impulsive action, the lack of proper motor inhibitory control is a common finding in PD patients, presented as deficits on tasks that test cognitive control of behavioral responses such as Stop Signal Task (SST), Stop-Signal Reaction Task (SSRT), Go-NoGo task, Anti-saccade task and stroop tasks. These deficits are present both in ON and OFF dopaminergic medication. Interestingly, patients with ICD seem to be less susceptible to making impulsive responses than patients without ICD in motor action tasks,

suggesting that addictive behaviors in this subset of patients would not be related to increased impulsive action [91].

On the other hand, dopaminergic treatment seems to partly improve PD-associated response inhibition deficits when on medication in those subjects with shorter disease duration (see [92] for review), suggesting that the dopamine deficiency should underlie the response inhibition deficits in PD. However, other neurotransmitters such as noradrenaline do probably play an important role. For instance, atomoxetine, a noradrenaline reuptake inhibitor, improves response inhibition in subjects with PD, apparently by increasing connectivity of prefrontal circuits [93].

Regarding impulsive choice, untreated PD patients seem to have steeper delay discounting than healthy controls [94], an outcome that has been also observed in treated PD patients without clinically relevant ICD [95]. These results suggest that dopaminergic depletion by itself could cause an increment of this impulsive trait. In contrast, a more recent study did not find differences between PD patients and controls in temporal discounting, but reported that PD patients gathered significantly less information and made more irrational choices than matched controls in the beads task, suggestive of increased reflection impulsivity [96].

2.4. Behavioral Flexibility

Behavioral flexibility is defined as the capacity to adjust goal-directed behavior in response to changes in the environment [97]. The success of this process of adaptation is linked to others cognitive abilities, including decision-making, response selection or inhibition, working memory and attention. Different tests have been developed to study behavioral flexibility (reversal learning, set-shifting task) with the Wisconsin Card Sorting Test (WCST) or Stroop Test [98]. The behavioral flexibility abilities recruiting several neurobiological circuits, with the prefrontal cortex (PFC), STR and frontostriatal loops being mostly involved [99,100]. PD patients and cognitively impaired patients exhibit similar impairment in their performance compared to healthy controls [101]. Moreover, dopamine is known to be an important modulator in frontostriatal circuits and plays a crucial role in behavioral flexibility [99,102]. In the context of PD, changes of PFC activity have been demonstrated with or without striatal coactivation [100]. The study of behavioral flexibility in PD patients is a difficult challenge because the assessment of basal performances is very strenuous and one of the only ways to assess the performances without medication is to perform tests during the off-period. A cognitive flexibility disorder results mainly in perseverance in previously used strategies when an environmental change has been made and they are no longer effective and appropriate. In WCST, PD patients during off-period of medication display a higher error rate and more perseverative errors than healthy matched-control [103]. The results between the off-period and the on-period of medication did not differ significantly. However, Cools and colleagues have shown that L-DOPA improves inflexibility in PD patients but increases impulsivity [104]. Another study indicates that during a task requiring high flexibility performances, only PD patients with low flexibility performances improve under dopaminergic medication [102]. These results suggest that PD and medication have a differential impact on behavioral flexibility performances.

2.5. Dementia

Dementia is defined as a complex NMS, occurring when the neuropsychological profile of patients is impaired in several cognitive domains. The Movement Disorders Society based the diagnosis of dementia on: impairment in attention, executive, memory and visuospatial functions [105]. In particular, the alteration of memory is necessary for the diagnosis, and is linked with cognitive disturbances such as aphasia, apraxia, agnosia or disruption of executive functions [8]. Moreover, visual hallucinations are common in PD dementia (PDD).

This NMS evolves with the progression of the disease with a prevalence of 15–40% after 5 years, 50–70% after 10 years [106,107] (Figure 1) and impairing up to 83% of patients after 20 years [108]. The main risk factors for dementia are older age and more severe parkinsonism [109]. In addition, dementia is considered to be a worsening of mild cognitive impairment.

The pathophysiological basis for the dementia in PD patients is poorly understood but subcortical lesions may be underpinning dementia at later Braak stages [5]. Links between dementia and disruptions in dopaminergic, serotoninergic and cholinergic circuits have not been fully established although these neurotransmitters play a role in cognitive functions particularly with the involvement of the caudate nucleus, the thalamus and the prefrontal cortex [110].

Acetylcholinesterase inhibitors like rivastigmine, donepezil or galantamine, first developed for Alzheimer's disease, have modest but positive effects on cognition in PD [111,112]. Cholinergic projections from the NBM to cortical areas are affected in PD and acetylcholinesterase inhibitors resulting in an increased half-life of the remaining acetylcholine. Moreover, memantine, an N-methyl D-aspartate (NMDA) receptor antagonist, is well tolerated by PD patients and provides a modest improvement of cognitive deficits [113].

3. Overview of Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Rodent Models of PD

3.1. Rodent Models of Neuropsychiatric Disorders

3.1.1. Depression and Anxiety

Several studies have reported depression and anxiety-like behaviors in animal models of PD. Different tests have been used to assess depressive and anxiety-like behavior in rodents, including the forced swim test, tail suspension test, open-field test, light/dark transition task, and elevated plus maze (EPM).

These two neuropsychiatric disorders were also assessed in toxin-based models generated with 6-hydroxy dopamine (6-OHDA), 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), and paraquat. Indeed, after bilateral infusions of 6-OHDA into the dorsal STR or into the SNc, or after 28 days subcutaneous exposure to paraquat at a dose of 0.7 mg/day, EPM and forced swim test demonstrated depressive and anxiety-like behaviors [114,115]. Unilateral 6-OHDA injection in the medial forebrain bundle (MFB) led to anxiety-like behavior with a 96% loss of TH in the STR and 87% loss of neurons in the SNc [116]. In addition, increased immobility time in the tail suspension task was reported in this model [117]. This anxiogenic phenotype was reversed by 1.5 mg/kg of diazepam, mainly in the low anxiety hemiparkinsonian rats [116] and by 14 days treatment with etazolate at a dose of 1 mg/kg [117]. In the same model, the anxiety-like behavior was also present in the open-field test and EPM [118], and they were alleviated by hesperidine, which also reduced TH positive neurons loss [119]. In the context of partial lesion of the SNc by bilateral injection of 6-OHDA (loss of 48% of TH positive cells), no effects of L-DOPA were observed on the anxiety-like behavior induced by the lesion [120]. In addition, other results suggest that chronic L-DOPA treatment can promote an anxiogenic and depressive phenotype by increasing dopamine levels at the expense of serotoninergic levels leading to imbalance in the prefrontal cortex, the amygdala and the hippocampus [121]. In contrast, when the effects of dopaminergic agonists (SKF-38393, selective agonist D1; sumanirole, selective agonist D2R; PD-128907, preferring agonist D3R and PPX, a D3/D2 agonist) were tested, the results provided evidence that these drugs can reverse the anxiety-like behavior in 6-OHDA models, with a higher implication of D3 than D2 or D1 receptor activation [122–125].

Anxiety and depression-related behaviors are also found in mice receiving intraperitoneal MPTP or intracerebral MPP+. Accordingly, MPTP at a dose of 25 mg/kg twice a week for five weeks led to anxiogenic and depressive behaviors, as assessed by the open-field test and the tail suspension task, together with alpha-synuclein accumulation in

many brain areas [126]. The same results were found with the same behavioral tests in the MPP+ model by infusion at a dose of 1.8 μg, and were reversed by pre-treatment with agmatine at doses of 0.0001, 0.01 and 1 mg/kg [127,128]. However, 4 intraperitoneal injections of MPTP at a dose of 20 mg/kg (2 h interval) led to an increase of immobility in the tail suspension task but a lack of anxious behavior was reported in the light/dark transition task 30 days following MPTP injections [129].

It has been demonstrated that VMAT-2 mice-deficient model, with a progressive decrease of striatal dopamine levels associated with a decrease of dopaminergic neurons in the SNc and alpha-synuclein aggregation, also show anxiety-like and depressive age-dependent behaviors [130]. Time spent in EPM open arms was lower in VMAT-2 deficient-mice than wild type (WT) animals at the age of 6 months whereas mice did not display difference at the age of 12–15 months. At the age of 6 months, no difference was observed in VMAT-2 deficient mice and WT group in forced swim test and tail suspension test [130,131]. However, immobility times were higher in VMAT-2 deficient-mice than WT mice at the age of 12–15 months. In addition, desipramine, a tricyclic antidepressant, had positive effects on immobility times at a dose of 20 mg/kg in both genotypes and in VMAT-2 deficient mice at an acute dose of 5 mg/kg. A second study [132] tested mice at the age of 3–5 months and found no anxiety-like behaviors after open-field test and light/dark transition task. In contrast, VMAT-2 deficient mice presented an increase immobility in the forced swim and tail suspension tests, decreasing after imipramine injection at doses of 5 and 10 mg/kg and after 30 mg/kg of fluoxetine.

In the genetic model of parkin deficient mice, induced by deletion of exon 3, these mice did not show significant motor impairment in the rotarod test and open-field locomotor activity at the age of 6, 12, 15, 18 and 21 months [133]. Nevertheless, in light/dark transition task and in open-field with thigmotaxis behavior, parkin deficient mice displayed anxiety-like symptoms at 6 and 15 months. However, other studies did not report an anxiogenic profile in parkin deficient mice with the same behavioral tests but confirmed the absence of locomotor alterations [134,135].

Neuropsychiatric disorders develop in transgenic mice carrying hA53T mutation by the mouse prion promoter. Open-field testing demonstrated more time spent in the periphery of the open-field than heterozygous A53T mice and controls at the age of 3 and 6 months [136], allowing for the conclusion that this model displays anxiety-like behavior correlating with motor impairments and diminution of dopamine transporter (DAT) level in the STR. Moreover, during the tail suspension task, homozygous A53T mice spent more time in immobility than the other groups at the age of 6 months. In contrast, another study showed a reduced anxiety-like behavior in this model at the age of 12 months with the open-field test revealing an increase of time spent in the central area [137]. Several studies demonstrated similar results at the age of 12 months with open-field test and EPM [138,139]. Finally, old-age A53T transgenic mice show hypoanxiety-like behaviors albeit increased anxiety occurs at 2 months in the same animals. This phenomenon remains unexplained but may be due to age-related changes in DAT expression and serotonin transporter (SERT) trafficking. To end with genetic models of PD, BAC transgenic rats in which human wild-type α-synuclein was overexpressed display age-dependent accumulation of full-length and C-terminal truncated α-synuclein aggregates into insoluble fibers in the brain (particularly in the STR), along with early disturbances in novelty-seeking (indicative of increased anxiety) [140].

Viral-mediated strategies have also been used for modelling neuropsychiatric disorders in PD. Indeed, an injection of 3 μL of Adenoassociated viral vector (AAV)-6 expressing alpha-synuclein in the SNc led to forced swim test impairment from 3 weeks after surgery but not in EPM, associated with motor impairments [141]. The absence of hyperanxious-like behavior in the EPM behavioral test is also suggested by other studies using the AAV-2 alpha-synuclein model [114,142]. Moreover, a lack of depressive state in this model can be observed in the forced swim test, unlike in a previous study [114].

3.1.2. Apathy

In experimental models, apathetic behavior (or anhedonia) can be assessed with the sucrose preference test (SPT) with different protocols adapted from Willner's protocol [143] and by operant sucrose administration [124]. In SPT, some studies performed food and water deprivation before testing and the sucrose concentration is not always the same, which can affect the motivational process. To avoid a place preference in SPT, the two bottles (water and sucrose) are switched during trials. In the operant procedure, a 2% sucrose solution is proposed to rats in free-access during one week and then during 7 days of self-administration following by 2 days of progressive ratio task. With this protocol the motivational process is taken into account.

Regarding 6-OHDA models, bilateral infusions in the SNc did not induce an apathetic-like behavior in a SPT with 3% sucrose solution during 1 h exposure [114]. However, several studies demonstrated that bilateral infusions of 6-OHDA in the SNc led to a decreased sucrose preference, with two different concentrations (1% or 0.5%) [144,145]. In addition, bilateral infusions of 6-OHDA in the dorsal STR also led to a decrease of sucrose (0.5% and 0.8%) consumption [115], reversed by the small conductance calcium-activated K+ blocker apamin at a dose of 0.1 or 0.3 mg/kg [146]. These data suggest that a minimal reinstatement of dopaminergic activity by apamin improved the apathetic behavior. With this toxic model, another team has shown that unilateral injection of 6-OHDA in the MFB leads to a decrease of the intake of sucrose 3%. At the first week post-injection, this apathetic behavior is found for the doses of 12 and 16 µg of 6-OHDA and only for the doses of 16 µg at 3 weeks post-injection [147]. Moreover, this apathetic effect of 6-OHDA was reversed by L-DOPA oral treatment (25 mg/kg) and partially by intraperitoneal injection of bupropion (10 mg/kg) but not by paroxetine (10 mg/kg) [148]. In operant procedure, the sucrose deliveries decrease drastically after 6-OHDA infusions in the SNc. This deficit is only reversed by the preferential agonist D3R PD-128907 but not by sumanirole or the selective agonist D1R SKF-38393 [124]. The results suggest a differential implication of the dopaminergic D1, D2 and D3 receptors in the motivational impairments induced by 6-OHDA SNc lesion, and the D3R is believed to be an important mediator of these beneficial effects.

Apathy-related behavior was also assessed in the MPTP mouse model. Even though this model presents anxious and/or depressive-like behaviors, data suggested a lack of apathetic behavior as assessed with SCT. Indeed, several studies are along these lines: 4 intraperitoneal injections of MPTP at a dose of 20 mg/kg (2 h interval) had no effect 7 and 30 days after MPTP injections [129,149].

In 12 month-old VMAT-2 deficient mice, saccharin (0.1%) preference was decreased compared to WT, without depressive behavior estimated with the forced swim test that might be related to dopaminergic dysfunction [131]. Moreover, heterozygous (HET) VMAT-2 mice present a decreased sucrose preference for 1% and 1.5% sucrose concentration solution whereas any anxiety-like behavior was evidenced with light/dark transition task [132].

Moreover, apathy-like behavior was found after an injection of 3 µL of AAV-6 expressing alpha-synuclein in the SNc, with 2% sucrose preference test during 48 h [141]. On the contrary, other studies demonstrated a lack of anhedonia in this viral model with a SCT realized with 2% sucrose during five days or with 3% sucrose during 1 h, respectively [114,142]. The apathetic behavior can also be assessed in single cages with two drinking spouts (saccharin at different doses or water, counterbalanced every day). After a nigral lesion by AAV-2 expressing human A53T alpha-synuclein under the synapsin promoter, no reduction of saccharin preference was found. The dose-responses test showed that lesioned animals were able to discriminate between different doses of saccharin after AAV-2 injections [150].

Whereas the sucrose preference was reduced, the underlying phenomenon remains unclear and can result from a decrease in the sensitivity to rewarding properties of the

sucrose solution or be due to an extension of the lesion to other brain areas based on the Braak stages [5].

The different PD animal models showing neuropsychiatric disorders are summarized in Table 1.

Table 1. Overview of neuropsychiatric deficits in rodent models of PD. ↓ = decrease, − − = absence, +/− = presence or absence depending on studies, + + = presence, n.r. = non reported, mo = months.

Model	Pathophysiology	Depressive Symptoms	Anxiety	Apathy	Ref
Paraquat	↓ motor performance	+ +	+ +	n.r.	[113]
6-OHDA (Bilateral, STR)	↓ motor performance ↓ number of TH neurons (SNc) ↓ dopamine level in STR	+ +	+ +	+ +	[115,119, 146]
6-OHDA (Bilateral, SNc)	↓ TH + neurons in SNc	+ +	+ +	+ +	[120,144, 145]
6-OHDA (Unilateral, MFB)	96% loss of TH (STR); 87% loss of TH neurons (SNc)	+ +	+ +	+ +	[117,118, 147]
MPTP (bilateral, systemic administration)	Motor impairment & ↓ TH + neurons in SNc	+ +	+ +	− −	[126–129,149]
VMAT-2 deficient mice	↓ striatal dopamine level ↓ dopaminergic neurons of SNc alpha-synuclein agregation	+ + (12–15 mo) − − (12 mo)	− − (3–5 mo) + + (6 mo)	+ + (12 mo)	[130–132]
Parkin deficient mice (deletion of exon 3)	No significant motor impairments (6–21 months)	n.r.	+/− (6 and 15 mo)	n.r.	[133–135]
hA53T alpha-synuclein mice (mouse prion promoter)	Inclusions in several brain areas altered neuronal morphology, ↓ TH+ in SNc at 12 months	+ + (6 mo)	+ + (3 and 6 mo) − − (12 mo)	n.r.	[136–140]
BAC WT alpha-synuclein transgenic rats	Age-dependent accumulation of alpha-synuclein aggregates (mainly striatum)	n.r.	+ +	n.r.	[140]
AAV alpha-syn (SNc)	Progressive motor impairment, alpha-synuclein agregation, ↓ DA striatum and ↓ TH+ neurons in SNc	+/−	− −	− −	[114,141, 142,150]

3.2. Rodent Models of Cognitive Dysfunctions

Cognitive disturbances in animal models of PD have been more scarcely examined than, for example, motor deficits or treatment associated motor complications (dyskinesias). The fact that the subdivision of cognitive domains made in patients cannot be directly extrapolated in animals could have had an influence. At least two main factors have to be noted: first, animals do not process language in the same complex way as humans do, and thus this cognitive domain cannot be studied analogously. Second, the outcome of behavioral tasks that are used in animals typically require visual as well as motor performance, and therefore, results can be in part influenced by motor impairment. In any case, different animal models have shown some cognitive disturbances that cannot be solely attributed to motor impairment and are going to be summarized in the following sections and in Table 2.

3.2.1. Attention

In regard to 6-OHDA rodent models of PD, some attentional deficits that are caused by fronto-striatal dysfunction in PD patients can also be analogously found in these animals. Thus, in the runway test, food deprived animals have to walk through a corridor

that has food pellets in both sites. Interestingly, unilaterally lesioned rodents have shown a tendency towards ignoring the pellets in the corridor side contralateral to the lesion and to retrieve pellets from the side of the corridor ipsilateral to the lesion [151,152]. Analogous to this result, a study employing a lateralized choice task, where animals are required to respond to light stimulus presented in two adjacent ports to a central port, unilaterally lesioned rats within the MFB, displayed visuospatial neglect of the side opposite to the lesion [153]. These results may indicate specific deficits in attentional focusing for the lesioned hemisphere compared with the intact site.

On the other hand, rats with mild bilateral striatal dopaminergic depletion in the dorsolateral STR induced by 6-OHDA (60–80% loss of TH positive terminals) have shown no differences in comparison to control rats in the standard procedure of the 5-Choice Serial Reaction Time-Task (5-CSRTT). However, these rats displayed decreased accuracy and increased number of omissions when task conditions were manipulated to increase the attentional demand [154]. Similarly, another study has shown that after the development of the lesion, rats unilaterally lesioned in the MFB were not able to reach basal performance in a modified version of the 5-CSRTT. In addition, parkinsonian animals displayed impaired attention to stimuli both contralateral (20–30% accuracy) and ipsilateral to the lesion (60% accuracy), suggesting that deep unilateral dopamine depletion is sufficient to prompt a global selective and sustained attentional dysfunction. Interestingly, treatment with 10 mg/kg L-DOPA further impaired the performance, perhaps because it led to an increase of dopamine to a detrimental level in the intact hemisphere causing subsequent cortico-striatal network dysfunction [155].

Regarding other animal models, a recent study trying to obtain a rat model of PD and dopamine agonist induced impulsive behavior has shown that parkinsonian rats with partial bilateral nigrostriatal degeneration induced by human A53T α-synuclein over-expression within the SNc displayed a reduction of accuracy in the 5-Choice Serial Reaction time-task when compared to control rats or pre-parkinsonian status. In addition, chronic treatment with the dopaminergic agonist PPX worsened the attentional performance even more [156]. These results may reflect the clinical scenario where a loss of a proper dopaminergic tone caused by the disease within the prefrontal cortex or excessive input caused by dopaminergic treatment can both cause lack of an adequate behavioral control, thus impairing attentional performance.

3.2.2. Memory Impairment and Learning Deficits

In relation to memory impairment, the Morris water maze (MWM) test has been extensively used in animal models of neurodegenerative disorders to study visuospatial memory. This task consists of a circular arena that is filled with opaque water, which usually hides a platform, and several modifications can be made to analyze different types of memory/learning processes. Thus, in the "cued version" of the task, the platform is always visible, animals are then trained by cue-guiding to find it. After training, animals are tested and the time to reach the platform is considered as a measurement of cued-learning (procedural-learning). On the other hand, with the "spatial" more standard version of the task, the platform is maintained under water and animals progressively learn to find it using different cues placed around the pool as spatial references. Thus, the time until reaching the platform during training is considered as a measurement of the learning-process. During testing, the platform is usually removed from the pool and the time spent by the animals in the place where the platform was previously located is taken as a measurement of the solidity of the acquired memory. Importantly, the performance in these two variations of the task are dependent on the dorsal STR and hippocampus, respectively [157]. Besides, some variations of the spatial version can also be used to study working short-term memory (such as, for example, when testing is performed just after the training period within the task).

Thus, rats with unilateral SNc lesions have shown that both cued learning and memory are impaired, but that long-term spatial memory remains intact [115]. Similar

results were also found in mice with unilateral MPTP induced lesions in the SNc or systemic administration of MPTP [158]. In contrast to these results, animals with unilateral lesions in the MFB have shown decreased spatial memory performance in the open field hole board test that was reversed with L-DOPA [158]. In addition, a previous study using the MWM showed that rats with bilateral MFB lesion without remarkable changes in swimming performance with respect to controls displayed decreased learning and memory performance in both versions of the MWM [159]. Similarly, rats bilaterally lesioned with 6-OHDA and MPTP in the SNc displayed decreased performance in both working-memory and long-term memory variations of the MWM, with no significant differences in locomotor behavior [160].

Spatial memory performance has also been studied with other tasks. Thus, in the novel object recognition (NOR) test animals are trained for a certain period where they get familiarized to a given object. After training, animals are tested and given the tendency of rodents to be attracted by novelty, the time expend surrounding the new object or new location relative to the total time of object/location exploration during the test provides an idea of both novelty-seeking behavior and visuospatial memory, and changing the retention interval can be used to examine short-term or long-term memory [161]. Spatial mazes (such as T-Maze and Y-Maze) have also been classically used to analyze reference and working memory in rodents. There, alternative approaches are performed in order to analyze spontaneous and controlled alternation between the arms of the maze. Essentially, subjects are placed in the center and given their tendency to seek novelty, they tend to enter the arm visited less recently, and this behavior is measured.

Thus, rats bilaterally lesioned by intranigral injection of MPTP have shown impaired novelty discrimination during a short-delay test in the NOR, associated with a presence of cell loss in the hippocampal CA1 area [162]. Interestingly, rats with similar lesions also displayed working-memory dysfunction in the T-maze test. However, both working-memory and novelty discrimination as well as the CA1 cell loss were partly prevented by the chronic administration of the NMDA receptor antagonist MK-801, suggesting that these receptors could be involved in PD-related neuronal and behavioral dysfunction in PD [163]. Analogously, mice with systemic administration of MPTP showed progressive NOR impairment correlated with gradual impairment of long-term potentiation in the hippocampal CA1 area [164]. In contrast, mice with bilateral 6-OHDA lesions within the STR showed impaired long-term but not short-term recognition within the NOR test, which was not affected by the administration of the D2/D3 receptor agonist, PPX, but improved by L-DOPA or the D1 receptor agonist, SKF81297 [165].

Similarly, in a spatial object recognition test where changes are made in the location of objects rather than in objects themselves, mice injected with 6-OHDA in the STR were impaired in both the short- and the long-term object recognition, which seemed restored by the administration of a mGluR5 receptor selective antagonist. These results suggest that mGluR5 receptors could modulate dopamine release from the remaining nerve terminals, thus improving the associated acquisition and maintenance of spatial information [166]. In a version of the T maze where alternation of arms was controlled by food mediated reward, rats injected in the SNc with MPTP were shown to be able to learn and memorize the rewarded arm, but they failed to learn the new criteria when the rewarded arm changed [167]. Similarly, MPTP treated mice were not able to learn the criterion particularly when the duration of the delay between training and testing was variable, instead of fixed [168].

Other studies have also focused on analyzing the process of associative and emotional learning. For instance, rats bilaterally lesioned with MPTP in the SNc have shown impairments in the active avoidance task [169]. Within this task, subjects are trained to learn the presentation of a given cue with the subsequent occurrence of a negative event (such as a shock), which can be avoided by an action such as moving to a different place within the chamber. Thus, correct responses to the cue (measured as trials where escape is effectively performed) give an index of associative-learning.

Together these results suggest that toxin-based animal models of PD with unilateral nigrostriatal lesions usually suffer from fewer long-term memory deficits but might serve to study procedural learning deficits observed in PD patients, particularly at early stages. However, both unilateral lesions affecting SNc and VTA [158] and bilateral nigrostriatal denervation can simulate more advanced stages of the disease as well as simulate other clinical scenarios, such as impaired learning (including associative/emotional learning and procedural learning), impaired working memory and impaired long-term memory observed in patients.

Regarding transgenic rodent models of PD, although they represent an interesting tool to study different proteins and pathways implicated in PD pathophysiology, it has to be noted that, a large portion of them do not display clear motor dysfunction, and robust dopaminergic neuronal loss is seldom observed [170]. Several studies have been performed in transgenic models of PD as well, trying to analyze memory and learning. Thus, Thy1-aSyn transgenic mice (line 61), for example, display impairments in tests of novel object recognition (NOR), object–place recognition (spatial recognition), and operant reversal learning compared to age-mated wild-type littermates. Moreover, these deficits were noticeable before any marked dopaminergic cell loss in the SNc, but with remarkable deficits in the cholinergic cortical innervation [171]. Interestingly, this transgenic line also displays deficits in social cognition [172] Social cognition and NOR deficits in these mice were reversed by chronic nicotine administration [173]. Similarly, mice expressing human wild-type alpha-synuclein under the PDGF-β promoter also showed impaired MWM performance, which seems to be age-dependent and is reversed by immunotherapy or the mGLuR5 receptor antagonist MPEP (see [174] for review).

Other studies have also shown that mice over-expressing A30P mutated human alpha synuclein under the Thy1 promoter display age-dependent deficits in MWM, in 12 month-old but not in 4 month-old mice performing significantly worse than controls. Moreover, these older mice displayed widespread alpha-synucleinopathy in several brain regions critical for a proper cognitive control, such as the central nucleus of the amygdala [175]. Later, the same animal model was shown to have deficits in fear-conditioning as well [176]. Importantly, age-dependent development of cognitive impairment is a feature that is also present in other transgenic mice models of PD, such as the mice expressing human A53T alpha-synuclein under the mouse prion promoter, that develop deficits in the Y maze in 6 and 12 month old but not in 2 month old subjects [137]. Another study with the same model has also shown that these mice exhibited learning dysfunction in the MWM at 8 months of age, which is partly reversed by the treatment with the metal chelator Clioquinol [177]. Interestingly, cognitive impairment in this model of PD seems to be dependent on the presence of the protein Tau, since A53T mice lacking endogenous mouse tau expression do not display deficits in spatial learning and memory at 12 months [178].

The mouse model expressing Y39C mutant human alpha-synuclein under the Thy-1 promoter has also shown age-dependent accumulation of human alpha-synuclein oligomers in different areas of the brain, with older mice displaying cognitive impairment in the MWM and intracellular inclusions in neurons of different brain areas, particularly the cortex. However, and importantly, these mice did not show any significant loss of dopamine neurons in substantia nigra or dopamine nerve terminals in STR [179].

Since the effect of synuclein expression may vary depending on age, another study used transgenic mice conditionally expressing human wild-type alpha-synuclein in the midbrain and forebrain, and showed that these animals develop nigral and hippocampal neuropathology, including reduced neurogenesis and neurodegeneration in absence of fibrillary inclusions, which was in turn associated with memory impairment in the MWM and progressive motor decline [180].

Another study also demonstrated that MitoPark transgenic mice, which develop progressive neurodegeneration, loss of motor function and therapeutic response to L-DOPA, display reduced learning but intact long-term memory function when performing the

Barnes maze test, as well as reduced NOR compared to age-matched non-transgenic littermates. Importantly, these features were present before the onset of motor impairment [181]. Similar learning and memory deficits were also observed in the Barnes maze in mice over-expressing the human truncated (1–120) form of alpha synuclein at 9 months of age. These mice already displayed deficits in NOR from 3 month and onwards when compared to WT littermates, which seems like it is associated with synuclein aggregates in different brain regions such as the hippocampus and cortex [182].

Regarding experiments in transgenic rat models of PD, an experiment using bacterial artificial chromosome (BAC) transgenic rats over-expressing human leucin-rich repeat kinase 2 protein (LRRK2) with G2019S and R1441C mutations has shown that these rats display age-dependent deficits in spontaneous alternation test of spatial short-term memory in spite of a lack of any dopaminergic cell death in the SNc [183].

Finally, another study has reported that rats injected in the VTA with viral vectors for over-expression of human wild-type alpha synuclein display impaired spatial learning and memory deficits in the MWM without any obvious spontaneous locomotor impairment and with the presence of alpha-synuclein positive inclusions in the hippocampus, neocortex, nucleus accumbens and anteromedial STR [184].

3.2.3. Inhibitory Control

Animal models of PD represent an excellent tool to study inhibitory control deficits, and have been used in recent years in order to study PD-associated and dopaminergic treatment-associated changes in different impulsivity traits.

In relation to impulsive action, rats with bilateral parkinsonism induced by 6-OHDA injections in the SNc and VTA [185] or in the dorsolateral STR [156] do not display increased motor impulsivity in a variable delay-to-signal (VDS), a task that measures different components of impulsivity [186]. In contrast, rats with progressive parkinsonism induced by viral-vector mediated human A53T α-synuclein over-expression in the SNc have displayed increased motor and waiting impulsivity as measured by fixed consecutive number (FCN), differential reinforcement of low rate of responding (DRL) and 5-Choice Serial Reaction Time-Task (5CSRTT) [156,187]. Interestingly, the dopamine agonist PPX seemed to particularly increase impulsivity traits in those animals with higher pre-treatment impulsivity [156], suggesting that parkinsonism itself could act as a risk factor for treatment induced addictive behaviors in this model. Thus, although the impulsivity traits measured by different tasks in these studies may differ, these results may also indicate that the pattern and degree of striatal dopaminergic depletion could influence the increase of impulsive action, with α-synuclein models more prone to develop motor impulsivity after the dopaminergic lesion.

Regarding impulsive choice, rats with bilateral striatal denervation, induced by 6-OHDA, do not show any increment of delay-discounting [188] although another study with the same model of PD reported increased delay-discounting previously [189]. Although the lack of a control group within this last study makes it difficult to extract firm conclusions, the different reinforcers used in the two experiments could underlie this discrepancy (sucrose solution vs intracranial self-stimulation (ICSS) of amygdala, respectively). In this context, impulsive choice seems similar in rats lesioned in the dorsolateral STR with respect to control rats in a probabilistic discounting task that uses ICSS as a positive reinforcer [190]. Besides, and as happens with impulsive action, rats lesioned in the SNc and VTA or in dorsolateral STR with 6-OHDA do not display increased delay-intolerance with respect to control rats in the VDS task using food pellets as positive reinforcers [185,191].

Finally, although there are not studies specifically addressing compulsivity in PD patients, one study has reported that compulsive-like lever pressing as measured by post-signal training attenuation task is similar in rats lesioned by 6-OHDA injections in the SNc and VTA and controls, but that these rats, not the controls develop compulsive-like behavior after the administration of the dopamine agonist PPX [192]. Importantly, a more

recent study has revealed that rats with intact nigrostriatal system but not rats with unilateral parkinsonism induced by 6-OHDA injections in the MFB developed of compulsive binge-eating. However, L-DOPA treatment is able to reinstate the capacity of developing compulsive binge-eating in these rats [193].

3.2.4. Behavioral Flexibility

Deficits in behavioral flexibility were identified in rodent models of PD. Several tests were used to determinate these deficits as set-shifting task, reversal learning task or touch screen task in different protocols: operant procedure or mazes. Indeed, following bilateral 6-OHDA injections into the dorsomedial STR, lesioned rats displayed impairments during reversal learning but not in acquisition phases in a cross maze test [194]. However, in a touch screen task or a cross maze, unilateral or bilateral injections of 6-OHDA in the dorsolateral STR did not lead to deficits in behavioral flexibility although learning was impaired [195,196]. Another study has conducted an attentional set-shifting test (simple discrimination, reversal and extradimensional shift paradigms) in rats unilaterally lesioned in the MFB with 6-OHDA. The results have demonstrated an impairment in behavioral flexibility in both males and females, only in the simple discrimination with an increasing number of trials needed to complete the rule but not in reversal learning or extra-dimensional task with only an increase in time to complete these paradigms [197]. Moreover, a decrease of cognitive flexibility was demonstrated using a reversal learning task, but mice overexpressing human WT alpha-synuclein driven by the murine Thy-1 promoter (line 61) displayed impairments only in the reversed rule, not in the acquisition phase [171]. Another study used a genetic model of PD with a depletion of dopamine synthesis under control of Cre manipulation (conditional tyrosine hydroxylase knock-out mouse) without dopaminergic neuron loss [198,199]. This model resulted in a slight impairment in behavioral flexibility task (U-maze), similar to that of mice injected with 6-OHDA in the dorsal STR [199]. However, these two groups of mice were able to learn the rule of the task.

Table 2. Overview of cognitive deficits in rodent models of PD. +/− = presence or absence depending on studies, + + = presence, n.r. = non reported.

Model	Flexibility Deficits	Inhibitory Control Deficits	Attention Deficits	Learning Deficits	Short-Term Memory Impairment	Long-Term Memory Impairment	Ref
6-OHDA (Bilateral, STR)	+/−	Discrepancies	+ + (if attentional load increased)	n.r.	+ +	+ +	[154,156,165,188–191]
6-OHDA (Bilateral, SNc)	n.r	n.r.	n.r.	n.r.	+ +	+ +	[160]
6-OHDA (Bilateral, SNc + VTA)	n.r.	Intact	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	[185]
6-OHDA (Bilateral, MFB)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	+ +	+ +	[151,159]
6-OHDA (Unilateral, SNc)	n.r.	n.r.	n.r.	+ +	+ +	Intact	[115]
6-OHDA (Unilateral, MFB)	+ +	Reduced tendency to binge-eating	+ + (particularly ipsilateral to the lesion)	n.r.	n.r.	+ +	[153,155,158,193]
MPTP (bilateral, systemic administration)	n.r.	n.r.	n.r.	+ + (only for learning new rules)	+ +	Intact	[168]

MPTP (unilateral, SNc)	n.r.	n.r.	n.r.	++	++	Intact	[158]
MPTP (bilateral, SNc)	n.r.	n.r.	n.r.	++	++	++	[158,160,167,169]
hA53T alpha-synuclein mice (mouse prion promoter)	n.r.	n.r.	n.r.	++ (older mice)	n.r.	++ (older mice)	[137,177,178]
TH Knock-Out mice (Cre recombinase)	++	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	[198,199]
WT alpha-synuclein mice (mouse Thy-1 promoter) line 61	++	n.r.	n.r.	++	++	++	[171,173]
WT alpha-synuclein mice (PDGF-β promoter)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	++	[174]
A30P alpha-synuclein mice (mouse Thy-1 promoter)	n.r.	n.r.	n.r.	++ (older mice)	n.r.	++ (older mice)	[175,176]
Y39C alpha-synuclein mice (mouse Thy-1 promoter)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	++ (older mice)	[179]
WT alpha-synuclein mice (conditional expression in the midbrain and forebrain)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	++	[180]
Truncated 1-120 alpha-synuclein mice	n.r.	n.r.	n.r.	++	n.r.	++	[182]
MitoPark mice	n.r.	n.r.	n.r.	++	n.r.	++	[181]
BAC LRRK2 transgenic rats (G2019S and R1441C mutations)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	++	n.r.	[183]
BAC WT alpha-synuclein transgenic rats	n.r.	n.r.	n.r.	++	n.r.	n.r.	[140]
AAV alpha-syn (VTA)	n.r.	n.r.	n.r.	++	n.r.	++	[184]
AAV A53T alpha-syn (SNc)	n.r.	++	++	n.r.	n.r.	n.r.	[156,187]

3.2.5. Dementia

Because dementia is like complex NMS occurring when the neuropsychological profile of patients is markedly impaired in several cognitive domains, the animal models presenting several neuropsychiatric and cognitive impairments of considerable severity may be considered as a proxy for dementia. It is however challenging to really model dementia

in animals and the magnitude of neuropsychiatric and cognitive impairments observed in animal models remain very far from dementia occurring in advanced stages of PD.

4. Clinical Relevance and Future Directions

The wide spectrum of neuropsychiatric and cognitive NMS of PD, and their important contribution to the overall severity of the disease and decreased quality of life is of significant concern. If some of these NMS are partially responsive to dopamine replacement therapy, others remain untreated due to the lack of therapeutic options. Toxin-based models have been useful to highlight the significant contribution of dopamine to some extent and other monoamines in the pathophysiology of these non-motor features of PD, while gene-based models have offered the opportunity to explore the contribution of cortical and subcortical alpha-synuclein pathology in the etiology of these disorders. Even if rodent models of PD only partially recapitulate the spectrum of neuropsychiatric and cognitive non-motor deficits found in the human disease, they remain valuable to understand their pathophysiology and for the preclinical validation of therapeutic strategies against th pervasive and incapacitating features of PD.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors thank Marie-Françoise Chesselet for her useful comments and suggestions on the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Aarsland, D.; Andersen, K.; Larsen, J.P.; Lolk, A. Prevalence and Characteristics of Dementia in Parkinson Disease. *Arch. Neurol.* **2003**, *60*, 387–392, doi:10.1001/archneur.60.3.387.
2. Hely, M.A.; Morris, J.G.; Reid, W.G.; Trafficante, R. Sydney multicenter study of Parkinson's disease: Non- L -dopa–responsive problems dominate at 15 years. *Mov. Disord.* **2004**, *20*, 190–199, doi:10.1002/mds.20324.
3. Hely, M.A.; Reid, W.G.J.; Adena, M.A.; Halliday, G.M.; Morris, J.G.L. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: The inevitability of dementia at 20 years. *Mov. Disord.* **2008**, *23*, 837–844, doi:10.1002/mds.21956.
4. Levy, G.; Schupf, N.; Tang, M.-X.; Cote, L.J.; Louis, E.D.; Mejia, H.; Stern, Y.; Marder, K. Combined effect of age and severity on the risk of dementia in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* **2002**, *51*, 722–729, doi:10.1002/ana.10219.
5. Dubois, B.; Pillon, B. Cognitive deficits in Parkinson's disease. *J. Neurol.* **1996**, *244*, 2–8, doi:10.1007/pl00007725.
6. Aarsland, D. Donepezil for cognitive impairment in Parkinson's disease: A randomised controlled study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2002**, *72*, 708–712, doi:10.1136/jnnp.72.6.708.
7. Poewe, W.; Wolters, E.; Emre, M.; Onofrj, M.; Hsu, C.; Tekin, S.; Lane, R. Long-term benefits of rivastigmine in dementia associated with Parkinson's disease: An active treatment extension study. *Mov. Disord.* **2005**, *21*, 456–461, doi:10.1002/mds.20700.
8. Aarsland, D.; Ballard, C.; Walker, Z.; Bostrom, F.; Alves, G.; Kossakowski, K.; Leroi, I.; Pozo-Rodriguez, F.; Minthon, L.; Londos, E. Memantine in patients with Parkinson's disease dementia or dementia with Lewy bodies: A double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet Neurol.* **2009**, *8*, 613–618, doi:10.1016/s1474-4422(09)70146-2.
9. Campos, F.L.; Carvalho, M.M.; Cristóvão, A.; Eje, G.; Baltazar, G.; Salgado, A.J.; Kim, Y.-S.; Sousa, N. Rodent models of Parkinson's disease: Beyond the motor symptomatology. *Front. Behav. Neurosci.* **2013**, *7*, 175, doi:10.3389/fnbeh.2013.00175.
10. Tadaiesky, M.T.; Dombrowski, P.A.; Figueiredo, C.P.; Cargnin-Ferreira, E.; Da Cunha, C.; Takahashi, R.N. Emotional, cognitive and neurochemical alterations in a premotor stage model of Parkinson's disease. *Neuroscience* **2008**, *156*, 830–840, doi:10.1016/j.neuroscience.2008.08.035.
11. O'Connor, K.A.; Feustel, P.; Ramirez-Zamora, A.; Molho, E.; Pilitsis, J.G.; Shin, D.S. Investigation of diazepam efficacy on anxiety-like behavior in hemiparkinsonian rats. *Behav. Brain Res.* **2016**, *301*, 226–237, doi:10.1016/j.bbr.2015.12.045.
12. Alzoubi, K.H.; Mokhemer, E.; Abuirmeileh, A.N. Beneficial effect of etazolate on depression-like behavior and, learning, and memory impairment in a model of Parkinson's disease. *Behav. Brain Res.* **2018**, *350*, 109–115, doi:10.1016/j.bbr.2018.05.004.
13. Liu, K.-C.; Li, J.-Y.; Tan, H.-H.; Du, C.-X.; Xie, W.; Zhang, Y.-M.; Ma, W.-L.; Zhang, L. Serotonin6 receptors in the dorsal hippocampus regulate depressive-like behaviors in unilateral 6-hydroxydopamine-lesioned Parkinson's rats. *Neuropharmacology* **2015**, *95*, 290–298, doi:10.1016/j.neuropharm.2015.03.031.

14. Antunes, M.S.; Souza, L.C.; Ladd, F.V.L.; Ladd, A.A.B.L.; Moreira, A.L.; Bortolotto, V.C.; Silva, M.R.P.; Araújo, S.M.; Prigol, M.; Nogueira, C.W.; et al. Hesperidin Ameliorates Anxiety-Depressive-Like Behavior in 6-OHDA Model of Parkinson's Disease by Regulating Striatal Cytokine and Neurotrophic Factors Levels and Dopaminergic Innervation Loss in the Striatum of Mice. *Mol. Neurobiol.* **2020**, *57*, 3027–3041, doi:10.1007/s12035-020-01940-3.
15. Loiodice, S.; Young, H.W.; Rion, B.; Méot, B.; Montagne, P.; Denibaud, A.-S.; Viel, R.; La Rochelle, C.D. Implication of nigral dopaminergic lesion and repeated L-dopa exposure in neuropsychiatric symptoms of Parkinson's disease. *Behav. Brain Res.* **2019**, *360*, 120–127, doi:10.1016/j.bbr.2018.12.007.
16. Jaunarajs, K.L.E.; George, J.A.; Bishop, C. L-DOPA-induced dysregulation of extrastriatal dopamine and serotonin and affective symptoms in a bilateral rat model of Parkinson's disease. *Neurosci.* **2012**, *218*, 243–256, doi:10.1016/j.neuroscience.2012.05.052.
17. Berghauzen-Maciejewska, K.; Kuter, K.; Kolasiewicz, W.; Głowacka, U.; Dziubina, A.; Ossowska, K.; Wardas, J. Pramipexole but not imipramine or fluoxetine reverses the "depressive-like" behaviour in a rat model of preclinical stages of Parkinson's disease. *Behav. Brain Res.* **2014**, *271*, 343–353, doi:10.1016/j.bbr.2014.06.029.
18. Oliva, A.E.; Masini, D.; Efisone, G. A mouse model of non-motor symptoms in Parkinson's disease: Focus on pharmacological interventions targeting affective dysfunctions. *Front. Behav. Neurosci.* **2014**, *8*, 290, doi:10.3389/fnbeh.2014.00290.
19. Carnicella, S.; Drui, G.; Boulet, S.; Carcenac, C.; Favier, M.; Duran, T.; Savasta, M. Implication of dopamine D3 receptor activation in the reversion of Parkinson's disease-related motivational deficits. *Transl. Psychiatry* **2014**, *4*, e401, doi:10.1038/tp.2014.43.
20. Chiu, W.-H.; Depboylu, C.; Hermanns, G.; Maurer, L.; Windolph, A.; Oertel, W.; Ries, V.; Höglinger, G. Long-term treatment with l-DOPA or pramipexole affects adult neurogenesis and corresponding non-motor behavior in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacol.* **2015**, *95*, 367–376, doi:10.1016/j.neuropharm.2015.03.020.
21. Han, N.-R.; Kim, Y.-K.; Ahn, S.; Hwang, T.-Y.; Lee, H.; Park, H.-J. A Comprehensive Phenotype of Non-motor Impairments and Distribution of Alpha-Synuclein Deposition in Parkinsonism-Induced Mice by a Combination Injection of MPTP and Probenecid. *Front. Aging Neurosci.* **2021**, *12*, doi:10.3389/fnagi.2020.599045.
22. Cunha, M.P.; Pazini, F.L.; Lieberknecht, V.; Budni, J.; Oliveira-Giacomelli, Á.; Rosa, J.; Mancini, G.; Mazzardo, L.; Colla, A.R.; Leite, M.C.; et al. MPP+-Lesioned Mice: An Experimental Model of Motor, Emotional, Memory/Learning, and Striatal Neurochemical Dysfunctions. *Mol. Neurobiol.* **2017**, *54*, 6356–6377, doi:10.1007/s12035-016-0147-1.
23. Moretti, M.T.; Neis, V.B.; Matheus, F.C.; Cunha, M.P.; Rosa, P.B.; Ribeiro, C.M.; Rodrigues, A.L.S.; Prediger, R. Effects of Agmatine on Depressive-Like Behavior Induced by Intracerebroventricular Administration of 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP+). *Neurotox. Res.* **2015**, *28*, 222–231, doi:10.1007/s12640-015-9540-1.
24. Vučković, M.G.; Wood, R.I.; Holschneider, D.P.; Abernathy, A.; Togasaki, D.M.; Smith, A.; Petzinger, G.M.; Jakowec, M.W. Memory, mood, dopamine, and serotonin in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned mouse model of basal ganglia injury. *Neurobiol. Dis.* **2008**, *32*, 319–327, doi:10.1016/j.nbd.2008.07.015.
25. Taylor, T.N.; Caudle, W.M.; Shepherd, K.R.; Noorian, A.; Jackson, C.R.; Iuvone, P.M.; Weinshenker, D.; Greene, J.G.; Miller, G.W. Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease Revealed in an Animal Model with Reduced Monoamine Storage Capacity. *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 8103–8113, doi:10.1523/jneurosci.1495-09.2009.
26. Baumann, A.; Moreira, C.G.; Morawska, M.M.; Masneuf, S.; Baumann, C.R.; Noain, D. Preliminary Evidence of Apathetic-Like Behavior in Aged Vesicular Monoamine Transporter 2 Deficient Mice. *Front. Hum. Neurosci.* **2016**, *10*, doi:10.3389/fnhum.2016.00587.
27. Fukui, M.; Rodriguiz, R.M.; Zhou, J.; Jiang, X.; Phillips, L.E.; Caron, M.G.; Wetsel, W.C. Vmat2 Heterozygous Mutant Mice Display a Depressive-Like Phenotype. *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 10520–10529, doi:10.1523/jneurosci.4388-06.2007.
28. Zhu, X.-R.; Maskri, L.; Herold, C.; Bader, V.; Stichel, C.C.; Güntürkün, O.; Lufcbbert, H. Non-motor behavioural impairments in parkin-deficient mice. *Eur. J. Neurosci.* **2007**, *26*, 1902–1911, doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05812.x.
29. Hennis, M.R.; Seamans, K.W.; Marvin, M.A.; Casey, B.H.; Goldberg, M.S. Behavioral and Neurotransmitter Abnormalities in Mice Deficient for Parkin, DJ-1 and Superoxide Dismutase. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e84894, doi:10.1371/journal.pone.0084894.
30. Rial, D.; Castro, A.A.; Machado, N.; Garção, P.; Gonçalves, F.Q.; Silva, H.; Tomé, Ângelo, R.; Köfalvi, A.; Corti, O.; Raisman-Vozari, R.; et al. Behavioral Phenotyping of Parkin-Deficient Mice: Looking for Early Preclinical Features of Parkinson's Disease. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e114216, doi:10.1371/journal.pone.0114216.
31. Wang, W.; Song, N.; Jia, F.; Tang, T.; Bao, W.; Zuo, C.; Xie, J.; Jiang, H. Genomic DNA levels of mutant alpha-synuclein correlate with non-motor symptoms in an A53T Parkinson's disease mouse model. *Neurochem. Int.* **2018**, *114*, 71–79, doi:10.1016/j.neuint.2018.01.006.
32. Paumier, K.L.; Rizzo, S.J.S.; Berger, Z.; Chen, Y.; Gonzales, C.; Kaftan, E.; Li, L.; Lotarski, S.; Monaghan, M.; Shen, W.; et al. Behavioral Characterization of A53T Mice Reveals Early and Late Stage Deficits Related to Parkinson's Disease. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e70274, doi:10.1371/journal.pone.0070274.
33. Graham, D.R.; Sidhu, A. Mice expressing the A53T mutant form of human alpha-synuclein exhibit hyperactivity and reduced anxiety-like behavior. *J. Neurosci. Res.* **2010**, *88*, 1777–1783, doi:10.1002/jnr.22331.
34. Oaks, A.W.; Frankfurt, M.; Finkelstein, D.I.; Sidhu, A. Age-Dependent Effects of A53T Alpha-Synuclein on Behavior and Dopaminergic Function. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e60378, doi:10.1371/journal.pone.0060378.
35. Nuber, S.; Harmuth, F.; Kohl, Z.; Adame, A.; Trejo, M.; Schönig, K.; Zimmermann, F.; Bauer, C.; Casadei, N.; Giel, C.; et al. A progressive dopaminergic phenotype associated with neurotoxic conversion of α-synuclein in BAC-transgenic rats. *Brain* **2013**, *136*, 412–432, doi:10.1093/brain/aws358.

36. Caudal, D.; Alvarsson, A.; Björklund, A.; Svenningsson, P. Depressive-like phenotype induced by AAV-mediated overexpression of human α-synuclein in midbrain dopaminergic neurons. *Exp. Neurol.* **2015**, *273*, 243–252, doi:10.1016/j.expneurol.2015.09.002.
37. Cinar, E.; Yalcin-Cakmakli, G.; Saka, E.; Ulusoy, A.; Yuruker, S.; Elibol, B.; Tel, B.C. Modelling cognitive deficits in Parkinson's disease: Is CA2 a gateway for hippocampal synucleinopathy? *Exp. Neurol.* **2020**, *330*, 113357, doi:10.1016/j.expneurol.2020.113357.
38. Willner, P.; Towell, A.; Sampson, D.; Sophokleous, S.; Muscat, R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacol.* **1987**, *93*, 358–364, doi:10.1007/bf00187257.
39. Santiago, R.M.; Barbiero, J.; Gradowski, R.W.; Bochen, S.; Lima, M.M.; Da Cunha, C.; Andreatini, R.; Vital, M.A. Induction of depressive-like behavior by intranigral 6-OHDA is directly correlated with deficits in striatal dopamine and hippocampal serotonin. *Behav. Brain Res.* **2014**, *259*, 70–77, doi:10.1016/j.bbr.2013.10.035.
40. Vecchia, D.D.; Kanazawa, L.K.S.; Wendler, E.; Hocayen, P.D.A.S.; Bruginski, E.; Campos, F.R.; Stern, C.A.J.; Vital, M.A.B.F.; Miyoshi, E.; Wöhr, M.; et al. Effects of ketamine on vocal impairment, gait changes, and anhedonia induced by bilateral 6-OHDA infusion into the substantia nigra pars compacta in rats: Therapeutic implications for Parkinson's disease. *Behav. Brain Res.* **2018**, *342*, 1–10, doi:10.1016/j.bbr.2017.12.041.
41. Chen, L.; Deltheil, T.; Turle-Lorenzo, N.; Liberge, M.; Rosier, C.; Watabe, I.; Sreng, L.; Amalric, M.; Mourre, C. SK channel blockade reverses cognitive and motor deficits induced by nigrostriatal dopamine lesions in rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *17*, 1295–1306, doi:10.1017/s1461145714000236.
42. Kamińska, K.; Lenda, T.; Konieczny, J.; Czarnecka, A.; Lorenc-Koci, E. Depressive-like neurochemical and behavioral markers of Parkinson's disease after 6-OHDA administered unilaterally to the rat medial forebrain bundle. *Pharmacol. Rep.* **2017**, *69*, 985–994, doi:10.1016/j.pharep.2017.05.016.
43. Carvalho, M.M.; Campos, F.L.; Coimbra, B.; Pêgo, J.M.; Rodrigues, C.; Lima, R.; Rodrigues, A.J.; Sousa, N.; Salgado, A.J. Behavioral characterization of the 6-hydroxidopamine model of Parkinson's disease and pharmacological rescuing of non-motor deficits. *Mol. Neurodegener.* **2013**, *8*, 14, doi:10.1186/1750-1326-8-14.
44. Gorton, L.M.; Vuckovic, M.G.; Vertelkina, N.; Petzinger, G.M.; Jakowec, M.; Wood, R.I. Exercise effects on motor and affective behavior and catecholamine neurochemistry in the MPTP-lesioned mouse. *Behav. Brain Res.* **2010**, *213*, 253–262, doi:10.1016/j.bbr.2010.05.009.
45. Engeln, M.; Fasano, S.; Ahmed, S.H.; Cador, M.; Baekelandt, V.; Bezard, E.; Fernagut, P.-O. Levodopa gains psychostimulant-like properties after nigral dopaminergic loss. *Ann. Neurol.* **2013**, *74*, 140–144, doi:10.1002/ana.23881.
46. Dowd, E.; Monville, C.; Torres, E.M.; Dunnett, S.B. The Corridor Task: A simple test of lateralised response selection sensitive to unilateral dopamine deafferentation and graft-derived dopamine replacement in the striatum. *Brain Res. Bull.* **2005**, *68*, 24–30, doi:10.1016/j.brainresbull.2005.08.009.
47. Grealish, S.; Xie, L.; Kelly, M.; Dowd, E. Unilateral axonal or terminal injection of 6-hydroxydopamine causes rapid-onset nigrostriatal degeneration and contralateral motor impairments in the rat. *Brain Res. Bull.* **2008**, *77*, 312–319, doi:10.1016/j.brainresbull.2008.08.018.
48. Lindgren, H.S.; Klein, A.; Dunnett, S.B. Nigral 6-hydroxydopamine lesion impairs performance in a lateralised choice reaction time task—Impact of training and task parameters. *Behav. Brain Res.* **2014**, *266*, 207–215, doi:10.1016/j.bbr.2014.02.043.
49. Baunez, C.; Robbins, T. Effects of dopamine depletion of the dorsal striatum and further interaction with subthalamic nucleus lesions in an attentional task in the rat. *Neuroscience* **1999**, *92*, 1343–1356, doi:10.1016/s0306-4522(99)00065-2.
50. Smith, E.S.; Hardy, G.A.; Schallert, T.; Lee, H.J. The impact of l-dopa on attentional impairments in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience* **2016**, *337*, 295–305, doi:10.1016/j.neuroscience.2016.09.022.
51. Jiménez-Urbieta, H.; Gago, B.; Quiroga-Varela, A.; Rodríguez-Chinchilla, T.; Merino-Galán, L.; Oregi, A.; Belloso-Iguerategui, A.; Delgado-Alvarado, M.; Navalpotro-Gómez, I.; Marin, C.; et al. Pramipexole-induced impulsivity in mildparkinsonian rats: A model of impulse control disorders in Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging* **2019**, *75*, 126–135, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2018.11.021.
52. McDonald, R.J.; White, N. Parallel information processing in the water maze: Evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav. Neural Biol.* **1994**, *61*, 260–270, doi:10.1016/s0163-1047(05)80009-3.
53. Costa, C.; Sgobio, C.; Siliquini, S.; Tozzi, A.; Tantucci, M.; Ghiglieri, V.; Di Filippo, M.; Pendolino, V.; de Iure, A.; Marti, M.; et al. Mechanisms underlying the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in experimental Parkinson's disease. *Brain* **2012**, *135*, 1884–1899, doi:10.1093/brain/aws101.
54. Mura, A.; Feldon, J. Spatial learning in rats is impaired after degeneration of the nigrostriatal dopaminergic system. *Mov. Disord.* **2003**, *18*, 860–871, doi:10.1002/mds.10472.
55. Ferro, M.M.; Bellissimo, M.I.; Anselmo-Franci, J.A.; Angellucci, M.E.M.; Canteras, N.S.; Da Cunha, C. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: Histological, neurochemical, motor and memory alterations. *J. Neurosci. Methods* **2005**, *148*, 78–87, doi:10.1016/j.jneumeth.2005.04.005.
56. Lueptow, L.M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J. Vis. Exp.* **2017**, *2017*, e55718, doi:10.3791/55718.
57. Sy, H.-N.; Wu, S.-L.; Wang, W.-F.; Chen, C.-H.; Huang, Y.-T.; Liou, Y.-M.; Chiou, C.-S.; Pawlak, C.R.; Ho, Y.-J. MPTP-induced dopaminergic degeneration and deficits in object recognition in rats are accompanied by neuroinflammation in the hippocampus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2010**, *95*, 158–165, doi:10.1016/j.pbb.2009.12.020.

58. Hsieh, M.-H.; Gu, S.-L.; Ho, S.-C.; Pawlak, C.R.; Lin, C.-L.; Ho, Y.-J.; Lai, T.-J.; Wu, F.-Y. Effects of MK-801 on recognition and neurodegeneration in an MPTP-induced Parkinson's rat model. *Behav. Brain Res.* **2012**, *229*, 41–47, doi:10.1016/j.bbr.2011.12.035.
59. Moriguchi, S.; Yabuki, Y.; Fukunaga, K. Reduced calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity in the hippocampus is associated with impaired cognitive function in MPTP-treated mice. *J. Neurochem.* **2012**, *120*, 541–551, doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07608.x.
60. Bonito-Oliva, A.; Pignatelli, M.; Spigolon, G.; Yoshitake, T.; Seiler, S.; Longo, F.; Piccinin, S.; Kehr, J.; Mercuri, N.B.; Nistico, R.; et al. Cognitive Impairment and Dentate Gyrus Synaptic Dysfunction in Experimental Parkinsonism. *Biol. Psychiatry* **2014**, *75*, 701–710, doi:10.1016/j.biopsych.2013.02.015.
61. De Leonibus, E.; Managò, F.; Giordani, F.; Petrosino, F.; Lopez, S.; Oliverio, A.; Amalric, M.; Mele, A.; Manag, F. Metabotropic Glutamate Receptors 5 Blockade Reverses Spatial Memory Deficits in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *34*, 729–738, doi:10.1038/npp.2008.129.
62. Braga, R.; Kouzmine, I.; Canteras, N.S.; Da Cunha, C. Lesion of the substantia nigra, pars compacta impairs delayed alternation in a Y-maze in rats. *Exp. Neurol.* **2005**, *192*, 134–141, doi:10.1016/j.expneurol.2004.11.006.
63. Tanila, H.; Björklund, M.; Riekkinen, P. Cognitive Changes in Mice Following Moderate MPTP Exposure. *Brain Res. Bull.* **1998**, *45*, 577–582, doi:10.1016/s0361-9230(97)00452-8.
64. Da Cunha, C. Memory disruption in rats with nigral lesions induced by MPTP: A model for early Parkinson's disease amnesia. *Behav. Brain Res.* **2001**, *124*, 9–18, doi:10.1016/s0166-4328(01)00211-x.
65. Dehay, B.; Fernagut, P.-O. Alpha-synuclein-based models of Parkinson's disease. *Rev. Neurol.* **2016**, *172*, 371–378, doi:10.1016/j.neurol.2016.04.003.
66. Magen, I.; Fleming, S.M.; Zhu, C.; Garcia, E.C.; Cardiff, K.M.; Dinh, D.; De La Rosa, K.; Sanchez, M.; Torres, E.R.; Masliah, E.; et al. Cognitive deficits in a mouse model of pre-manifest Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci.* **2012**, *35*, 870–882, doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08012.x.
67. Magen, I.; Torres, E.R.; Dinh, D.; Chung, A.; Masliah, E.; Chesselet, M.-F. Social Cognition Impairments in Mice Overexpressing Alpha-Synuclein Under the Thy1 Promoter, a Model of Pre-manifest Parkinson's Disease. *J. Park. Dis.* **2015**, *5*, 669–680, doi:10.3233/JPD-140503.
68. Subramaniam, S.R.; Magen, I.; Bove, N.; Zhu, C.; Lemesre, V.; Dutta, G.; Elias, C.J.; Lester, H.A.; Chesselet, M.-F. Chronic nicotine improves cognitive and social impairment in mice overexpressing wild type α-synuclein. *Neurobiol. Dis.* **2018**, *117*, 170–180, doi:10.1016/j.nbd.2018.05.018.
69. Hatami, A.; Chesselet, M.-F. Transgenic Rodent Models to Study Alpha-Synuclein Pathogenesis, with a Focus on Cognitive Deficits. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* **2014**, *22*, 303–330, doi:10.1007/7854_2014_355.
70. Freichel, C.; Neumann, M.; Ballard, T.; Müller, V.; Woolley, M.; Ozmen, L.; Borroni, E.; Kretzschmar, H.A.; Haass, C.; Spooren, W.; et al. Age-dependent cognitive decline and amygdala pathology in α-synuclein transgenic mice. *Neurobiol. Aging* **2007**, *28*, 1421–1435, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.06.013.
71. Schell, H.; Boden, C.; Chagas, A.M.; Kahle, P.J. Impaired c-Fos and Polo-Like Kinase 2 Induction in the Limbic System of Fear-conditioned α-Synuclein Transgenic Mice. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e50245, doi:10.1371/journal.pone.0050245.
72. Finkelstein, D.I.; Hare, D.J.; Billings, J.L.; Sedjahtera, A.; Nurjono, M.; Arthofer, E.; George, S.; Culvenor, J.G.; Bush, A.; Adlard, P.A. Clioquinol Improves Cognitive, Motor Function, and Microanatomy of the Alpha-Synuclein hA53T Transgenic Mice. *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *7*, 119–129, doi:10.1021/acschemneuro.5b00253.
73. Singh, B.; Covelo, A.; Martell-Martínez, H.; Nanclares, C.; Sherman, M.A.; Okematti, E.; Meints, J.; Teravskis, P.; Gallardo, C.; Savonenko, A.V.; et al. Tau is required for progressive synaptic and memory deficits in a transgenic mouse model of α-synucleinopathy. *Acta Neuropathol.* **2019**, *138*, 551–574, doi:10.1007/s00401-019-02032-w.
74. Zhou, W.; Milder, J.B.; Freed, C.R. Transgenic Mice Overexpressing Tyrosine-to-Cysteine Mutant Human α-Synuclein. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 9863–9870, doi:10.1074/jbc.m710232200.
75. Nuber, S.; Petrasch-Parwez, E.; Winner, B.; Winkler, J.; Von Hörsten, S.; Schmidt, T.; Boy, J.; Kuhn, M.; Nguyen, H.P.; Teismann, P.; et al. Neurodegeneration and Motor Dysfunction in a Conditional Model of Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 2471–2484, doi:10.1523/jneurosci.3040-07.2008.
76. Li, X.; Redus, L.; Chen, C.; Martinez, P.A.; Strong, R.; Li, S.; O'Connor, J.C. Cognitive Dysfunction Precedes the Onset of Motor Symptoms in the MitoPark Mouse Model of Parkinson's Disease. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e71341, doi:10.1371/journal.pone.0071341.
77. Hall, K.; Yang, S.; Sauchanka, O.; Spillantini, M.G.; Anichtchik, O. Behavioural deficits in transgenic mice expressing human truncated (1–120 amino acid) alpha-synuclein. *Exp. Neurol.* **2015**, *264*, 8–13, doi:10.1016/j.expneurol.2014.11.003.
78. Sloan, M.; Alegre-Abarrategui, J.; Potgieter, D.; Kaufmann, A.-K.; Exley, R.; Deltheil, T.; Threlfell, S.; Connor-Robson, N.; Brimblecombe, K.; Wallings, R.; et al. LRRK2BAC transgenic rats develop progressive, L-DOPA-responsive motor impairment, and deficits in dopamine circuit function. *Hum. Mol. Genet.* **2016**, *25*, 951–963, doi:10.1093/hmg/ddv628.
79. Hall, H.; Jewett, M.; Landeck, N.; Nilsson, N.; Schagerlöf, U.; Leanza, G.; Kirik, D. Characterization of Cognitive Deficits in Rats Overexpressing Human Alpha-Synuclein in the Ventral Tegmental Area and Medial Septum Using Recombinant Adeno-Associated Viral Vectors. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e64844, doi:10.1371/journal.pone.0064844.
80. Carvalho, M.M.; Campos, F.L.; Marques, M.; Soares-Cunha, C.; Kokras, N.; Dalla, C.; Leite-Almeida, H.; Sousa, N.; Salgado, A.J. Effect of Levodopa on Reward and Impulsivity in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Front. Behav. Neurosci.* **2017**, *11*, 145, doi:10.3389/fnbeh.2017.00145.

81. Leite-Almeida, H.; Melo, A.; Pêgo, J.M.; Bernardo, S.; Milhazes, N.; Borges, F.; Sousa, N.; Almeida, A.; Cerqueira, J.J. Variable delay-to-signal: A fast paradigm for assessment of aspects of impulsivity in rats. *Front. Behav. Neurosci.* **2013**, *7*, 154, doi:10.3389/fnbeh.2013.00154.
82. Engeln, M.; Ansquer, S.; Dugast, E.; Bezard, E.; Belin, D.; Fernagut, P.-O. Multi-facetted impulsivity following nigral degeneration and dopamine replacement therapy. *Neuropharmacology* **2016**, *109*, 69–77, doi:10.1016/j.neuropharm.2016.05.013.
83. Magnard, R.; Vachez, Y.; Carcenac, C.; Boulet, S.; Houeto, J.-L.; Savasta, M.; Belin, D.; Carnicella, S. Nigrostriatal Dopaminergic Denervation Does Not Promote Impulsive Choice in the Rat: Implication for Impulse Control Disorders in Parkinson's Disease. *Front. Behav. Neurosci.* **2018**, *12*, doi:10.3389/fnbeh.2018.00312.
84. Tedford, S.E.; Persons, A.L.; Napier, T.C. Dopaminergic Lesions of the Dorsolateral Striatum in Rats Increase Delay Discounting in an Impulsive Choice Task. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0122063, doi:10.1371/journal.pone.0122063.
85. Rokosik, S.L.; Napier, T.C. Pramipexole-Induced Increased Probabilistic Discounting: Comparison between a Rodent Model of Parkinson's Disease and Controls. *Neuropsychopharmacology* **2012**, *37*, 1397–1408, doi:10.1038/npp.2011.325.
86. Jiménez-Urbieta, H.; Gago, B.; Quiroga-Varela, A.; Rodríguez-Chinchilla, T.; Merino-Galán, L.; Delgado-Alvarado, M.; Navalpotro-Gómez, I.; Belloso-Iguerategui, A.; Marin, C.; Rodríguez-Oroz, M.C. Motor impulsivity and delay intolerance are elicited in a dose-dependent manner with a dopaminergic agonist in parkinsonian rats. *Psychopharmacology* **2020**, *237*, 2419–2431, doi:10.1007/s00213-020-05544-6.
87. Dardou, D.; Reyrolle, L.; Chassain, C.; Durif, F. Chronic pramipexole treatment induces compulsive behavior in rats with 6-OHDA lesions of the substantia nigra and ventral tegmental area. *Behav. Brain Res.* **2017**, *332*, 327–336, doi:10.1016/j.bbr.2017.06.016.
88. Mineo, D.; Cacace, F.; Mancini, M.; Vannelli, A.; Campanelli, F.; Natale, G.; Marino, G.; Cardinale, A.; Calabresi, P.; Picconi, B.; et al. Dopamine drives binge-like consumption of a palatable food in experimental Parkinsonism. *Mov. Disord.* **2019**, *34*, 821–831, doi:10.1002/mds.27683.
89. Grospe, G.M.; Baker, P.M.; Ragozzino, M.E. Cognitive Flexibility Deficits Following 6-OHDA Lesions of the Rat Dorsomedial Striatum. *Neuroscience* **2018**, *374*, 80–90, doi:10.1016/j.neuroscience.2018.01.032.
90. Kwak, C.; Lim, C.-S.; Kaang, B.-K. Assessments of cognitive abilities in a mouse model of Parkinson's disease with a touch screen test. *Behav. Brain Res.* **2016**, *301*, 63–71, doi:10.1016/j.bbr.2015.12.016.
91. Seip-Cammack, K.M.; Young, J.J.; Young, M.E.; Shapiro, M.L. Partial lesion of the nigrostriatal dopamine pathway in rats impairs egocentric learning but not spatial learning or behavioral flexibility. *Behav. Neurosci.* **2017**, *131*, 135–142, doi:10.1037/bne0000189.
92. Marshall, C.A.; King, K.M.; Kortagere, S. Limitations of the rat medial forebrain lesion model to study prefrontal cortex mediated cognitive tasks in Parkinson's disease. *Brain Res.* **2019**, *1702*, 105–113, doi:10.1016/j.brainres.2018.03.035.
93. Darvas, M.; Palmiter, R.D. Contributions of Striatal Dopamine Signaling to the Modulation of Cognitive Flexibility. *Biol. Psychiatry* **2011**, *69*, 704–707, doi:10.1016/j.biopsych.2010.09.033.
94. Darvas, M.; Henschen, C.W.; Palmiter, R.D. Contributions of signaling by dopamine neurons in dorsal striatum to cognitive behaviors corresponding to those observed in Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* **2014**, *65*, 112–123, doi:10.1016/j.nbd.2014.01.017.
95. Savica, R.; Rocca, W.A.; Ahlskog, J.E. When Does Parkinson Disease Start? *Arch. Neurol.* **2010**, *67*, 798–801, doi:10.1001/archneurol.2010.135.
96. Jellinger, K.A. Neuropathology of Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease. *Int. Rev. Neurobiol.* **2017**, *133*, 13–62, doi:10.1016/bs.irn.2017.05.005.
97. Schapira, A.H.V.; Chaudhuri, K.R.; Jenner, P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **2017**, *18*, 435–450, doi:10.1038/nrn.2017.62.
98. Barone, P.; Antonini, A.; Colosimo, C.; Marconi, R.; Morgante, L.; Avarello, T.P.; Bottacchi, E.; Cannas, A.; Ceravolo, G.; Ceravolo, R.; et al. The PRIAMO study: A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2009**, *24*, 1641–1649, doi:10.1002/mds.22643.
99. Braak, H.; Del Tredici, K.; Rüb, U.; de Vos, R.A.; Steur, E.N.J.; Braak, E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging* **2003**, *24*, 197–211, doi:10.1016/s0197-4580(02)00065-9.
100. Jellinger, K.A. Synuclein deposition and non-motor symptoms in Parkinson disease. *J. Neurol. Sci.* **2011**, *310*, 107–111, doi:10.1016/j.jns.2011.04.012.
101. Ray, S.; Agarwal, P. Depression and Anxiety in Parkinson Disease. *Clin. Geriatr. Med.* **2020**, *36*, 93–104, doi:10.1016/j.cger.2019.09.012.
102. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed.; American Psychiatric Association: Washington, DC, USA, 2013; doi:10.1176/appi.books.9780890425596.
103. Gonera, E.G.; Hof, M.V.; Berger, H.J.C.; Van Weel, C.; Horstink, M.W.I.M. Symptoms and duration of the prodromal phase in parkinson's disease. *Mov. Disord.* **1997**, *12*, 871–876, doi:10.1002/mds.870120607.
104. Shiba, M.; Bower, J.H.; Maraganore, D.M.; Ms, S.K.M.; Bs, B.J.P.; Ahlskog, J.E.; Schaid, D.J.; Rocca, W.A. Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson's disease: A case-control study. *Mov. Disord.* **2000**, *15*, 669–677, doi:10.1002/1531-8257(200007)15:43.0.co;2-5.

105. Pont-Sunyer, C.; Hotter, A.; Gaig, C.; Seppi, K.; Compta, Y.; Katzenschlager, R.; Mas, N.; Hofeneder, D.; Brücke, T.; Bayés, A.; et al. The Onset of Nonmotor Symptoms in Parkinson's disease (The ONSET PDStudy). *Mov. Disord.* **2015**, *30*, 229–237, doi:10.1002/mds.26077.
106. 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*, 1314–1322, doi:10.1093/brain/awh445.
107. Aarsland, D.; Påhlhagen, S.; Ballard, C.G.; Ehrt, U.; Svenningsson, P. Depression in Parkinson disease—epidemiology, mechanisms and management. *Nat. Rev. Neurol.* **2011**, *8*, 35–47, doi:10.1038/nrneurol.2011.189.
108. Miller, A.H.; Raison, C.L. The role of inflammation in depression: From evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat. Rev. Immunol.* **2016**, *16*, 22–34, doi:10.1038/nri.2015.5.
109. Numakawa, T.; Richards, M.; Nakajima, S.; Adachi, N.; Furuta, M.; Odaka, H.; Kunugi, H. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Comorbid Depression: Possible Linkage with Steroid Hormones, Cytokines, and Nutrition. *Front. Psychiatry* **2014**, *5*, doi:10.3389/fpsyt.2014.00136.
110. Liu, J.; Dong, J.; Wang, L.; Su, Y.; Yan, P.; Sun, S. Comparative Efficacy and Acceptability of Antidepressants in Parkinson's Disease: A Network Meta-Analysis. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e76651, doi:10.1371/journal.pone.0076651.
111. Barone, P.; Poewe, W.; Albrecht, S.; Debieuvre, C.; Massey, D.; Rascol, O.; Tolosa, E.; Weintraub, D. Pramipexole for the treatment of depressive symptoms in patients with Parkinson's disease: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* **2010**, *9*, 573–580, doi:10.1016/s1474-4422(10)70106-x.
112. Chaudhuri, K.R.; Martinez-Martin, P.; Antonini, A.; Brown, R.G.; Friedman, J.H.; Onofrj, M.; Surmann, E.; Ghys, L.; Trenkwalder, C. Rotigotine and specific non-motor symptoms of Parkinson's disease: Post hoc analysis of RECOVER. *Park. Relat. Disord.* **2013**, *19*, 660–665, doi:10.1016/j.parkreldis.2013.02.018.
113. Nègre-Pagès, L.; Grandjean, H.; Lapeyre-Mestre, M.; Montastruc, J.L.; Fourrier, A.; Lépine, J.P.; Rascol, O.; on behalf of the DoPaMiP Study Group Anxious and depressive symptoms in Parkinson's disease: The French cross-sectionnal DoPaMiP study. *Mov. Disord.* **2009**, *25*, 157–166, doi:10.1002/mds.22760.
114. Weintraub, D.; Mamikonyan, E. The Neuropsychiatry of Parkinson Disease: A Perfect Storm. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **2019**, *27*, 998–1018, doi:10.1016/j.jagp.2019.03.002.
115. Weisskopf, M.G.; Chen, H.; Schwarzschild, M.A.; Kawachi, I.; Ascherio, A. Prospective study of phobic anxiety and risk of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2003**, *18*, 646–651, doi:10.1002/mds.10425.
116. Pontone, G.M.; Williams, J.; Anderson, K.E.; Chase, G.; Goldstein, S.A.; Grill, S.; Bs, E.S.H.; Lehmann, S.; Little, J.T.; Margolis, R.L.; et al. Prevalence of anxiety disorders and anxiety subtypes in patients with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2009**, *24*, 1333–1338, doi:10.1002/mds.22611.
117. Carey, G.; Görmezoğlu, M.; de Jong, J.J.; Hofman, P.A.; Backes, W.H.; Dujardin, K.; Leentjens, A. Neuroimaging of Anxiety in Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Mov. Disord.* **2021**, *36*, 327–339, doi:10.1002/mds.28404.
118. Rektorova, I.; Balaz, M.; Svatova, J.; Zarubova, K.; Honig, I.; Dostal, V.; Sedlackova, S.; Nestrasil, I.; Mastik, J.; Bares, M.; et al. Effects of Ropinirole on Nonmotor Symptoms of Parkinson Disease. *Clin. Neuropharmacol.* **2008**, *31*, 261–266, doi:10.1097/wnf.0b013e31815d25ce.
119. Sauerbier, A.; Cova, I.; Rosa-Grilo, M.; Taddei, R.N.; Mischley, L.K.; Chaudhuri, K.R. Treatment of Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease. *Int. Rev. Neurobiol.* **2017**, *132*, 361–379, doi:10.1016/bs.irn.2017.03.002.
120. Meyer, A.; Zimmermann, R.; Gschwandtner, U.; Hatz, F.; Bousleiman, H.; Schwarz, N.; Fuhr, P. Apathy in Parkinson's disease is related to executive function, gender and age but not to depression. *Front. Aging Neurosci.* **2015**, *6*, 350, doi:10.3389/fnagi.2014.00350.
121. Radakovic, R.; Gray, D.; Dudley, K.; Mioshi, E.; Dick, D.; Melchiorre, G.; Gordon, H.; Newton, J.; Colville, S.; Pal, S.; et al. Reliability and validity of the brief dimensional apathy scale. *Arch. Clin. Neuropsychol.* **2020**, *35*, 539–544, doi:10.1093/arclin/acaa002.
122. Radakovic, R.; Davenport, R.; Starr, J.M.; Abrahams, S. Apathy dimensions in Parkinson's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2018**, *33*, 151–158, doi:10.1002/gps.4697.
123. Dujardin, K.; Sockeel, P.; Devos, D.; Delliaux, M.; Krystkowiak, P.; Destée, A.; Defebvre, L. Characteristics of apathy in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2007**, *22*, 778–784, doi:10.1002/mds.21316.
124. Aarsland, D.; Bronnick, K.; Ehrt, U.; De Deyn, P.; Tekin, S.; Emre, M.; Cummings, J. Neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease and dementia: Frequency, profile and associated care giver stress. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2007**, *78*, 36–42, doi:10.1136/jnnp.2005.083113.
125. Brown, D.S.; Barrett, M.J.; Flanigan, J.L.; Sperling, S.A. Clinical and demographic correlates of apathy in Parkinson's disease. *J. Neurol.* **2019**, *266*, 507–514, doi:10.1007/s00415-018-9166-3.
126. Maillet, A.; Krack, P.; Lhommée, E.; Metereau, E.; Klinger, H.; Favre, E.; Le Bars, D.; Schmitt, E.; Bichon, A.; Pelissier, P.; et al. The prominent role of serotonergic degeneration in apathy, anxiety and depression inde novoParkinson's disease. *Brain* **2016**, *139*, 2486–2502, doi:10.1093/brain/aww162.
127. Prange, S.; Metereau, E.; Maillet, A.; Lhommée, E.; Klinger, H.; Pelissier, P.; Ibarrola, D.; Heckemann, R.A.; Castrioto, A.; Tremblay, L.; et al. Early limbic microstructural alterations in apathy and depression in de novo Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2019**, *34*, 1644–1654, doi:10.1002/mds.27793.

128. Thobois, S.; Lhommée, E.; Klinger, H.; Ardouin, C.; Schmitt, E.; Bichon, A.; Kistner, A.; Castrioto, A.; Xie, J.; Fraix, V.; et al. Parkinsonian apathy responds to dopaminergic stimulation of D2/D3 receptors with piribedil. *Brain* **2013**, *136*, 1568–1577, doi:10.1093/brain/awt067.
129. Leentjens, A.F.; Koester, J.; Fruh, B.; Shephard, D.T.S.; Barone, P.; Houben, J.J. The effect of pramipexole on mood and motivational symptoms in parkinson's disease: A meta-analysis of placebo-controlled studies. *Clin. Ther.* **2009**, *31*, 89–98, doi:10.1016/j.clinthera.2009.01.012.
130. Czernecki, V. Motivation, reward, and Parkinson's disease: Influence of dopatherapy. *Neuropsychology* **2002**, *40*, 2257–2267, doi:10.1016/s0028-3932(02)00108-2.
131. Biundo, R.; Weis, L.; Facchini, S.; Formento-Dojot, P.; Vallelunga, A.; Pilleri, M.; Antonini, A. Cognitive profiling of Parkinson disease patients with mild cognitive impairment and dementia. *Park. Relat. Disord.* **2014**, *20*, 394–399, doi:10.1016/j.parkreldis.2014.01.009.
132. Kehagia, A.; Barker, R.; Robbins, T.W. Neuropsychological and clinical heterogeneity of cognitive impairment and dementia in patients with Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* **2010**, *9*, 1200–1213, doi:10.1016/s1474-4422(10)70212-x.
133. Ott, T.; Nieder, A. Dopamine and Cognitive Control in Prefrontal Cortex. *Trends Cogn. Sci.* **2019**, *23*, 213–234, doi:10.1016/j.tics.2018.12.006.
134. Baggio, H.C.; Junqué, C. Functional MRI in Parkinson's Disease Cognitive Impairment. *Int. Rev. Neurobiol.* **2019**, *144*, 29–58, doi:10.1016/bs.irn.2018.09.010.
135. Santangelo, G.; Vitale, C.; Picillo, M.; Moccia, M.; Cuoco, S.; Longo, K.; Pezzella, D.; di Grazia, A.; Erro, R.; Pellecchia, M.T.; et al. Mild Cognitive Impairment in newly diagnosed Parkinson's disease: A longitudinal prospective study. *Park. Relat. Disord.* **2015**, *21*, 1219–1226, doi:10.1016/j.parkreldis.2015.08.024.
136. Czernecki, V.; Benchetrit, E.; Houot, M.; Pineau, F.; Mangone, G.; Corvol, J.-C.; Vidailhet, M.; Levy, R. Social cognitive impairment in early Parkinson's disease: A novel "mild impairment"? *Park. Relat. Disord.* **2021**, *85*, 117–121, doi:10.1016/j.parkreldis.2021.02.023.
137. Santangelo, G.; Vitale, C.; Trojano, L.; Errico, D.; Amboni, M.; Barbarulo, A.M.; Grossi, D.; Barone, P. Neuropsychological correlates of theory of mind in patients with early Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2011**, *27*, 98–105, doi:10.1002/mds.23949.
138. Oberauer, K. Working Memory and Attention–A Conceptual Analysis and Review. *J. Cogn.* **2019**, *2*, 36, doi:10.5334/joc.58.
139. Muslimović, D.; Post, B.; Speelman, J.D.; Schmand, B. Cognitive profile of patients with newly diagnosed Parkinson disease. *Neurology* **2005**, *65*, 1239–1245, doi:10.1212/01.wnl.0000180516.69442.95.
140. Wright, M.; Burns, R.; Geffen, G.; Geffen, L. Covert orientation of visual attention in Parkinson's disease: An impairment in the maintenance of attention. *Neuropsychology* **1990**, *28*, 151–159, doi:10.1016/0028-3932(90)90097-8.
141. Cools, R.; D'Esposito, M. Inverted-U–Shaped Dopamine Actions on Human Working Memory and Cognitive Control. *Biol. Psychiatry* **2011**, *69*, e113–e125, doi:10.1016/j.biopsych.2011.03.028.
142. Alexander, G.; Delong, M.R.; Strick, P.L. Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* **1986**, *9*, 357–381, doi:10.1146/annurev.ne.09.030186.002041.
143. Polito, C.; Berti, V.; Ramat, S.; Vanzi, E.; De Cristofaro, M.T.; Pellicanò, G.; Mungai, F.; Marini, P.; Formiconi, A.R.; Sorbi, S.; et al. Interaction of caudate dopamine depletion and brain metabolic changes with cognitive dysfunction in early Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging* **2012**, *33*, 206.e29–206.e39, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.004.
144. Pillon, B.; Deweer, B.; Vidailhet, M.; Bonnet, A.-M.; Hahn-Barma, V.; Dubois, B. Is impaired memory for spatial location in Parkinson's disease domain specific or dependent on 'strategic' processes? *Neuropsychology* **1998**, *36*, 1–9, doi:10.1016/s0028-3932(97)00102-4.
145. Chahine, L.; Weintraub, D.; Hawkins, K.; Siderowf, A.; Ms, S.E.; Oakes, D.; Seibyl, J.P.; Stern, M.B.; Marek, K.; Jennings, D.; et al. Cognition in individuals at risk for Parkinson's: Parkinson associated risk syndrome (PARS) study findings. *Mov. Disord.* **2016**, *31*, 86–94, doi:10.1002/mds.26373.
146. Mattay, V.S.; Tessitore, A.; Callicott, J.; Bertolino, A.; Goldberg, T.E.; Chase, T.N.; Hyde, T.M.; Weinberger, D.R. Dopaminergic modulation of cortical function in patients with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* **2002**, *51*, 156–164, doi:10.1002/ana.10078.
147. Serences, J.T.; Shomstein, S.; Leber, A.; Golay, X.; Egeth, H.E.; Yantis, S. Coordination of Voluntary and Stimulus-Driven Attentional Control in Human Cortex. *Psychol. Sci.* **2005**, *16*, 114–122, doi:10.1111/j.0956-7976.2005.00791.x.
148. Rowe, J.; Stephan, K.E.; Friston, K.; Frackowiak, R.; Lees, A.; Passingham, R. Attention to action in Parkinson's disease. *Brain* **2002**, *125*, 276–289, doi:10.1093/brain/awf036.
149. González-Redondo, R.; García-García, D.; Clavero-Ibarra, P.; Gasca-Salas, C.; García-Eulate, R.; Zubieta, J.L.; Arbizu, J.; Obeso, J.A.; Rodríguez-Oroz, M.C. Grey matter hypometabolism and atrophy in Parkinson's disease with cognitive impairment: A two-step process. *Brain* **2014**, *137*, 2356–2367, doi:10.1093/brain/awu159.
150. Braak, H.; Rüb, U.; Del Tredici, K. Cognitive decline correlates with neuropathological stage in Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci.* **2006**, *248*, 255–258, doi:10.1016/j.jns.2006.05.011.
151. Sarter, M.; Gehring, W.J.; Kozak, R. More attention must be paid: The neurobiology of attentional effort. *Brain Res. Rev.* **2006**, *51*, 145–160, doi:10.1016/j.brainresrev.2005.11.002.
152. Gratwicke, J.; Jahanshahi, M.; Foltynie, T. Parkinson's disease dementia: A neural networks perspective. *Brain* **2015**, *138*, 1454–1476, doi:10.1093/brain/awv104.
153. Pinto, L.; Goard, M.; Estandian, D.; Xu, M.; Kwan, A.C.; Lee, S.-H.; Harrison, T.C.; Feng, G.; Dan, Y. Fast modulation of visual perception by basal forebrain cholinergic neurons. *Nat. Neurosci.* **2013**, *16*, 1857–1863, doi:10.1038/nn.3552.

154. Wesnes, K.A.; McKeith, I.G.; Edgar, C.; Emre, M.; Lane, R. Benefits of rivastigmine on attention in dementia associated with Parkinson disease. *Neurology* **2005**, *65*, 1654–1656, doi:10.1212/01.wnl.0000184517.69816.e9.
155. Aston-Jones, G.; Rajkowski, J.; Cohen, J. Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biol. Psychiatry* **1999**, *46*, 1309–1320, doi:10.1016/s0006-3223(99)00140-7.
156. Bezdicek, O.; Ballarini, T.; Buschke, H.; Růžička, F.; Roth, J.; Albrecht, F.; Růžička, E.; Mueller, K.; Schroeter, M.L.; Jech, R. Memory impairment in Parkinson's disease: The retrieval versus associative deficit hypothesis revisited and reconciled. *Neuropsychology* **2019**, *33*, 391–405, doi:10.1037/neu0000503.
157. Watson, G.S.; Leverenz, J.B. Profile of Cognitive Impairment in Parkinson's Disease. *Brain Pathol.* **2010**, *20*, 640–645, doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00373.x.
158. Camina, E. (Eduardo); Güell-Pelayo, F. (Francisco) The Neuroanatomical, Neurophysiological and Psychological Basis of Memory: Current Models and Their Origins. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, 438, doi:10.3389/fphar.2017.00438.
159. Yarnall, A.; Breen, D.P.; Duncan, G.W.; Khoo, T.K.; Coleman, S.Y.; Firbank, M.J.; Nombela, C.; Winder-Rhodes, S.; Evans, J.R.; Rowe, J.B.; et al. Characterizing mild cognitive impairment in incident Parkinson disease: The ICICLE-PD Study. *Neurol.* **2014**, *82*, 308–316, doi:10.1212/wnl.0000000000000066.
160. Costa, A.; Monaco, M.; Zabberoni, S.; Peppe, A.; Perri, R.; Fadda, L.; Iannarelli, F.; Caltagirone, C.; Carlesimo, G.A. Free and Cued Recall Memory in Parkinson's Disease Associated with Amnestic Mild Cognitive Impairment. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e86233, doi:10.1371/journal.pone.0086233.
161. Chiaravalloti, N.D.; Ibarretxe-Bilbao, N.; DeLuca, J.; Rusu, O.; Pena, J.; García-Gorostiaga, I.; Ojeda, N. The source of the memory impairment in Parkinson's disease: Acquisition versus retrieval. *Mov. Disord.* **2014**, *29*, 765–771, doi:10.1002/mds.25842.
162. Higginson, C.I.; Wheelock, V.L.; Carroll, K.E.; Sigvardt, K.A. Recognition Memory in Parkinson's Disease With and Without Dementia: Evidence Inconsistent with the Retrieval Deficit Hypothesis. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **2005**, *27*, 516–528, doi:10.1080/13803390490515469.
163. Nombela, C.; Rowe, J.B.; Winder-Rhodes, S.E.; Hampshire, A.; Owen, A.M.; Breen, D.P.; Duncan, G.W.; Khoo, T.K.; Yarnall, A.; Firbank, M.J.; et al. Genetic impact on cognition and brain function in newly diagnosed Parkinson's disease: ICICLE-PD study. *Brain* **2014**, *137*, 2743–2758, doi:10.1093/brain/awu201.
164. La, C.; Linortner, P.; Bernstein, J.; Ua Cruadhlaoich, M.A.; Fenesy, M.; Deutsch, G.K.; Rutt, B.K.; Tian, L.; Wagner, A.D.; Zeineh, M.; et al. Hippocampal CA1 subfield predicts episodic memory impairment in Parkinson's disease. *NeuroImage: Clin.* **2019**, *23*, 101824, doi:10.1016/j.nicl.2019.101824.
165. Das, T.; Hwang, J.J.; Poston, K.L. Episodic recognition memory and the hippocampus in Parkinson's disease: A review. *Cortex* **2019**, *113*, 191–209, doi:10.1016/j.cortex.2018.11.021.
166. Pan, P.L.; Shi, H.C.; Zhong, J.G.; Xiao, P.R.; Shen, Y.; Wu, L.J.; Song, Y.Y.; He, G.X.; Li, H.L. Gray matter atrophy in Parkinson's disease with dementia: Evidence from meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Neurol. Sci.* **2012**, *34*, 613–619, doi:10.1007/s10072-012-1250-3.
167. Schmitt, F.A.; Aarsland, D.; Brønnick, K.S.; Meng, X.; Tekin, S.; Olin, J.T. Evaluating Rivastigmine in Mild-to-Moderate Parkinson's Disease Dementia Using ADAS-Cog Items. *Am. J. Alzheimers Dis. Dementiasr* **2010**, *25*, 407–413, doi:10.1177/1533317510367486.
168. Rolls, E.T. Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex* **2015**, *62*, 119–157, doi:10.1016/j.cortex.2013.12.005.
169. Yin, H.H.; Ostlund, S.B.; Balleine, B.W. Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: The integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *Eur. J. Neurosci.* **2008**, *28*, 1437–1448, doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x.
170. Berke, J.D. Learning and memory mechanisms involved in compulsive drug use and relapse. *Methods Mol. Med.* **2003**, *79*, 75–101.
171. Bódi, N.; Kéri, S.; Nagy, H.; Moustafa, A.; Myers, C.E.; Daw, N.; Dibó, G.; Takáts, A.; Bereczki, D.; Gluck, M.A. Reward-learning and the novelty-seeking personality: A between- and within-subjects study of the effects of dopamine agonists on young Parkinson's patients. *Brain* **2009**, *132*, 2385–2395, doi:10.1093/brain/awp094.
172. Palminteri, S.; Lebreton, M.; Worbe, Y.; Grabli, D.; Hartmann, A.; Pessiglione, M. Pharmacological modulation of subliminal learning in Parkinson's and Tourette's syndromes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 19179–19184, doi:10.1073/pnas.0904035106.
173. Freedberg, M.; Schacherer, J.; Chen, K.-H.; Uc, E.Y.; Narayanan, N.S.; Hazeltine, E. Separating the effect of reward from corrective feedback during learning in patients with Parkinson's disease. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* **2017**, *21*, 557–695, doi:10.3758/s13415-017-0505-0.
174. Van Nuland, A.J.; Helmich, R.C.; Dirkx, M.F.; Zach, H.; Toni, I.; Cools, R.; Ouden, H.E.M.D. Effects of dopamine on reinforcement learning in Parkinson's disease depend on motor phenotype. *Brain* **2020**, *143*, 3422–3434, doi:10.1093/brain/awaa335.
175. Wojtala, J.; Heber, I.A.; Neuser, P.; Heller, J.; Kalbe, E.; Rehberg, S.P.; Storch, A.; Linse, K.; Schneider, C.; Gräber, S.; et al. Cognitive decline in Parkinson's disease: The impact of the motor phenotype on cognition. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2019**, *90*, 171–179, doi:10.1136/jnnp-2018-319008.
176. Appollonio, I.; Grafman, J.; Clark, K.; Nichelli, P.; Zeffiro, T.; Hallett, M. Implicit and Explicit Memory in Patients With Parkinson's Disease With and Without Dementia. *Arch. Neurol.* **1994**, *51*, 359–367, doi:10.1001/archneur.1994.00540160053008.

177. Witt, K.; Daniels, C.; Daniel, V.; Schmitt-Eliassen, J.; Volkmann, J.; Deuschl, G. Patients with Parkinson's disease learn to control complex systems—an indication for intact implicit cognitive skill learning. *Neuropsychology* **2006**, *44*, 2445–2451, doi:10.1016/j.neuropsychologia.2006.04.013.
178. Van Asselen, M.; Almeida, I.; André, R.; Januario, C.; Gonçalves, A.F.; Castelo-Branco, M. The role of the basal ganglia in implicit contextual learning: A study of Parkinson's disease. *Neuropsychology* **2009**, *47*, 1269–1273, doi:10.1016/j.neuropsychologia.2009.01.008.
179. Nicastro, N.; Manuel, A.L.; Garibotto, V.; Burkhard, P.R.; Schnider, A. Consolidation of a Learned Skill Correlates with Dopamine SPECT Uptake in Early Parkinson's Disease. *J. Clin. Neurol.* **2018**, *14*, 505–512, doi:10.3988/jcn.2018.14.4.505.
180. Paul, S.S.; Dibble, L.E.; Olivier, G.N.; Walter, C.; Duff, K.; Schaefer, S.Y. Dopamine replacement improves motor learning of an upper extremity task in people with Parkinson disease. *Behav. Brain Res.* **2020**, *377*, 112213, doi:10.1016/j.bbr.2019.112213.
181. Horiba, M.; Ueki, Y.; Nojima, I.; Shimizu, Y.; Sahashi, K.; Itamoto, S.; Suzuki, A.; Yamada, G.; Matsukawa, N.; Wada, I. Impaired Motor Skill Acquisition Using Mirror Visual Feedback Improved by Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) in Patients With Parkinson's Disease. *Front. Neurosci.* **2019**, *13*, 602, doi:10.3389/fnins.2019.00602.
182. Bari, A.; Robbins, T.W. Inhibition and impulsivity: Behavioral and neural basis of response control. *Prog. Neurobiol.* **2013**, *108*, 44–79, doi:10.1016/j.pneurobio.2013.06.005.
183. Dalley, J.W.; Everitt, B.J.; Robbins, T.W. Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control. *Neuron* **2011**, *69*, 680–694, doi:10.1016/j.neuron.2011.01.020.
184. Jiménez-Urbieta, H.; Gago, B.; de la Riva, P.; Delgado-Alvarado, M.; Marin, C.; Rodriguez-Oroz, M.C. Dyskinesias and impulse control disorders in Parkinson's disease: From pathogenesis to potential therapeutic approaches. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2015**, *56*, 294–314, doi:10.1016/j.neubiorev.2015.07.010.
185. Wylie, S.A.; Claassen, D.O.; Huizenga, H.M.; Schewel, K.D.; Ridderinkhof, K.R.; Bashore, T.R.; Wildenberg, W.P.M.V.D. Dopamine Agonists and the Suppression of Impulsive Motor Actions in Parkinson Disease. *J. Cogn. Neurosci.* **2012**, *24*, 1709–1724, doi:10.1162/jocn_a_00241.
186. Manza, P.; Amandola, M.; Tatineni, V.; Li, C.-S.R.; Leung, H.-C. Response inhibition in Parkinson's disease: A meta-analysis of dopaminergic medication and disease duration effects. *Npj Park. Dis.* **2017**, *3*, 1–10, doi:10.1038/s41531-017-0024-2.
187. Borchert, R.J.; Rittman, T.; Passamonti, L.; Ye, Z.; Sami, S.; Jones, S.P.; Nombela, C.; Vázquez Rodríguez, P.; Vatansever, D.; Rae, C.; et al. Atomoxetine Enhances Connectivity of Prefrontal Networks in Parkinson's Disease. *Neuropsychopharmacology* **2016**, *41*, 2171–2177, doi:10.1038/npp.2016.18.
188. Al-Khaled, M.; Heldmann, M.; Bolstorff, I.; Hagenah, J.; Münte, T.F. Intertemporal choice in Parkinson's disease and restless legs syndrome. *Park. Relat. Disord.* **2015**, *21*, 1330–1335, doi:10.1016/j.parkreldis.2015.09.026.
189. Milenkova, M.; Mohammadi, B.; Kollewe, K.; Schrader, C.; Fellbrich, A.; Wittfoth, M.; Dengler, R.; Münte, T.F. Intertemporal choice in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2011**, *26*, 2004–2010, doi:10.1002/mds.23756.
190. Costa, F.H.D.R.; Averbeck, B.; O'Sullivan, S.S.; Vincent, M.B.; Rosso, A.L.; Lees, A.J.; Djamshidian, A. Jumping to conclusions in untreated patients with Parkinson's disease. *Neuropsychology* **2016**, *85*, 19–23, doi:10.1016/j.neuropsychologia.2016.03.002.
191. Scott, W.A. Cognitive Complexity and Cognitive Flexibility. *Sociometry* **1962**, *25*, 405, doi:10.2307/2785779.
192. Tyrer, P.J.; Slifstein, M.; Verster, J.C.; Fromme, K.; Patel, A.B.; Hahn, B.; Allgulander, C.; Cuello, A.C.; Hernandez, G.; Shizgal, P.; et al. Behavioral Flexibility: Attentional Shifting, Rule Switching and Response Reversal. *Encycl. Psychopharmacol.* **2010**, 209–213, doi:10.1007/978-3-540-68706-1_340.
193. Eklanker, M.; Efeenstra, M.; Edenys, D. Dopaminergic control of cognitive flexibility in humans and animals. *Front. Neurosci.* **2013**, *7*, 201, doi:10.3389/fnins.2013.00201.
194. Monchi, O.; Petrides, M.; Doyon, J.; Postuma, R.B.; Worsley, K.; Dagher, A. Neural Bases of Set-Shifting Deficits in Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 702–710, doi:10.1523/jneurosci.4860-03.2004.
195. Scheffels, J.F.; Engels, J.E.; Kalbe, E.; Kessler, J. Screening exekutiver Funktionen bei Parkinson-Patienten durch den neuen Schnelltest PAL-5. *Fortschr. der Neurol. Psychiatr.* **2018**, *86*, 219–225, doi:10.1055/s-0043-122390.
196. Costa, A.; Peppe, A.; Mazzù, I.; Longarzo, M.; Caltagirone, C.; Carlesimo, G.A. Dopamine Treatment and Cognitive Functioning in Individuals with Parkinson's Disease: The "Cognitive Flexibility" Hypothesis Seems to Work. *Behav. Neurol.* **2014**, *2014*, 1–11, doi:10.1155/2014/260896.
197. Lange, F.; Seer, C.; Loens, S.; Wegner, F.; Schrader, C.; Dressler, D.; Dengler, R.; Kopp, B. Neural mechanisms underlying cognitive inflexibility in Parkinson's disease. *Neuropsychology* **2016**, *93*, 142–150, doi:10.1016/j.neuropsychologia.2016.09.021.
198. Cools, R.; Barker, R.; Sahakian, B.J.; Robbins, T.W. l-Dopa medication remediates cognitive inflexibility, but increases impulsivity in patients with Parkinson's disease. *Neuropsychology* **2003**, *41*, 1431–1441, doi:10.1016/s0028-3932(03)00117-9.
199. Emre, M.; Aarsland, D.; Brown, R.; Burn, D.; Duyckaerts, C.; Mizuno, Y.; Broe, G.A.; Cummings, J.; Dickson, D.W.; Gauthier, S.; et al. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Mov. Disord.* **2007**, *22*, 1689–1707, doi:10.1002/mds.21507.

ANNEXE 2 : Projet collaboratif avec l'équipe de Sabrina Boulet et Florence Fauvelle (GIN)

A metabolic biomarker for early stage of Parkinson's disease in patients and animal models

JCI The Journal of Clinical Investigation

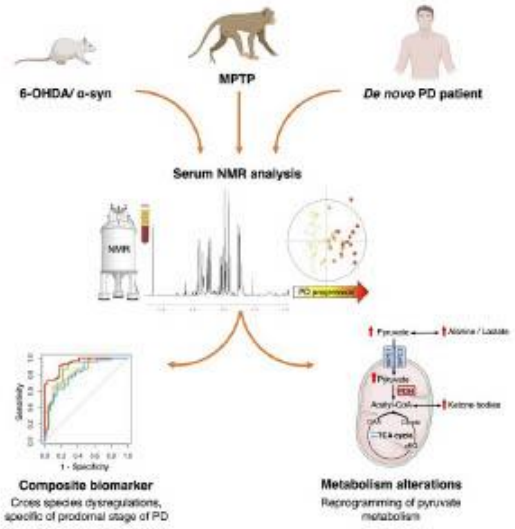
A metabolic biomarker for early stage of Parkinson's disease in patients and animal models

David Mallet, … , Florence Fauvelle, Sabrina Boulet

J Clin Invest. 2021. https://doi.org/10.1172/JCI146400.

Clinical Medicine In-Press Preview Metabolism Neuroscience

Graphical abstract



Find the latest version:

https://jci.me/146400/pdf

A metabolic biomarker for early stage of Parkinson's disease in patients and animal models

David Mallet[1], Thibault Dufourd[1], Mélina Decourt [2], Carole Carcenac[1], Paola Bossù[3], Laure Verlin[5], Pierre Olivier Fernagut[2], Marianne Benoit-Marand [2], Gianfranco Spalletta[6], Emmanuel L Barbier[1,5], Sebastien Carnicella[1], Véronique Sgambato[4], Florence Fauvelle*[1,5], Sabrina Boulet*[1]

* co-senior authors

Affiliation:

[1]Univ. Grenoble Alpes, Inserm, U1216, Grenoble Institut Neurosciences, 38000 Grenoble, France

[2]Université de Poitiers, Inserm U1084, Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France.

[3]Dipartimento di Neurologia clinica e comportamentale, Laboratorio di Neuropsicobiologia Sperimentale, IRCCS Santa Lucia Foundation, Rome, Italy.

[4]CNRS UMR5229, Université de Lyon, Institut des Sciences Cognitives Marc Jeannerod, Bron, France

[5]Univ. Grenoble Alpes, Inserm, US17, CNRS, UMS 3552, CHU Grenoble Alpes, IRMaGe, Grenoble, France

[6]Laboratory of Neuropsychiatry, IRCCS Santa Lucia Foundation, Rome, Italy

Conflict of interest statement
The authors have declared that no conflict of interest exists.

Corresponding author: Sabrina Boulet, Grenoble institute of neurosciences, 31 chemin Fortuné Ferrini, 38700 La Tronche - sabrina.boulet@univ-grenoble-alpes.fr - +33456520670

Abbreviations:

6-OHDA: 6-hydroxydopamine

AUC: Area under the curve

DS: Dorsal striatum

GFP: Green fluorescent protein

HRMAS: High resolution magic angle spinning

MPTP: 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine

Nacc: Nucleus accumbens

NMR: Nuclear magnetic resonance

OPLS: Orthogonal partial least square

OPLS-DA: Orthogonal partial least square discriminant analysis

PD: Parkinson's disease

PDH: Pyruvate dehydrogenase

PDHC: Pyruvate dehydrogenase complex

PDP: Parkinson's disease progression

Pra: Pramipexole

ROC: Receiver operating characteristic

SNc: Substantia nigra pars compacta

TH-IR: Tyrosine hydroxylase immunoreactivity

Veh: Vehicle

Abstract

Background: Care management of Parkinson's disease (PD) patients currently remains symptomatic, mainly because diagnosis relying on the expression of the cardinal motor symptoms is made too late. Earlier detecting PD therefore represents a key step for developing therapies able to delay or slow down its progression.

Methods: We investigated metabolic markers in three different animal models of PD, mimicking different phases of the disease assessed by behavioral and histological evaluation, and in 3 cohorts of *de novo* PD patients and matched controls (n = 129). Serum and brain tissue samples were analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy and data submitted to advanced multivariate statistics.

Results: Our translational strategy reveals common metabolic dysregulations in serum of the different animal models and PD patients. Some of them were mirrored in the tissue samples, possibly reflecting pathophysiological mechanisms associated with PD development. Interestingly, some metabolic dysregulations appeared before motor symptom emergence, and could represent early biomarkers of PD.

Finally, we built a composite biomarker with a combination of 6 metabolites. This biomarker discriminated animals mimicking PD from controls, even from the first, non-motor signs and very interestingly, also discriminated PD patients from healthy subjects.

Conclusion: From our translational study which included three animal models and three *de novo* PD patient cohorts, we propose a promising biomarker exhibiting a high accuracy for *de novo* PD diagnosis and may possibly predict early PD development, before motor symptoms appearance.

Fundings: ANR, DOPALCOMP, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Grenoble Alpes.

Introduction

Parkinson's disease (PD) is one of the most prevalent neurodegenerative disease in the world, affecting about 1% of adults older than 60 years(1). From its onset, the pathology evolves progressively and continuously according to three stages i.e. preclinical, prodromal, and clinical, corresponding respectively to the asymptomatic onset of neurodegeneration, non-motor symptoms, and the onset of motor symptoms(2), finally allowing the diagnosis to be made(3). Unfortunately, the motor symptoms appear when 70-80 % of the nigrostriatal dopamine system is already lost(1), precluding any potential neuroprotective intervention(4). Furthermore, postmortem and histopathological analyses show that the accuracy of current PD diagnosis is only 53% in patients with motor symptoms less than 5 years old(5). In the early phases of PD, the "prodromal" phase is characterized by a panel of non-motor symptoms including neuropsychiatric disorders like apathy, which could schematically be defined as a loss of motivation(6), observed in up to 70% of PD patients(7). Although these symptoms are often premonitory of PD, they are not specific and therefore cannot be considered as predictive criteria. Thus, finding reliable, specific and highly predictive biomarkers of the prodromal stage of the disease is a substantial challenge for the success of PD curative or preventive strategies, and for the development of therapies able to delay or slow down PD progression(8, 9).

PD is a multifactorial disease(10) resulting from a complex interplay between genetic and environmental factors. The metabolome - the global pool of metabolites - reflects the interactions between genotype, lifestyle, diet, drug therapy or environmental exposure(11). Therefore, metabolomics, i.e. metabolome analysis, could represent a powerful tool to elucidate the molecular mechanisms involved in PD and to identify potential predictive biomarkers(12–14). Metabolic alterations have already been described in patients expressing neuropsychiatric

symptoms similar to those observed in the prodromal stage of PD(15). Additionally, it has been shown that the metabolic dysregulation observed in serum can accurately discriminate newly diagnosed PD patients from controls(16). Similarly, alterations in plasma metabolome have been correlated with disease progression in PD patients(17). However, the use of metabolomics as a predictive tool during the prodromal stage remains to be investigated.

To study this prodromal stage, animal models of PD have been largely developed(18), but none is currently able to recapitulate all phenotypic and etiological characteristics of the disease. We therefore investigated potential metabolic changes in three different animal models, two complementary rodent models and one non-human primate model, expressing complementary PD characteristics(19–21). We first used the 6-hydroxydopamine (6-OHDA) model as it represents a gold standard and phenotypically correct model of PD, with each animal stably mimicking a specific stage of the disease including the prodromal phase, without temporal evolution(18, 19). This allows capture of the nature of the disorder in a between-group design, at a given time, similarly to a clinical study comparing PD patients at different stages of the disease. Moreover, it has good predictive value regarding the treatments classically used in clinics, such as dopaminergic agonists(22). We then used a viral vector-induced alpha-synuclein rat model which presents progressive synucleinopathy reflecting the progressive nature of PD in a within-group design. Nonetheless this model does not encompass all the neuropsychiatric symptoms characteristic of the prodromal stage of PD (e.g. apathy)(23). Finally, we used non-human 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) primates which share greater genome sequence identity with humans and significant neuroanatomical similarities (Figure 1). Metabolic changes were analyzed in blood (serum) to find biomarkers that are easily transposable to the clinic, and in specific brain regions differently affected by the neurodegenerative process (i.e. the dorsal striatum (DS) and nucleus accumbens (Nacc)) to potentially associate these biomarkers to the pathophysiological processes involved in PD. We

thereby built a blood biomarker from a combination of metabolites that might be relevant to the prodromal stage. From a translational perspective, and in order to validate the clinical relevance of our PD biomarker candidate, we confronted our pre-clinical results with the metabolomic results of *de novo* PD patients from two different biobanks.

Results

The 6-OHDA rat model allows the study of different stages of PD

Although PD diagnosis in humans relies on a scale which integrates evaluations of both neuropsychiatric and primarily motor symptoms(24), its final confirmation relies on post-mortem histological evaluations which include dopaminergic loss in the nigro-striatal pathway leading to denervation of the DS, and the presence of alpha-synuclein containing Lewy Bodies. In order to categorize each 6-OHDA rat, presenting its own PD phenotype without temporal evolution of its symptoms and its dopaminergic lesions, in a sub-group corresponding to a specific disease-stage (i.e. prodromal-like or clinical-like), we established a score, called the Parkinson's disease progression (PDP) score. The PDP score was based on the same kind of criteria as for patients, i.e. (i) the neuropsychiatric component, evaluated by operant self-administration performances (motivation); (ii) fine motor capacities, evaluated by stepping test performances; (iii) the extent of the DS lesion, evaluated by a postmortem histological analysis. Based on this score, we assigned the PD animals to two categories, namely prodromal-like or clinical-like. These terms will be used throughout the study (Figure 2A).

Tyrosine hydroxylase immunoreactivity (TH-IR) revealed that bilateral 6-OHDA injection in the substantia nigra pars compacta (SNc) led to a partial nigrostriatal dopaminergic lesion resulting in dopaminergic denervation in the DS and, to a lesser extent, in the Nacc (Figure 2B and 2C). Indeed, TH-IR quantification showed a significant loss (62.2%) of dopaminergic projections in the DS of prodromal-like animals compared to shams, with a greater loss in

clinical-like animals (71.96%). A slight loss of TH-IR was also observed in the Nacc of 6-OHDA animals (Figure 2C). This denervation pattern preserves learning and global ambulatory activity of animals(19), allowing study of motivational processes without the potential bias related to locomotor alterations often present in PD animal models (Figure S1)(19, 22). Motivation was measured by the sucrose self-administration procedure. Prior to surgery, rats learned the motivation task and reached their maximum performance level (about 80 rewards per one-hour session). During the post-surgery phase (i.e. after surgery), the performances of sham rats remained stable, while those of 6-OHDA animals dramatically decreased (30 to 66%) (Figure 2D).

Regarding fine motor skills, the 6-OHDA infusion did not reduce the number of adjusting steps, except in the clinical-like group where it strongly decreased (Figure 2E).

We then investigated the metabolic dysregulations of each animal in association with its PDP score, i.e. its PD stage.

Serum metabolic signature co-evolves with PD progression in 6-OHDA rats

Figure 3A illustrates a typical proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) spectrum of 6-OHDA rat serum, acquired at ultra-high magnetic field (23T). This allowed the identification of approximately 50 metabolites (Table S2).

The score plot of the orthogonal partial least squares (OPLS) analysis, performed with the NMR data and PDP scores for each animal (i.e. the "6-OHDA serum OPLS model") shows a clear gradation of dot colors from "cold" (white) on the left to "hot" (red) on the right. This indicates that the metabolic profile co-evolves with disease progression (Figure 3B).

The animals were assigned to different disease-stage groups afterwards, according to their individual PDP score, in order to mimic a clinical approach (see methods section). Among the 14 metabolites with a correlation with PDP score ≥ 0.5 in the OPLS (Figure 3C), we found that

10 were significantly modified in at least one PD-like group compared to sham animals (Figure 3D): alanine, betaine, β-hydroxybutyrate (BHB), dimethyl sulfone (DMSO2), glycine, lactate, pyruvate, threonine, serine, and valine. These metabolites did not evolve identically with disease progression. First, 6 metabolites were significantly modified in the prodromal-like stage: alanine, BHB, glycine, lactate and serine increased, while betaine decreased. Their levels then remained stable in the clinical-like stage. Secondly, pyruvate progressively increased as PD progressed. Finally, 3 metabolites were only modified at the clinical-like stage: DMSO2 and valine decreased, while threonine increased (Figure 3D).

Thus, metabolic dysregulations observed in the sera of 6-OHDA rats could be highly predictive of each PD like stage.

Brain tissue metabolic profiles in the 6-OHDA rat model reflect dysregulations in serum

Proton high resolution magic angle spinning (^{1}H HRMAS) NMR spectroscopy was used to investigate the metabolic profiles of unprocessed brain biopsies (DS and Nacc) from 6-OHDA animals, sampled at the same level as the sections used for histology to quantify dopaminergic denervation. A representative spectrum of a DS biopsy from a 6-OHDA rat is shown in Figure 4A, with labeling of assigned and quantified metabolites. Regarding DS samples, the OPLS analysis (i.e. the "6-OHDA DS OPLS model") revealed that cerebral metabolic profile co-evolved with individual PDP scores, as in serum (Figure 4B). The significant dysregulations of key metabolites are illustrated in Figure 4C. Compared to sham animals, one metabolite, taurine, was significantly increased in the prodromal-like group, while four metabolites were significantly modified in the clinical-like group: alanine, lactate and phosphocreatine and creatine increased and glutamate decreased.

The OPLS analysis of Nacc data (i.e. the "6-OHDA Nacc OPLS model") showed the same trend, although less clearly (Figure 4D). The univariate statistics revealed a significant increase of

alanine and lactate in the prodromal-like group, whereas the clinical-like group was characterized by a significant increase of phosphocholine (PC) and a decrease of choline, compared to sham animals (Figure 4E).

These experiments show that both alanine and lactate exhibit similar dysregulation between serum and brain.

Pramipexole partially reverses serum and tissue metabolic dysregulations induced by 6-OHDA

We further evaluated whether the serum metabolic profile could be influenced by the use of Pramipexole (Pra), a widely used dopaminergic treatment in newly diagnosed PD patients and known to improve only neuropsychiatric symptoms at low doses in animal models(22)(25). As expected, after 15 days of sub-chronic administration of Pra, the deficits in the self-administration task measured in 6-OHDA rats were fully and partially reversed in prodromal-like and clinical-like animals, respectively. In contrast, the performances of rats treated with vehicle (Veh) did not improve (Figure 5A).

Concerning the serum metabolic profiles, to simultaneously visualize the effect of the 6-OHDA lesion and the treatment, the metabolite levels of prodromal-like animals were normalized to their levels in sham animals (lesion effect, full bar) or in lesioned animals given Veh (Pra effect, hatched bar). In prodromal-like animals, the alanine, BHB and pyruvate levels increased after lesion (Figure 3D and 5B, full bar) and were significantly decreased by Pra (Figure 5B, hatched bar), while betaine decreased after lesion, but increased in Pra animals. In the clinical-like group, metabolic reversion induced by Pra was very limited and concerned only alanine. This is consistent with the modest behavioral reversion observed (slight effect on the self-administration task and no effect on the motor task(25) (data not shown).

In contrast to serum, for which several longitudinal samples could be taken in the same animal, brain samples could only be collected at the end of the experiment, when all animals had received chronic Pra treatment. Therefore, sham animals treated with Veh were used to normalize the metabolite levels. As in serum, Pra administration caused a decrease of some metabolites previously increased by 6-OHDA lesion. In prodromal-like animals, this was observed for alanine in DS and Nacc, and for lactate in Nacc (Figure 5C). In the clinical-like group, the alanine level after Pra evolved similarly to that of prodromal-like animals, and lactate was significantly modified in DS. Furthermore, we observed a reversion of phosphocreatine and creatine and phosphocholine levels in DS and Nacc respectively (Figure 5D).

Overall, the 6-OHDA rat model shows significant alterations in both the serum and tissue metabolomes, associated with the progression of the disease and already detectable in the prodromal-like stage. Moreover, some of these alterations are partially reversed by chronic administration of Pra, which also reversed neuropsychiatric deficits.

In order to assess the specificity of the biomarkers found in the 6-OHDA model regarding progression and pathophysiological mechanisms of the disease, we extended the serum metabolomics study to two other PD animal models.

6-OHDA rats, alpha-synuclein rats and MPTP monkeys share common serum metabolic perturbations

First, using the same rat strain (Sprague Dawley) as in the 6-OHDA study, we selected an alpha synuclein rat model, in which the overexpression of human A53T alpha synuclein is induced in the SNc using adeno-associated viral vectors (AAV). This targeted expression leads to progressive neurodegeneration in the targeted region, allowing the follow-up of the different stages of PD in the same animal(20), namely a prodromal-like stage approximately 3 weeks after injection, and a clinical-like stage, after approximately 10 weeks, characterized by

degeneration of the nigrostriatal pathway accompanied by motor dysfunctions reminiscent of the impairments observed in the clinical phase of PD (Figure S2).

The OPLS-DA was used to evaluate whether a specific metabolic signature was associated with each disease-stage (i.e. the "alpha synuclein serum OPLS-DA model"). Sham animals (i.e. infected with Green Fluorescent Protein (GFP)) exhibited no difference between the three time points 0, 3 and 10 weeks post injection (Figure S3), while for alpha-synuclein animals, the 3 time points were clearly separated (Figure 6A), indicating that each stage was characterized by a specific metabolic signature. In particular, an increase of BHB, glycine, pyruvate, serine and a decrease of betaine were observed over time, as in 6-OHDA rats. Moreover, in the alpha-synuclein model only, myo-inositol decreased while acetoacetate and creatine increased (Figure 6B).

These results revealed similarities in metabolic disturbances for two different PD rat models, associated with disease progression. To further investigate, we performed metabolic analysis in a non-human primate PD model, the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) model, which mimics the clinical stage of PD and presents a greater homology with humans(26).

The OPLS-DA model presented in Figure 6C (i.e. the "MPTP serum OPLS-DA model") showed clear discrimination between sham and MPTP groups. On the one hand, non-human MPTP primates presented a significant increase of lactate and a decrease of valine, as in 6-OHDA rats. On the other hand, acetoacetate and creatine significantly increased, as in the alpha-synuclein rats. Finally, we observed a significant increase of BHB and pyruvate, and a significant decrease of betaine, as in both rodent models (Figure 6D).

Taken together, these results reveal common metabolic alterations associated with PD progression in three different animal models, performed in two different species. To further validate the clinical relevance of these markers, we compared these preclinical results to those obtained in PD patient samples.

Serum metabolic signatures of de novo PD patients and PD animal models have similarities

Each cohort was first analyzed individually, i.e. each *de novo* PD patient (n = 19/21 NIH/Italy) compared to an age and sex matched control group (n = 30/23 NIH/Italy). Except for some metabolites, such as alanine (data not shown), the observed variations were consistent between the 2 cohorts, as shown in Figure 7. For instance, we observed a marginal increase of BHB and acetoacetate in Italian PD patients (+28.3%, $p = 0.24$ and +17.2%, $p = 0.05$ respectively) which was even higher in NIH PD patients (+103.2%, $p = 0.09$ and +28.1%, $p = 0.12$).

To increase statistical power, the two cohorts were pooled (n = 42 PD, n = 53 control). Nevertheless, as the data variance was mostly affected by sample origin, i.e Italian or NIH, independantly of the case (PD or control), we performed a two-way ANOVA with i) the origin of the cohort and ii) the case (control or PD) as factors to extract PD information only. Figure 7 presents the metabolites significant for the case factor only, without interaction between the cohort origin and the case. The increase of BHB and acetoacetate observed in each cohort became significant when pooled. Betaine was significantly decreased in the serum of PD patients, as in the alpha synuclein and MPTP models. Moreover, valine significantly decreased as observed in the 6-OHDA rat model. Finally, a trend towards a decrease of leucine was noted. Moreover, the analysis of a subset of serum samples from other *de novo* PD patients treated with Pra 0.5-4.5 mg/day (n = 9) revealed a tendency towards normalization of BHB and betaine levels compared to non-treated PD patients, as observed in 6-OHDA rats (Figure S4).

Serum metabolites as putative composite biomarker for early diagnosis of PD

We next assessed the diagnostic value of the metabolites found to discriminate prodromal-like animals from sham, or control from *de novo* PD patients. We developed multiple logistic regression models based on the metabolites significantly modified in at least three of the four groups studied (6-OHDA, Alpha synuclein, MPTP, and human), i.e. acetoacetate, betaine, creatine, BHB, pyruvate and valine. We tested each metabolite individually and all possible combinations thereof, and pooled prodromal-like animals from the 6-OHDA and alpha synuclein models.

The best regression model, as evaluated by the receiver operating characteristic (ROC) curves, retained all six metabolites, using a regression based on the following predictive algorithm ($p = 1.107 \times 10^{-15}$):

$$logit(P) = log(P/(1 - P))$$

$$= -54.72 + 0.49\ BHB + 0.39\ Pyruvate - 0.42\ Valine$$

$$+ 0.06\ Acetoacetate + 0.52\ Creatine - 0.10\ Betaine$$

The ROC curve had an area under the curve (AUC) of 0.936. By applying the optimal threshold of 0.618 (sensitivity 0.853, specificity 0.880, Figure 8A), we found an accuracy of 92.5%, indicating that 37 of the 40 animals included in the validation cohort (clinical-like rats and all primates), were accurately predicted.

Concerning human samples, we used the NIH cohort to train the model since i) this is the largest cohort and ii) it includes only recently diagnosed patients (*de novo* patients diagnosed ≤ 1 year), in contrast to the Italian cohort which includes patients with PD duration ≤ 3 years, defined from symptom onset to diagnosis. Again, like with animal data, the best regression model retained all six metabolites and was based on the following predictive algorithm ($p: 1.95 \times 10^{-4}$):

$$logit(P) = log(P/(1 - P))$$

$$= -42.78 + 0.16\ BHB - 3.31\ Pyruvate - 12.01\ Valine$$

+ 7.06 Acetoacetate + 3.14 Creatine - 7.79 Betaine

The subsequent ROC curve had an AUC of 0.87. The optimum threshold was 0.279, and corresponding sensitivity and specificity were respectively 0.952 and 0.714 (Figure 8B, red curve). Using this classifier, the subjects of Italian cohort were predicted with 82.6% of accuracy, with 17.4% of false negatives. Consistently, the ROC curve built with the same classifier and Italian cohort had an AUC of 0.83 (See Figure 8B, blue curve). To perform a first prospective-like validation, samples from a second set of *de novo* PD patients from Italy (n = 36), obtained after all the above-described analyses, were submitted to the same NMR-based metabolomics workflow and 84.6% of them were well classified as PD.

Finally, a multiple logistic regression was performed using serum data from all PD animals (prodromal-like and clinical-like) from all models using the same six metabolites and was evaluated with the subsequent ROC curve presenting an AUC of 0.954 (Figure S5) and an accuracy of 88,9%.

Altogether, the accuracy of the composite biomarker developed from the same six serum metabolites was at least 82.6% whatever the species.

Discussion

Late and inaccurate diagnosis of PD(3, 27) occurs if patient management and therapies are too restricted. Therapies remain only symptomatic and become ineffective after several years. Although many molecules have been tested, there are still no agents or neuroprotective therapies to efficiently slow down, stop or reverse neurodegeneration in PD patients, despite promising theoretical or preclinical evidence, partly because applied too late(28–30). Thus, finding easily measurable and highly predictive biomarkers of the prodromal phase of the disease appears as

a milestone for the acceleration of curative therapeutic development and improvement of patient care.

In the present study, using NMR-based metabolomic approaches, we observed alterations of the metabolome in serum and tissue of different animal models mimicking the different stages of PD, including the prodromal phase. NMR provides highly reproducible results and requires minimal sample preparation, which is well compatible with multi-centric studies and clinical routines. Concerning tissue samples, despite the absence of some metabolites like pyruvate and citrate, mainly due to post-mortem effects (31), we were able to confirm dysregulation observed in serum, demonstrating that blood could reflect central dysfunction(32), at least partially. In addition, the present multi-model approach overcame the intrinsic limitations of each animal model and increased the incomplete predictive value of each model alone, revealing a characteristic set of dysregulated metabolites as a potential biomarker. Finally, we extended the study to human serum samples from two biobanks to validate the clinical relevance of our biomarker of PD.

We have demonstrated that the profiles of 6 metabolites, acetoacetate, betaine, BHB, creatine, pyruvate, valine, combined together, could constitute an accurate PD composite biomarker, for animal models and for human samples. The use of this biomarker allowed us to well discriminate NIH *de novo* PD patients from healthy controls (AUC = 0.88) and Italian *de novo* PD patients from healthy controls (first cohort) to a slightly lesser degree however (AUC = 0.83). The divergent pre-analytical procedure applied for serum sampling in the two cohorts, (i.e. tubes used, sample processing…) may represent a major source of experimental variability which could explain this difference(33, 34). Moreover, it should be noted that the human samples were collected under a very strict and standardized experimental protocol but which was not metabolomics-designed. This reflects the power of metabolomics and the robustness

of our results, and supports the view that serum biomarkers, easier to use and less invasive than imaging methods, present a similar efficiency(35). Moreover, additional *de novo* PD patients (Second Italian cohort), analyzed one year later, were well classified for 84.6 % of them, which clearly demonstrates the robustness of NMR-based metabolomics and provides an initial prospective-like validation of the composite biomarker.

Interestingly, the dysregulation of three among the six metabolites composing the biomarker, i.e. betaine, BHB, and pyruvate, were partially corrected by chronic treatment with Pra in prodromal-like 6-OHDA rats, as well as their motivational deficits. This partial pharmacological reversion was also observed in a subset of *de novo* patients for betaine and BHB. Pra classically used in PD patients to improve symptoms and as dopaminergic agonist, could result in changes in dopaminergic transmission, the alteration of which representing a major hallmark of the PD pathophysiology. Therefore, this partial pharmacological reversion observed both in animals and in *de novo* patients, reinforces the specificity of our biomarker regarding changes in dopaminergic transmission, relevantly to PD pathophysiology, and demonstrates the power of metabolomics for identifying robust biomarkers, potentially monitoring therapeutic outcomes, in a less invasive and more convenient way than the current methods such as the DAT scan(36).

The metabolic dysregulations reported in the present study could provide some clues to the mechanisms impacted during PD progression. In the 6-OHDA model, the gradation of metabolic profiles was clearly associated with the evolution of the PDP score even from very early on. In particular, glycolytic (e.g. pyruvate) and associated metabolites (e.g. lactate) were increased. Interestingly, these increases were also observed in the alpha synuclein and primate models, except for lactate in alpha-synuclein rats (Figure 9). Importantly, lactate increase was also observed in DS and Nacc and may reflect upregulation of the activity of the astrocyte-neuron lactate shuttle(37), known to play a major role in central nervous system homeostasis

and energy metabolism(39,40), especially in energy production. Noteworthy, alanine, intrinsically linked to this shuttle(40), was also increased in sera and tissues of 6-OHDA animals.

Serine and glycine, possibly deriving from the first steps of glycolysis(41), were increased in the two rat models studied. They have been described to influence mitochondrial dynamics and homeostasis(42), and are furthermore co-agonists of NMDA receptors(43). Their increase may support glutamatergic hyperactivity, often fundamental to neurodegeneration(44, 45). Betaine and creatine, that can derive from glycine(46, 47), were also dysregulated but in opposite ways, i.e. betaine was decreased in all animal models, whereas creatine was increased in alpha synuclein and primate models. Both may attenuate and protect against oxidative stress(48–51) that represents the primary cause of neuronal death in PD. In the literature, previous metabolomics studies have reported modifications of glycolysis in brain and blood samples of PD animal models(52–54). Dysregulated glycolysis has also been described in animal models expressing neuropsychiatric symptoms similar to those found in the early stages of PD, such as depression or anxiety(55, 56). Together, these observations place glycolysis as a central actor(56, 57) of dysregulations occurring during PD processes, and possibly at the first stages of the disease. Surprisingly, in our study the increase of these glycolytic or glycolytic-linked metabolites (pyruvate, alanine, lactate, glycine, serine) was not associated with a rise in citrate, the first metabolite of Krebs cycle (TCA) (other metabolites of TCA cycle were not observable with the method used). These observations could suggest decoupling of glycolysis from the TCA cycle, leading to an accumulation of glycolytic metabolites. This is in agreement with the increase of ketone bodies (BHB, acetoacetate) in all animal models, which could be used as an alternative fuel to maintain TCA cycle functioning (Figure 9). Ketone bodies could increase mitochondrial ATP production, and support antioxidant defenses(58). Of note, MPTP and 6-OHDA used in animal models are known to exert their cytotoxic activities by depleting

mitochondrial ATP in the brain (59). As such, an increase in ATP production in PD mice could protect them from developing motor symptoms(60). Previous studies describing an increase of ketone bodies in blood of PD patients(61) have suggested their possible neuroprotective impact(58, 62, 63). Interestingly, high levels of ketone bodies have been associated with an inhibition of the pyruvate dehydrogenase complex (PDHC)(64), an enzymatic complex located in mitochondria and responsible for the transformation of pyruvate to acetyl-CoA, a crucial step between glycolysis and the TCA cycle. Such inhibition could explain the accumulation of pyruvate and associated metabolites observed in the present study in animal models(65, 66). In human blood however, a non-significant decrease of pyruvate level was observed, which could account for the negative coefficient found in the regression for pyruvate. This discrepancy, between animal models and humans, may have different origins, either experimental or metabolic. For instance, metabolic alterations in the blood could only partially reflect, and with some difference between animal models and humans, the metabolic alterations occurring in the brain regions affected in PD. Further investigations on brain tissues will be of high interest to determine exactly how it may be implicated in the pathophysiology of PD. However, the downregulation of PDHC gene expression observed in plasma of PD patients(67), as well as a decrease in PDH level in the putamen and SNc(68) are consistent with pyruvate levels alteration and with our work. In addition, it has been shown that the mitochondrial pyruvate carrier, an integral part of the shift from glycolysis to TCA cycle by allowing the transport of pyruvate into the mitochondria, could play an important role in neuronal death and thus represent a possible target to attenuate neurodegeneration(69–71). These two intermediaries between glycolysis and the TCA cycle may represent central players in the pathophysiological mechanisms underlying PD and need further investigation.

In summary, our study reports common serum metabolic alterations in three animal models mimicking PD, despite coming from different cohorts and species, as early as the prodromal-

like phase. Consequently, this common signature is likely to reflect specific alterations linked to PD physiopathology. This provides some clues about the mechanisms involved during PD progression, which now need to be more deeply investigated. In particular, preclinical models displaying a slowly progressive pathology such as the intrastriatal injection of preformed fibrils of α-syn(72) could be useful to further study the progression of metabolic alterations upon initiation of α-syn seeding and to identify underlying mechanisms. Besides providing clues for deeper investigation of metabolic alterations in animal models, we also found metabolic dysregulations in sera of *de novo* PD patients (i.e. clinical phase) coming from two biobanks, not specifically designed for metabolomics. Logistic regression, using the same metabolites as those used for animals, enabled very adequate discrimination between control and PD patients in those two cohorts from different geographic origins. A more extended study is now necessary, in particular with prodromal patients.

Furthermore, although our study was performed in PD animal models and PD patients, strongly supporting the specificity of our biomarker for this pathology compared to healthy subjects, we cannot completely exclude that the biomarker may reflect metabolic dysfunctions commonly encountered in neurodegenerative diseases, or even more in neurodegenerative disorders with parkinsonian symptoms such as multiple system atrophy or progressive supranuclear palsy, sometimes mistaken for PD. Thus, with the perspective of clinical application, it would appear necessary to test the ability of our biomarker to discriminate these disorders from PD and thus demonstrate its specificity and potential for the differential diagnosis of parkinsonian syndromes.

Finally, the variations observed in the three animal models suggest possible modification in energy metabolism, especially from glycolysis to the TCA cycle. Even if this hypothesis needs additional evidence, we suggest that this alteration may be a crucial point that could be targeted to develop curative PD care.

Altogether, our multi-model and translational study demonstrates the usefulness and reproducibility of untargeted metabolomics as a non-invasive approach to search for biomarkers of PD in animal models. The approach seems particularly promising for use in PD patients as serum is easily accessible and the biomarker may be relevant even at early stages of the disease when other methods fail.

Material and methods

See Supplementary Material for details regarding surgery, behavioral test, immunochemistry processing and quantification, and NMR experiments.

Flow chart:

Figure 1 illustrates a flow chart of the whole protocol for the animal models. The rats of the first cohort (Figure 1A) were trained for 2 weeks for self-administration until they reached stable performances and were submitted to a stepping test before receiving bilateral intracerebral injection of 6-OHDA (n = 29) or NaCl (n = 22) in the SNc. After recovery and stabilization of the lesion (around 3 weeks), self-administration was resumed for one week, and the stepping test was repeated to monitor the evolution of performances, before submitting each group (6-OHDA and NaCl) to 2 weeks of daily injections of Pra 0.2 mg/kg (6-OHDA Pra n = 15; NaCl Pra n = 11) or NaCl 0.09% (6-OHDA NaCl n = 14; NaCl NaCl n = 11). Self-administration was continued throughout Pra treatment and the stepping test was performed for the last time at the end. Serum samples were collected after surgery, after stabilization of self-administration performances and at the end of Pra treatment. Brains were collected at the end of the behavioral procedure, snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C before being processed for histology and 1H HRMAS NMR experiments.

The second cohort of rats (Figure 1B) received intracerebral infusion of AAV-hA53Tα-syn (n = 12) or AAV-GFP (n = 12) in the SNc. Serum samples were taken longitudinally during the study, before and 3 and 10 weeks after AAV infusion.

Monkeys (n = 8) received intramuscular MPTP injections (0.3 to 0.5 mg/kg) every 4 to 5 days over 3 weeks(79). Repeated administration of low MPTP doses was used to mimic a moderate stage, with slow development of the disease and triggering a moderate dopaminergic lesion. Serum samples were collected at the start of the experiment and after the monkeys had reached a stable parkinsonian state (Figure 1C).

All serum samples were analyzed by 1H NMR at 950 MHz and brain samples were submitted to 1H HRMAS NMR at 500 MHz.

- Animals

Rats: Experiments were performed on adult male Sprague-Dawley rats (Janvier, Le Genest-Saint-Isle, France), weighing approximately 300 g (7 weeks old) at the beginning of the experiment. They were housed under standard laboratory and ethical conditions with reversed light-dark cycle (12 h/light/dark cycle, with lights ON at 7 p.m.) and with food and water available *ad libitum*.

Monkey: Experiments were performed on adult male *Macaca fascicularis* provided by Tamarinier Ltee, Mauritius Island, weighing between 5 and 8 kg, aged between 3 and 5 years and housed under standard conditions (12 h/light/dark cycle; 23°C; 50% humidity).

- Surgery

6-OHDA bilateral injection: As previously described(19, 22), bilateral injection of 2.3 µl 6-OHDA (3 mg/ml) or NaCl 0.9% (sham) were performed in the SNc (Anteroposteriority (AP = -5.4 mm / lateral (L) = +/- 1.8 mm / dorsoventral (V) = -8.1 mm).

Alpha synuclein bilateral injection: As previously described(20), bilateral injections of AAV-hA53Tα-syn (1µl-7.0×10^{12} vg/ml) or AAV-GFP (7.0×10^{12} vg/ml, sham animals) were performed in the SNc (AP = -5.1 mm and -5.6 mm / L = +/- 2.2 mm / V = 8 mm from bregma)

- Behavioral assessment

6-OHDA rats: Rats were submitted to 2 behavioral tests, 3 weeks after surgery, when the 6-OHDA lesion should be stabilized(73).

Operant self-administration (motivational component): Rats were trained to self-administer a 2.5% sucrose solution in operating chambers (Med Associates, St Albans, VT, USA) containing an active, reinforced lever, in which a press results in the delivery of 0.2 ml of sucrose solution associated with a light stimulus, and an inactive lever, unreinforced, for which a press causes neither delivery of sucrose nor light stimulus.

Stepping test (motor component): Animals, maintained by the posterior third of their body, were moved over a length of 90 cm by a rectilinear and regular movement from left to right and inversely, along a table with a smooth surface. The number of forelimb adjustments during displacement was counted(19).

MPTP monkeys: The severity of parkinsonian state was evaluated using a rating scale taking into account classical motor symptoms (bradykinesia, rigidity, tremor, freezing, posture and arm posture), spontaneous activities (arm movements, spontaneous eye movements, and home cage activity) and other activities (vocalization, triggered eye movements, and feeding) (74).

- Histology: TH-immunostaining and quantification of denervation in 6-OHDA and alpha-synuclein rats, and human α-synuclein expression in alpha-synuclein rats

Brain sampling: Rats were sacrificed by decapitation 1 day after the last session of sucrose self-administration and 1 hour after the last Pra or placebo injection (i.e., 6 weeks after 6-OHDA infusion or saline). Brains were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C. They were then processed at -20 °C for both immunostaining and HRMAS NMR to further match metabolomics and immunostaining-based lesions. For HRMAS NMR, thick sections of DS and Nacc tissue were pooled into disposable inserts and kept at -80°C until NMR analysis. For immunostaining, 14 µm coronal sections of striatal levels of interest(19) were sampled and stored at -20 °C. TH-immunostaining and quantification of denervation were then carried out as previously described and detailed in supporting information (20, 23).

Human α-synuclein expression levels were revealed in the striatum by immunohistochemistry (see supplemental information for protocol details).

- PD progression score in 6-OHDA model

In order to assign each 6-OHDA rat to a group mimicking a disease-stage, as in clinics, we developed a score, referred to as the "PDP score", which combined 3 criteria: 1) evaluation of neuropsychiatric symptoms (i.e. apathetic like behavior), 2) evaluation of motor symptoms (i.e. fine motor deficit), both used in clinics, and 3) level of dopaminergic denervation in DS, only available *post-mortem* in patients. Each criterion ranked from 0 to 4 in integer values, as illustrated in Figure 2A. They were summed to produce the individual PDP score, ranging therefore from 0 to 12.

For the evaluation of behavioral deficits in the self-administration and stepping tests (criteria 1 and 2, respectively), we compared the performances of each animal before and after surgery. A value of 0 for each of these two criteria corresponds to an absence of deficit, or to a deficit

lower than 30%, i.e. the normal daily variability in the tests used. The following subcategories were set as: 1 = small deficit (30-50%); 2 = medium symptoms (50-70%); 3 = strong symptoms (70-90%); 4 = large or total deficit (> 90%).

Considering that motor symptoms appear after 70% of striatal dopaminergic neurons loss in PD patients, the value for dopaminergic denervation in the DS (criterion 3) was used as the limit between the prodromal-like and the clinical-like stages.

Regarding the PDP score obtained by addition of the values of the 3 criteria, 6-OHDA rats were classified as: 1) asymptomatic with weak lesions but no behavioral symptom ($1 \leq$ PDP score ≤ 2), 2) prodromal-like i.e. presenting only neuropsychiatric disorders and limited DS lesion ($3 \leq$ PDP score ≤ 7) and 3), clinical-like i.e. presenting neuropsychiatric disorders, motor symptoms and widespread DS lesion ($8 \leq$ PDP score ≤ 12). All shams scored 0, in spite of daily variability as for PD-like animals (see above).

Considering the low number of asymptomatic animals and the fact that they do not present any clinical relevance, they were excluded from the study.

- Human cohorts

Blood samples were obtained from *de novo* PD patients and matched-control subjects from the Parkinson's Disease Biomarkers Program (PDBP) Consortium, supported by the National Institute of Neurological Disorders and Stroke at the National Institutes of Health (NIH-USA) and from Santa Lucia Fondation (Rome, Italy) cohorts.

Inclusion criteria for NIH patients included recent diagnosis (*de novo* diagnosed ≤ 1 year) of PD according to the criteria of the Movement Disorders Society (MDS). For the Italian cohort, patients reporting symptoms ≤ 3 years, according to MDS were included (*de novo* patients≤ 3 years). Thus, in all cohorts, patients had not received any anti-parkinsonian treatment at time of inclusion and sampling, presented no dementia or active psychiatric disorders nor any other medical condition that could compromise the study. Inclusion criteria for controls were absence

of neurological diseases, no family history of movement disorders, and no specific medical conditions.

The cohort from NIH included 19 *de novo* PD patients without antiparkinsonian treatment, and 30 age- and sex-matched controls. The Santa Lucia cohort (First Italian cohort) included 21 *de novo* PD patients and 23 age- and sex-matched controls. A second set of 36 *de novo* PD patients from Santa Lucia was provided later to evaluate, in a prospective-like approach, the robustness of our method. All clinical and demographic information collected are summarized in supplemental Table 1 (NIH and first Italian cohorts) and in supplemental Table 3 (Second Italian cohort).

Moreover, 9 additional PD patients treated with Pra were also submitted to NMR analysis but not used for statistical modelling.

- NMR experiments

^{1}H HRMAS NMR of 6-OHDA rat brain samples

Data acquisition: All HRMAS NMR spectra were acquired, as previously described(75), on a Bruker (Billerica, USA) Advance III spectrometer (IRMaGe, CEA Grenoble, France) at 500 MHz. 1D spectra were acquired using a Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) pulse sequence on spinning samples at 4 KHz and at T = 4°C.

Data processing: Quantification was performed with jMRUI software using quantitation based on a quantum estimation (QUEST) procedure(76). This procedure requires the use of a metabolite database and a complete assignment of spectra. Nineteen metabolites were assigned and quantified (see figure 4A): acetate, alanine, ascorbate, choline, γ-aminobutyrate (GABA), glutamate, glutamine, glycine, glycerophosphocholine, glutathion, lactate, myo-inositol, *N*-acetylaspartate, phosphocholine, phosphocreatine and creatine, phosphoethanolamine, scyllo-

inositol, and taurine. The amplitude of metabolite calculated by QUEST was normalized to the total spectrum signal. CRLB were calculated for each metabolite as estimates of the standard deviation of the fit.

^{1}H NMR of serum

Serum sampling: For rats, blood was collected under gas anesthesia with isoflurane (2%) from the caudal vein after 2 hours of fasting, and was stored in ice before being rapidly centrifuged at 1600g for 15 min at 4° C. The supernatant serum was removed and stored at -80°C until the day of NMR. The time before freezing never exceeded 30 min(77).

For monkeys, blood was collected under anaesthesia (atropine 0.05 mg/kg i.m. followed by zoletil 15 mg/kg i.m.) from the saphenous vein after a 12-hour fast and submitted to the same protocol as rat blood.

For humans, blood was collected preferably after 8 hours of fasting, or, if fasting was not feasible, after at least 8 hours on a low-fat diet, stored at room temperature for 15 to 60 min before being centrifuged between 1200 and 1500 g at 4°C during 10 to 15 min. The supernatant serum was then removed and stored at -80 °C.

The day of NMR experiments, samples were slowly thawed on ice, then quickly centrifuged to eliminate possible cryoprecipitates. NMR tubes were filled with 60 µl serum sample and 120 µl phosphate buffer saline (PBS) 0.1 M in D_2O (50% of D_2O, pH = 7.4), and stored at 4 °C until NMR acquisition.

Data acquisition: All animal and human serum samples were submitted to the same NMR protocol. ^{1}H NMR experiments were performed on a Bruker Advance III NMR spectrometer at 950 MHz (IBS, Grenoble, France) using a cryo-probe with a 3 mm tube holder. One-dimension spectra were systematically recorded using a CPMG pulse sequence.

Data processing: The free induction decays were Fourier transformed and manually phased with the Bruker software Topspin version 3.6.2. Then, further pre-processing steps (baseline correction, alignment, bucketing) were performed using NMRProcFlow v1.2 online (http://nmrprocflow.org).The spectra were segmented in 0.001 ppm buckets between 0 and 10 ppm, with exclusion of residual water peaks, macromolecule signals and other regions corresponding to pollution (5.0–4.7; 5.38; 2.2–2.0; 1.4–1.25; 1.15-1; 0.9–0.5). Each bucket was normalized to the total sum of buckets.

- Statistical analysis

Multivariate analysis: Data from liquid or HRMAS NMR were imported into SIMCA v.14 (Malmö, Sweden) for multivariate statistics. An unsupervised Principal Components Analysis (PCA) was first used for global visualization of the distribution of all samples, followed by an OPLS to find discriminatory metabolites associated with a specific stage of the disease. For this latter, either a continuous (i.e. PDP score), or a discrete variable (i.e. disease-stage groups) was used to label each sample, leading in the case of discrete variable to OPLS-DA (discriminant analysis). Scores were plotted in 2D *vs* the two first components of the OPLS models while loadings were plotted in 1D to mimic an NMR spectrum but with positive/negative peaks indicating respectively up /down regulated metabolites. Furthermore, in this "statistical spectrum", each NMR variable was color-coded according to their correlation with group belonging. Metabolites with correlation ≥ 0.5 were considered the most discriminant and were submitted to further univariate analysis.

The metabolites showing significant modification in at least three of the four PD models/species studied were submitted to multiple logistic regression using R software (version 3.6.1 – R core team). Logistic regression were presented using generic equation of the form:

$log(P/(1-P)) = \beta_0 + \beta_1 * x$, where x represents metabolite relative amplitude and β_0 and β_1 are the parameters associated with the intercept and the degree of change in metabolite, respectively. For animals, the regressions, including cross validation, were conducted with prodromal-like animals (6-OHDA and alpha synuclein prodromal-like rats) and corresponding shams, while clinical-like animals were used for external validation (6-OHDA and alpha synuclein clinical-like rats, and all primates). The same type of analyses was conducted using the NIH cohort (*de novo* patients and corresponding controls). The Italian data were used for external validation. For both animals and humans, all combinations of the 6 selected metabolites were tested, and subsequent ROC curves were generated for each of them to assess the quality of the fit using AUC and optimal threshold which maximizes sensitivity and specificity. The accuracy i.e. number of correctly predicted (true positive and true negative) divided by total sample, was calculated.

Univariate analysis:

All univariate analyses were performed using Graphpad Prism 8 software (San Diego–USA). All results were expressed as mean values ± standard error of mean (SEM) with a threshold for significance fixed at 0.05.

6-OHDA models: For self-administration and stepping tests, Pra effect univariate analysis was performed by applying repeated measure (RM) one-way ANOVA followed by a Sidak post hoc test.

For histological and metabolomic data, one-way ANOVA followed by post hoc Tukey test with correction for multiple comparisons were performed.

Alpha synuclein models: For the longitudinal alpha synuclein study, some values were missing due to artefacts during NMR measurement. Data were therefore analyzed by fitting a mixed

model proposed using a compound symmetry covariance matrix, and were fitted using Restricted Maximum Likelihood (REML). This model was followed by a post hoc Tukey test.

MPTP monkeys: Considering the low number of animals, the non-parametric Mann–Whitney test was used.

Humans: Data were log-transformed given the non-Gaussian distribution of metabolite levels. First, t-tests were performed individually in the two different cohorts. Then we applied two-way ANOVA with i) origin of the cohort and ii) group (control or PD) as factors followed by the post hoc Sidak test.

- Study approval

Protocols complied with the European Union 2010 Animal Welfare Act and the French directive were approved by the French national ethics committee.

For human samples, all donors gave written informed consent.

For details concerning study approval in animals and humans, see supplemental information.

Acknowledgements

Samples from the NINDS BioSEND, which receives government support under a cooperative agreement grant (U24 NS095871) awarded by the National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), were used in this study. We thank contributors who collected samples used in this study, as well as patients and their families, whose help and participation made this work possible. Data and biospecimens used in the present study were obtained from the Parkinson's Disease Biomarkers Program (PDBP) Consortium, supported by the National Institute of Neurological Disorders and Stroke at the National Institutes of Health. Investigators include: Roger Albin, Roy Alcalay, Alberto Ascherio, Thomas Beach, Sarah Berman, Bradley

Boeve, F. DuBois Bowman, Shu Chen, Alice Chen-Plotkin, William Dauer, Ted Dawson, Paula Desplats, Richard Dewey, Ray Dorsey, Jori Fleisher, Kirk Frey, Douglas Galasko, James Galvin, Dwight German, Lawrence Honig, Xuemei Huang, David Irwin, Kejal Kantarci, Anumantha Kanthasamy, Daniel Kaufer, James Leverenz, Carol Lippa, Irene Litvan, Oscar Lopez, Jian Ma, Lara Mangravite, Karen Marder, Laurie Orzelius, Vladislav Petyuk, Judith Potashkin, Liana Rosenthal, Rachel Saunders-Pullman, Clemens Scherzer, Michael Schwarzschild, Tanya Simuni, Andrew Singleton, David Standaert, Debby Tsuang, David Vaillancourt, David Walt, Andrew West, Cyrus Zabetian, Jing Zhang, and Wenquan Zou. The PDBP investigators have not participated in reviewing the data analysis or content of the manuscript.

The authors would like to thank Adrien Favier and Alicia Vallet from IBS (Grenoble) for technical assistance concerning NMR experiments and IR-RMN-THC Fr3050 CNRS for financial support for conducting the research. They also thank Pierre Alain Bayle from CEA (Grenoble), for his help concerning HRMAS experiments. Finally, we thank Jacques Brocard for his help and advice concerning univariate statistics and logistic regression methods as well as Fiona Hemming, Yvan Vachez and Sara Meoni for English corrections and critical reading of the manuscript.

Author contributions

Research: DM, TD, CC, SC, ELB, SB, FF

Conducted experiments: DM, TD, CC, MD, MBM

Provided samples: POF, VS, PB

Designed research: DM, SB, FF

Analysed data DM, SB, FF

Wrote the manuscript D.M, S.B, F.F

Funding

This work was supported by ANR, DOPALCOMP, Fondation de France (grant#00086205), the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, and Grenoble Alpes University. IRMaGe is partly funded by the French program Investissement d'Avenir run by the French National Research Agency, grant Infrastructure d'avenir en Biologie Sante [ANR-11-INBS-0006]. This project was partly funded by NeuroCoG IDEX UGA in the framework of the Investissements d'avenir program [ANR-15-IDEX-02].

1. Samii A, Nutt JG, Ransom BR. Parkinson's disease. *The Lancet* 2004;363:1783–1793.
2. Postuma RB et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders* 2015; doi:10.1002/mds.26424
3. Hughes AJ, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: A clinicopathologic study. *Neurology* [published online ahead of print: 1992]; doi:10.1212/WNL.42.6.1142
4. Stocchi F. Therapy for Parkinson ' s Disease : What is in the Pipeline ?. *Neurotherapeutics* 2013;11:24–33.
5. Adler CH et al. Low clinical diagnostic accuracy of early vs advanced Parkinson disease: Clinicopathologic study. *Neurology* [published online ahead of print: 2014]; doi:10.1212/WNL.0000000000000641
6. Dujardin K, Defebvre L. Apathy in Parkinson's disease: Clinical features, mechanisms and assessment. *Revue neurologique* [published online ahead of print: 2012]; doi:10.1016/j.neurol.2012.05.002
7. Isella V et al. Clinical, neuropsychological, and morphometric correlates of apathy in Parkinson's disease. *Movement Disorders* [published online ahead of print: 2002]; doi:10.1002/mds.10041
8. Jankovic J. Parkinson's disease: Clinical features and diagnosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2008; doi:10.1136/jnnp.2007.131045
9. Michell AW, Lewis SJG, Foltynie T, Barker RA. Biomarkers and Parkinson's disease. *Brain* 2004; doi:10.1093/brain/awh198
10. Kaur R, Mehan S, Singh S. Understanding multifactorial architecture of Parkinson's disease: pathophysiology to management. *Neurological Sciences* 2019; doi:10.1007/s10072-018-3585-x

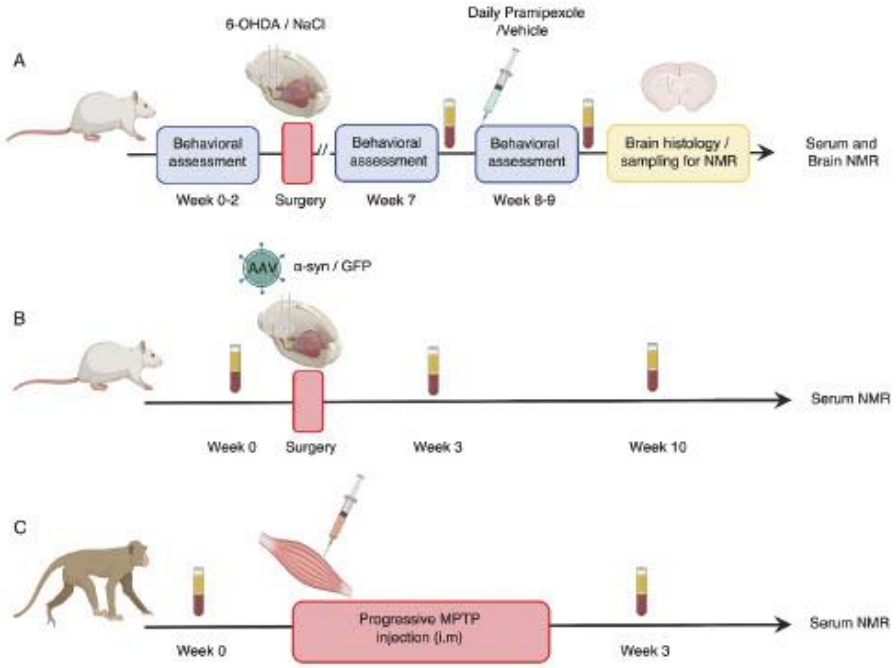
11. Johnson CH, Gonzalez FJ. Challenges and opportunities of metabolomics. *Journal of Cellular Physiology* 2012; doi:10.1002/jcp.24002
12. Ala-Korpela M. Potential role of body fluid 1H NMR metabonomics as a prognostic and diagnostic tool. [Internet]. *Expert review of molecular diagnostics* 2007;7(6):761–73.
13. Hatano T, Saiki S, Okuzumi A, Mohney RP, Hattori N. Identification of novel biomarkers for Parkinson's disease by metabolomic technologies. [Internet]. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2015;1–7.
14. Bogdanov M et al. Metabolomic profiling to develop blood biomarkers for Parkinson's disease. *Brain* 2008;131(2):389–396.
15. Quinones MP, Kaddurah-Daouk R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases. *Neurobiology of Disease* 2009;35(2):165–176.
16. Nagesh Babu G et al. Serum metabolomics study in a group of Parkinson's disease patients from northern India [Internet]. *Clinica Chimica Acta* 2018;480(January):214–219.
17. Lewitt PA, Li J, Lu M, Guo L, Auinger P. Metabolomic biomarkers as strong correlates of Parkinson disease progression. *Neurology* 2017;88(9):862–869.
18. Magnard R et al. What can rodent models tell us about apathy and associated neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease? [Internet]. *Transl Psychiatry* 2016;6(3):e753.
19. Drui G et al. Loss of dopaminergic nigrostriatal neurons accounts for the motivational and affective deficits in Parkinson's disease. [Internet]. *Molecular psychiatry* 2014;19(3):358–67.
20. Bourdenx M et al. Lack of additive role of ageing in nigrostriatal neurodegeneration triggered by α-synuclein overexpression. *Acta neuropathologica communications* [published online ahead of print: 2015]; doi:10.1186/s40478-015-0222-2
21. Seo J et al. A non-human primate model for stable chronic Parkinson's disease induced by MPTP administration based on individual behavioral quantification. *Journal of Neuroscience Methods* [published online ahead of print: 2019]; doi:10.1016/j.jneumeth.2018.10.037
22. Favier M et al. Pramipexole reverses Parkinson's disease-related motivational deficits in rats. *Movement Disorders* 2014;29(7):912–920.
23. Caudal D, Alvarsson A, Björklund A, Svenningsson P. Depressive-like phenotype induced by AAV-mediated overexpression of human α-synuclein in midbrain dopaminergic neurons. *Experimental Neurology* [published online ahead of print: 2015]; doi:10.1016/j.expneurol.2015.09.002
24. Goetz CG et al. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. *Movement Disorders* [published online ahead of print: 2008]; doi:10.1002/mds.22340
25. Rokosik SL, Napier TC. Pramipexole-induced increased probabilistic discounting: Comparison between a rodent model of parkinson's disease and controls. *Neuropsychopharmacology* [published online ahead of print: 2012]; doi:10.1038/npp.2011.325
26. Porras G, Li Q, Bezard E. Modeling Parkinson's disease in primates: The MPTP model. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [published online ahead of print: 2012]; doi:10.1101/cshperspect.a009308
27. Hughes AJ, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. What features improve the accuracy of clinical diagnosis in parkinson's disease: A clinicopathologic study. *Neurology* [published online ahead of print: 2001]; doi:10.1212/wnl.42.6.1142
28. Salamon A, Zádori D, Szpisjak L, Klivényi P, Vécsei L. Neuroprotection in Parkinson's disease: facts and hopes. *Journal of Neural Transmission* 2020; doi:10.1007/s00702-019-02115-8
29. Olanow CW, Kieburtz K, Schapira AH v. Why have we failed to achieve neuroprotection in Parkinson's disease?. *Annals of Neurology* 2008;64(SUPPL. 2). doi:10.1002/ana.21461

30. Beal MF et al. Bioenergetic approaches for neuroprotection in Parkinson's disease. *Annals of Neurology* 2003; doi:10.1002/ana.10479
31. Hampson RK, Medina MA, Olson MS. The use of high-energy microwave irradiation to inactivate mitochondrial enzymes. *Analytical Biochemistry* [published online ahead of print: 1982]; doi:10.1016/0003-2697(82)90621-2
32. Wong ML, Licinio J. Peripheral is Central to the question. *Molecular Psychiatry* 2005; doi:10.1038/sj.mp.4001674
33. Teahan O et al. Impact of analytical bias in metabonomic studies of human blood serum and plasma. *Analytical Chemistry* [published online ahead of print: 2006]; doi:10.1021/ac051972y
34. López-Bascón MA, Priego-Capote F, Peralbo-Molina A, Calderón-Santiago M, Luque De Castro MD. Influence of the collection tube on metabolomic changes in serum and plasma. *Talanta* [published online ahead of print: 2016]; doi:10.1016/j.talanta.2015.12.079
35. Pagano G, Niccolini F, Politis M. Imaging in Parkinson's disease. *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London* [published online ahead of print: 2016]; doi:10.7861/clinmedicine.16-4-371
36. Wishart DS. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. [Internet]. *Nature reviews. Drug discovery* 2016;15(7):473–84.
37. Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [published online ahead of print: 1994]; doi:10.1073/pnas.91.22.10625
38. Lee Y et al. Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration. *Nature* [published online ahead of print: 2012]; doi:10.1038/nature11314
39. Mächler P et al. In Vivo Evidence for a Lactate Gradient from Astrocytes to Neurons. *Cell Metabolism* [published online ahead of print: 2016]; doi:10.1016/j.cmet.2015.10.010
40. Waagepetersen HS, Sonnewald U, Larsson OM, Schousboe A. A Possible Role of Alanine for Ammonia Transfer Between Astrocytes and Glutamatergic Neurons. *Journal of Neurochemistry* [published online ahead of print: 2002]; doi:10.1046/j.1471-4159.2000.0750471.x
41. Kalhan SC, Hanson RW. Resurgence of serine: An often neglected but indispensable amino acid. *Journal of Biological Chemistry* 2012; doi:10.1074/jbc.R112.357194
42. Gao X et al. Serine Availability Influences Mitochondrial Dynamics and Function through Lipid Metabolism. *Cell Reports* [published online ahead of print: 2018]; doi:10.1016/j.celrep.2018.03.017
43. Rosenberg D et al. Neuronal D-serine and glycine release via the Asc-1 transporter regulates NMDA receptor-dependent synaptic activity. *Journal of Neuroscience* [published online ahead of print: 2013]; doi:10.1523/JNEUROSCI.3836-12.2013
44. Wolosker H, Dumin E, Balan L, Foltyn VN. D-amino acids in the brain: D-serine in neurotransmission and neurodegeneration. *FEBS Journal* 2008;275(14):3514–3526.
45. Paul P, de Belleroche J. The role of D-serine and glycine as co-agonists of NMDA receptors in motor neuron degeneration and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Frontiers in Synaptic Neuroscience* 2014; doi:10.3389/fnsyn.2014.00010
46. Cholewa JM, Guimarães-Ferreira L, Zanchi NE. Effects of betaine on performance and body composition: A review of recent findings and potential mechanisms. *Amino Acids* 2014; doi:10.1007/s00726-014-1748-5
47. Zhao L et al. Serum metabonomic analysis of protective effects of Curcuma aromatica oil on renal fibrosis rats. *PLoS ONE* [published online ahead of print: 2014]; doi:10.1371/journal.pone.0108678

48. Veskovic M et al. Betaine modulates oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and Akt/mTOR signaling in methionine-choline deficiency-induced fatty liver disease. *European Journal of Pharmacology* [published online ahead of print: 2019]; doi:10.1016/j.ejphar.2019.01.043
49. Alirezaei M. Betaine protects cerebellum from oxidative stress following levodopa and benserazide administration in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* [published online ahead of print: 2015]; doi:10.22038/ijbms.2015.5457
50. Matthews RT et al. Creatine and cyclocreatine attenuate MPTP neurotoxicity. *Experimental Neurology* [published online ahead of print: 1999]; doi:10.1006/exnr.1999.7049
51. Lawler JM, Barnes WS, Wu G, Song W, Demaree S. Direct antioxidant properties of creatine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [published online ahead of print: 2002]; doi:10.1006/bbrc.2001.6164
52. Virel A, Dudka I, Laterveer R, Bjerkén S af. 1H NMR profiling of the 6-OHDA parkinsonian rat brain reveals metabolic alterations and signs of recovery after N-acetylcysteine treatment. *Molecular and Cellular Neuroscience* [published online ahead of print: 2019]; doi:10.1016/j.mcn.2019.06.003
53. Kori M, Aydın B, Unal S, Arga KY, Kazan D. Metabolic Biomarkers and Neurodegeneration: A Pathway Enrichment Analysis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amyotrophic Lateral Sclerosis [Internet]. *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 2016;20(11):645–661.
54. Graham SF et al. Biochemical Profiling of the Brain and Blood Metabolome in a Mouse Model of Prodromal Parkinson's Disease Reveals Distinct Metabolic Profiles. *Journal of Proteome Research* [published online ahead of print: 2018]; doi:10.1021/acs.jproteome.8b00224
55. Zhou X et al. Metabolomics identifies perturbations in amino acid metabolism in the prefrontal cortex of the learned helplessness rat model of depression. *Neuroscience* [published online ahead of print: 2017]; doi:10.1016/j.neuroscience.2016.11.038
56. Shao WH et al. Combined Metabolomics and Proteomics Analysis of Major Depression in an Animal Model: Perturbed Energy Metabolism in the Chronic Mild Stressed Rat Cerebellum. *OMICS A Journal of Integrative Biology* [published online ahead of print: 2015]; doi:10.1089/omi.2014.0164
57. Cai R et al. Enhancing glycolysis attenuates Parkinson's disease progression in models and clinical databases. *Journal of Clinical Investigation* [published online ahead of print: 2019]; doi:10.1172/JCI129987
58. Norwitz NG, Hu MT, Clarke K. The mechanisms by which the ketone body d-β-hydroxybutyrate may improve the multiple cellular pathologies of parkinson's disease. *Frontiers in Nutrition* 2019; doi:10.3389/fnut.2019.00063
59. Chan P, DeLanney LE, Irwin I, Langston JW, di Monte D. Rapid ATP Loss Caused by 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine in Mouse Brain. *Journal of Neurochemistry* [published online ahead of print: 1991]; doi:10.1111/j.1471-4159.1991.tb02134.x
60. Nakano M et al. ATP Maintenance via Two Types of ATP Regulators Mitigates Pathological Phenotypes in Mouse Models of Parkinson's Disease. *EBioMedicine* [published online ahead of print: 2017]; doi:10.1016/j.ebiom.2017.07.024
61. Okuzumi A et al. Metabolomics-based identification of metabolic alterations in PARK2. *Annals of Clinical and Translational Neurology* [published online ahead of print: 2019]; doi:10.1002/acn3.724
62. Kashiwaya Y et al. D-beta-hydroxybutyrate protects neurons in models of Alzheimer's and Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [published online ahead of print: 2000]; doi:97/10/5440 [pii]

63. Cheng B et al. Ketogenic diet protects dopaminergic neurons against 6-OHDA neurotoxicity via up-regulating glutathione in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Research* [published online ahead of print: 2009]; doi:10.1016/j.brainres.2009.06.060
64. Roberts EL. The support of energy metabolism in the central nervous system with substrates other than glucose. In: *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Brain Energetics. Integration of Molecular and Cellular Processes*. 2007:
65. Pan JW, Rothman DL, Behar KL, Stein DT, Hetherington HP. Human brain β-hydroxybutyrate and lactate increase in fasting-induced ketosis. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* [published online ahead of print: 2000]; doi:10.1097/00004647-200010000-00012
66. Devivo DC, Leckie MP, Ferrendelli JS, McDougal DB. Chronic ketosis and cerebral metabolism. *Annals of Neurology* [published online ahead of print: 1978]; doi:10.1002/ana.410030410
67. Ahmed SSSJ, Santosh W, Kumar S, Christlet HTT. Metabolic profiling of Parkinson's disease: evidence of biomarker from gene expression analysis and rapid neural network detection. *JOURNAL OF BIOMEDICAL SCIENCE* 2009;16. doi:10.1186/1423-0127-16-63
68. Miki Y et al. Alteration of mitochondrial protein PDHA1 in Lewy body disease and PARK14. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2017;489(4):439–444.
69. Ghosh A et al. Mitochondrial pyruvate carrier regulates autophagy, inflammation, and neurodegeneration in experimental models of Parkinson's disease. *Science Translational Medicine* 2016;8(368). doi:10.1126/scitranslmed.aag2210
70. Quansah E et al. Targeting energy metabolism via the mitochondrial pyruvate carrier as a novel approach to attenuate neurodegeneration. *Molecular Neurodegeneration* 2018; doi:10.1186/s13024-018-0260-x
71. Divakaruni AS et al. Inhibition of the mitochondrial pyruvate carrier protects from excitotoxic neuronal death. *Journal of Cell Biology* [published online ahead of print: 2017]; doi:10.1083/jcb.201612067
72. Luk KC et al. Pathological α-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science* [published online ahead of print: 2012]; doi:10.1126/science.1227157
73. Schwarting RKW, Huston JP. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Progress in Neurobiology* 1996; doi:10.1016/S0301-0082(96)00015-9
74. Schneider JS, Kovelowski CJ. Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Research* [published online ahead of print: 1990]; doi:10.1016/0006-8993(90)90069-N
75. Fauvelle F, Boccard J, Cavarec F, Depaulis A, Deransart C. Assessing susceptibility to epilepsy in three rat strains using brain metabolic profiling based on HRMAS NMR Spectroscopy and chemometrics. *Journal of Proteome Research* [published online ahead of print: 2015]; doi:10.1021/pr501309b
76. Ratiney H et al. Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set. *NMR in Biomedicine* [published online ahead of print: 2005]; doi:10.1002/nbm.895
77. Beckonert O et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts [Internet]. *Nat Protoc* 2007;2(11):2692–2703.
78. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. *Academic Press, San Diego* 1997;3rd.

Figure 1



1

2 Figure 1: **Flowchart of experimental procedures applied to different PD animal models.**

3 (A-C) All serum samples were collected after fasting and following the same protocol. They

4 were analyzed by ^{1}H-NMR at 950 MHz. Brain samples of 6-OHDA rats were used for histology

5 and metabolomic analysis performed by ^{1}H HRMAS NMR at 500 MHz.

Figure 2

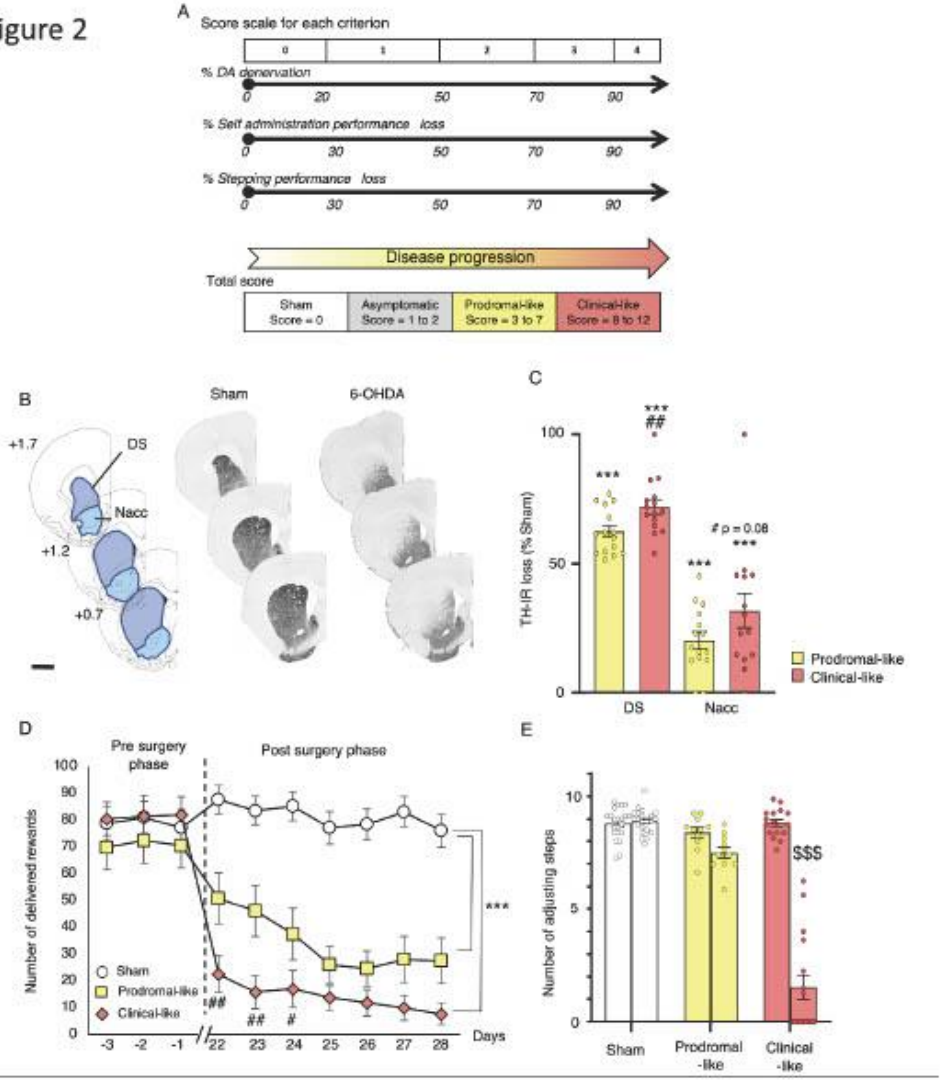


Figure 2: **Striatal dopaminergic denervation induced by bilateral 6-OHDA lesion of the SNc leads to apathetic like behavior and fine motor dysfunctions.**

(A) A PDP total score, as the sum of histological and behavioral components is assigned to each animal, from 0 (sham animal) to 3-7 (prodromal-like animal), or 8-12 (clinical-like animal).

(B) Examples of TH-stained coronal sections of sham and 6-OHDA rat brains at three striatal levels with respect to bregma, and corresponding diagrams selected from the

atlas of Paxinos and Watson(78), with areas used for quantification of dopaminergic denervation . Scale bar represents 2mm.

(C) Quantification of TH-IR staining loss at the striatal levels shown in (B), expressed as a percentage of the mean value obtained for sham-operated animals (n = 22). We observed a large decrease of TH-positive neurons in DS and a lighter decrease in Nacc of prodromal (n = 14) and clinical-like (n = 15) rats.

(D) 6-OHDA SNc lesion induced an abrupt instrumental deficit in an operant sucrose self-administration procedure. Results are expressed as the mean number of sucrose deliveries per session. Sham-operated rats (n = 22), prodromal-like rats (n = 14), clinical-like rats (n = 15)

(E) 6-OHDA SNc lesion reduced the number of adjusting steps in a stepping procedure only in clinical-like animals. Results are expressed as the mean number of forelimb adjustments for two trials before (left bar) and after (right bar) 6-OHDA (prodromal-like (n = 14) and clinical-like (n = 15) animals) or saline (sham) injection (n = 22).

Data are presented as means ± SEM and tested by 1-way ANOVA or RM-ANOVA followed by post-hoc test of Tukey or Sidak. ***: $p \leq 0.001$ compared to sham; ##: $p \leq 0.01$ clinical-like compared to prodromal-like; $$$: $p \leq 0.001$ before surgery compared to after surgery.

Figure 3

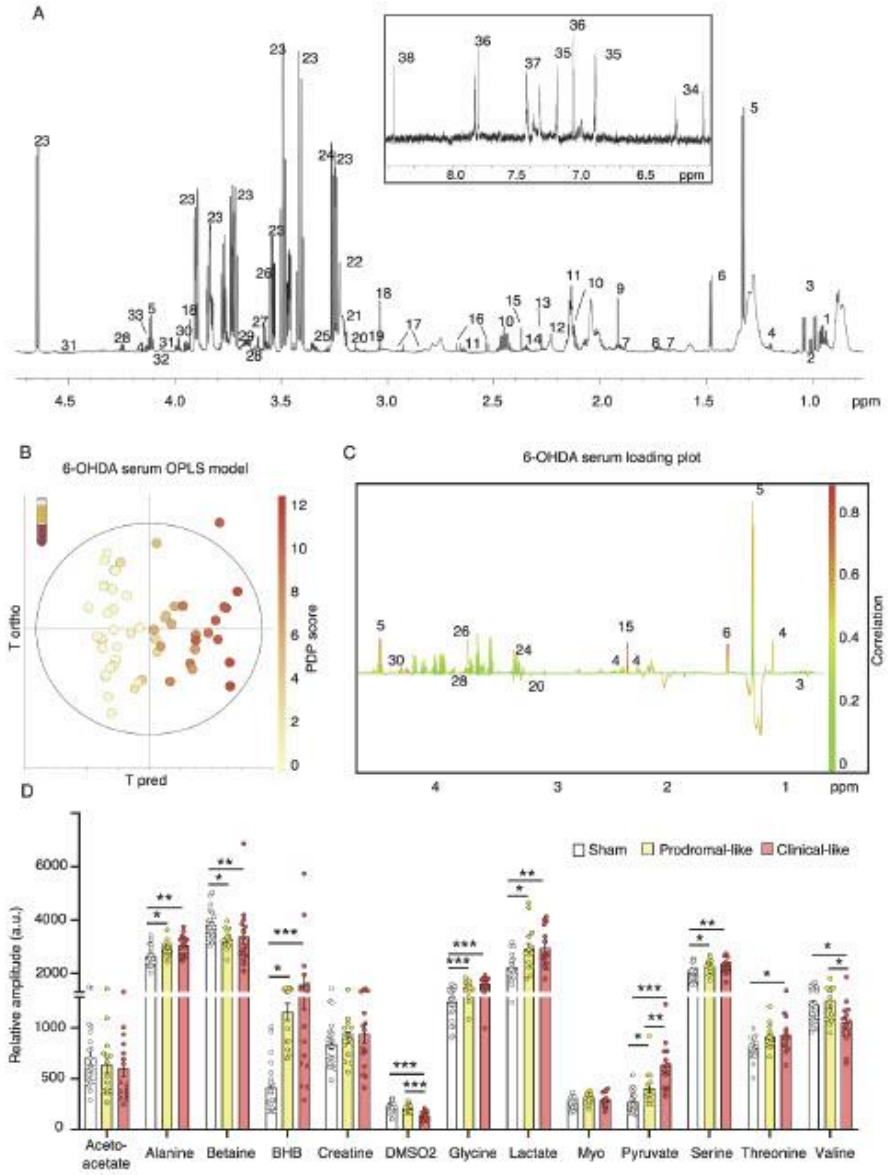


Figure 3: **Serum metabolic profile of 6-OHDA rats evolves with PD progression.**

(A) Example of ^{1}HNMR spectrum at 950 MHz (δ0.5–4.7 ppm and δ6–8.5 ppm) using CPMG pulse sequence. Assignment: 1-isoleucine; 2-leucine; 3-valine; 4-BHB; 5-lactate; 6-alanine; 7-arginine; 8-lysine; 9-acetate; 10-glutamine; 11-methionine; 12-

acetone; 13-acetoacetate; 14-glutamate; 15-pyruvate; 16-citrate; 17-asparagine; 18-creatine; 19-phosphocreatine; 20-DMSO2; 21-choline ; 22-phosphocholine; 23-glucose; 24-betaine; 25-myo-inositol; 26-glycine; 27-glycerol; 28-threonine; 29-glycerophosphocholine; 30-serine; 31-ascorbate; 32-glycerate; 33-proline; 34-deoxycytidine triphosphate; 35-tyrosine; 36-histidine; 37-phenylalanine; 38-formate. Macromolecules are not specified (see supplemental Table2).

(B-C) OPLS model built with ^{1}HNMR spectra of serum samples from 6-OHDA (n = 29) and sham (n = 22) rats, and their PDP scores: the "6-OHDA serum OPLS model". R2Y = 0.926; Q^2 = 0.604; 1 predictive and 3 orthogonal components; CV-ANOVA *p*-value = 3.47 x10^{-7}.

(B) Score plot *vs* the first predictive and first orthogonal components. A clear gradation of color is observed from left to right, showing that metabolic profiles evolve with PD progression.

(C) Loadings plotted in 1 dimension with NMR variables color coded for their correlation with PD score from green (low correlation) to red (high correlation). Positive peaks indicate up-regulated metabolites along with increasing PDP score, while negative peaks indicate down-regulated metabolites along with PDP score evolution.

(D) Relative amplitude of the metabolites most involved in metabolic gradation in 6-OHDA animals, i.e. alanine, betaine, BHB, DMSO2, glycine, lactate, pyruvate, serine, threonine, valine, in sham (n = 22), prodromal-like (n = 14) and clinical-like (n = 15) animals.

Mean ± SEM, one-way ANOVA followed by post hoc test of Tukey and correction for multiple comparisons. *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$

a.u: arbitrary units

Figure 4

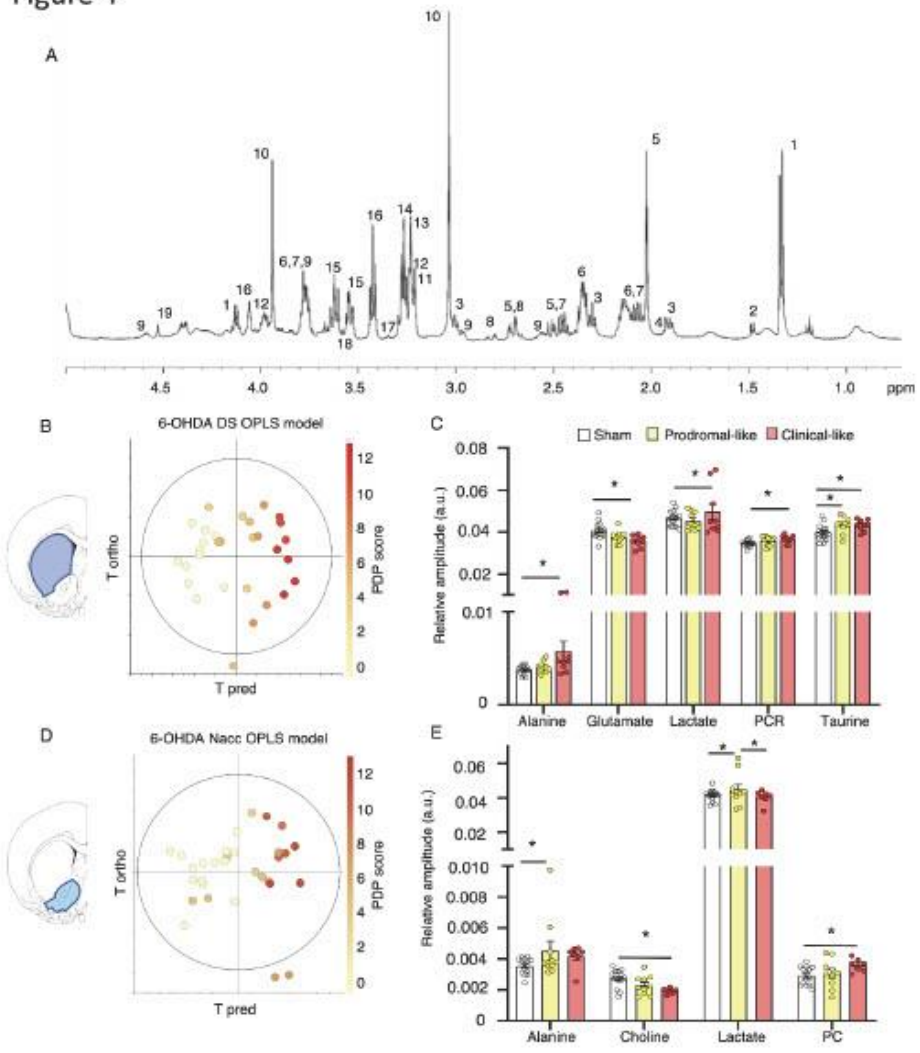


Figure 4: **Brain metabolic profile of 6-OHDA rats is gradually modified during PD progression, consistently with serum results**

(A) Example of ^{1}H HRMAS NMR spectra of 6-OHDA rats brain (DS) at 500 MHz. Assignment 1-lactate; 2-alanine; 3-GABA; 4-Acetate; 5-N-acetylaspartate; 6-glutamate; 7-glutamine; 8-aspartate; 9-gluthation; 10- phosphocreatine and creatine; 11-choline; 12-phosphoethanolamine; 13-phosphocholine; 14- glycerophosphocholine; 15 myo-inositol; 16-taurine ; 17-scyllo-inositol; 18-glycine; 19-ascorbate.

(B) Score plot of the OPLS model built with ^{1}H HRMAS NMR spectra of DS *vs* the first predictive and the first orthogonal components (the "6-OHDA DS OPLS model"). There is clear color gradation from left to right, showing that metabolic profiles evolve with PD progression, R2Y = 0.883; Q = 0.703, 1 predictive and 3 orthogonal components, CV ANOVA p-value = 0.0003

(C) Relative amplitude of metabolites in DS in sham (n = 15), prodromal-like (n = 10) and clinical-like (n = 9) 6-OHDA animals for the 5 key metabolites implicated in metabolic gradation observed in the OPLS, i.e. alanine, glutamate, lactate, phosphocreatine and creatine (PCR) and taurine.

(D) Score plot of the OPLS models built with ^{1}H HRMAS NMR spectra, of Nacc *vs* the first predictive and the first orthogonal components (the "6-OHDA Nacc OPLS model"). The color gradation from left to right show the evolution of metabolic profiles with PD progression, R2Y = 0.690; Q2 = 0.523, 1 predictive and 1 orthogonal component, CV ANOVA p-value = 0.0005.

(E) Relative amplitude of metabolites in Nacc in sham (n = 14), prodromal-like (n = 10) and clinical-like (n = 7) 6-OHDA animals for the 4 key metabolites implicated in metabolic gradation observed in the OPLS, i.e. alanine, choline, lactate, and phosphocholine (PC).

Mean ± SEM, one-way ANOVA followed by post-hoc test of Tukey and correction for multiple comparisons *: $p \leq 0.05$.

Figure 5

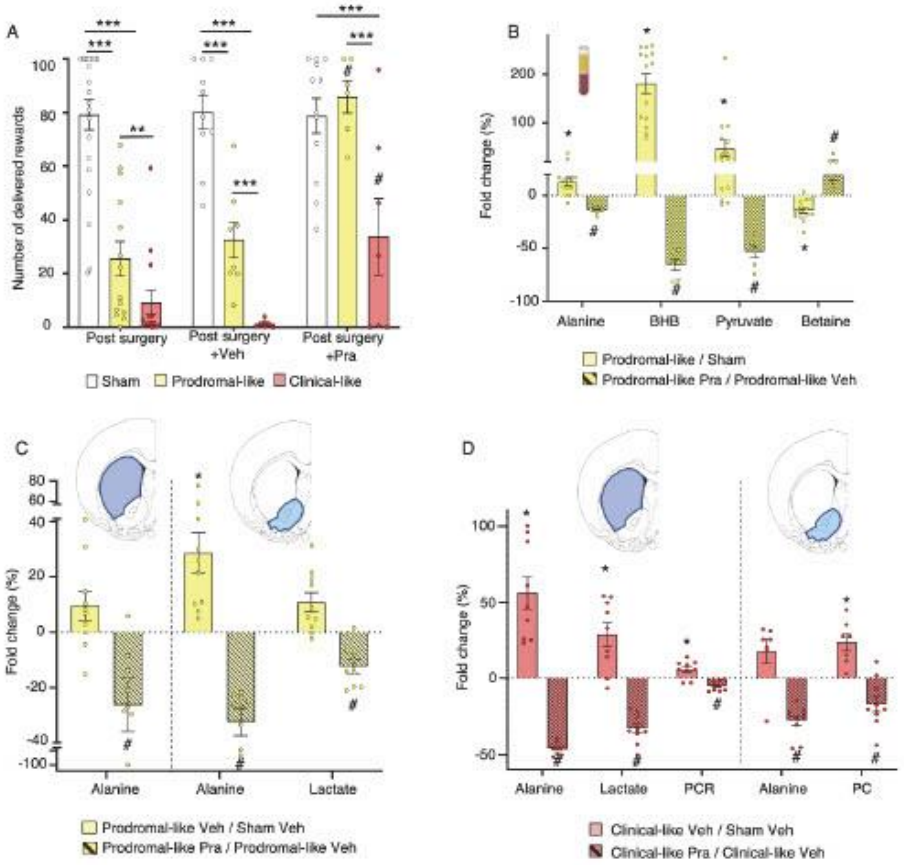


Figure 5: **Impact of chronic treatment with a dopaminergic agonist (Pra) on behavioral and metabolic dysregulations of 6-OHDA rats.**

(A) *Self-administration performances*. Mean number of sucrose deliveries per session post-surgery or post chronic administration of Vehicle or Pramipexole (last 3 days). Pra treatment (n=6) induces a total reversion of the lesion effect on the number of sucrose deliveries in prodromal-like compared to Veh (n = 8). In clinical-like animals, Pra treatment (n = 7) induces a moderate increase in the number of sucrose deliveries compared to Veh (n = 7), without reaching the performance of sham animals (n = 12).

(B) *Serum metabolic dysregulations.* Percentage of variation of serum metabolites between control and prodromal-like animals (n = 14; empty bar) and between prodromal-like animals treated with Veh or Pra (n = 6; hatched bar). Alanine, betaine, BHB and pyruvate vary in the opposite direction compared to the lesion effect.

(C-D) Brain metabolic dysregulations. Percentage of variation of brain tissue metabolites normalized to sham treated with Veh in DS and in Nacc.

Note in prodromal-like(C) and clinical-like animals (D) respectively the reversion of metabolic dysregulation induced by pramipexole (n = 9 for DS and n = 10 for Nacc for both groups; hatched bar) compared to Veh (n = 10 for each structure in prodromal-like animal; n = 9 for DS and n = 7 for Nacc in clinical-like animal; full bar)

Mean ± SEM, one-way ANOVA followed by post-hoc test of Tukey. *: $p \leq 0.05$**: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$; #: $p \leq 0.05$, prodromal-like or clinical-like Pra compared to prodromal-like or clinical-like Veh

Figure 6

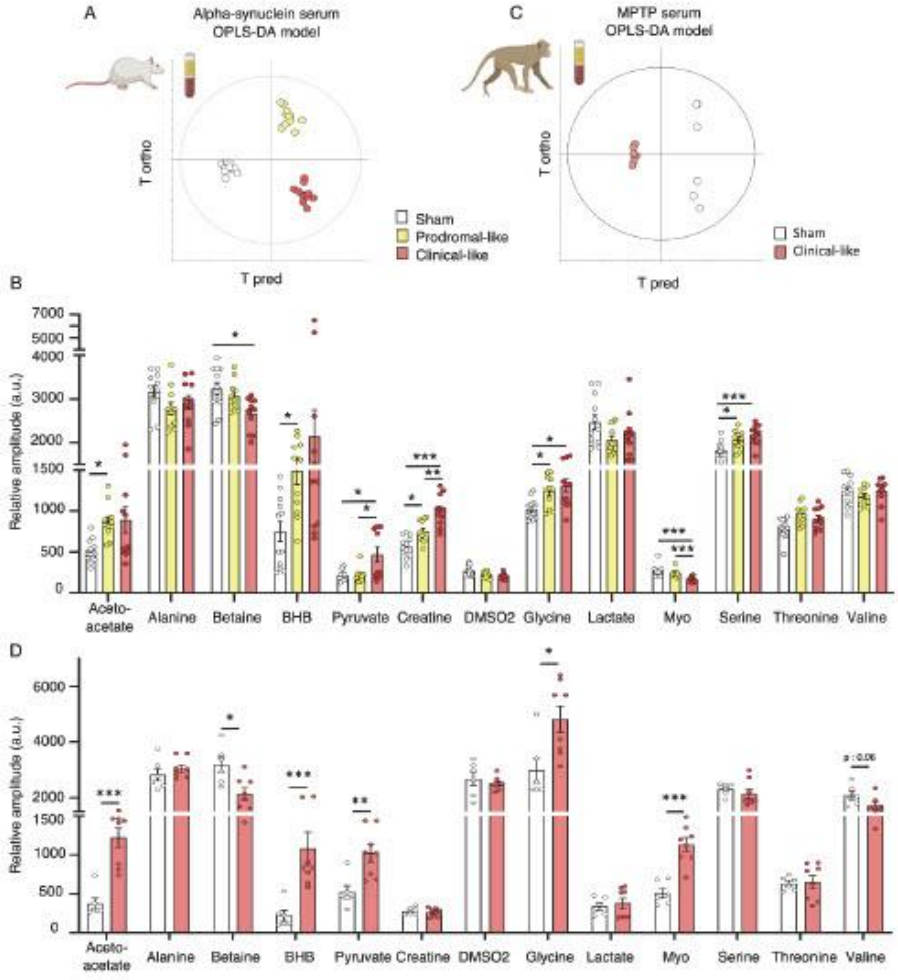


Figure 6: **Alternative PD models from different animal species show similar metabolic dysregulations in serum**

(A) Score plot of the OPLS-DA model built with ^{1}HNMR spectra of serum samples from alpha synuclein rats *vs* first predictive and first orthogonal components (the "alpha-synuclein OPLS model"). 3 groups are clearly discriminated mimicking 3 different stages of PD (sham n = 12, prodomal-like n = 11 clinical-like n = 11). R2Y = 0.929; Q2

= 0.518; 1 predictive and 3 orthogonal components; CV ANOVA p-value = 0.008.

(B) Relative amplitude of most discriminating metabolites in the "alpha-synuclein OPLS model", i.e. acetoacetate, betaine, BHB, creatine, glycine, myo-inositol (myo), pyruvate, serine in sham (n = 12), prodromal-like (n = 11) and clinical-like (n = 11) animals.

(C) Score plot of the OPLS-DA model built with ^{1}HNMR spectra of serum samples from non-human MPTP primates *vs* first predictive and first orthogonal components (the "MPTP OPLS-DA model"). Sham (n = 6) and clinical-like (n = 8) animals are clearly discriminated. R2Y = 0.998; Q^2 = 0.963; 1 predictive and 1 orthogonal component; CV ANOVA p-value = 0.0005.

(D) Relative amplitude of most discriminating metabolites in the "MPTP OPLS-DA model" i.e. acetoacetate, alanine, betaine, BHB, creatine, lactate, pyruvate and valine in sham (n = 6) and MPTP (n = 8) animals.

Mean ± SEM, mixed model followed by post-hoc test of Tukey or Mann-Whitney's t test

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$

Figure 7

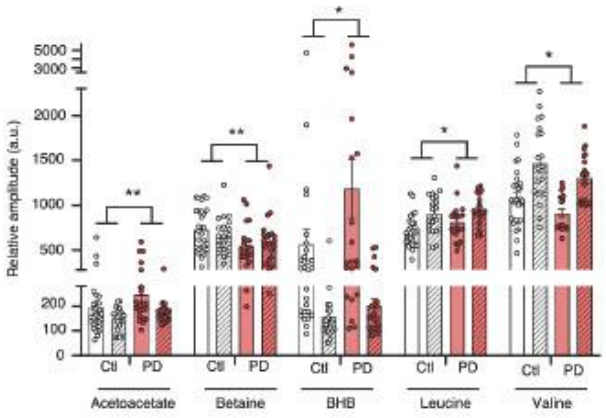


Figure 7: **Main metabolic changes between PD patients and controls in NIH and Italian cohorts**

For each cohort, a t-test was performed to find significant differences between PD (n = 19 for NIH and n = 23 for first Italian cohorts) and healthy control subjects (n = 30 for NIH and n = 21 first Italian cohorts), while a two-way ANOVA followed by a Sidak post-hoc test was performed on both cohorts grouped to highlight pathology effect *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$

Figure 8

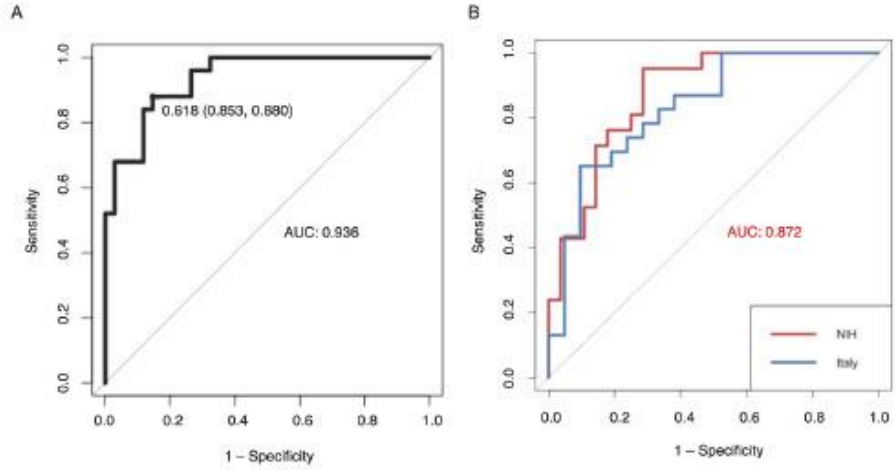


Figure 8: **Logistic regression provided a serum biomarker composed of 6 metabolites: BHB, acetoacetate, valine, creatine, betaine and pyruvate.**

(A) ROC curve with serum samples of prodromal-like (n = 25) and sham (n = 34) animal models (6-OHDA and alpha synuclein rats) (AUC = 0.936, sensitivity: 0.853, specificity: 0.88).

(B) ROC curve with data of PD patients and matched controls of NIH cohort in red (n = 19 and n = 30; AUC = 0.88, sensitivity: 0.957, specificity: 0.714) and first Italian cohort in blue (n = 23 and n = 21; AUC = 0.83, sensitivity: 0.65, specificity: 0.90).

Figure 9

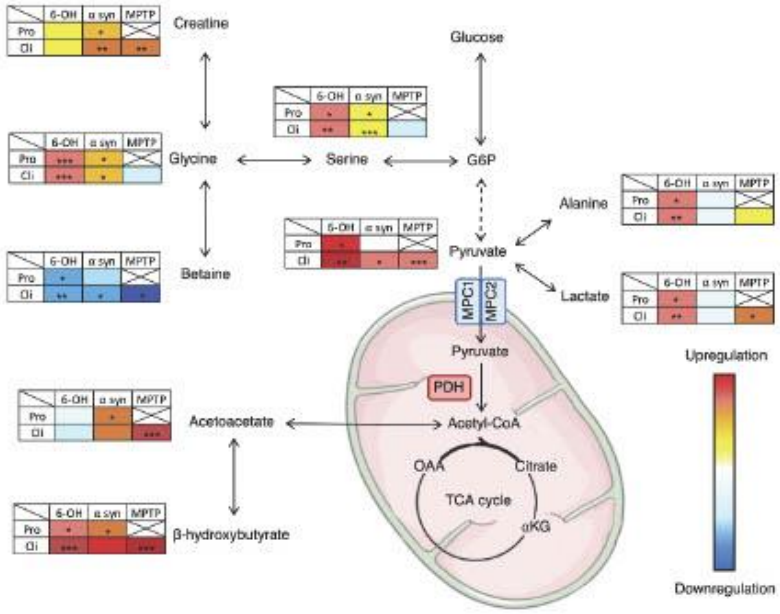


Figure 9: **Schematic representation of altered metabolic pathways in different PD animal models mimicking different stages of the disease, suggesting possible reprogramming of pyruvate metabolic pathway.**

Degrees of dysregulation were represented by color gradation compared to sham animals in each model.

*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$

Pro: Prodromal-like; Cli: Clinical-like; G6P: Glucose-6-phosphate; OAA: Oxaloacetate; αKG: alpha ketoglutarate

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aarsland, D., Brønnick, K., Ehrt, U., Deyn, P.P.D., Tekin, S., Emre, M., and Cummings, J.L. (2007). Neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease and dementia: frequency, profile and associated care giver stress. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *78*, 36–42.

Aarsland, D., Brønnick, K., Alves, G., Tysnes, O.B., Pedersen, K.F., Ehrt, U., and Larsen, J.P. (2009). The spectrum of neuropsychiatric symptoms in patients with early untreated Parkinson's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *80*, 928–930.

Ahn, T.-B., Kim, S.Y., Kim, J.Y., Park, S.-S., Lee, D.S., Min, H.J., Kim, Y.K., Kim, S.E., Kim, J.-M., Kim, H.-J., et al. (2008). alpha-Synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. Neurology *70*, 43–49.

Albin, R.L., Young, A.B., and Penney, J.B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. Trends Neurosci. *12*, 366–375.

Alexander, G.E., and Crutcher, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. Trends Neurosci. *13*, 266–271.

Angelova, P.R., Ludtmann, M.H.R., Horrocks, M.H., Negoda, A., Cremades, N., Klenerman, D., Dobson, C.M., Wood, N.W., Pavlov, E.V., Gandhi, S., et al. (2016). Ca2+ is a key factor in α-synuclein-induced neurotoxicity. J. Cell Sci. *129*, 1792–1801.

Antonini, A., Barone, P., Bonuccelli, U., Annoni, K., Asgharnejad, M., and Stanzione, P. (2017). ICARUS study: prevalence and clinical features of impulse control disorders in Parkinson's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *88*, 317–324.

Armstrong, M.J., and Okun, M.S. (2020). Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. JAMA *323*, 548–560.

Arotçarena, M.-L., and Dehay, B. (2018). Les synucléinopathies sont-elles des maladies à prions ? Prat. Neurol. - FMC *9*, 145.

Ascherio, A., and Schwarzschild, M.A. (2016). The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. Lancet Neurol. *15*, 1257–1272.

Augustine, A., Winstanley, C.A., and Krishnan, V. (2021). Impulse Control Disorders in Parkinson's Disease: From Bench to Bedside. Front. Neurosci. *15*.

Avanzi, M., Baratti, M., Cabrini, S., Uber, E., Brighetti, G., and Bonfà, F. (2006). Prevalence of pathological gambling in patients with Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *21*, 2068–2072.

Ayers, C.R., Saxena, S., Espejo, E., Twamley, E.W., Granholm, E., and Wetherell, J.L. (2014). Novel Treatment for Geriatric Hoarding Disorder: An Open Trial of Cognitive Rehabilitation Paired with Behavior Therapy. Am. J. Geriatr. Psychiatry *22*, 248–252.

Barbosa, P., Hapuarachchi, B., Djamshidian, A., Strand, K., Lees, A.J., de Silva, R., Holton, J.L., and Warner, T.T. (2019). Lower nucleus accumbens α-synuclein load and D3 receptor levels in Parkinson's disease with impulsive compulsive behaviours. Brain *142*, 3580–3591.

Bari, A., and Robbins, T.W. (2013). Inhibition and impulsivity: behavioral and neural basis of response control. Prog. Neurobiol. *108*, 44–79.

Barone, P., Antonini, A., Colosimo, C., Marconi, R., Morgante, L., Avarello, T.P., Bottacchi, E., Cannas, A., Ceravolo, G., Ceravolo, R., et al. (2009). The PRIAMO study: A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. Mov. Disord. *24*, 1641–1649.

Barraud, Q., Lambrecq, V., Forni, C., McGuire, S., Hill, M., Bioulac, B., Balzamo, E., Bezard, E., Tison, F., and Ghorayeb, I. (2009). Sleep disorders in Parkinson's disease: the contribution of the MPTP non-human primate model. Exp. Neurol. *219*, 574–582.

Bartels, T., Choi, J.G., and Selkoe, D.J. (2011). α-Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. Nature *477*, 107–110.

Bartzokis, G., Cummings, J.L., Markham, C.H., Marmarelis, P.Z., Treciokas, L.J., Tishler, T.A., Marder, S.R., and Mintz, J. (1999). MRI evaluation of brain iron in earlier- and later-onset Parkinson's disease and normal subjects. Magn. Reson. Imaging *17*, 213–222.

Bastiaens, J., Dorfman, B.J., Christos, P.J., and Nirenberg, M.J. (2013). Prospective cohort study of impulse control disorders in Parkinson's disease: ICD Risk Factors in PD. Mov. Disord. *28*, 327–333.

Beard, J., Erikson, K.M., and Jones, B.C. (2003). Neonatal iron deficiency results in irreversible changes in dopamine function in rats. J. Nutr. *133*, 1174–1179.

Bédard, P.J., Blanchet, P.J., Lévesque, D., Soghomonian, J.J., Grondin, R., Morissette, M., Goulet, M., Calon, F., Falardeau, P., Gomez-Mancilla, B., et al. (1999). Pathophysiology of L-dopa-induced dyskinesias. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *14 Suppl 1*, 4–8.

Belujon, P., Lodge, D.J., and Grace, A.A. (2010). Aberrant striatal plasticity is specifically associated with dyskinesia following levodopa treatment. Mov. Disord. *25*, 1568–1576.

Berg, D., Postuma, R.B., Adler, C.H., Bloem, B.R., Chan, P., Dubois, B., Gasser, T., Goetz, C.G., Halliday, G., Joseph, L., et al. (2015). MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. Mov. Disord. *30*, 1600–1611.

Berke, J.D., and Hyman, S.E. (2000). Addiction, Dopamine, and the Molecular Mechanisms of Memory. Neuron *25*, 515–532.

Bernal-Conde, L.D., Ramos-Acevedo, R., Reyes-Hernández, M.A., Balbuena-Olvera, A.J., Morales-Moreno, I.D., Argüero-Sánchez, R., Schüle, B., and Guerra-Crespo, M. (2020). Alpha-Synuclein Physiology and Pathology: A Perspective on Cellular Structures and Organelles. Front. Neurosci. *13*, 1399.

Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., and Greenamyre, J.T. (2000). Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat. Neurosci. *3*, 1301–1306.

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

Bézard, E., Ferry, S., Mach, U., Stark, H., Leriche, L., Boraud, T., Gross, C., and Sokoloff, P. (2003). Attenuation of levodopa-induced dyskinesia by normalizing dopamine D3 receptor function. Nat. Med. *9*, 762–767.

Bezdicek, O., Ballarini, T., Buschke, H., Růžička, F., Roth, J., Albrecht, F., Růžička, E., Mueller, K., Schroeter, M.L., and Jech, R. (2019). Memory impairment in Parkinson's disease: The retrieval versus associative deficit hypothesis revisited and reconciled. Neuropsychology *33*, 391–405.

Bhattacharjee, S., Talbot, J.G., and Vijayashankar, P. (2017). Dopamine D3 receptor Ser9Gly variant is associated with impulse control disorders in Parkinson's disease patients. Parkinsonism Relat. Disord. *34*, 69–70.

Bhidayasiri, R. (2005). Differential diagnosis of common tremor syndromes. Postgrad. Med. J. *81*, 756–762.

Bohnen, N.I., Müller, M.L.T.M., Kotagal, V., Koeppe, R.A., Kilbourn, M.A., Albin, R.L., and Frey, K.A. (2010). Olfactory dysfunction, central cholinergic integrity and cognitive impairment in Parkinson's disease. Brain J. Neurol. *133*, 1747–1754.

Bohnen, N.I., Albin, R.L., Müller, M.L.T.M., Petrou, M., Kotagal, V., Koeppe, R.A., Scott, P.J.H., and Frey, K.A. (2015). Frequency of cholinergic and caudate nucleus dopaminergic deficits across pre-demented cognitive spectrum of Parkinson disease and evidence of interaction effects. JAMA Neurol. *72*, 194–200.

Borchert, R.J., Rittman, T., Passamonti, L., Ye, Z., Sami, S., Jones, S.P., Nombela, C., Vázquez Rodríguez, P., Vatansever, D., Rae, C.L., et al. (2016). Atomoxetine Enhances Connectivity of Prefrontal Networks in Parkinson's Disease. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *41*, 2171–2177.

Bourdenx, M., Dovero, S., Engeln, M., Bido, S., Bastide, M.F., Dutheil, N., Vollenweider, I., Baud, L., Piron, C., Grouthier, V., et al. (2015). Lack of additive role of ageing in nigrostriatal neurodegeneration triggered by α-synuclein overexpression. Acta Neuropathol. Commun. *3*.

Bourdy, R., Sánchez-Catalán, M.-J., Kaufling, J., Balcita-Pedicino, J.J., Freund-Mercier, M.-J., Veinante, P., Sesack, S.R., Georges, F., and Barrot, M. (2014). Control of the Nigrostriatal Dopamine Neuron Activity and Motor Function by the Tail of the Ventral Tegmental Area. Neuropsychopharmacology *39*, 2788–2798.

Bouthenet, M.L., Souil, E., Martres, M.P., Sokoloff, P., Giros, B., and Schwartz, J.C. (1991). Localization of dopamine D3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA. Brain Res. *564*, 203–219.

Braak, H., Tredici, K.D., Rüb, U., de Vos, R.A.I., Jansen Steur, E.N.H., and Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiol. Aging *24*, 197–211.

Brady, A.M., and Floresco, S.B. (2015). Operant Procedures for Assessing Behavioral Flexibility in Rats. J. Vis. Exp.

Brandel, J.-P., Corbillé, A.-G., Derkinderen, P., and Haïk, S. (2015). La maladie de Parkinson est-elle une maladie à prion ? Rev. Neurol. (Paris) *171*, 812–824.

Brooks, D.J. (1998). The early diagnosis of parkinson's disease: Early Diagnosis of PD. Ann. Neurol. *44*, S10–S18.

Brown, J.H., and Makman, M.H. (1972). Stimulation by Dopamine of Adenylate Cyclase in Retinal Homogenates and of Adenosine-3':5'-Cyclic Monophosphate Formation in Intact Retina. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *69*, 539–543.

Brown, V., and Tait, D. (2010). Behavioral Flexibility: Attentional Shifting, Rule Switching and Response Reversal. pp. 209–213.

Burns, R.S., Chiueh, C.C., Markey, S.P., Ebert, M.H., Jacobowitz, D.M., and Kopin, I.J. (1983). A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Proc. Natl. Acad. Sci. *80*, 4546–4550.

Burré, J., Sharma, M., Tsetsenis, T., Buchman, V., and Südhof, T.C. (2011). α-Synuclein Promotes SNARE-Complex Assembly in vivo and in vitro. 14.

Burre, J., Sharma, M., and Sudhof, T.C. (2015). Definition of a Molecular Pathway Mediating -Synuclein Neurotoxicity. J. Neurosci. *35*, 5221–5232.

Calabresi, P., Ghiglieri, V., Mazzocchetti, P., Corbelli, I., and Picconi, B. (2015). Levodopa-induced plasticity: a double-edged sword in Parkinson's disease? Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. *370*.

Calon, F., Dridi, M., Hornykiewicz, O., Bédard, P.J., Rajput, A.H., and Di Paolo, T. (2004). Increased adenosine A2A receptors in the brain of Parkinson's disease patients with dyskinesias. Brain J. Neurol. *127*, 1075–1084.

Camina, E., and Güell, F. (2017). The Neuroanatomical, Neurophysiological and Psychological Basis of Memory: Current Models and Their Origins. Front. Pharmacol. *8*, 438.

Carmichael, S.T., and Price, J.L. (1995). Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. J. Comp. Neurol. *363*, 615–641.

Carriere, N., Lopes, R., Defebvre, L., Delmaire, C., and Dujardin, K. (2015). Impaired corticostriatal connectivity in impulse control disorders in Parkinson disease. Neurology *84*, 2116–2123.

Castellani, R.J., Siedlak, S.L., Perry, G., and Smith, M.A. (2000). Sequestration of iron by Lewy bodies in Parkinson's disease. Acta Neuropathol. (Berl.) *100*, 111–114.

Castro-Martínez, X.H., García-Ruiz, P.J., Martínez-García, C., Martínez-Castrillo, J.C., Vela, L., Mata, M., Martínez-Torres, I., Feliz-Feliz, C., Palau, F., and Hoenicka, J. (2018). Behavioral addictions in early-onset Parkinson disease are associated with DRD3 variants. Parkinsonism Relat. Disord. *49*, 100–103.

Caviness, J.N., Driver-Dunckley, E., Connor, D.J., Sabbagh, M.N., Hentz, J.G., Noble, B., Evidente, V.G.H., Shill, H.A., and Adler, C.H. (2007). Defining mild cognitive impairment in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *22*, 1272–1277.

Centonze, D., Grande, C., Saulle, E., Martín, A.B., Gubellini, P., Pavón, N., Pisani, A., Bernardi, G., Moratalla, R., and Calabresi, P. (2003). Distinct Roles of D1 and D5 Dopamine Receptors in Motor Activity and Striatal Synaptic Plasticity. J. Neurosci. *23*, 8506–8512.

Chahine, L.M., Weintraub, D., Hawkins, K.A., Siderowf, A., Eberly, S., Oakes, D., Seibyl, J., Stern, M.B., Marek, K., Jennings, D., et al. (2016). Cognition in individuals at risk for Parkinson's: Parkinson associated risk syndrome (PARS) study findings. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *31*, 86–94.

Chaudhuri, K.R., Healy, D.G., and Schapira, A.H.V. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. 11.

de Chazeron, I., Durif, F., Chereau-Boudet, I., Fantini, M.L., Marques, A., Derost, P., Debilly, B., Brousse, G., Boirie, Y., and Llorca, P.M. (2019). Compulsive eating behaviors in Parkinson's disease. Eat. Weight Disord. EWD *24*, 421–429.

de Chazeron, I., Durif, F., Lambert, C., Chereau-Boudet, I., Fantini, M.L., Marques, A., Derost, P., Debilly, B., Brousse, G., Boirie, Y., et al. (2021). A case–control study investigating food addiction in Parkinson patients. Sci. Rep. *11*, 10934.

Chia, S.J., Tan, E.-K., and Chao, Y.-X. (2020). Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease. Int. J. Mol. Sci. *21*.

Chien, E.Y.T., Liu, W., Zhao, Q., Katritch, V., Han, G.W., Hanson, M.A., Shi, L., Newman, A.H., Javitch, J.A., Cherezov, V., et al. (2010). Structure of the human dopamine D3 receptor in complex with a D2/D3 selective antagonist. Science *330*, 1091–1095.

Cicchetti, F., Drouin-Ouellet, J., and Gross, R.E. (2009). Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? Trends in Pharmacological Sciences 30, 475–483.

Cilia, R., Siri, C., Marotta, G., Isaias, I.U., De Gaspari, D., Canesi, M., Pezzoli, G., and Antonini, A. (2008). Functional Abnormalities Underlying Pathological Gambling in Parkinson Disease. Arch. Neurol. *65*, 1604–1611.

Cilia, R., Ko, J.H., Cho, S.S., van Eimeren, T., Marotta, G., Pellecchia, G., Pezzoli, G., Antonini, A., and Strafella, A.P. (2010). Reduced dopamine transporter density in the ventral striatum of patients with Parkinson's disease and pathological gambling. Neurobiol. Dis. *39*, 98–104.

Cilia, R., Cho, S.S., Eimeren, T. van, Marotta, G., Siri, C., Ko, J.H., Pellecchia, G., Pezzoli, G., Antonini, A., and Strafella, A.P. (2011). Pathological gambling in patients with Parkinson's disease is associated with fronto-striatal disconnection: A path modeling analysis. Mov. Disord. *26*, 225–233.

Civelli, O., Bunzow, J., Albert, P., Van Tol, H.H.M., and Grandy, D. (1992). The Dopamine D2 Receptor. In Molecular Biology of G-Protein-Coupled Receptors, M.R. Brann, ed. (Boston, MA: Birkhäuser), pp. 160–169.

Clayton, D.F., and George, J.M. (1999). Synucleins in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders. J. Neurosci. Res. *58*, 120–129.

Connolly, B.S., and Lang, A.E. (2014). Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. JAMA 311, 1670–1683.

Conway, K.A., Harper, J.D., and Lansbury, P.T. (1998). Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. Nat Med 4, 1318–1320.

Cools, R., and D'Esposito, M. (2011). Inverted-U–Shaped Dopamine Actions on Human Working Memory and Cognitive Control. Biol. Psychiatry *69*, e113–e125.

Cools, R., Barker, R.A., Sahakian, B.J., and Robbins, T.W. (2001a). Enhanced or impaired cognitive function in Parkinson's disease as a function of dopaminergic medication and task demands. Cereb. Cortex N. Y. N 1991 *11*, 1136–1143.

Cools, R., Barker, R.A., Sahakian, B.J., and Robbins, T.W. (2001b). Mechanisms of cognitive set flexibility in Parkinson's disease. Brain J. Neurol. *124*, 2503–2512.

Cools, R., Barker, R.A., Sahakian, B.J., and Robbins, T.W. (2003). l-Dopa medication remediates cognitive inflexibility, but increases impulsivity in patients with Parkinson's disease. Neuropsychologia *41*, 1431–1441.

Cormier-Dequaire, F., Bekadar, S., Anheim, M., Lebbah, S., Pelissolo, A., Krack, P., Lacomblez, L., Lhommée, E., Castrioto, A., Azulay, J.-P., et al. (2018). Suggestive association between OPRM1 and impulse control disorders in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *33*, 1878–1886.

Corvol, J.-C., Artaud, F., Cormier-Dequaire, F., Rascol, O., Durif, F., Derkinderen, P., Marques, A.-R., Bourdain, F., Brandel, J.-P., Pico, F., et al. (2018). Longitudinal analysis of impulse control disorders in Parkinson disease. Neurology *91*, e189–e201.

Corwin, R.L., and Wojnicki, F.H.E. (2006). Binge Eating in Rats with Limited Access to Vegetable Shortening. Curr. Protoc. Neurosci. *36*, 9.23B.1-9.23B.11.

Costa, A., Peppe, A., Mazzù, I., Longarzo, M., Caltagirone, C., and Carlesimo, G.A. (2014). Dopamine Treatment and Cognitive Functioning in Individuals with Parkinson's Disease: The "Cognitive Flexibility" Hypothesis Seems to Work. Behav. Neurol. *2014*.

Costa, C.A. da, Paitel, E., Vincent, B., and Checler, F. (2002). α-Synuclein Lowers p53-dependent Apoptotic Response of Neuronal Cells: ABOLISHMENT BY 6-HYDROXYDOPAMINE AND IMPLICATION FOR PARKINSON'S DISEASE *. J. Biol. Chem. *277*, 50980–50984.

Costello, S., Cockburn, M., Bronstein, J., Zhang, X., and Ritz, B. (2009). Parkinson's Disease and Residential Exposure to Maneb and Paraquat From Agricultural Applications in the Central Valley of California. Am. J. Epidemiol. 169, 919–926.

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

Cybulska-Klosowicz, A., Dabrowska, J., Niedzielec, S., Zakrzewska, R., and Rozycka, A. (2017). Potential role of dopamine transporter in behavioral flexibility. Acta Neurobiol. Exp. (Warsz.) *77*, 176–189.

Czernecki, V., Pillon, B., Houeto, J.L., Pochon, J.B., Levy, R., and Dubois, B. (2002). Motivation, reward, and Parkinson's disease: influence of dopatherapy. Neuropsychologia *40*, 2257–2267.

Dardou, D., Reyrolle, L., Chassain, C., and Durif, F. (2017). Chronic pramipexole treatment induces compulsive behavior in rats with 6-OHDA lesions of the substantia nigra and ventral tegmental area. Behav. Brain Res. *332*, 327–336.

Darrah, J.M., Stefani, M.R., and Moghaddam, B. (2008). Interaction of N-methyl-D-aspartate and group 5 metabotropic glutamate receptors on behavioral flexibility using a novel operant set-shift paradigm: Behav. Pharmacol. *19*, 225–234.

Deacon, R.M.J., Croucher, A., and Rawlins, J.N.P. (2002). Hippocampal cytotoxic lesion effects on species-typical behaviours in mice. Behav. Brain Res. *132*, 203–213.

Deacon, R.M.J., Penny, C., and Rawlins, J.N.P. (2003). Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. Behav. Brain Res. *139*, 139–155.

Decourt, M., Jiménez-Urbieta, H., Benoit-Marand, M., and Fernagut, P.-O. (2021). Neuropsychiatric and Cognitive Deficits in Parkinson's Disease and Their Modeling in Rodents. Biomedicines *9*, 684.

Decressac, M., Mattsson, B., Lundblad, M., Weikop, P., and Björklund, A. (2012). Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV-mediated overexpression of α-synuclein in midbrain dopamine neurons. Neurobiol. Dis. *45*, 939–953.

Dehay, B., and Fernagut, P.-O. (2016). Alpha-synuclein-based models of Parkinson's disease. Rev. Neurol. (Paris) *172*, 371–378.

Del Sorbo, F., and Albanese, A. (2012). Clinical management of pain and fatigue in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat. Disord. *18 Suppl 1*, S233-236.

Devi, L., Raghavendran, V., Prabhu, B.M., Avadhani, N.G., and Anandatheerthavarada, H.K. (2008). Mitochondrial Import and Accumulation of α-Synuclein Impair Complex I in Human Dopaminergic Neuronal Cultures and Parkinson Disease Brain. J. Biol. Chem. *283*, 9089–9100.

Diaz, J., Lévesque, D., Lammers, C.H., Griffon, N., Martres, M.-P., Schwartz, J.-C., and Sokoloff, P. (1995). Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D3 receptor in the rat brain. Neuroscience *65*, 731–745.

Dijkstra, A.A., Voorn, P., Berendse, H.W., Groenewegen, H.J., Netherlands Brain Bank, Rozemuller, A.J.M., and van de Berg, W.D.J. (2014). Stage-dependent nigral neuronal loss in incidental Lewy body and Parkinson's disease: NIGRAL CELL LOSS DURING PARKINSON'S DISEASE. Mov. Disord. *29*, 1244–1251.

Djamshidian, A., Jha, A., O'Sullivan, S.S., Silveira-Moriyama, L., Jacobson, C., Brown, P., Lees, A., and Averbeck, B.B. (2010). Risk and learning in impulsive and nonimpulsive patients with Parkinson's disease. Mov. Disord. *25*, 2203–2210.

Doty, R.L. (2012). Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. Neurobiol. Dis. *46*, 527–552.

Doty, R.L., Stern, M.B., Pfeiffer, C., Gollomp, S.M., and Hurtig, H.I. (1992). Bilateral olfactory dysfunction in early stage treated and untreated idiopathic Parkinson's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *55*, 138–142.

Eagle, A.L., Olumolade, O.O., and Otani, H. (2015). Partial dopaminergic denervation-induced impairment in stimulus discrimination acquisition in parkinsonian rats: a model for early Parkinson's disease. Neurosci. Res. *92*, 71–79.

van Eimeren, T., Ballanger, B., Pellecchia, G., Miyasaki, J.M., Lang, A.E., and Strafella, A.P. (2009). Dopamine agonists diminish value sensitivity of the orbitofrontal cortex: a trigger for pathological gambling in Parkinson's disease? Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *34*, 2758–2766.

van Eimeren, T., Pellecchia, G., Cilia, R., Ballanger, B., Steeves, T.D.L., Houle, S., Miyasaki, J.M., Zurowski, M., Lang, A.E., and Strafella, A.P. (2010). Drug-induced deactivation of inhibitory networks predicts pathological gambling in PD (e–Pub ahead of print). Neurology *75*, 1711–1716.

Emre, M. (2003). Dementia associated with Parkinson's disease. Lancet Neurol. *2*, 229–237.

Engeln, M., Ahmed, S.H., Vouillac, C., Tison, F., Bezard, E., and Fernagut, P.-O. (2013). Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats. Neurobiol. Dis. *49*, 79–86.

Engeln, M., Ansquer, S., Dugast, E., Bezard, E., Belin, D., and Fernagut, P.-O. (2016). Multi-facetted impulsivity following nigral degeneration and dopamine replacement therapy. Neuropharmacology *109*, 69–77.

Erikson, K.M., Jones, B.C., and Beard, J.L. (2000). Iron deficiency alters dopamine transporter functioning in rat striatum. J. Nutr. *130*, 2831–2837.

Erro, R., Santangelo, G., Barone, P., and Vitale, C. (2015). Nonmotor symptoms in Parkinson's disease: classification and management (Dove Press).

Evans, A.H., Katzenschlager, R., Paviour, D., O'Sullivan, J.D., Appel, S., Lawrence, A.D., and Lees, A.J. (2004). Punding in Parkinson's disease: its relation to the dopamine dysregulation syndrome. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *19*, 397–405.

Fallon, S.J., Smulders, K., Esselink, R.A., van de Warrenburg, B.P., Bloem, B.R., and Cools, R. (2015). Differential optimal dopamine levels for set-shifting and working memory in Parkinson's disease. Neuropsychologia *77*, 42–51.

Fallon, S.J., Hampshire, A., Barker, R.A., and Owen, A.M. (2016). Learning to be inflexible: Enhanced attentional biases in Parkinson's disease. Cortex J. Devoted Study Nerv. Syst. Behav. *82*, 24–34.

Fang, Y.-J., Tan, C.-H., Tu, S.-C., Liu, C.-Y., and Yu, R.-L. (2019). More than an "inverted-U"? An exploratory study of the association between the catechol-o-methyltransferase gene polymorphism and executive functions in Parkinson's disease. PloS One *14*, e0214146.

Fauvet, B., Mbefo, M.K., Fares, M.-B., Desobry, C., Michael, S., Ardah, M.T., Tsika, E., Coune, P., Prudent, M., Lion, N., et al. (2012). α-Synuclein in central nervous system and from erythrocytes, mammalian cells, and Escherichia coli exists predominantly as disordered monomer. J. Biol. Chem. *287*, 15345–15364.

Fenu, S., Wardas, J., and Morelli, M. (2009). Impulse control disorders and dopamine dysregulation syndrome associated with dopamine agonist therapy in Parkinson's disease. Behav. Pharmacol. *20*, 363–379.

Fernagut, P.-O., and Chesselet, M.-F. (2004). Alpha-synuclein and transgenic mouse models. Neurobiol. Dis. *17*, 123–130.

Ferreira, J.G.P., Del-Fava, F., Hasue, R.H., and Shammah-Lagnado, S.J. (2008). Organization of ventral tegmental area projections to the ventral tegmental area-nigral complex in the rat. Neuroscience *153*, 196–213.

Fink, A.L. (2006). The Aggregation and Fibrillation of α-Synuclein. Acc. Chem. Res. *39*, 628–634.

Flagmeier, P., Meisl, G., Vendruscolo, M., Knowles, T.P.J., Dobson, C.M., Buell, A.K., and Galvagnion, C. (2016). Mutations associated with familial Parkinson's disease alter the initiation and amplification steps of α-synuclein aggregation. PNAS 113, 10328–10333.

Floresco, S.B. (2013). Prefrontal dopamine and behavioral flexibility: shifting from an "inverted-U" toward a family of functions. Front. Neurosci. *7*.

Floresco, S.B., Magyar, O., Ghods-Sharifi, S., Vexelman, C., and Tse, M.T.L. (2006). Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *31*, 297–309.

Ford, B. (2010). Pain in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *25 Suppl 1*, S98-103.

Fox, S.H., Katzenschlager, R., Lim, S.-Y., Barton, B., de Bie, R.M.A., Seppi, K., Coelho, M., Sampaio, C., and Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Committee (2018). International Parkinson and movement disorder society evidence-based medicine review: Update on treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *33*, 1248–1266.

Francois, C., Nguyen-Legros, J., and Percheron, G. (1981). Topographical and cytological localization of iron in rat and monkey brains. Brain Res. *215*, 317–322.

François, C., Grabli, D., McCairn, K., Jan, C., Karachi, C., Hirsch, E.-C., Féger, J., and Tremblay, L. (2004). Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates II. Anatomical study. Brain J. Neurol. *127*, 2055–2070.

Garcia-Borreguero, D., Larrosa, O., and Bravo, M. (2003). Parkinson's disease and sleep. Sleep Med. Rev. *7*, 115–129.

García-Montes, J.-R., Solís, O., Enríquez-Traba, J., Ruiz-DeDiego, I., Drucker-Colín, R., and Moratalla, R. (2019). Genetic Knockdown of mGluR5 in Striatal D1R-Containing Neurons Attenuates L-DOPA-Induced Dyskinesia in Aphakia Mice. Mol. Neurobiol. *56*, 4037–4050.

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

Gerfen, C.R. (2000). Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. Trends Neurosci. *23*, S64–S70.

Giguère, N., Burke Nanni, S., and Trudeau, L.-E. (2018). On Cell Loss and Selective Vulnerability of Neuronal Populations in Parkinson's Disease. Front. Neurol. *9*, 455.

Girard, R., Obeso, I., Thobois, S., Park, S.A., Vidal, T., Favre, E., Ulla, M., Broussolle, E., Krack, P., Durif, F., et al. (2019). Wait and you shall see: sexual delay discounting in hypersexual Parkinson's disease. Brain J. Neurol. *142*, 146–162.

Giros, B., Sokoloff, P., Martres, M.P., Riou, J.F., Emorine, L.J., and Schwartz, J.C. (1989). Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. Nature *342*, 923–926.

Gispert, S., Ricciardi, F., Kurz, A., Azizov, M., Hoepken, H.-H., Becker, D., Voos, W., Leuner, K., Müller, W.E., Kudin, A.P., et al. (2009). Parkinson phenotype in aged PINK1-deficient mice is accompanied by progressive mitochondrial dysfunction in absence of neurodegeneration. PloS One *4*, e5777.

Glickstein, S.B., Desteno, D.A., Hof, P.R., and Schmauss, C. (2005). Mice lacking dopamine D2 and D3 receptors exhibit differential activation of prefrontal cortical neurons during tasks requiring attention. Cereb. Cortex N. Y. N 1991 *15*, 1016–1024.

Glover, V., Sandler, M., Owen, F., and Riley, G.J. (1977). Dopamine is a monoamine oxidase B substrate in man. Nature *265*, 80–81.

Goldberg, M.S., and Lansbury Jr, P.T. (2000). Is there a cause-and-effect relationship between α-synuclein fibrillization and Parkinson's disease? Nat. Cell Biol. *2*, E115–E119.

Golts, N., Snyder, H., Frasier, M., Theisler, C., Choi, P., and Wolozin, B. (2002). Magnesium inhibits spontaneous and iron-induced aggregation of alpha-synuclein. J. Biol. Chem. *277*, 16116–16123.

Gombash, S.E., Manfredsson, F.P., Kemp, C.J., Kuhn, N.C., Fleming, S.M., Egan, A.E., Grant, L.M., Ciucci, M.R., MacKeigan, J.P., and Sortwell, C.E. (2013). Morphological and Behavioral Impact of AAV2/5-Mediated Overexpression of Human Wildtype Alpha-Synuclein in the Rat Nigrostriatal System. PLoS ONE *8*, e81426.

González-Rodríguez, P., Zampese, E., Stout, K.A., Guzman, J.N., Ilijic, E., Yang, B., Tkatch, T., Stavarache, M.A., Wokosin, D.L., Gao, L., et al. (2021). Disruption of mitochondrial complex I induces progressive parkinsonism. Nature *599*, 650–656.

Grall-Bronnec, M., Victorri-Vigneau, C., Donnio, Y., Leboucher, J., Rousselet, M., Thiabaud, E., Zreika, N., Derkinderen, P., and Challet-Bouju, G. (2018). Dopamine Agonists and Impulse Control Disorders: A Complex Association. Drug Saf. *41*, 19–75.

Guzman, J.N., Ilijic, E., Yang, B., Sanchez-Padilla, J., Wokosin, D., Galtieri, D., Kondapalli, J., Schumacker, P.T., and Surmeier, D.J. Systemic isradipine treatment diminishes calcium-dependent mitochondrial oxidant stress. J. Clin. Invest. *128*, 2266–2280.

Haagensen, B.N., Herz, D.M., Meder, D., Madsen, K.H., Løkkegaard, A., and Siebner, H.R. (2020). Linking brain activity during sequential gambling to impulse control in Parkinson's disease. NeuroImage Clin. *27*, 102330.

Habak, C., Noreau, A., Nagano-Saito, A., Mejía-Constaín, B., Degroot, C., Strafella, A.P., Chouinard, S., Lafontaine, A.-L., Rouleau, G.A., and Monchi, O. (2014). Dopamine transporter SLC6A3 genotype affects cortico-striatal activity of set-shifts in Parkinson's disease. Brain J. Neurol. *137*, 3025–3035.

Haluk, D.M., and Floresco, S.B. (2009). Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *34*, 2041–2052.

Harrison, B.J., Pujol, J., Cardoner, N., Deus, J., Alonso, P., López-Solà, M., Contreras-Rodríguez, O., Real, E., Segalàs, C., Blanco-Hinojo, L., et al. (2013). Brain corticostriatal systems and the major clinical symptom dimensions of obsessive-compulsive disorder. Biol. Psychiatry *73*, 321–328.

Heikkila, R., Hess, A., and Duvoisin, R. (1984). Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine in mice. Science *224*, 1451–1453.

Hely, M.A., Reid, W.G.J., Adena, M.A., Halliday, G.M., and Morris, J.G.L. (2008). The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *23*, 837–844.

Hennis, M.R., Seamans, K.W., Marvin, M.A., Casey, B.H., and Goldberg, M.S. (2013). Behavioral and Neurotransmitter Abnormalities in Mice Deficient for Parkin, DJ-1 and Superoxide Dismutase. PLoS ONE *8*.

Hirsch, E.C., Breidert, T., Rousselet, E., Hunot, S., Hartmann, A., and Michel, P.P. (2003). The role of glial reaction and inflammation in Parkinson's disease. Ann. N. Y. Acad. Sci. *991*, 214–228.

Hornak, J., O'Doherty, J., Bramham, J., Rolls, E.T., Morris, R.G., Bullock, P.R., and Polkey, C.E. (2004). Reward-related reversal learning after surgical excisions in orbito-frontal or dorsolateral prefrontal cortex in humans. J. Cogn. Neurosci. *16*, 463–478.

Houeto, J.L., Damier, P., Bejjani, P.B., Staedler, C., Bonnet, A.M., Arnulf, I., Pidoux, B., Dormont, D., Cornu, P., and Agid, Y. (2000). Subthalamic stimulation in Parkinson disease: a multidisciplinary approach. Arch. Neurol. *57*, 461–465.

Hughes, L.E., Altena, E., Barker, R.A., and Rowe, J.B. (2013). Perseveration and Choice in Parkinson's Disease: The Impact of Progressive Frontostriatal Dysfunction on Action Decisions. Cereb. Cortex N. Y. NY *23*, 1572–1581.

Hyacinthe, C., Barraud, Q., Tison, F., Bezard, E., and Ghorayeb, I. (2014). D1 receptor agonist improves sleep–wake parameters in experimental parkinsonism. Neurobiol. Dis. *63*, 20–24.

Iacono, D., Geraci-Erck, M., Rabin, M.L., Adler, C.H., Serrano, G., Beach, T.G., and Kurlan, R. (2015). Parkinson disease and incidental Lewy body disease: Just a question of time? Neurology *85*, 1670–1679.

Istin, M., Thiriet, N., and Solinas, M. (2017). Behavioral flexibility predicts increased ability to resist excessive methamphetamine self-administration: Flexibility and METH addiction. Addict. Biol. *22*, 958–966.

Jain, S., and Goldstein, D.S. (2012). Cardiovascular dysautonomia in Parkinson disease: From pathophysiology to pathogenesis. Neurobiol. Dis. *46*, 572–580.

Jakes, R., Spillantini, M.G., and Goedert, M. (1994). Identification of two distinct synucleins from human brain. FEBS Lett. 345, 27–32.

Jellinger, K.A. (2014). The pathomechanisms underlying Parkinson's disease. Expert Review of Neurotherapeutics 14, 199–215.

Jellinger, K.A. (2017). Neuropathology of Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease. In International Review of Neurobiology, (Elsevier), pp. 13–62.

Jeon, N., and Bortolato, M. (2020). What drugs modify the risk of iatrogenic impulse-control disorders in Parkinson's disease? A preliminary pharmacoepidemiologic study. PloS One *15*, e0227128.

Jiménez-Urbieta, H., Gago, B., de la Riva, P., Delgado-Alvarado, M., Marin, C., and Rodriguez-Oroz, M.C. (2015). Dyskinesias and impulse control disorders in Parkinson's disease: From pathogenesis to potential therapeutic approaches. Neurosci. Biobehav. Rev. *56*, 294–314.

Jiménez-Urbieta, H., Gago, B., Quiroga-Varela, A., Rodríguez-Chinchilla, T., Merino-Galán, L., Oregi, A., Belloso-Iguerategui, A., Delgado-Alvarado, M., Navalpotro-Gómez, I., Marin, C., et al. (2019). Pramipexole-induced impulsivity in mildparkinsonian rats: a model of impulse control disorders in Parkinson's disease. Neurobiol. Aging *75*, 126–135.

Joel, D. (2006). The signal attenuation rat model of obsessive-compulsive disorder: a review. Psychopharmacology (Berl.) *186*, 487–503.

Joel, D., and Avisar, A. (2001). Excessive lever pressing following post-training signal attenuation in rats: A possible animal model of obsessive compulsive disorder? Behav. Brain Res. *123*, 77–87.

Joel, D., and Doljansky, J. (2003). Selective Alleviation of Compulsive Lever-Pressing in Rats by D1, but not D2, Blockade: Possible Implications for the Involvement of D1 Receptors in Obsessive–Compulsive Disorder. Neuropsychopharmacology *28*, 77–85.

Keeney, P.M., Xie, J., Capaldi, R.A., and Bennett, J.P. (2006). Parkinson's Disease Brain Mitochondrial Complex I Has Oxidatively Damaged Subunits and Is Functionally Impaired and Misassembled. J. Neurosci. *26*, 5256–5264.

Kelley, A.E., and Stinus, L. (1985). Disappearance of hoarding behavior after 6-hydroxydopamine lesions of the mesolimbic dopamine neurons and its reinstatement with L-dopa. Behav. Neurosci. *99*, 531–545.

Kirik, D., Rosenblad, C., Burger, C., Lundberg, C., Johansen, T.E., Muzyczka, N., Mandel, R.J., and Björklund, A. (2002). Parkinson-Like Neurodegeneration Induced by Targeted Overexpression of α-Synuclein in the Nigrostriatal System. J. Neurosci. *22*, 2780–2791.

Kitada, T., Tong, Y., Gautier, C.A., and Shen, J. (2009). Absence of nigral degeneration in aged parkin/DJ-1/PINK1 triple knockout mice. J. Neurochem. *111*, 696–702.

Klanker, M., Feenstra, M., and Denys, D. (2013). Dopaminergic control of cognitive flexibility in humans and animals. Front. Neurosci. *7*.

Koller, W.C., Vetere-Overfield, B., and Barter, R. (1989). Tremors in early Parkinson's disease. Clin. Neuropharmacol. *12*, 293–297.

Kordower, J.H., Chu, Y., Hauser, R.A., Freeman, T.B., and Olanow, C.W. (2008). Lewy body–like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. Nat. Med. *14*, 504–506.

Krüger, R., Kuhn, W., Müller, T., Woitalla, D., Graeber, M., Kösel, S., Przuntek, H., Epplen, J.T., Schöls, L., and Riess, O. (1998). Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. Nat. Genet. *18*, 106–108.

Kuiper, L.B., Frohmader, K.S., and Coolen, L.M. (2017). Maladaptive Sexual Behavior Following Concurrent Methamphetamine and Sexual Experience in Male Rats is Associated with Altered Neural Activity in Frontal Cortex. Neuropsychopharmacology *42*, 2011–2020.

Kurtis, M.M., Rodriguez-Blazquez, C., Martinez-Martin, P., and ELEP Group (2013). Relationship between sleep disorders and other non-motor symptoms in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat. Disord. *19*, 1152–1155.

Kvernmo, T., Härtter, S., and Burger, E. (2006). A review of the receptor-binding and pharmacokinetic properties of dopamine agonists. Clin. Ther. *28*, 1065–1078.

Lacroix, L., Broersen, L.M., Weiner, I., and Feldon, J. (1998). The effects of excitotoxic lesion of the medial prefrontal cortex on latent inhibition, prepulse inhibition, food hoarding, elevated plus maze, active avoidance and locomotor activity in the rat. Neuroscience *84*, 431–442.

Lange, F., Seer, C., Loens, S., Wegner, F., Schrader, C., Dressler, D., Dengler, R., and Kopp, B. (2016). Neural mechanisms underlying cognitive inflexibility in Parkinson's disease. Neuropsychologia *93*, 142–150.

Lashuel, H.A., Overk, C.R., Oueslati, A., and Masliah, E. (2013). The many faces of α-synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. Nat. Rev. Neurosci. *14*, 38–48.

Lee, J.-Y., Lee, E.K., Park, S.S., Lim, J.-Y., Kim, H.J., Kim, J.S., and Jeon, B.S. (2009). Association of DRD3 and GRIN2B with impulse control and related behaviors in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *24*, 1803–1810.

Lee, J.-Y., Jeon, B.S., Kim, H.-J., and Park, S.-S. (2012). Genetic variant of HTR2A associates with risk of impulse control and repetitive behaviors in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat. Disord. *18*, 76–78.

Lesage, S., Anheim, M., Letournel, F., Bousset, L., Honoré, A., Rozas, N., Pieri, L., Madiona, K., Dürr, A., Melki, R., et al. (2013). G51D α-synuclein mutation causes a novel parkinsonian-pyramidal syndrome. Ann. Neurol. *73*, 459–471.

Levant, B. (1997). The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. Pharmacol. Rev.

Li, F., Cao, W.Y., Li, M.B., Xu, Y., Zhang, J.W., Zhang, J.Y., Luo, X.G., Dai, R.P., Zhou, X.F., and Li, C.Q. (2012). A simple method for detection of food foraging behavior in the rat: involvement of NMDA and dopamine receptors in the behavior. Neuroscience *205*, 73–80.

Li, J.-Y., Englund, E., Holton, J.L., Soulet, D., Hagell, P., Lees, A.J., Lashley, T., Quinn, N.P., Rehncrona, S., Björklund, A., et al. (2008). Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. Nat. Med. *14*, 501–503.

Lin, C.-H., Lin, J.-W., Liu, Y.-C., Chang, C.-H., and Wu, R.-M. (2015). Risk of Parkinson's disease following anxiety disorders: a nationwide population-based cohort study. Eur. J. Neurol. *22*, 1280–1287.

Lindgren, N., Usiello, A., Goiny, M., Haycock, J., Erbs, E., Greengard, P., Hökfelt, T., Borrelli, E., and Fisone, G. (2003). Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *100*, 4305–4309.

Liou, H.H., Tsai, M.C., Chen, C.J., Jeng, J.S., Chang, Y.C., Chen, S.Y., and Chen, R.C. (1997). Environmental risk factors and Parkinson's disease: A case-control study in Taiwan. Neurology *48*, 1583–1588.

Loiodice, S., McGhan, P., Gryshkova, V., Fleurance, R., Dardou, D., Hafidi, A., Nogueira da Costa, A., and Durif, F. (2017). Striatal changes underlie MPEP-mediated suppression of the acquisition and expression of pramipexole-induced place preference in an alpha-synuclein rat model of Parkinson's disease. J. Psychopharmacol. Oxf. Engl. *31*, 1323–1333.

Lou, H., Montoya, S.E., Alerte, T.N.M., Wang, J., Wu, J., Peng, X., Hong, C.-S., Friedrich, E.E., Mader, S.A., Pedersen, C.J., et al. (2010). Serine 129 Phosphorylation Reduces the Ability of α-Synuclein to Regulate Tyrosine Hydroxylase and Protein Phosphatase 2A in Vitro and in Vivo*. J. Biol. Chem. 285, 17648–17661.

Lu, J., Sun, F., Ma, H., Qing, H., and Deng, Y. (2015). Comparison between α-synuclein wild-type and A53T mutation in a progressive Parkinson's disease model. Biochem Biophys Res Commun 464, 988–993.

Lundblad, M., Decressac, M., Mattsson, B., and Björklund, A. (2012). Impaired neurotransmission caused by overexpression of α-synuclein in nigral dopamine neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *109*, 3213–3219.

Magerkurth, C., Schnitzer, R., and Braune, S. (2005). Symptoms of autonomic failure in Parkinson?s disease: prevalence and impact on daily life. Clin. Auton. Res. *15*, 76–82.

Markovic, V., Agosta, F., Canu, E., Inuggi, A., Petrovic, I., Stankovic, I., Imperiale, F., Stojkovic, T., Kostic, V.S., and Filippi, M. (2017). Role of habenula and amygdala dysfunction in Parkinson disease patients with punding. Neurology *88*, 2207–2215.

Marques, A., Durif, F., and Fernagut, P.-O. (2018). Impulse control disorders in Parkinson's disease. J. Neural Transm. Vienna Austria 1996 *125*, 1299–1312.

Marsden, C.D., and Parkes, J.D. (1977). Success and problems of long-term levodopa therapy in Parkinson's disease. Lancet 1, 345–349.

Mataix-Cols, D., Wooderson, S., Lawrence, N., Brammer, M.J., Speckens, A., and Phillips, M.L. (2004). Distinct neural correlates of washing, checking, and hoarding symptom dimensions in obsessive-compulsive disorder. Arch. Gen. Psychiatry *61*, 564–576.

Mata-Marín, D., Pineda-Pardo, J.A., Molina, J.A., Vela, L., Alonso-Frech, F., and Obeso, I. (2021). Aberrant Salient and Corticolimbic Connectivity in Hypersexual Parkinson's Disease. Brain Connect. *11*, 639–650.

Mattay, V.S., Tessitore, A., Callicott, J.H., Bertolino, A., Goldberg, T.E., Chase, T.N., Hyde, T.M., and Weinberger, D.R. (2002). Dopaminergic modulation of cortical function in patients with Parkinson's disease. Ann. Neurol. *51*, 156–164.

Maurice, N., Liberge, M., Jaouen, F., Ztaou, S., Hanini, M., Camon, J., Deisseroth, K., Amalric, M., Kerkerian-Le Goff, L., and Beurrier, C. (2015). Striatal Cholinergic Interneurons Control Motor Behavior and Basal Ganglia Function in Experimental Parkinsonism. Cell Rep. *13*, 657–666.

McDonald, A.P., D'Arcy, R.C.N., and Song, X. (2018). Functional MRI on executive functioning in aging and dementia: A scoping review of cognitive tasks. AGING Med. *1*, 209–219.

Mendez, I., Viñuela, A., Astradsson, A., Mukhida, K., Hallett, P., Robertson, H., Tierney, T., Holness, R., Dagher, A., Trojanowski, J.Q., et al. (2008). Dopamine neurons implanted into people with Parkinson's disease survive without pathology for 14 years. Nat. Med. *14*, 507–509.

Mengod, G., Villaró, M.T., Landwehrmeyer, G.B., Martinez-Mir, M.I., Niznik, H.B., Sunahara, R.K., Seeman, P., O'Dowd, B.F., Probst, A., and Palacios, J.M. (1992). Visualization of dopamine D1, D2 and D3 receptor mRNAs in human and rat brain. Neurochem. Int. *20 Suppl*, 33S-43S.

Mierau, J., Schneider, F.J., Ensinger, H.A., Chio, C.L., Lajiness, M.E., and Huff, R.M. (1995). Pramipexole binding and activation of cloned and expressed dopamine D2, D3 and D4 receptors. Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol. *290*, 29–36.

Milber, J.M., Noorigian, J.V., Morley, J.F., Petrovitch, H., White, L., Ross, G.W., and Duda, J.E. (2012). Lewy pathology is not the first sign of degeneration in vulnerable neurons in Parkinson disease. Neurology *79*, 2307–2314.

Millan, M.J., Buccafusco, J.J., Loiseau, F., Watson, D.J.G., Decamp, E., Fone, K.C.F., Thomasson-Perret, N., Hill, M., Mocaer, E., and Schneider, J.S. (2010). The dopamine D3 receptor antagonist, S33138, counters cognitive impairment in a range of rodent and primate procedures. Int. J. Neuropsychopharmacol. *13*, 1035–1051.

Mineo, D., Cacace, F., Mancini, M., Vannelli, A., Campanelli, F., Natale, G., Marino, G., Cardinale, A., Calabresi, P., Picconi, B., et al. (2019). Dopamine drives binge-like consumption of a palatable food in experimental Parkinsonism. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *34*, 821–831.

Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., and Caron, M.G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. Physiol. Rev. *78*, 189–225.

Monchi, O., Petrides, M., Doyon, J., Postuma, R.B., Worsley, K., and Dagher, A. (2004). Neural bases of set-shifting deficits in Parkinson's disease. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *24*, 702–710.

Monsma, F.J., Mahan, L.C., McVittie, L.D., Gerfen, C.R., and Sibley, D.R. (1990). Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *87*, 6723–6727.

Mor, D.E., Tsika, E., Mazzulli, J.R., Gould, N.S., Kim, H., Daniels, M.J., Doshi, S., Gupta, P., Grossman, J.L., Tan, V.X., et al. (2017). Dopamine induces soluble α-synuclein oligomers and nigrostriatal degeneration. Nat. Neurosci. *20*, 1560–1568.

Morgante, F., Espay, A.J., Gunraj, C., Lang, A.E., and Chen, R. (2006). Motor cortex plasticity in Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesias. Brain J. Neurol. *129*, 1059–1069.

Morissette, M., Dridi, M., Calon, F., Hadj Tahar, A., Meltzer, L.T., Bédard, P.J., and Di Paolo, T. (2006). Prevention of dyskinesia by an NMDA receptor antagonist in MPTP monkeys: effect on adenosine A2A receptors. Synap. N. Y. N *60*, 239–250.

Napier, T.C., and Persons, A.L. (2019). Pharmacological insights into impulsive-compulsive spectrum disorders associated with dopaminergic therapy. Eur. J. Neurosci. *50*, 2492–2502.

Nègre-Pagès, L., Grandjean, H., Lapeyre-Mestre, M., Montastruc, J.L., Fourrier, A., Lépine, J.P., Rascol, O., and DoPaMiP Study Group (2010). Anxious and depressive symptoms in Parkinson's disease: the French cross-sectionnal DoPaMiP study. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *25*, 157–166.

Nirenberg, M.J., and Waters, C. (2006). Compulsive eating and weight gain related to dopamine agonist use. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *21*, 524–529.

Obeso, J.A., Rodríguez-Oroz, M.C., Benitez-Temino, B., Blesa, F.J., Guridi, J., Marin, C., and Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *23 Suppl 3*, S548-559.

Olsson, M., Nikkhah, G., Bentlage, C., and Björklund, 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. Off. J. Soc. Neurosci. 15, 3863–3875.

Obeso, J.A., Olanow, C.W., and Nutt, J.G. (2000). Levodopa motor complications in Parkinson's disease. Trends Neurosci 23, S2-7.

Olanow, C.W., Rascol, O., Hauser, R., Feigin, P.D., Jankovic, J., Lang, A., Langston, W., Melamed, E., Poewe, W., Stocchi, F., et al. (2009). A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease. N Engl J Med 361, 1268–1278.

Ondo, W.G., Vuong, K.D., and Jankovic, J. (2002). Exploring the relationship between Parkinson disease and restless legs syndrome. Arch. Neurol. *59*, 421–424.

O'Sullivan, S.S., Williams, D.R., Gallagher, D.A., Massey, L.A., Silveira-Moriyama, L., and Lees, A.J. (2008). Nonmotor symptoms as presenting complaints in Parkinson's disease: a clinicopathological study. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *23*, 101–106.

O'Sullivan, S.S., Djamshidian, A., Evans, A.H., Loane, C.M., Lees, A.J., and Lawrence, A.D. (2010). Excessive hoarding in Parkinson's disease. Mov. Disord. *25*, 1026–1033.

O'Sullivan, S.S., Wu, K., Politis, M., Lawrence, A.D., Evans, A.H., Bose, S.K., Djamshidian, A., Lees, A.J., and Piccini, P. (2011). Cue-induced striatal dopamine release in Parkinson's disease-associated impulsive-compulsive behaviours. Brain *134*, 969–978.

Ouattara, B., Gasparini, F., Morissette, M., Grégoire, L., Samadi, P., Gomez-Mancilla, B., and Di Paolo, T. (2010). Effect of L-Dopa on metabotropic glutamate receptor 5 in the brain of parkinsonian monkeys. J. Neurochem. *113*, 715–724.

Paillé, V., Picconi, B., Bagetta, V., Ghiglieri, V., Sgobio, C., Di Filippo, M., Viscomi, M.T., Giampà, C., Fusco, F.R., Gardoni, F., et al. (2010). Distinct Levels of Dopamine Denervation Differentially Alter Striatal Synaptic Plasticity and NMDA Receptor Subunit Composition. J. Neurosci. *30*, 14182–14193.

Parent, A. (1990). Extrinsic connections of the basal ganglia. Trends Neurosci. *13*, 254–258.

Park, J.-S., Blair, N.F., and Sue, C.M. (2015). The role of ATP13A2 in Parkinson's disease: Clinical phenotypes and molecular mechanisms. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *30*, 770–779.

Parkinson, J. (2002). An essay on the shaking palsy. 1817. J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. *14*, 223–236; discussion 222.

Parkkinen, L., O'Sullivan, S.S., Collins, C., Petrie, A., Holton, J.L., Revesz, T., and Lees, A.J. (2011). Disentangling the Relationship between Lewy Bodies and Nigral Neuronal Loss in Parkinson's Disease. J. Park. Dis. *1*, 277–286.

Pasanen, P., Myllykangas, L., Siitonen, M., Raunio, A., Kaakkola, S., Lyytinen, J., Tienari, P.J., Pöyhönen, M., and Paetau, A. (2014). Novel α-synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology. Neurobiol. Aging *35*, 2180.e1-5.

Paumier, K.L., Luk, K.C., Manfredsson, F.P., Kanaan, N.M., Lipton, J.W., Collier, T.J., Steece-Collier, K., Kemp, C.J., Celano, S., Schulz, E., et al. (2015). Intrastriatal injection of pre-formed mouse α-synuclein fibrils into rats triggers α-synuclein pathology and bilateral nigrostriatal degeneration. Neurobiol. Dis. *82*, 185–199.

Payer, D.E., Guttman, M., Kish, S.J., Tong, J., Strafella, A., Zack, M., Adams, J.R., Rusjan, P., Houle, S., Furukawa, Y., et al. (2015). [^{11}C]-(+)-PHNO PET imaging of dopamine D(2/3) receptors in Parkinson's disease with impulse control disorders. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *30*, 160–166.

Payton, J.E., Perrin, R.J., Woods, W.S., and George, J.M. (2004). Structural determinants of PLD2 inhibition by alpha-synuclein. J. Mol. Biol. *337*, 1001–1009.

Pearce, R.K.B., Hawkes, C.H., and Daniel, S.E. (1995). The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. Mov. Disord. *10*, 283–287.

Peelaerts, W., Bousset, L., Van der Perren, A., Moskalyuk, A., Pulizzi, R., Giugliano, M., Van den Haute, C., Melki, R., and Baekelandt, V. (2015). α-Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. Nature *522*, 340–344.

Perez, R.G., Waymire, J.C., Lin, E., Liu, J.J., Guo, F., and Zigmond, M.J. (2002). A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *22*, 3090–3099.

Perez-Lloret, S., Rey, M.V., Fabre, N., Ory, F., Spampinato, U., Brefel-Courbon, C., Montastruc, J.-L., and Rascol, O. (2012). Prevalence and pharmacological factors associated with impulse-control disorder symptoms in patients with Parkinson disease. Clin. Neuropharmacol. *35*, 261–265.

Picconi, B., Centonze, D., Håkansson, K., Bernardi, G., Greengard, P., Fisone, G., Cenci, M.A., and Calabresi, P. (2003). Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. Nat. Neurosci. *6*, 501–506.

Picconi, B., Pisani, A., Barone, I., Bonsi, P., Centonze, D., Bernardi, G., and Calabresi, P. (2005). Pathological synaptic plasticity in the striatum: implications for Parkinson's disease. Neurotoxicology *26*, 779–783.

Pillon, B., Deweer, B., Vidailhet, M., Bonnet, A.-M., Hahn-Barma, V., and Dubois, B. (1998). Is impaired memory for spatial location in Parkinson's disease domain specific or dependent on 'strategic' processes? Neuropsychologia *36*, 1–9.

Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C.M., Halliday, G.M., Brundin, P., Volkmann, J., Schrag, A.-E., and Lang, A.E. (2017). Parkinson disease. Nature Reviews Disease Primers 3.

Polito, C., Berti, V., Ramat, S., Vanzi, E., De Cristofaro, M.T., Pellicanò, G., Mungai, F., Marini, P., Formiconi, A.R., Sorbi, S., et al. (2012). Interaction of caudate dopamine depletion and brain metabolic changes with cognitive dysfunction in early Parkinson's disease. Neurobiol. Aging *33*, 206.e29-206.e39.

Polymeropoulos, M.H. (1997). Mutation in the -Synuclein Gene Identified in Families with Parkinson's Disease. Science *276*, 2045–2047.

Ponsen, M.M., Stoffers, D., Booij, J., van Eck-Smit, B.L.F., Wolters, E.C., and Berendse, H.W. (2004). Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease. Ann. Neurol. *56*, 173–181.

Pontone, G.M., Williams, J.R., Anderson, K.E., Chase, G., Goldstein, S.A., Grill, S., Hirsch, E.S., Lehmann, S., Little, J.T., Margolis, R.L., et al. (2009). Prevalence of anxiety disorders and anxiety subtypes in patients with Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *24*, 1333–1338.

Qin, Z.H., Chen, J.F., and Weiss, B. (1994). Lesions of mouse striatum induced by 6-hydroxydopamine differentially alter the density, rate of synthesis, and level of gene expression of D1 and D2 dopamine receptors. J. Neurochem. *62*, 411–420.

Rao, H., Mamikonyan, E., Detre, J.A., Siderowf, A.D., Stern, M.B., Potenza, M.N., and Weintraub, D. (2010). Decreased Ventral Striatal Activity with Impulse Control Disorders in Parkinson's Disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *25*, 1660–1669.

Rascol, O., Brooks, D.J., Korczyn, A.D., De Deyn, P.P., Clarke, C.E., and Lang, A.E. (2000). A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. N. Engl. J. Med. *342*, 1484–1491.

Rascol, O., Lozano, A., Stern, M., and Poewe, W. (2011). Milestones in Parkinson's disease therapeutics. Mov. Disord. *26*, 1072–1082.

Ravizza, S.M., and Ciranni, M.A. (2002). Contributions of the prefrontal cortex and basal ganglia to set shifting. J. Cogn. Neurosci. *14*, 472–483.

Ray, N.J., and Strafella, A.P. (2013). Imaging impulse control disorders in Parkinson's disease and their relationship to addiction. J. Neural Transm. *120*, 659–664.

Ray, N.J., Miyasaki, J.M., Zurowski, M., Ko, J.H., Cho, S.S., Pellecchia, G., Antonelli, F., Houle, S., Lang, A.E., and Strafella, A.P. (2012). Extrastriatal dopaminergic abnormalities of DA homeostasis in Parkinson's patients with medication-induced pathological gambling: A [11C] FLB-457 and PET study. Neurobiol. Dis. *48*, 519–525.

Rcom-H'cheo-Gauthier, A., Goodwin, J., and Pountney, D.L. (2014). Interactions between calcium and alpha-synuclein in neurodegeneration. Biomolecules *4*, 795–811.

Remy, P., Doder, M., Lees, A., Turjanski, N., and Brooks, D. (2005). Depression in Parkinson's disease: loss of dopamine and noradrenaline innervation in the limbic system. Brain J. Neurol. *128*, 1314–1322.

Rial, D., Castro, A.A., Machado, N., Garção, P., Gonçalves, F.Q., Silva, H.B., Tomé, Â.R., Köfalvi, A., Corti, O., Raisman-Vozari, R., et al. (2014). Behavioral Phenotyping of Parkin-Deficient Mice: Looking for Early Preclinical Features of Parkinson's Disease. PLoS ONE *9*.

Robbins, T.W. (2007). Shifting and stopping: fronto-striatal substrates, neurochemical modulation and clinical implications. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. *362*, 917–932.

Roberts, A.C., De Salvia, M.A., Wilkinson, L.S., Collins, P., Muir, J.L., Everitt, B.J., and Robbins, T.W. (1994). 6-Hydroxydopamine lesions of the prefrontal cortex in monkeys enhance performance on an analog of the Wisconsin Card Sort Test: possible interactions with subcortical dopamine. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *14*, 2531–2544.

Robinson, S.W., and Caron, M.G. (1997). Selective inhibition of adenylyl cyclase type V by the dopamine D3 receptor. Mol. Pharmacol. *52*, 508–514.

Rodriguez-Oroz, M.C., Jahanshahi, M., Krack, P., Litvan, I., Macias, R., Bezard, E., and Obeso, J.A. (2009). Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. The Lancet Neurology 8, 1128–1139.

Rodriguez-Oroz, M.C., Obeso, J.A., Lang, A.E., Houeto, J.-L., Pollak, P., Rehncrona, S., Kulisevsky, J., Albanese, A., Volkmann, J., Hariz, M.I., et al. (2005). Bilateral deep brain stimulation in Parkinson's disease: a multicentre study with 4 years follow-up. Brain J. Neurol. 128, 2240–2249.

Rossi, M., Gerschcovich, E.R., De Achaval, D., Perez-Lloret, S., Cerquetti, D., Cammarota, A., Inés Nouzeilles, M., Fahrer, R., Merello, M., and Leiguarda, R. (2010). Decision-making in Parkinson's disease patients with and without pathological gambling: Decision-making in PD with pathological gambling. Eur. J. Neurol. *17*, 97–102.

Rotge, J.-Y., Guehl, D., Dilharreguy, B., Cuny, E., Tignol, J., Bioulac, B., Allard, M., Burbaud, P., and Aouizerate, B. (2008). Provocation of obsessive–compulsive symptoms: a quantitative voxel-based meta-analysis of functional neuroimaging studies. J. Psychiatry Neurosci. JPN *33*, 405–412.

Sakai, K., and Gash, D.M. (1994). Effect of bilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra on locomotor activity in the rat. Brain Res. *633*, 144–150.

Samii, A., Nutt, J.G., and Ransom, B.R. (2004). Parkinson's disease. Lancet Lond. Engl. *363*, 1783–1793.

Santangelo, G., Raimo, S., Cropano, M., Vitale, C., Barone, P., and Trojano, L. (2019). Neural bases of impulse control disorders in Parkinson's disease: A systematic review and an ALE meta-analysis. Neurosci. Biobehav. Rev. *107*, 672–685.

Santos-García, D., de Deus Fonticoba, T., Cores Bartolomé, C., Suárez Castro, E., Jesús, S., Mir, P., Pascual-Sedano, B., Pagonabarraga, J., Kulisevsky, J., Hernández-Vara, J., et al. (2021). Depression is Associated with Impulse-compulsive Behaviors in Parkinson's disease. J. Affect. Disord. *280*, 77–89.

Savica, R., Rocca, W.A., and Ahlskog, J.E. (2010). When Does Parkinson Disease Start? Arch. Neurol. *67*.

Schapira, A.H., Holt, I.J., Sweeney, M., Harding, A.E., Jenner, P., and Marsden, C.D. (1990). Mitochondrial DNA analysis in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *5*, 294–297.

Schapira, A.H.V., Chaudhuri, K.R., and Jenner, P. (2017). Non-motor features of Parkinson disease. Nat. Rev. Neurosci. *18*, 435–450.

Scheffels, J.F., Engels, J.E., Kalbe, E., and Kessler, J. (2018). [Screening of executive functions in patients with Parkinson's disease using the new rapid test PAL-5]. Fortschr. Neurol. Psychiatr. *86*, 219–225.

Scherman, D., Desnos, C., Darchen, F., Pollak, P., Javoy-Agid, F., and Agid, Y. (1989). Striatal dopamine deficiency in parkinson's disease: Role of aging. Ann. Neurol. *26*, 551–557.

Schrag, A. (2004). Psychiatric aspects of Parkinson's disease--an update. J. Neurol. *251*, 795–804.

Scott, W.A. (1962). Cognitive Complexity and Cognitive Flexibility. Sociometry *25*, 405–414.

Sesack, S.R., Hawrylak, V.A., Matus, C., Guido, M.A., and Levey, A.I. (1998). Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *18*, 2697–2708.

Sharon, R., Goldberg, M.S., Bar-Josef, I., Betensky, R.A., Shen, J., and Selkoe, D.J. (2001). -Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. *98*, 9110–9115.

Shen, W., Plotkin, J.L., Francardo, V., Ko, W.K.D., Xie, Z., Li, Q., Fieblinger, T., Wess, J., Neubig, R.R., Lindsley, C.W., et al. (2015). M4 Muscarinic Receptor Signaling Ameliorates Striatal Plasticity Deficits in Models of L-DOPA-Induced Dyskinesia. Neuron *88*, 762–773.

Shiba, M., Bower, J.H., Maraganore, D.M., McDonnell, S.K., Peterson, B.J., Ahlskog, J.E., Schaid, D.J., and Rocca, W.A. (2000). Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson's disease: a case-control study. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *15*, 669–677.

Sierra, M., Carnicella, S., Strafella, A.P., Bichon, A., Lhommée, E., Castrioto, A., Chabardes, S., Thobois, S., and Krack, P. (2015). Apathy and Impulse Control Disorders: Yin & Yang of Dopamine Dependent Behaviors. J. Park. Dis. *5*, 625–636.

Silveira-Moriyama, L., Evans, A.H., Katzenschlager, R., and Lees, A.J. (2006). Punding and dyskinesias. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *21*, 2214–2217.

Singh, A., Kandimala, G., Dewey, R.B., and O'Suilleabhain, P. (2007). Risk factors for pathologic gambling and other compulsions among Parkinson's disease patients taking dopamine agonists. J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas. *14*, 1178–1181.

Singleton, A.B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Peuralinna, T., Dutra, A., Nussbaum, R., et al. (2003). alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. Science *302*, 841.

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

Smith, Y., Bevan, M.D., Shink, E., and Bolam, J.P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. Neuroscience *86*, 353–387.

Snyder, A.M., and Connor, J.R. (2009). Iron, the substantia nigra and related neurological disorders. Biochim. Biophys. Acta *1790*, 606–614.

Sofic, E., Riederer, P., Heinsen, H., Beckmann, H., Reynolds, G.P., Hebenstreit, G., and Youdim, M.B. (1988). Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain. J. Neural Transm. *74*, 199–205.

Spencer, A.H., Rickards, H., Fasano, A., and Cavanna, A.E. (2011). The prevalence and clinical characteristics of punding in Parkinson's disease. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *26*, 578–586.

Spillantini, M.G., Crowther, R.A., Jakes, R., Hasegawa, M., and Goedert, M. (1998). -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Proc. Natl. Acad. Sci. *95*, 6469–6473.

Stam, C.J., de Bruin, J.P., van Haelst, A.M., van der Gugten, J., and Kalsbeek, A. (1989). Influence of the mesocortical dopaminergic system on activity, food hoarding, social-agonistic behavior, and spatial delayed alternation in male rats. Behav. Neurosci. *103*, 24–35.

Stark, A.J., Smith, C.T., Lin, Y.-C., Petersen, K.J., Trujillo, P., van Wouwe, N.C., Kang, H., Donahue, M.J., Kessler, R.M., Zald, D.H., et al. (2018). Nigrostriatal and Mesolimbic D2/3 Receptor Expression in Parkinson's Disease Patients with Compulsive Reward-Driven Behaviors. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *38*, 3230–3239.

Stuchlik, A., Radostová, D., Hatalova, H., Vales, K., Nekovarova, T., Koprivova, J., Svoboda, J., and Horacek, J. (2016). Validity of Quinpirole Sensitization Rat Model of OCD: Linking Evidence from Animal and Clinical Studies. Front. Behav. Neurosci. *10*, 209.

Surmeier, D.J. (2007). Calcium, ageing, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. Lancet Neurol. *6*, 933–938.

Svenningsson, P., Gunne, L., and Andren, P.E. (2000). L-DOPA produces strong induction of c-fos messenger RNA in dopamine-denervated cortical and striatal areas of the common marmoset. Neuroscience *99*, 457–468.

Szechtman, H., Sulis, W., and Eilam, D. (1998). Quinpirole induces compulsive checking behavior in rats: a potential animal model of obsessive-compulsive disorder (OCD). Behav. Neurosci. *112*, 1475–1485.

Szechtman, H., Ahmari, S.E., Beninger, R.J., Eilam, D., Harvey, B.H., Edemann-Callesen, H., and Winter, C. (2017). Obsessive-compulsive disorder: Insights from animal models. Neurosci. Biobehav. Rev. *76*, 254–279.

Tokunaga, N., Choudhury, M.E., Nishikawa, N., Nagai, M., Tujii, T., Iwaki, H., Kaneta, M., and Nomoto, M. (2012). Pramipexole upregulates dopamine receptor D_2 and D_3 expression in rat striatum. J. Pharmacol. Sci. *120*, 133–137.

Tremblay, M., Silveira, M.M., Kaur, S., Hosking, J.G., Adams, W.K., Baunez, C., and Winstanley, C.A. (2017). Chronic D2/3 agonist ropinirole treatment increases preference for uncertainty in rats regardless of baseline choice patterns. Eur. J. Neurosci. *45*, 159–166.

Tunbridge, E.M., Bannerman, D.M., Sharp, T., and Harrison, P.J. (2004). Catechol-o-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *24*, 5331–5335.

Uhl, G.R., Hedreen, J.C., and Price, D.L. (1985). Parkinson's disease. Neurology *35*, 1215.

Ulusoy, A., Decressac, M., Kirik, D., and Björklund, A. (2010). Viral vector-mediated overexpression of α-synuclein as a progressive model of Parkinson's disease. In Progress in Brain Research, (Elsevier), pp. 89–111.

Ungerstedt, U. (1968). 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. Eur. J. Pharmacol. *5*, 107–110.

Vaillancourt, D.E., Schonfeld, D., Kwak, Y., Bohnen, N.I., and Seidler, R. (2013). Dopamine overdose hypothesis: Evidence and clinical implications. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *28*.

van Holst, R.J., van den Brink, W., Veltman, D.J., and Goudriaan, A.E. (2010). Why gamblers fail to win: a review of cognitive and neuroimaging findings in pathological gambling. Neurosci Biobehav Rev 34, 87–107.

van Veen, S., Martin, S., Van den Haute, C., Benoy, V., Lyons, J., Vanhoutte, R., Kahler, J.P., Decuypere, J.-P., Gelders, G., Lambie, E., et al. (2020). ATP13A2 deficiency disrupts lysosomal polyamine export. Nature *578*, 419–424.

Velseboer, D.C., de Haan, R.J., Wieling, W., Goldstein, D.S., and de Bie, R.M.A. (2011). Prevalence of orthostatic hypotension in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. Parkinsonism Relat. Disord. *17*, 724–729.

Vijayraghavan, S., Major, A.J., and Everling, S. (2017). Neuromodulation of Prefrontal Cortex in Non-Human Primates by Dopaminergic Receptors during Rule-Guided Flexible Behavior and Cognitive Control. Front. Neural Circuits *11*, 91.

de Visser, L., Homberg, J., Mitsogiannis, M., Zeeb, F., Rivalan, M., Fitoussi, A., Galhardo, V., van den Bos, R., Winstanley, C., and Dellu-Hagedorn, F. (2011). Rodent Versions of the Iowa Gambling Task: Opportunities and Challenges for the Understanding of Decision-Making. Front. Neurosci. *5*, 109.

Voon, V., and Fox, S.H. (2007). Medication-related impulse control and repetitive behaviors in Parkinson disease. Arch. Neurol. *64*, 1089–1096.

Voon, V., Hassan, K., Zurowski, M., Duff-Canning, S., de Souza, M., Fox, S., Lang, A.E., and Miyasaki, J. (2006). Prospective prevalence of pathologic gambling and medication association in Parkinson disease. Neurology *66*, 1750–1752.

Voon, V., Fernagut, P.-O., Wickens, J., Baunez, C., Rodriguez, M., Pavon, N., Juncos, J.L., Obeso, J.A., and Bezard, E. (2009). Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson's disease: from dyskinesias to impulse control disorders. Lancet Neurol. *8*, 1140–1149.

Voon, V., Rizos, A., Chakravartty, R., Mulholland, N., Robinson, S., Howell, N.A., Harrison, N., Vivian, G., and Ray Chaudhuri, K. (2014). Impulse control disorders in Parkinson's disease: decreased striatal dopamine transporter levels. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry *85*, 148–152.

Weinreb, P.H., Zhen, W., Poon, A.W., Conway, K.A., and Lansbury, P.T. (1996). NACP, A Protein Implicated in Alzheimer's Disease and Learning, Is Natively Unfolded †. Biochemistry *35*, 13709–13715.

Weintraub, D., and Claassen, D.O. (2017). Impulse Control and Related Disorders in Parkinson's Disease. In International Review of Neurobiology, (Elsevier), pp. 679–717.

Weintraub, D., Koester, J., Potenza, M.N., Siderowf, A.D., Stacy, M., Voon, V., Whetteckey, J., Wunderlich, G.R., and Lang, A.E. (2010). Impulse Control Disorders in Parkinson Disease: A Cross-Sectional Study of 3090 Patients. Arch. Neurol. *67*.

Wersinger, C., and Sidhu, A. (2003). Attenuation of dopamine transporter activity by alpha-synuclein. Neurosci. Lett. *340*, 189–192.

Williams-Gray, C.H., Foltynie, T., Brayne, C.E.G., Robbins, T.W., and Barker, R.A. (2007). Evolution of cognitive dysfunction in an incident Parkinson's disease cohort. Brain J. Neurol. *130*, 1787–1798.

Winner, B., Jappelli, R., Maji, S.K., Desplats, P.A., Boyer, L., Aigner, S., Hetzer, C., Loher, T., Vilar, M., Campioni, S., et al. (2011). In vivo demonstration that alpha-synuclein oligomers are toxic. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *108*, 4194–4199.

Wise, R.A. (2009). Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. Trends Neurosci. *32*, 517–524.

Zainal Abidin, S., Tan, E.L., Chan, S.-C., Jaafar, A., Lee, A.X., Abd Hamid, M.H.N., Abdul Murad, N.A., Pakarul Razy, N.F., Azmin, S., Ahmad Annuar, A., et al. (2015). DRD and GRIN2B polymorphisms and their association with the development of impulse control behaviour among Malaysian Parkinson's disease patients. BMC Neurol. *15*, 59.

Zayed, J., Ducic, S., Campanella, G., Panisset, J.C., André, P., Masson, H., and Roy, M. (1990). Facteurs environnementaux dans l'étiologie de la maladie de Parkinson. Can. J. Neurol. Sci. J. Can. Sci. Neurol. *17*, 286–291.

Zecca, L., Berg, D., Arzberger, T., Ruprecht, P., Rausch, W.D., Musicco, M., Tampellini, D., Riederer, P., Gerlach, M., and Becker, G. (2005). In vivo detection of iron and neuromelanin by transcranial sonography: a new approach for early detection of substantia nigra damage. Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc. *20*, 1278–1285.

Zeeb, F.D., Robbins, T.W., and Winstanley, C.A. (2009). Serotonergic and Dopaminergic Modulation of Gambling Behavior as Assessed Using a Novel Rat Gambling Task. Neuropsychopharmacology *34*, 2329–2343.

Zhu, M., Qin, Z.-J., Hu, D., Munishkina, L.A., and Fink, A.L. (2006). Alpha-synuclein can function as an antioxidant preventing oxidation of unsaturated lipid in vesicles. Biochemistry *45*, 8135–8142.

Zhu, M., Li, M., Ye, D., Jiang, W., Lei, T., and Shu, K. (2016). Sensory symptoms in Parkinson's disease: Clinical features, pathophysiology, and treatment. J. Neurosci. Res. *94*, 685–692.

Zhu, X.-R., Maskri, L., Herold, C., Bader, V., Stichel, C.C., Güntürkün, O., and Lübbert, H. (2007). Non-motor behavioural impairments in parkin-deficient mice. Eur. J. Neurosci. *26*, 1902–1911.

Fréquence de la maladie de Parkinson en France. Données nationales et régionales 2010-2015. 69.