



HAL
open science

Role du striatum dans la perception temporelle via un modèle rat transgénique de la maladie de huntington

Sophie Höhn

► **To cite this version:**

Sophie Höhn. Role du striatum dans la perception temporelle via un modèle rat transgénique de la maladie de huntington. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA11T076 . tel-00769407

HAL Id: tel-00769407

<https://theses.hal.science/tel-00769407v1>

Submitted on 1 Jan 2013

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

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

UNIVERSITE PARIS XI

FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Champ disciplinaire : Neurosciences

Ecole doctorale de rattachement : ED 419 BIO-SIGNE

Présentée et soutenue publiquement par

SOPHIE HÖHN

Le 28/10/2011

Titre :

**ROLE DU STRIATUM DANS LA PERCEPTION TEMPORELLE VIA UN MODELE
RAT TRANSGENIQUE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON**

JURY

Présidente : Sylvie Granon

Rapporteure : Sylvie Droit-Volet

Rapporteure : Anne-Marie Mouly

Examineur : Alain Marchand

Directrice de thèse : Valérie Doyère

RESUME :

ROLE DU STRIATUM DANS LA PERCEPTION TEMPORELLE VIA UN MODELE RAT TRANSGENIQUE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON

Afin d'analyser le rôle de la plasticité striatale dans la perception temporelle, nous avons réalisé une étude comportementale et électrophysiologique d'un modèle rat transgénique de la maladie de Huntington impliquant la dégénérescence progressive du striatum. Pour ce faire, nous avons élaboré une étude longitudinale (4-15 mois) du suivi de la maladie de Huntington au niveau moteur, motivationnel et temporel, et une étude présymptomatique (4-5 mois) de l'estimation temporelle et électrophysiologique *in vivo* de la voie préfronto-striatale. Nous avons détecté un dysfonctionnement de la perception temporelle et de la plasticité synaptique de manière présymptomatique, suggérant une corrélation entre ces deux dysfonctionnements. En symptomatique, le comportement temporel discriminatif est plus fortement altéré, corrélant d'une dégénérescence du striatum.

Mots-clés : perception temporelle; striatum; plasticité; maladie de Huntington

SUMMARY:

ROLE OF THE STRIATUM IN TEMPORAL PERCEPTION IN A TRANSGENIC RAT MODEL FOR HUNTINGTON'S DISEASE

In order to assess the role of striatal plasticity in temporal perception, we have realized a behavioral and electrophysiological study of a transgenic rat model for Huntington's disease that implicates progressive neurodegeneration of the striatum. For that purpose, we have done a longitudinal study (4-15 months) of Huntington's disease at a motor, motivational and temporal level, and a presymptomatic study (4-5 months) of temporal estimation and of *in vivo* electrophysiological prefronto-striatal pathway. We have detected a dysfunction in temporal perception as well as an alteration of synaptic plasticity at a presymptomatic stage, suggesting the existence of a correlation between those two dysfunctions. At a symptomatic stage, the temporal discriminative behavior is deeply altered, correlating with striatum degeneration.

Key words: temporal perception; striatum; plasticity; Huntington's disease

REMERCIEMENTS

« La reconnaissance silencieuse ne sert à personne. »

Gladys Bronwyn Stern

Il y a tellement de personnes à qui je devrais dire merci. La liste semble infinie et je vais forcément en oublier quelques uns, alors d'avance, je m'en excuse.

Tout d'abord, je voudrais remercier mes parents, sans qui tout de même, j'aurais eu du mal à être présente en chair et en os pour écrire cette thèse. Ils m'ont été d'un grand soutien moral et c'est grâce à eux que j'ai réussi à tenir le coup. Cet écrit, je le leur dédie.

Ensuite bien entendu, je remercie Valérie Doyère qui m'a formé, qui a eu la patience de m'apprendre les fils du métier et qui m'a enseigné à me dépasser et à voir plus loin que les limites que je m'étais fixée. Lorsque la tâche me paraissait insurmontable, elle était là et arrivait à me pousser encore un peu. Elle a mis sa confiance en moi, m'a initié à de nombreuses techniques scientifiques, m'a fait voyager et m'a préparé à la suite à venir, pour le meilleur et pour le pire.

Je remercie aussi Serge Laroche qui m'a accueillie dans son laboratoire. Moi qui adolescente m'étais fixée comme objectif de travailler au sein du CNRS ou du National Geographic, j'ai atteint mon but.

Egalement, je remercie mon jury de thèse composé de Sylvie Granon, Sylvie Droit-Volet, Anne-Marie Mouly et Alain Marchand qui ont accepté de juger mon travail et me permettront (je l'espère) de passer ma thèse afin d'obtenir le grade de docteur.

Je tiens également à remercier toute notre équipe, ceux qui sont encore présents et ceux qui sont partis, Nicole El Massioui, Alexis Faure, Glenn Dallérac, Aurore Mallet, Mouna Es-Seddiqi, et les nombreux stagiaires qui ne sont restés qu'un temps mais qui emplissaient de soleil nos bureaux (les Sonias, Alison, Aliénor...).

Je remercie Glenn Schafe, qui m'a accueilli à trois reprises dans son laboratoire à Yale. Il m'a formé aux techniques immunohistochimiques et m'a tout de suite dit « You just fit in ! », me

mettant à l'aise en quelques instants en me laissant toute la liberté que je voulais afin de réaliser mes expériences. Bruce Brown, un autre Américain, m'a également beaucoup aidé, notamment pour l'étude des latences de réponses.

Tout au long de mes expériences, les animalières Pascale Leblanc Veyrac et Nathalie Samson-Desvignes m'ont été d'un grand secours, à surveiller mes nombreux rats après des opérations, à gérer les rats transgéniques... Sans elles, tout ce travail n'aurait pas été possible et je dois absolument les remercier.

Bruno Bozon a également été d'un grand secours, notamment lorsque le disque dur de mon ordinateur ainsi que le disque dur externe de sauvegarde ont décidé de décéder conjointement. Je n'aurais jamais pu récupérer mes données sans son aide.

En réalité, je dois remercier la majorité des gens qui peuplent ce laboratoire, Gérard Dutrieux qui m'a bien aidé en électrophysiologie, Paulette Richer qui fabriquait mes électrodes et toutes les personnes qui peuplaient les couloirs et que je pouvais croiser en semaine comme les week-ends (n'est-ce pas Jean-Marc).

Pour finir, je voudrais remercier tous les gens qui sont présent à mes côtés tous les jours, sans pour autant être vraiment au courant de ce que je fabrique quand je vais travailler au laboratoire. A tous mes amis, toujours là pour me faire déconnecter, me faire rire, m'aérer l'esprit. Sans cette coupure avec le monde scientifique, je n'aurais pu terminer mon projet. Ils m'ont permis de trouver le parfait équilibre.

Et à tous ceux que j'ai oubliés,

Merci...

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	7
I. Le temps.....	8
a. Historique.....	10
b. Méthodologie.....	12
1. <i>La discrimination temporelle</i>	12
2. <i>La production temporelle</i>	12
3. <i>La reproduction temporelle</i>	13
4. <i>Le « peak interval »</i>	13
5. <i>La généralisation temporelle</i>	15
6. <i>La bissection temporelle</i>	16
c. Bases neurobiologiques.....	17
1. <i>Approche lésionnelle et pathologie</i>	17
2. <i>Approche pharmacologique</i>	20
3. <i>Corrélat neurophysiologiques</i>	24
d. Modèles psychologiques (SET) vs. modèles physiologiques (SBF, Meck).....	27
1. <i>La propriété scalaire</i>	27
2. <i>Le modèle d'horloge interne</i>	28
3. <i>La théorie comportementale du temps</i>	29
4. <i>Le modèle des oscillateurs temporels</i>	30
5. <i>Le modèle de détection de coïncidences</i>	31
6. <i>Le modèle SBF (Striatal Beat Frequency)</i>	31
II. La maladie de Huntington.....	33
a. Définition.....	33
b. Modèles animaux.....	34
1. <i>Modèles excitotoxiques</i>	34

<i>2. Le modèle murin knock-in</i>	35
<i>3. Modèles transgéniques</i>	35
c. La maladie de Huntington et le temps	37
d. La maladie de Huntington et la plasticité	40
e. Traitements et thérapies	42
III. Nos objectifs	43
ARTICLE I	47
ARTICLE II	60
ARTICLE III	68
DISCUSSION	79
I. Lien entre la plasticité et la maladie de Huntington	81
II. Lien entre le temps et la maladie de Huntington	84
III. Lien entre la motivation, le temps et la maladie de Huntington	87
IV. Conclusion	90
BIBLIOGRAPHIE	92

INTRODUCTION

INTRODUCTION

I. Le temps

Le temps est une dimension fondamentale et omniprésente de la vie. Il est crucial pour des décisions sur la quantité, la vitesse de mouvement, le taux de rendement ainsi que lors du contrôle moteur d'activités telles que marcher, parler, jouer de la musique ou pratiquer une activité sportive où il permet par exemple d'anticiper l'arrivée d'une balle à frapper. Les animaux et les humains peuvent enregistrer le temps d'arrivée des événements et analyser l'information temporelle au travers de différents types d'intervalles temporels (Meck, 2003) (**Fig. 1**). Ils peuvent extraire et mémoriser des durées qui peuvent être associées à des événements significatifs, pouvant ainsi former des cartes temporelles (Cole et al., 1995). C'est un élément fondamental de l'apprentissage. En effet, tout apprentissage associatif est composé d'au moins trois éléments principaux. Le premier élément est un élément associatif qui va apparier un stimulus à un renforcement. Le deuxième élément est la composante émotionnelle/motivationnelle qui va caractériser le renforcement, celui-ci pouvant être appétitif ou aversif. Enfin, le dernier élément caractérisant l'apprentissage associatif est l'élément temporel qui entraîne une réponse préparatoire et une adaptation du comportement suite à l'apprentissage.

Une représentation de la structure temporelle de l'expérience permet de développer une réponse adaptée en fonction des événements à venir (Raby et al., 2007). Il a été démontré que des geais étaient capables de prévoir le futur, en cachant leur nourriture lorsqu'ils savaient qu'ils allaient avoir faim le lendemain. De plus, un dysfonctionnement de la mémoire temporelle peut avoir des effets délétères sur d'autres fonctionnements cognitifs et un impact non négligeable sur le développement intellectuel. Il est donc important de mieux comprendre son fonctionnement.

On distingue trois grands types d'intervalles temporels (**Fig. 1**). En premier, les rythmes circadiens (24h), qui jouent un rôle dans les phases de sommeil et d'éveil ainsi que dans l'alimentation et qui sont très représentés dans la nature. Les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus sont activés lors des rythmes circadiens (Hinton & Meck, 1997). En deuxième, l'« interval timing » caractérisé par l'estimation temporelle allant de la seconde à la minute à l'heure, et qui joue un rôle dans les processus décisionnels et dans l'estimation temporelle consciente. Les structures cérébrales importantes lors de cette

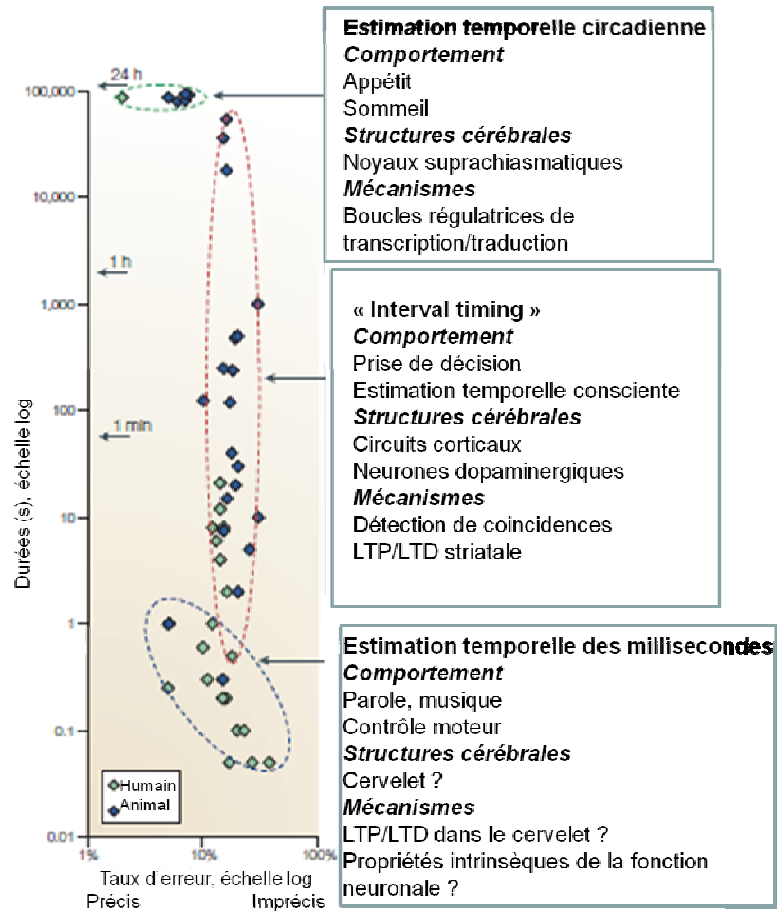


Figure 1 : L'estimation temporelle à différentes échelles (d'après Buhusi & Meck, 2005). Les données sont issues de différentes études et elles indiquent la précision des humains et des animaux dans des tâches temporelles. Vers les 24h, la performance est précise mais moins flexible (estimation temporelle circadienne), elle est moins précise mais plus flexible dans un intervalle allant de la seconde à la minute à l'heure (« interval timing »), et elle est de précision variable pour des intervalles inférieurs à la seconde (estimation temporelle des millisecondes) pour lesquels la performance est sans doute liée à des propriétés intrinsèques du système neuronal.

estimation temporelle sont le striatum, la substance noire *pars compacta* et l'hippocampe (Hinton & Meck, 1997). Enfin, l'estimation temporelle des millisecondes, qui est importante pour la parole, la musique ainsi que pour le contrôle moteur. Il semblerait que le cervelet soit la structure impliquée dans son contrôle (Hinton & Meck, 1997). Il existerait également deux types de circuits temporels qui travailleraient en parallèle (Fraisse, 1984): un système d'estimation temporelle automatique qui aurait lieu lors d'événements discontinus inférieurs à la seconde et où le cervelet jouerait un rôle ; et un système contrôlé cognitivement qui

coderait des événements continus et où les ganglions de la base ainsi que les structures corticales reliées seraient impliquées.

L'« interval timing » consiste à percevoir des durées allant de la seconde à la minute à l'heure et à les stocker si elles sont jugées importantes afin de pouvoir les comparer à celles que l'on perçoit en l'instant présent. Contrairement aux rythmes circadiens, cela implique une dimension plastique et mnésique, caractéristique d'un apprentissage où l'on extrait et apprend une durée. La gamme des durées est importante et change selon la tâche utilisée. L'horloge interne est ce qui nous permet de détecter le temps qui passe. La vitesse de cette horloge peut être modifiée et tout ce qui touche à cette vitesse a un effet immédiat, alors que ce qui touche au côté mnésique (au stockage) a un effet progressif. Des drogues peuvent modifier la perception du temps. L'effet des drogues cholinergiques est mnésique, et l'effet des drogues dopaminergiques est immédiat, mais disparaît avec la répétition en raison du stockage des nouvelles durées perçues qui réduit progressivement le décalage entre les durées perçues et celles mémorisées. L'horloge interne en cours et les processus mnésiques qui la composent peuvent donc être dissociés (Meck, 1983).

a. Historique

L'approche la plus populaire de la psychologie de la perception du temps comprend la théorie de l'horloge interne (expliquée ci-dessous en **d**). L'idée d'une horloge chimique a commencé à apparaître entre 1920 et 1930. Hoagland (1933) a découvert par hasard que sa femme atteinte de fièvre comptait plus vite qu'une personne saine. Il a donc commencé à s'intéresser au temps. Il a alors élaboré l'hypothèse selon laquelle des procédés chimiques produisaient des pulsations rythmiques qui constituaient une horloge, et comme toute réaction chimique, cette horloge allait plus vite lorsque la température augmentait, et plus lentement lorsqu'elle diminuait. L'idée d'horloge chimique pouvant être altérée par des phénomènes physiques était née.

En 1963, Treisman s'est approprié l'idée d'une horloge interne et en a fait un modèle (**Fig. 5, A**). C'était l'un des pionniers dans le modèle de l'horloge interne et ce n'est qu'en 1980 que d'autres chercheurs, Gibbon, Church et Meck, ont proposé un modèle similaire basé sur le développement de la théorie scalaire (expliquée ci-dessous, en **d**) 'Scalar Expectancy Theory' SET. Pavlov avait déjà compris qu'un animal pouvait être sensible aux propriétés temporelles d'un événement (Pavlov, 1927). Lors de son expérience d'inhibition du délai, il a utilisé des intervalles de temps très longs et il a trouvé qu'après un surapprentissage, la

réponse au stimulus (la salivation du chien ici) était absente au début du délai, puis devenait progressivement plus probable au fur et à mesure que le moment de la récompense alimentaire approchait. La réponse au stimulus était donc régulée temporellement. Mais c'est avec l'apparition du conditionnement opérant (Skinner, 1938) et l'apparition du renforcement à intervalle fixe ('Fixed Interval' FI) que les recherches sur le temps ont fait une grande avancée. Lors d'un FI, la première réponse intervenant t secondes après le renforcement précédent est renforcée, ceci selon une périodicité exacte. Suivant ce protocole, de nombreuses espèces animales peuvent réguler temporellement leur comportement (Lejeune & Wearden, 1991).

De 1970 à 1980, on a commencé à analyser l'effet d'administration de substances pharmacologiques sur des animaux. Les études pharmacologiques résumées par Meck (1996) montrent une dissociation possible entre les effets sur la vitesse du centre de pulsations de l'horloge ('pacemaker') et l'étape de stockage dans la mémoire temporelle. Une des plus grandes avancées concernant l'« interval timing » est la découverte que l'on pouvait diminuer la vitesse de l'horloge avec des antagonistes dopaminergiques tels que l'halopéridol ou augmenter la vitesse de l'horloge avec des agonistes dopaminergiques tels que la métamphétamine (Maricq & Church, 1983). A partir de ce fait, on a pu mettre en évidence qu'il existait deux composantes dans un apprentissage temporel : une composante immédiate (l'horloge) et une composante qui s'installait peu à peu (mnésique). La composante mnésique semble être plus cholinergique que mnésique (Meck & Church, 1987).

Dans les années 1980, l'idée que ce modèle d'horloge interne pouvait être valable également pour l'homme commençait à émerger (Wearden & MacShane, 1988). Wearden (1991) a réalisé une expérience au cours de laquelle des sujets humains devaient produire différents intervalles temporels de 500 à 1300 ms. En moyennant les durées des intervalles produits, il a vu que celles-ci correspondaient presque exactement aux valeurs cibles et qu'une superposition des données était possible, suivant la théorie scalaire. Ceci a donc donné naissance à des expériences « analogues » : des expériences faites pour les hommes mais inspirées par les méthodes utilisées avec les animaux (Wearden, 1991). Ces méthodes sont aujourd'hui très souvent utilisées dans le domaine de la psychopathologie, utilisant souvent des tâches de généralisation temporelle ou de bissection temporelle (définies ci-dessous en **b**). Dans notre étude, nous avons-nous-même utilisé un modèle de rat transgénique pour la maladie de Huntington et réalisé une étude de la perception temporelle via une tâche de bissection.

En résumé, l'étude de la perception temporelle chez les animaux et chez les humains s'est énormément développée ces 30 dernières années (Wearden, 2005) et on a pu expliquer de nombreux processus temporels. Cependant, il reste encore beaucoup de choses à explorer, notamment les mécanismes neuronaux sous-jacents à la représentation de la durée dans la mémoire à long terme.

b. Méthodologie

Il existe plusieurs types de tâches temporelles qu'on peut diviser en deux grandes catégories : les tâches d'estimation temporelle (sans composante motrice pendant la durée) et les tâches de production ou reproduction temporelle (avec une composante motrice). Dans l'estimation temporelle, la rapidité et la précision de l'action ne sont pas importantes, tandis que dans les tâches de production et reproduction, c'est l'action qu'on mesure en durée. Chaque tâche temporelle a sa propre gamme de durées. Les gammes de durées utilisées chez l'homme sont souvent courtes afin d'éviter qu'il ne compte.

Nous allons décrire les différentes tâches temporelles ci-dessous.

1. La discrimination temporelle

Une des tâches temporelles les plus communément utilisées est la tâche de discrimination temporelle que l'on peut classer dans la catégorie d'estimation temporelle car elle ne nécessite pas de composante motrice. Cette tâche est applicable à l'homme et à l'animal et les durées utilisées peuvent être courtes ou longues. Droit-Volet et Izaute (2009) ont notamment utilisé cette technique chez des enfants âgés de 5 et 8 ans en leur présentant un son de durée courte de 0.15 s et un son de durée longue de 1.15 s. Nous-mêmes, nous avons entraîné des rats à discriminer un son de 2 secondes d'un son de 8 secondes lors de notre étude longitudinale (article 1, Höhn et al., 2011). L'animal ou le sujet doit apprendre à associer une action particulière à chacune des durées (nos rats devaient par exemple appuyer sur une pédale pour la durée courte et sur une autre pédale pour la durée longue afin d'obtenir un renforcement alimentaire) et les comparer, ceci afin d'obtenir un renforcement appétitif ou afin d'éviter un renforcement aversif.

2. La production temporelle

Utilisée chez l'homme, cette tâche repose sur des consignes verbales et consiste à produire une durée déterminée généralement courte (sans toute fois aller au-dessous de la

seconde), par exemple en appuyant sur un bouton pendant une durée déterminée. Elle comporte donc une composante motrice. Par exemple, Zakay (1993) a diffusé un signal sonore à des participants en leur demandant d'appuyer sur la touche d'un clavier d'ordinateur lorsque le signal avait été émis depuis 12 secondes.

3. *La reproduction temporelle*

Utilisée chez l'homme, cette tâche consiste à reproduire une durée généralement courte (sans toutefois aller au-dessous de la seconde) préalablement entendue et repose sur des instructions verbales. On peut par exemple diffuser un son d'une durée déterminée et demander à un sujet de reproduire la durée de ce son en appuyant sur les touches d'un clavier d'ordinateur. Elle comporte une composante motrice et peut donc être classé dans la catégorie des tâches temporelles de production. Par exemple, Zakay (1993) a demandé à des sujets de délimiter une période de temps correspondant à une durée de 12 secondes dont ils avaient préalablement fait l'expérience lorsque l'expérimentateur leur avait présenté la durée sans leur dire combien de secondes elle représentait.

4. *Le « peak interval »*

La procédure appelée « peak interval » est une technique comportementale développée chez l'animal afin d'étudier l'« interval timing ». Elle dérive du conditionnement opérant avec comme caractéristique le fait que le renforcement soit dépendant du temps qui passe (Catania, 1970). Dans sa forme la plus basique, un animal est entraîné avec des essais à intervalles fixes (FI) pour lesquels un renforcement est fourni à la fin de chaque essai (Hinton & Meck, 1997). Dès qu'un événement est discriminable par un animal, l'horloge interne peut se mettre en route et la nourriture ou tout autre renforcement peut arrêter l'horloge et motiver l'animal à apprendre cet intervalle de durée. Les durées utilisées dans cette procédure ne vont généralement pas au-delà de la minute. Par exemple, un rat peut être entraîné à associer la présence d'une lumière pendant 30 secondes avec la disponibilité de nourriture lorsqu'il appuie sur une pédale à la fin de cette durée. Le rat peut alors être testé avec des essais tests pour lesquels le signal lumineux dure plus de 30 secondes (traditionnellement le double ou le triple du FI), alors que la nourriture n'est pas disponible à la fin des 30 secondes. Le rat espérant la nourriture à la fin des 30 secondes, il continue à appuyer autour des 30 secondes, moment où il pense obtenir un renforcement, ce qui nous permet d'obtenir une mesure de sa perception temporelle. En faisant la moyenne de ces essais, on obtient une distribution des réponses de forme Gaussienne (**Fig. 2A**). Le temps t_0 pour lequel la fonction présente son pic

représente la mémorisation de la durée que le rat a faite et pour laquelle il est censé recevoir le renforcement alimentaire lors des essais tests, et la largeur de la courbe montre la précision de la mémoire du rat (dispersion b). On peut également observer le taux de réponse au pic ($a+d$) ainsi que le taux de réponse au temps t ($R(t)$) qui peut être calculé selon la formule suivante :

$$R(t) = a \cdot \exp(-0,5 \cdot [(t - t_0)/b]^2) + c \cdot (t - t_0) + d$$

Cette procédure de « peak interval » a également été adaptée chez l'homme (**Fig. 2B**) notamment lors de l'expérience de Rakitin et al. (1998) où les sujets devaient reproduire des durées de 8, 12 et 21 secondes, lors de différentes séances. Cependant, cette tâche n'était pas équivalente chez l'animal et chez l'homme étant donné que les animaux apprenaient cette tâche, tandis que l'on demandait verbalement aux sujets de reproduire ces durées, sans qu'ils aient besoin de passer par une période d'apprentissage.

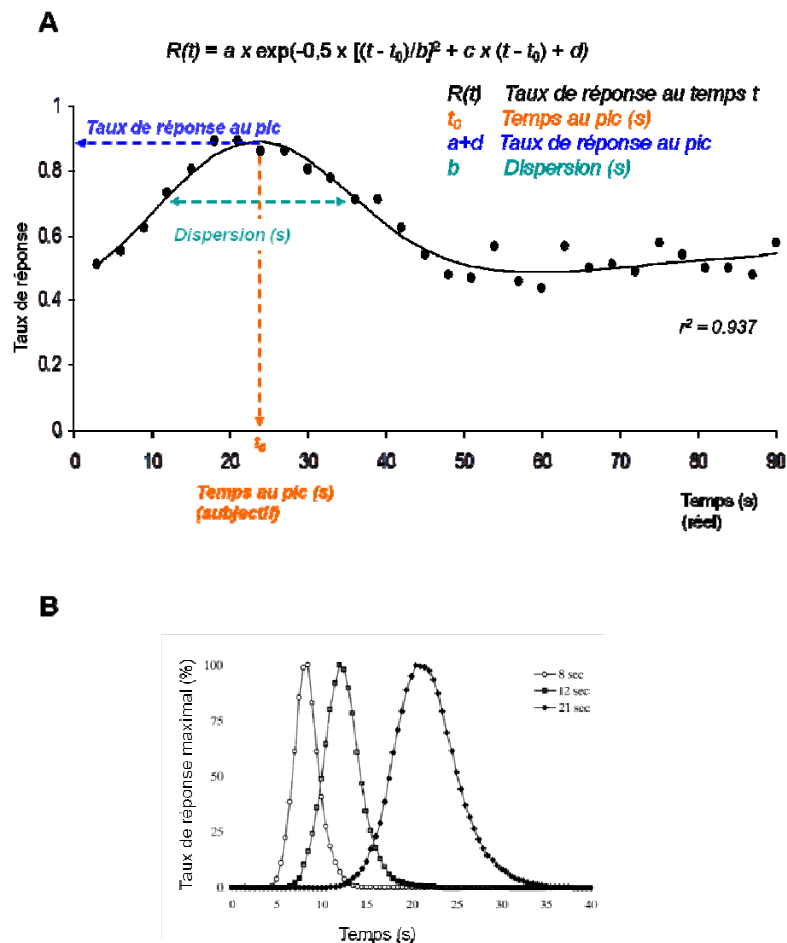


Figure 2 : Représentation des fonctions temporelles pour la procédure « peak interval » et pour la bissection temporelle. A] Représentation d'une courbe en cloche typique d'un comportement temporel. La dispersion (b) est représentée par la largeur de la courbe. Le temps au pic est représenté par t_0 . Le taux de réponse au pic est représenté par les éléments $a+d$ et le taux de réponse au temps t est représenté par une formule comportant tous les éléments cités précédemment. B] Données

provenant de « peak interval » (Rakitin et al., 1998) où il a été demandé à sept sujets de reproduire des durées de 8, 12 et 21 secondes lors de séances séparées. Chaque courbe représente l'accumulation de toutes les réponses pour chaque signal moyenné pour tous les sujets et normalisé pour le nombre maximal de réponses. Il est intéressant de remarquer que la variabilité des fonctions (la largeur de la courbe à 50% du taux maximal de réponse) augmente proportionnellement à la durée à reproduire, suivant la propriété scalaire.

5. *La généralisation temporelle*

La généralisation temporelle est une procédure qui se compose de deux étapes et est utilisable chez l'homme et chez l'animal (bien qu'on l'utilise plus souvent chez l'homme que chez l'animal) pour une gamme de durées large. Tout d'abord, une réponse spécifique est renforcée en présence d'un stimulus d'une certaine durée. Une fois cette tâche de discrimination apprise, on présente différentes durées d'un même stimulus se distinguant du premier selon une différence quantifiable (plus courts ou plus longs). Le sujet doit déterminer si les durées présentées sont identiques ou non à une durée standard. La courbe que l'on obtient prend une forme de cloche dont le pic nous permettra de savoir aux alentours de quelle durée l'animal estime que se trouve la durée standard. Il s'agit donc d'une tâche d'estimation temporelle, sans composante motrice.

En 1982, Church et Gibbon ont créé et testé la tâche de généralisation temporelle sur des rats. Les animaux recevaient un renforcement après un signal d'une durée déterminée, mais pas après un signal plus court ou plus long. Ce processus menait les rats à une généralisation temporelle positive autour de la durée standard.

En 1992, Wearden a réalisé une tâche de généralisation pour la première fois chez l'homme. Il a utilisé des stimuli auditifs de courte durée (100 à 700 ms pour les stimuli de comparaison et 400 ms pour le stimulus standard). Après chaque présentation d'un stimulus, le sujet devait répondre si oui ou non il s'agissait d'un stimulus standard. Les résultats montraient un pic pour la durée standard ainsi qu'une asymétrie vers la droite qui est une spécificité humaine et qui ne dépend ni de la présentation des stimuli, ni de la probabilité d'apparition du stimulus standard lors de la phase test. Cette asymétrie vers la droite indique que les durées plus longues que la durée standard sont plus difficilement différenciables de la durée standard que les durées plus courtes (Droit-Volet & Izaute, 2009).

6. La bissection temporelle

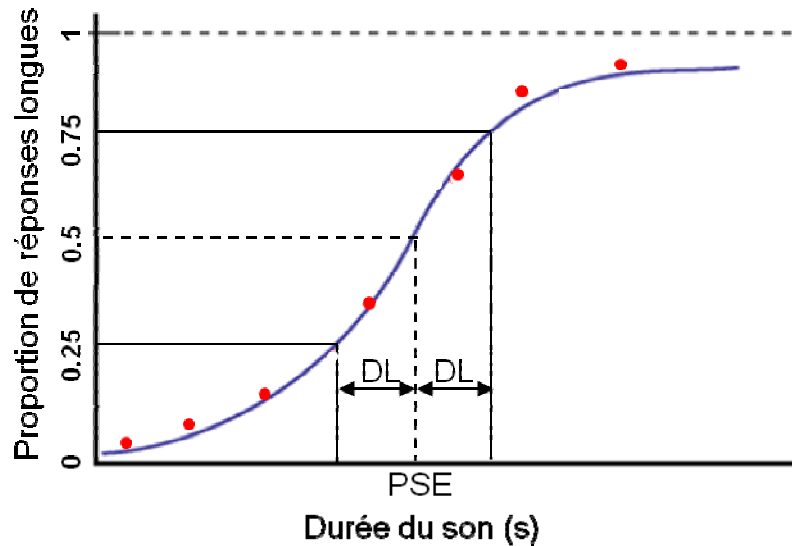


Figure 3 : Représentation d'une courbe de bissection temporelle. Le point d'équivalence subjectif (PSE ; 50%) représente le point où l'animal n'arrive pas à estimer si la durée est courte ou longue. Le 'Difference Limen' (DL ; 25 ou 75%) représente la précision temporelle et le gamma est l'inverse de la sensibilité temporelle et est proportionnel à DL/PSE .

La bissection temporelle dérive de la tâche de discrimination temporelle. On l'utilise très souvent chez l'animal, mais elle est également applicable à l'homme. Il s'agit d'une tâche d'estimation temporelle. Dans cette tâche, deux durées (une courte et une longue) pouvant appartenir à une gamme de durées large sont représentées par des stimuli sensoriels (par exemples un son) et les réponses correctes sont renforcées. Une réponse différente est associée à chaque durée. Des durées intermédiaires sont également présentées mais ne sont pas renforcées. Elles nous permettent de savoir dans quelle catégorie nos sujets ou animaux les classent (court ou long). L'animal donne la réponse associée au stimulus le plus proche de la durée de comparaison. Si l'on rapporte la proportion de réponse 'long' en fonction de la durée du stimulus présenté, on obtient typiquement une courbe sigmoïdale (**Fig. 3**) qui nous permet d'analyser le gamma (l'inverse de la sensibilité temporelle qui est représentée par la pente), le point d'équivalence subjectif (PSE) qui est le point pour lequel les animaux ne savent plus discriminer entre la durée courte et longue, et le DL ('Difference Limen') qui représente la précision temporelle et qui est une mesure de discrimination (Killeen et al., 1997). Plus le DL est petit, plus la précision temporelle est grande.

La fonction pseudologistique représentée par la courbe peut se définir ainsi :

$$P(R_L) = \left[1 + \exp \left(\frac{T_{1/2} - t}{\frac{\sqrt{3}}{\pi} \sigma_t} \right) \right]^{-1}$$

où $T_{1/2}$ représente le point de bissection et est le critère de détection du signal, $P(R_L)$ est la proportion des réponses pour la durée longue, t le temps de l'horloge et

$$\sigma_t = \sqrt{(\gamma t)^2 + pt + c^2}$$

est la fonction de Weber dérivée de Killeen et Weiss (1987) qui fournit des sources de variabilité scalaires (γ), non scalaires (p) et constantes (c) (Allan, 2002).

c. Bases neurobiologiques

1. Approche lésionnelle et pathologie

On sait aujourd'hui que les ganglions de la base jouent un rôle dans le fonctionnement moteur ainsi que dans des phénomènes cognitifs et motivationnels qui sont impliqués dans l'« interval timing ». Le cortex frontal et le cervelet jouent également un rôle dans la perception temporelle allant de la seconde à la minute.

Chez le rat, les lésions striatales ou les lésions de la substance noire *pars compacta* empêchent celui-ci de réaliser des tâches de discrimination temporelle. Les entrées excitatrices provenant du cortex et projetant sur les ganglions de la base sont d'abord dirigées vers le striatum, centre de réception des ganglions de la base. Le striatum reçoit également des afférences dopaminergiques modulatrices provenant de la substance noire *pars compacta*, un noyau jouant un rôle dans le renforcement. Le striatum dorsal et la substance noire *pars compacta* sont des régions riches en dopamine et en transporteurs de dopamine, substance qui joue un rôle dans la régulation de la vitesse de l'horloge interne (Maricq & Church, 1983). Si on lèse une de ces régions, le niveau de dopamine diminue et l'estimation temporelle de durées allant de la seconde à la minute va s'altérer (Meck et al., 2008 ; Meck, 2006a). Meck a entraîné des rats lors d'une tâche de « peak interval » et il a observé que les rats ayant le striatum dorsal lésé ou la substance noire lésée n'étaient pas capables de montrer un contrôle temporel. Ils étaient cependant capables de montrer un taux de réponses différent selon la

valeur du renforcement. En lésant le striatum ventral, il a observé que les rats montraient un contrôle temporel mais n'étaient plus capables de moduler leur comportement selon la valeur du renforcement (Meck, 2006a), à l'opposé de la lésion du striatum dorsal ou de la substance noire.

Chez l'homme, on peut observer l'effet des lésions des ganglions de la base et des structures qui lui sont reliées sur la perception temporelle chez des patients atteints de maladies où la voie dopaminergique est altérée. Dans ces maladies, telle que la maladie de Parkinson où la substance noire est atteinte, la capacité à analyser ou percevoir des durées allant de la seconde à la minute est modifiée. Malapani et al. (2002) ont observé des difficultés à mémoriser et récupérer des informations temporelles chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Ceux-ci avaient besoin de plus de temps pour mémoriser des durées qu'ils avaient tendance à surestimer et ils avaient également tendance à surestimer les durées courtes et sous-estimer les durées longues lors de l'étape de récupération des durées stockées.

On retrouve les mêmes difficultés observées chez des patients atteints de la maladie de Parkinson dans la maladie de Huntington où le striatum est altéré. Paulsen et al. (2004) ont observé que des patients atteints de la maladie à un stade proche de l'apparition des symptômes réalisaient une plus mauvaise discrimination temporelle que des patients étant à un stade précoce de la maladie. Lors de cette tâche, les sujets devaient déterminer si une durée spécifique était plus courte ou plus longue qu'une durée standard de 1200 ms.

Lors d'une tâche de « peak interval » réalisée sur des rats, Meck a lésé le cortex frontal et il a observé que le contrôle temporel de la vitesse de l'horloge disparaissait (Meck, 2006b). De même, la lésion du cortex frontal agrulaire ou du noyau basal *magnocellularis* (Otton et al., 1988) empêchait le rat d'encoder temporellement deux stimuli simultanément, mais pas individuellement.

Ivry & Keele en 1989 ont comparé les performances de patients atteints de la maladie de Parkinson à des patients avec des lésions du cervelet ou des lésions corticales lors de tâches temporelles pour des centaines de millisecondes. Les effets des lésions du cervelet restent généralement variables sur la perception temporelle, mais dans cette étude, les patients avec des lésions du cervelet étaient les seuls patients à montrer une augmentation de la variabilité de l'estimation temporelle et des altérations dans la précision de leur perception temporelle. Les patients avec des lésions préfrontales montraient quant à eux clairement une

augmentation des déficits d'estimation temporelle (Mangels et al., 1998), principalement pour des durées supérieures à la seconde.

On sait notamment que le noyau *interpositus* du cervelet joue un rôle dans la perception temporelle pour des durées inférieures à la seconde, notamment lors du conditionnement du clignement de paupière (Christian & Thompson, 2003). Dans ce conditionnement, un son est présenté aux patients, suivi une demi-seconde plus tard d'un jet d'air dans l'oeil, qui engendre un réflexe de clignement de la paupière. Lorsque l'association entre les deux stimuli est bien apprise, l'émission du son seul entraîne une réponse de clignement, par anticipation du jet d'air. Lorsque le noyau *interpositus* est lésé, ce conditionnement est altéré. Callu et al. (2009) ont voulu connaître le rôle du cervelet dans la perception temporelle pour des durées allant de la seconde à la minute, suite à l'observation de troubles temporels pour des durées se situant autour de la seconde pour des patients présentant des lésions de la partie intermédiaire du cervelet. On sait que la partie intermédiaire du cervelet projette sur le noyau *interpositus*. Les expérimentateurs ont réalisé des lésions bilatérales du noyau *interpositus* avec de la colchicine sur des rats et les ont ensuite fait passer un test de discrimination temporelle pour des durées de 2 et 8 secondes, suivi de trois séances de bissection temporelle avec cinq durées intermédiaires non renforcées rajoutées aux deux durées précédentes. Les rats ayant des lésions du noyau *interpositus* montraient une acquisition normale de la discrimination temporelle mais montraient des troubles transitoires de sensibilité temporelle lorsqu'on les transférait sur la tâche de bissection. De plus, la latence de leurs réponses indiquait une stratégie comportementale différente des animaux contrôles. Le noyau *interpositus* n'est donc pas critique dans la perception temporelle des durées allant de 2 à 8 secondes mais il semble jouer un rôle dans le processus cognitif qui permet d'accéder à l'information temporelle lors d'un comportement de choix.

En résumé, les ganglions de la base, le cortex préfrontal et le cervelet jouent un rôle dans l' « interval timing ». La lésion des ganglions de la base et la lésion de la substance noire, régions fortement impliquées dans le système dopaminergique, altèrent la perception temporelle. On retrouve cette altération de la perception temporelle chez l'homme dans des maladies touchant les ganglions de la base et les structures qui lui sont reliées telle que la maladie de Huntington, la maladie de Parkinson ou la schizophrénie.

2. *Approche pharmacologique*

Certaines lésions entraînant des troubles de la perception temporelle peuvent être corrigées en injectant des substances pharmacologiques. Meck (2006a) a entraîné des rats lors d'une tâche de « peak interval » et a lésé leur striatum dorsal ou a lésé leur substance noire. Ceux-ci ne pouvaient donc plus montrer de contrôle temporel de leur comportement. Mais s'il administrait de la levodopa (L-Dopa) aux rats lésés, seuls ceux ayant la substance noire lésée étaient à nouveau capables de montrer un comportement temporel, ce qui montre que le striatum dorsal est nécessaire au comportement temporel.

Chez l'homme, un phénomène similaire se produit. Les patients atteints de la maladie de Parkinson, dans laquelle les projections dopaminergiques nigrostriatales dégénèrent, ont des problèmes d'« interval timing » qui peuvent être corrigés par une administration de L-dopa. Artieda et al. (1992) ont réalisé des tests du seuil de discrimination temporelle (le seuil de discrimination temporelle représente l'intervalle de temps minimum qui doit séparer deux stimuli afin qu'ils soient discernables) de reconnaissance de stimuli sensoriels appariés (tactiles, visuels ou auditifs) pour un large éventail de durées cibles chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Comparés à des sujets sains, les patients atteints de la maladie de Parkinson montraient des seuils de discrimination plus élevés pour les trois modalités sensorielles. Ce phénomène pouvait être grandement atténué deux heures après l'administration d'une tablette de L-Dopa. Une autre étude a montré que des patients atteints de la maladie de Parkinson et n'ayant pas de traitement, présentant une détérioration des neurones dopaminergiques de la substance noire *pars compacta*, avaient également des difficultés dans la réalisation de tâches de discrimination temporelle. Par exemple, en 1998 Malapani et al. ont étudié des patients atteints de la maladie de Parkinson dans des tâches de « peak interval » où ils devaient reproduire temporellement des durées de 8 et 21 secondes. Lorsque ceux-ci ne recevaient pas de L-Dopa, ils se trompaient et leurs réponses étaient plus variables. Ils estimaient la durée courte de manière plus longue, et la durée longue de manière plus courte produisant un phénomène de migration temporelle. En apprenant aux patients à ne reproduire qu'une seule durée, par exemple la durée longue, l'erreur de reproduction allait cette fois-ci vers une estimation plus longue. Il existe donc un phénomène d'attraction mutuelle entre les systèmes d'analyse temporelle de la mémoire et de l'horloge lorsque la régulation dopaminergique dans le striatum est déficiente. Mais lorsque les patients recevaient de la L-Dopa et de l'apomorphine, ce qui rétablissait la transmission dopaminergique, aucune différence n'était détectée entre les malades et les patients sains.

Certaines études démentent le fait qu'il y ait un problème d'estimation temporelle, avec ou sans traitement chez les patients atteints de la maladie de Parkinson. Wearden et al. (2008) ont affirmé que toutes les études qui avaient été réalisées jusqu'alors sur des patients atteints de la maladie de Parkinson et étudiant leur comportement temporel comportaient des éléments moteurs dans les tâches qu'ils avaient à réaliser. Etant donné que les problèmes moteurs font partie intégrante de cette maladie, il restait à vérifier la véracité des troubles temporels selon Wearden et al. (2008). Ils ont réalisé des tâches de généralisation temporelle, bissection, estimation verbale et mémorisation de la durée chez des patients atteints de manière modérée à moyenne en les comparant à des sujets sains du même âge. Les performances étaient toutes « normales ». Cependant, il semblerait que les tests aient été réalisés à un stade trop précoce de la maladie. Il a tout de même admis que les patients atteints de la maladie de Parkinson avaient des difficultés à estimer temporellement de manière indépendante deux ou plus de deux durées. Ceux-ci montraient des problèmes d'estimation temporelle explicite (estimation de la durée) mais pas d'estimation temporelle implicite (Coull et al., 2011). Les ganglions de la base, l'aire motrice supplémentaire, le cervelet et le cortex préfrontal ont été reliés à l'estimation des durées dite explicites. Si on stimule le noyau sous-thalamique, les patients atteints de la maladie de Parkinson arrivent à nouveau à réaliser des estimations temporelles et à discriminer deux durées. Ils montrent également des difficultés à estimer temporellement des actions motrices (Malapani et al., 2002).

Les injections pharmacologiques mettent en évidence l'existence d'un système d'horloge interne (expliqué ci-dessous en **d2**) en l'altérant. En 1983, Meck a réalisé une étude des effets pharmacologiques sur l'horloge temporelle lors d'une tâche de discrimination temporelle (2 vs. 8 s.) chez des rats. Ces résultats montraient que la métamphétamine, un agoniste indirect dopaminergique, pouvait augmenter la vitesse de l'horloge, l'halopéridol, un antagoniste dopaminergique, pouvait diminuer la vitesse de l'horloge, la physostigmine (un inhibiteur de l'acétylcholine), la vasopressine et l'oxytocine (dont la libération est stimulée par la dopamine) pouvaient diminuer la mémorisation des durées renforcées, et l'atropine, un antagoniste des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine, pouvait augmenter la mémorisation des durées renforcées.

De même, Maricq et Church (1983) ont entraîné 40 rats à appuyer sur une pédale si un signal (bruit blanc) durait 2,5 secondes et à appuyer sur une autre pédale si le signal durait 6,3 secondes. Ils ont intercalé sept durées intermédiaires non renforcées entre ces deux extrêmes. Lorsqu'ils injectaient de la métamphétamine, la courbe de bissection obtenue se déplaçait vers

la gauche sur l'échelle temporelle et diminuait sa pente, et lorsqu'ils injectaient de l'halopéridol, celle-ci se déplaçait vers la droite et sa pente était également diminuée. Une injection conjointe d'halopéridol et de métamphétamine donnait le même résultat qu'une injection saline, les deux drogues annulant mutuellement leurs effets. Le déplacement de la courbe vers la gauche représenterait une augmentation de la vitesse de l'horloge interne et le déplacement de la courbe vers la droite représenterait une diminution de sa vitesse. La métamphétamine entraîne la libération de plusieurs catécholamines, incluant la dopamine, et l'halopéridol bloque les récepteurs dopaminergiques. Il est donc probable que les neurones dopaminergiques jouent un rôle dans l'intégration temporelle de l'estimation temporelle ainsi que dans la vitesse de l'horloge interne.

Le système mnésique serait quant à lui plus cholinergique que dopaminergique (Meck & Church, 1987). Meck et Church ont utilisé une procédure de « peak-interval » de 20 secondes avec des stimuli sonores chez des rats et ils ont injecté des drogues anti-cholinestérasés telles que la physostigmine et la néostigmine ainsi que des bloqueurs des récepteurs cholinergiques tels que l'atropine et la méthylatropine. La physostigmine diminuait la variabilité de la discrimination temporelle et entraînait un glissement vers la gauche sur l'échelle temporelle du pic temporel, ce phénomène étant dépendant de la dose administrée. La néostigmine ne produisait aucun de ces effets. L'atropine augmentait la variabilité de la discrimination temporelle et le pic temporel glissait vers la droite sur l'échelle temporelle, ceci de manière proportionnelle à la dose administrée. La méthylatropine ne produisait aucun de ces effets. Ni la néostigmine, ni la méthylatropine n'étaient capables de passer la barrière hémato-encéphalique, ce qui explique qu'elles n'aient pas entraîné de modification. Si on appliquait ces résultats à un modèle temporel scalaire, la physostigmine diminuait la mémorisation des durées correspondant au renforcement et augmentait la sensibilité au temps, tandis que l'atropine augmentait la mémorisation des durées correspondant au renforcement et diminuait la sensibilité au temps. L'apprentissage temporel serait donc composé d'une partie mnésique, s'installant peu à peu, et d'une partie immédiate, correspondant à l'horloge. Les niveaux d'acétylcholine dans le cerveau régleraient la vitesse de traduction des durées mesurées par l'horloge interne en durées stockées dans la mémoire temporelle.

Il existe une discordance entre les effets modestes des drogues dopaminergiques sur le comportement (Matell et al., 2004) et les niveaux de libération de dopamine dans le striatum *in vivo* (Holson et al., 1996). Matell a entraîné des rats à recevoir un renforcement alimentaire lorsqu'ils appuyaient sur une pédale déterminée au bout d'un son de 10, 30 ou 90 s. Lorsqu'il

leur injectait de la cocaïne, il s'est rendu compte que celle-ci entraînait un changement immédiat, proportionnel et vers la gauche du pic temporel, indiquant une augmentation de la vitesse de l'horloge interne. En répétant l'administration de cocaïne, cette migration devenait de plus en plus grande ce qui montrait que le stimulant qui induit des augmentations dans la vitesse de l'horloge pouvait être sensibilisé. L'administration continue de cocaïne ne produisait pas d'effet remarquable. Holson, quant à lui, a trouvé que la libération de dopamine dans le striatum causée par la métamphétamine diminuait rapidement avec le temps. Également, des études pharmacologiques ont trouvé qu'en plus de jouer un rôle dans la vitesse de l'horloge interne, la dopamine modifiait également l'analyse attentionnelle de l'information temporelle (Buhusi & Meck, 2002). Dans leur expérience réalisée chez des rats, ils ont utilisé des procédures temporelles dans lesquelles des « silences » (une période de silence dans un stimulus sonore) pouvaient apparaître. Lorsque la métamphétamine était utilisée dans cette procédure temporelle et qu'il y avait une période de « silence », la perception temporelle était altérée car le processus fonctionnait en se basant sur le contenu et l'importance de l'événement (arrêt ou pause pendant la période de « silence »), et non en se basant sur l'horloge interne. Les drogues dopaminergiques peuvent donc affecter l'aspect temporel et attentionnel de l'horloge interne.

Chez l'homme, la vitesse de l'horloge peut également être modifiée lors de tâches de discrimination temporelle pour des durées inférieures à la seconde en injectant des drogues dopaminergiques. Rammsayer (1993) a observé que l'halopéridol altérait l'estimation temporelle ainsi que la perception temporelle. Le rémoxiptide, qui est également un bloqueur des récepteurs dopaminergiques D2, altérait aussi l'estimation temporelle. Les antagonistes dopaminergiques diminuaient la vitesse de l'horloge en proportion à leur affinité au récepteur D2 dopaminergique, tandis que l'activité cholinergique dans le cortex était proportionnelle à une composante de la mémoire temporelle.

En résumé, l'effet des drogues cholinergiques est mnésique, et l'effet des drogues dopaminergiques est immédiat et peut disparaître avec la répétition. Les antagonistes dopaminergiques peuvent diminuer la vitesse de l'horloge et les agonistes dopaminergiques peuvent augmenter la vitesse de l'horloge. La dopamine modifie également l'analyse attentionnelle de l'information temporelle.

3. *Corrélat neurophysiologiques*

Les enregistrements électrophysiologiques permettent à l'heure actuelle d'étudier l'activation de certaines zones du cerveau lors de tâches déterminées (par exemple des apprentissages temporels) ou d'observer les effets produits par des stimulations électrophysiologiques. Par exemple, lors d'une tâche de reproduction dans laquelle des rats étaient récompensés à 10 et 40 s, Matell et al. (2003) ont étudié la distribution temporelle des potentiels de champ des neurones épineux de taille moyenne du striatum (MSNs). Les MSNs reçoivent des afférences directes dopaminergiques et glutamatergiques. Ils se sont alors rendus compte que même si les rats répondaient de la même manière pour les deux durées, les enregistrements électrophysiologiques révélaient que deux sous-types de neurones striataux étaient activés, dissociant les réponses motrices de l'encodage temporel dans le striatum. Pour un groupe de neurones striataux, l'activation synaptique avait lieu à 10 s tandis que pour un autre groupe de neurones, le taux de décharge augmentait petit à petit aux alentours des 40 s. Les neurones striataux peuvent donc encoder plusieurs durées allant de la seconde à la minute.

Une autre expérience réalisée chez le singe a aussi montré que les neurones striataux encodent l'information temporelle. Chiba et al. (2008) ont réalisé une tâche de discrimination temporelle chez le singe alors qu'ils enregistraient en même temps l'activité unitaire bilatéralement dans le striatum. Ils lui ont présenté deux éléments visuels successivement pendant différentes durées (de 0.2 secondes à 1.6 s). Chaque présentation était suivie d'une période de 1 seconde d'attente. Après la deuxième période d'attente, le sujet devait choisir l'élément visuel le plus long. Deux types de séquences d'essais étaient utilisés : une première séquence dans laquelle la première période d'attente était plus longue que la deuxième et une deuxième séquence dans laquelle la première période d'attente était plus courte que la deuxième. Les neurones striataux répondaient de manière phasique durant la première et la deuxième attente. Les réponses des neurones striataux durant la première attente changeaient (positivement ou négativement) selon la durée de la présentation du premier élément visuel. Les réponses enregistrées dans le striatum pendant la deuxième période d'attente différaient selon le type de séquence d'essais et selon la durée de la présentation du deuxième élément visuel, l'impact de ce dernier facteur étant modulé par le premier.

L'imagerie cérébrale désigne l'ensemble des techniques issues de l'imagerie médicale permettant d'observer le cerveau, en particulier lorsqu'un individu exécute une tâche cognitive. L'estimation temporelle entraîne l'activation d'un circuit fonctionnel comprenant le

thalamus, le striatum, la substance noire et le cortex (Jantzen et al., 2005). Le cortex qui projette sur le striatum, et le thalamus qui est un noyau de relais recevant des projections des ganglions de la base et projetant sur le cortex, sont des aires qui influencent la perception temporelle. L'utilisation de techniques d'imagerie telles que l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) et la tomographie par émission de positons (TEP) ont montré que ces aires étaient activées lors de tâches temporelles. De nombreuses études ont été réalisées chez l'homme lors de tâches temporelles similaires à celles utilisées chez l'animal telles que des tâches de reproduction ou de discrimination, révélant le rôle de nombreuses aires corticales, du striatum (dorsal et ventral), du thalamus et de la substance noire dans l'estimation temporelle de durées allant de la seconde à la minute (Meck et al., 2008).

Jahanshahi et al., en 2006, ont étudié le flux sanguin cérébral (reflétant l'activation cérébrale) avec une technique de TEP lors de tâches d'estimation et de reproduction temporelle chez l'homme, avec des durées courtes (500 ms), longues (2 s) et une tâche contrôle mesurant le temps de réaction. Lors des tâches de reproduction, la substance noire gauche et le cortex prémoteur latéral gauche étaient plus activés que lors de la tâche contrôle. Le striatum dorsal (noyau caudé) gauche et le cervelet étaient plus activés pour des durées courtes que pour des durées longues. Le striatum dorsal (*putamen*) droit et le cervelet droit étaient plus activés pour les durées longues que pour les durées courtes. Le striatum semble donc bien jouer un rôle dans la perception temporelle chez l'homme. De même, Hinton & Meck (2004) ont observé en utilisant une technique d'IRMf que des sujets estimant une durée de 11 secondes lors d'une tâche de « peak interval » montraient une activation du cortex frontal, du striatum et du thalamus. Egalement, Lewis & Miall (2003) ont montré que le circuit thalamo-cortico-striatal qui englobe les ganglions de la base, le cortex préfrontal et le cortex pariétal postérieur, était activé lors de tâches d' « interval timing ». Enfin, lors d'imagerie cérébrale, on a clairement identifié une activation des ganglions de la base, et particulièrement du striatum dorsal, plutôt que du ventral, lors de tâches temporelles indépendantes du contexte moteur (Jantzen et al., 2007).

Il existe d'autres techniques d'imagerie cérébrale telle que l'électroencéphalogramme (EEG) avec l'analyse des ERP (« Event-Related Potentials » Potentiels d'Événements Evoqués). Brannon et al. (2008) ont observé que des ERP enregistrés dans le cerveau d'adultes et de nourrissons de 10 mois obéissaient à la propriété scalaire en réponse à des changements de durée d'intervalles entre des stimuli.

Enfin, il existe une dernière technique médicale utilisée comme outil d'investigation en neurosciences permettant d'analyser le temps : les stimulations magnétiques transcranéales (TMS). Cela consiste à appliquer une impulsion magnétique sur l'encéphale à travers le crâne au moyen d'une bobine. Koch et al. ont réalisé une TMS inhibitrice du cervelet droit et gauche ainsi que du cortex préfrontal dorsolatéral droit immédiatement après une tâche de reproduction de durées courtes (400-600 ms) et longues (1,600 et 2,400 s). La TMS réalisée sur le cervelet empêchait l'estimation temporelle des durées inférieures à la seconde uniquement, tandis que la TMS du cortex préfrontal droit empêchait l'estimation temporelle de durées supérieures à la seconde (Koch et al., 2007).

En résumé, en ce qui concerne les bases neurobiologiques de la perception temporelle, trois hypothèses sont actuellement débattues. Le cervelet jouerait un rôle dans l'analyse de durées courtes (par exemple lors du conditionnement du clignement de la paupière, mais son rôle pour des durées plus longues reste controversé (Ivry et Spencer 2004). Selon certains auteurs, le cortex préfrontal serait impliqué dans l'analyse de durées allant de la seconde à la minute (Lewis et Miall, 2006). Pour d'autres auteurs, enfin, le striatum serait fortement impliqué dans l'analyse temporelle de durées allant de quelques secondes à quelques minutes (Buhusi & Meck, 2005 ; Matell et Meck, 2000). Nous avons centré notre étude sur des durées allant de la seconde à la minute et sur la structure neuronale qui semble être impliquée dans ce système : le striatum.

d. Modèles psychologiques (SET) vs. modèles physiologiques (SBF, Meck)

1. La propriété scalaire

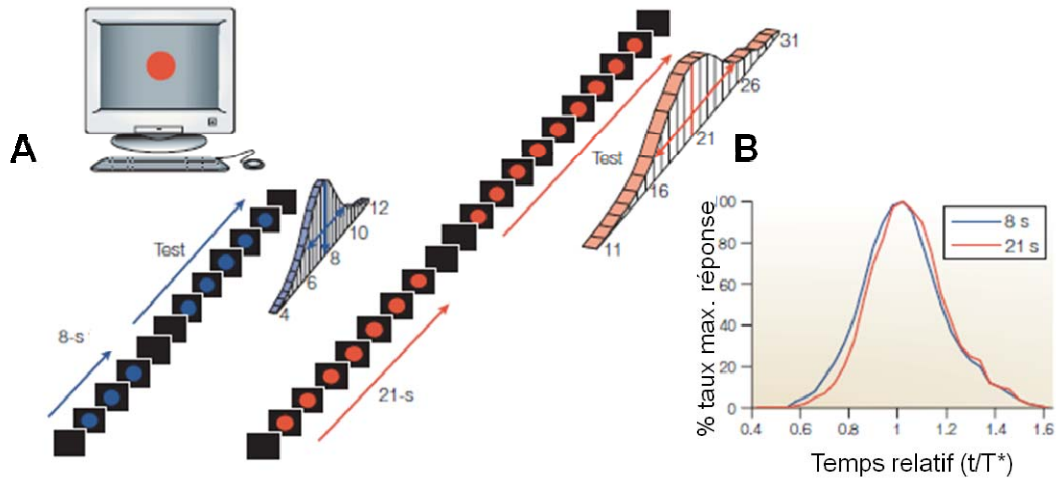


Figure 4 : La propriété scalaire est une des bases de l'« interval timing » (d'après Buhusi & Meck, 2005). A] Lors d'une tâche typique de reproduction de durée telle que la tâche de « peak-interval », les participants reçoivent des essais renforcés durant lesquels on leur présente deux stimuli de durée spécifique (8 s. ou 21 s. dans l'exemple présenté ici), et des essais test, pour lesquels on demande aux participants de reproduire les durées. Lors des essais test, les réponses sont distribuées de manière normale autour des durées renforcées avec une largeur proportionnelle aux durées cibles. B] Lorsque les distributions des réponses sont mises à la même échelle (normalisation sur l'axe des x et des y) et qu'elles se superposent, la propriété scalaire est démontrée. T^* , durée test.

Avant de définir les différents modèles psychologiques et physiologiques, il faut expliquer une notion relative à l'« interval timing » : la propriété scalaire. Elle est basée sur la loi de Weber (Weber, 1851) qui relie l'écart-type des estimations temporelles à la moyenne estimée. Cette loi suppose l'existence d'un mécanisme avec une sensibilité constante afin de s'adapter aux changements des intervalles temporels.

La propriété scalaire est donc définie par la manière dont la moyenne et la déviation standard covarient lorsque la réponse que l'on étudie suit une distribution normale autour d'un intervalle temporel (notamment lors d'une tâche de reproduction) et que la largeur de la distribution de cette réponse est proportionnelle à cet intervalle (**Fig. 4**) (Gibbon, 1977). La propriété scalaire peut s'appliquer au comportement ainsi qu'à l'activation neuronale enregistrée.

2. Le modèle d'horloge interne

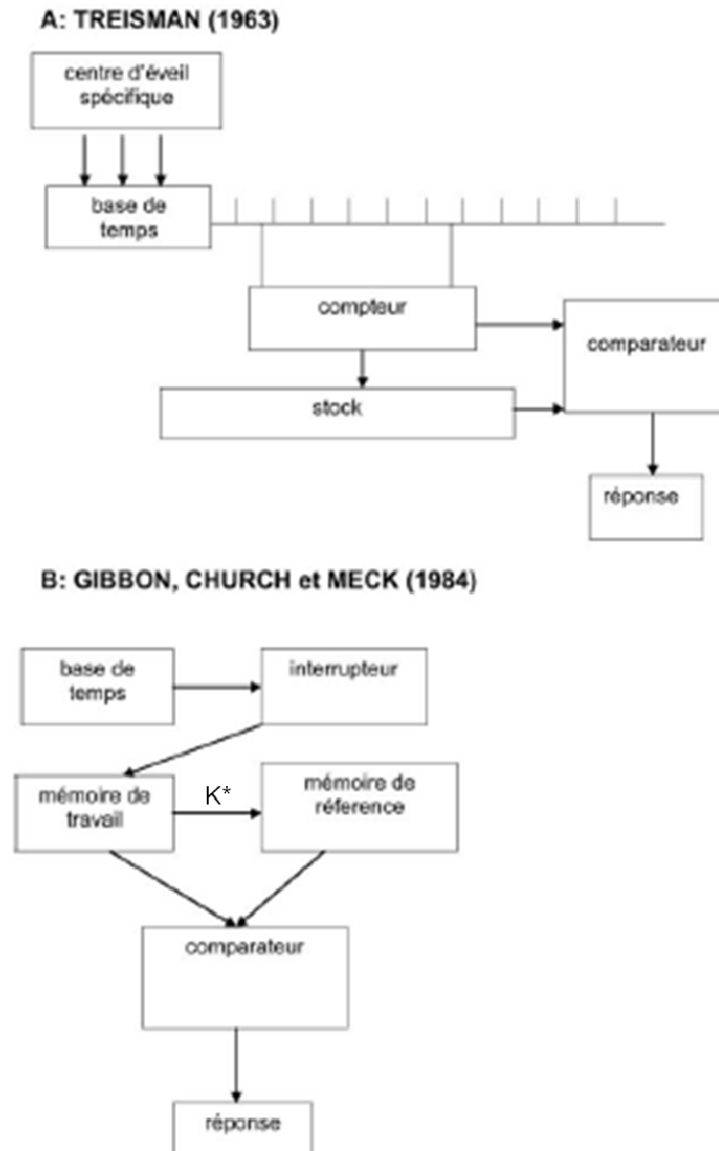


Figure 5 : Origines du modèle psychologique de l'horloge (d'après Treisman, 1963 et Gibbon et al., 1984). **A]** Esquisse du modèle de l'horloge de Treisman (1963). **B]** Esquisse du modèle de l'horloge SET (Scalar Expectancy Theory) (Gibbon et al., 1984). Un pacemaker envoie des pulsations à un accumulateur durant la période d'apprentissage, et le nombre de pulsations est stocké dans la mémoire de référence. Durant un essai, le nombre de pulsations en mémoire de travail (en cours) est comparé à celui pris en mémoire de référence, afin de prendre une décision et émettre une réponse.

L'explication de la propriété scalaire est basée sur un modèle d'horloge interne dans lequel des pulsations émises régulièrement par un pacemaker sont temporairement stockées dans un accumulateur (modèle pacemaker-accumulateur) (Gibbon et al., 1984) (**Fig. 5, B**). Le nombre de pulsations reçues dans l'accumulateur est stocké dans la mémoire de référence lors du renforcement. L'émission de la réponse dépend donc de la comparaison entre le temps

actuel subjectif et un échantillon de l'intervalle temporel dont on se rappelle. La propriété scalaire est en partie expliquée au travers du facteur multiplicatif k^* qui se situe entre la valeur en mémoire de travail et la valeur stockée en mémoire de référence. Le facteur k^* entraîne une proportionnalité avec la durée (plus la durée est grande, plus la variabilité est grande). Les avantages de ce modèle sont qu'il s'applique à différentes espèces et différentes tâches, que les étapes de mémorisation et de prise de décision sont clairement séparées ce qui permet de relier ces composants à des structures cérébrales et qu'il permet de faire des prédictions fiables.

3. La théorie comportementale du temps

Il existe d'autres théories telles que la théorie « comportementale » du temps de Killeen et Fetterman (1988). Selon cette théorie, la mesure du temps se fait par l'intermédiaire d'une séquence de comportements. Lors d'un intervalle temporel donné, un animal exécute une suite d'actions stéréotypées qui représentent une séquence de comportements permettant de mesurer le temps. Le nombre de pulsations provenant d'un pacemaker interne commanderait la transition d'un comportement à un autre lors de cette séquence. Le problème de ce modèle est qu'il est difficile d'être sûr que l'on soit face à un comportement stéréotypé qui appartient à une séquence comportementale temporelle ou face à un comportement qui n'est pas relié. En 1998, Lejeune et al. ont réalisé une expérience avec des gerbilles où celles-ci recevaient un renforcement lorsqu'elles restaient sur une plate-forme pendant plus d'un certain temps. Ils ont observé un taux de comportements consécutifs qui variait linéairement avec le taux de renforcement. Cependant, les séquences comportementales observées étaient loin d'être aussi stéréotypées que ce que laissait entendre le modèle.

4. Le modèle des oscillateurs temporels

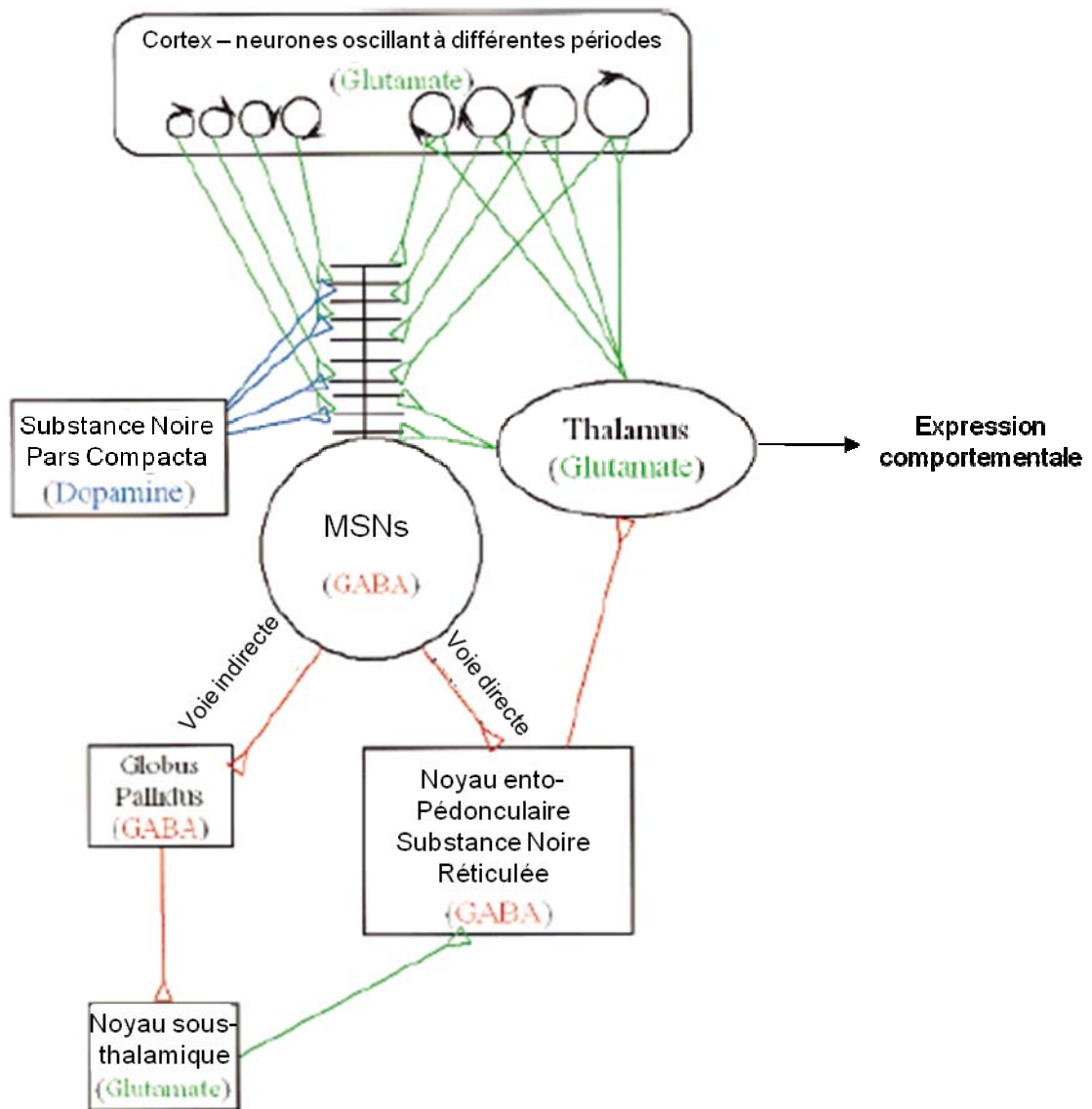


Figure 6 : Modèle SBF (Matell & Meck, 2000). L'activité dans le cortex est synchronisée par l'apparition d'un stimulus suivie de périodes d'oscillation. L'activité coïncidente d'un sous-groupe de ces neurones est détectée par les neurones épineux moyens du striatum qui via des mécanismes de LTP et LTD sous influence dopaminergique provenant de la substance noire, marquent la fin de la durée en cours. Ces neurones projettent sur les ganglions de la base (*globus pallidus*, noyau sous-thalamique, noyau ento-pédonculaire, substance noire *pars reticulata*) ceux-ci projetant sur le thalamus permettant l'expression comportementale. L'activité thalamique peut moduler de manière dynamique l'activité corticale et striatale via différentes boucles, augmentant la flexibilité du modèle.

Le modèle des oscillateurs temporels affirme que plusieurs oscillateurs estimeraient le temps (Church & Broadbent, 1990). Cette théorie s'accorde assez bien avec les données comportementales. Selon ce modèle (**Fig. 6**), l'horloge interne serait composée d'une série d'oscillateurs. Chaque oscillateur aurait sa propre période d'oscillation, et chaque période d'un oscillateur serait proportionnelle à la période d'un autre oscillateur. Il y aurait également une mémoire de travail et une mémoire à long terme. Cependant, ce modèle n'est pas sans failles. Les oscillateurs ayant une période trop courte ou trop longue ne peuvent pas représenter le temps. Un autre problème rencontré avec ce modèle est qu'il suppose l'existence de périodes d'oscillateurs allant d'une à plusieurs centaines de secondes alors que la période de décharge des neurones n'excède pas quelques dizaines de millisecondes, même si Miall et al. (1996) ont récemment trouvé qu'il existait des périodes d'oscillation dans les ganglions de la base qui pouvaient aller jusqu'à 60 secondes. Il est donc possible qu'un échantillon de ces neurones soit sélectionné en fonction de la durée à estimer. Mais cela ne résout pas le problème de savoir comment on peut évaluer sur la base d'un tel modèle des intervalles temporels pouvant aller jusqu'à 15 minutes (Lejeune & Wearden, 1991).

5. Le modèle de détection de coïncidences

Le modèle suivant dont nous allons parler est le modèle de détection de coïncidence (Miall, 1996) où un ensemble d'oscillateurs excite mutuellement un neurone de sortie. Un groupe d'oscillateurs représente un intervalle temporel. Les oscillateurs oscillent rythmiquement spontanément. Lorsqu'une durée doit être encodée, seuls les oscillateurs étant en phase (coïncidence d'état) peuvent le faire. Selon cette théorie, un groupe d'oscillateurs pourrait également se souvenir des durées et les rappeler si nécessaire. Mais à nouveau, ce n'est pas un modèle parfait : ce réseau d'oscillateurs ne tolère pas de variation dans les périodes d'oscillation, ce modèle n'intègre pas la propriété du temps scalaire et ce modèle ne simule pas des tâches réelles d'estimation temporelle.

6. Le modèle SBF (Striatal Beat Frequency)

Le modèle de coïncidence a récemment été actualisé par Matell & Meck (2000). Ils ont dénommé leur modèle « The Striatal Beat Frequency Model » (le modèle SBF ou modèle de rythme striatal fréquentiel). Ils ont basé leur modèle sur l'anatomie et la physiologie du cerveau. Il permettrait de détecter des activités simultanées grâce à plusieurs entrées neuronales. Sur la base d'études neurophysiologiques chez l'animal et l'homme, Matell & Meck ont identifié une boucle cortico-striato-thalamo-corticale qui serait impliquée dans

l'estimation temporelle (**Fig. 6**). Le striatum fonctionnerait comme un détecteur de coïncidence et un intégrateur pour les informations provenant du cortex et du thalamus, qui représenteraient les oscillateurs, selon plusieurs théories basées sur des données anatomiques et électrophysiologiques (Houk, 1995). Chaque durée serait donc représentée par une ou plusieurs entrées excitatrices. Lorsque l'excitation atteindrait un seuil, un potentiel d'action dans le striatum serait déclenché. Les cellules striatales seraient donc des détecteurs de coïncidence de 'patterns' d'oscillations corticales. La période des oscillations ainsi que le seuil de décharge au niveau du striatum seraient variables.

La détection de coïncidences serait donc un mécanisme d'intégration neuronale où un neurone va être activé lorsqu'il aura reçu plusieurs stimulations durant un laps de temps défini (5-20 ms). L'efficacité d'une aire recevant de nombreuses projections serait modulée par des phénomènes de plasticité de type LTP (Potentialisation à Long Terme) ou LTD (Dépression à Long Terme) (Wickens et al., 1996). Wickens avait remarqué que la libération de dopamine dans le striatum était cruciale pour le renforcement. Il a donc voulu observer les changements de force de la transmission synaptique lorsqu'il appliquerait de la dopamine de manière pulsatile afin de reproduire une situation de renforcement. Les MSN répondent à la stimulation corticale par des potentiels dépolarisants qui ont la propriété de potentiels excitateurs monosynaptiques postsynaptiques. Après application de trains de stimulation au cortex en conjonction avec une dépolarisation intracellulaire, la taille de ces potentiels postsynaptiques excitateurs a été réduite. Si on applique de la dopamine dans une solution saline en conjonction avec une dépolarisation et une activation présynaptique, cela augmente les potentiels postsynaptiques excitateurs engendrés.

Dans le striatum, la conjonction de l'activité corticale et d'une dépolarisation des neurones striataux induit une LTD sauf si de la dopamine est administrée en même temps où dans ce cas, cela engendre une LTP. La voie préfronto-striatale pourrait donc être une voie de stockage d'information temporelle, avec les neurones épineux de taille moyenne du striatum dorsal qui fonctionneraient comme détecteurs de coïncidence et ne seraient activés en émettant un potentiel d'action que lorsqu'ils auraient été renforcés auparavant par des projections corticales qui auraient été activées en même temps (Wickens et al., 1996).

Ces modèles nous permettent de mieux comprendre la représentation du temps et le rôle que joue chaque structure cérébrale dans celui-ci. Cependant, il reste encore beaucoup

de zones d'ombre à explorer, notamment si un lien existe entre la plasticité striatale et le temps et si oui, quel est-il.

II. La maladie de Huntington

Tout semble donc indiquer que le striatum joue un rôle dans l'estimation temporelle des durées allant de la seconde à la minute. Lors de notre étude, nous avons utilisé un modèle de rat transgénique pour la maladie de Huntington que l'on peut assimiler à un modèle lésionnel du striatum, et nous avons voulu observer ce qui se passait au niveau temporel et au niveau du striatum de manière précoce et de manière symptomatique.

a. Définition

La maladie de Huntington est une maladie neurodégénérative autosomale dominante causée par l'extension d'une répétition de plus de 39 codons CAG dans le premier exon du gène Huntingtin (IT15) dont la fonction est inconnue à ce jour (Ramaswamy et al., 2007). Chez les individus normaux, cette région code entre 8 et 27 glutamines. Généralement, la maladie se manifeste en milieu de vie (entre 35 et 50 ans) et progresse de manière implacable de 15 à 20 ans jusqu'à la mort. L'âge du début de l'apparition des symptômes est corrélé au nombre de répétitions du codon CAG : plus il y a de répétitions du codon CAG, plus tôt apparaîtra la maladie. Des gènes comportant 28 à 30 répétitions du codon CAG sont considérés comme des pré-mutations. Lorsqu'il y a plus de 70 répétitions, il s'agit de la forme juvénile de la maladie de Huntington (Duyao et al., 1993). La mutation entraîne une dégénérescence progressive atteignant d'abord les neurones du striatum et du cortex cérébral. La neurodégénérescence progressive des neurones épineux moyens GABAergiques (MSNs) est caractéristique de la maladie (Vonsattel, 1985). Les symptômes classiques sont représentés par des troubles moteurs, cognitifs et émotionnels (Wilson et al., 1978). Les premiers signes moteurs de la maladie sont généralement subtils. Ils se traduisent par de la maladresse, de la difficulté à suivre des objets en mouvement avec les yeux, et de légers mouvements involontaires. Ces troubles moteurs associés à la perte de coordination motrice volontaire, progressent lentement pour déboucher sur la chorée de Huntington. Les patients vont peu à peu perdre leur capacité à se mouvoir et à communiquer, et finalement, ils pourront même présenter de la rigidité et de la bradykinésie (Gil & Rego, 2008). Il peut exister de manière présymptomatique des états dépressifs ou des altérations cognitives subtiles telles que des déficiences dans les prises de décision ou des problèmes de transfert attentionnel (Foroud et

al., 1995 ; Lawrence et al., 1996, 1998). A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement pouvant influencer le début ou la progression de la maladie.

b. Modèles animaux

De nombreux essais ont été réalisés afin de créer des modèles animaux de la maladie de Huntington.

1. Modèles excitotoxiques

Les modèles excitotoxiques répliquent de nombreux traits histologiques et neurochimiques ainsi que quelques signes moteurs et cognitifs mais la neurodégénérescence n'est pas vraiment progressive (Borlongan et al., 1995 ; Brouillet et al., 1995). Leur utilité pour l'évaluation de l'effet des traitements est donc limitée.

En 1995, Borlongan et al. ont injecté par voie systémique à des rats de l'acide 3-nitropropionique (3-NP), un inhibiteur du cycle de l'acide citrique mitochondrial qui a entraîné une détérioration locomotrice progressive ressemblant fortement aux troubles moteurs observés lors de la maladie de Huntington. En étudiant l'évolution des animaux subissant cette injection au cours du temps, ils se sont rendus compte qu'au début, une hyperactivité était présente (stade précoce de la maladie de Huntington) et que celle-ci était peu à peu remplacée par une hypoactivité (stade avancé de la maladie de Huntington).

Brouillet et al. (1995) pensaient quant à eux que la maladie de Huntington pouvait être due à un trouble du métabolisme énergétique suivi d'une altération excitotoxique neuronale nocive. Ils ont administré de manière chronique du 3-NP à des primates non humains. Après 3 à 6 semaines de traitement, les primates montraient une augmentation de leur activité motrice en comparaison des animaux traités avec une solution saline. Des mouvements choréiformes apparaissaient, ainsi qu'une dystonie des membres inférieurs et supérieurs, caractéristiques de la maladie de Huntington. Un traitement prolongé au 3-NP entraînait l'apparition de dystonie spontanée et de dyskinésie accompagnée de lésions dans le noyau caudé et le putamen observé par IRMf chez deux primates. L'histologie montrait de l'astrogliose, des changements dans la croissance et la prolifération des dendrites des neurones épineux de manière similaire à des patients atteints de la maladie de Huntington.

2. *Le modèle murin knock-in*

Le modèle souris knock-in (KI) contient un gène chimérique de la maladie de Huntington mi souris, mi humain : l'exon 1 humain contient 140 répétitions du codon CAG et est inséré dans le gène Huntingtin murin. Il a été développé par Menalled et al. en 2003. A 1 mois, l'activité locomotrice est augmentée chez ce modèle de souris, suivi d'une hypoactivité à 4 mois et de problèmes de locomotion aux alentours de 1 an. Les symptômes comportementaux précèdent les anomalies neuropathologiques qui commencent à devenir intenses et à s'étendre vers les 4 mois. Les anomalies neuropathologiques consistent en des inclusions nucléaires de Huntingtin ainsi que des agrégats de neuropiles qui apparaissent d'abord dans le striatum, le noyau accumbens et le tubercule olfactif. Il est intéressant de remarquer que toutes les régions présentant la maladie en premier reçoivent des afférences dopaminergiques importantes, appuyant l'hypothèse selon laquelle la dopamine jouerait un rôle dans la maladie de Huntington. Ce modèle présente des symptômes comportementaux moins sévères que les souris R6/2. Il est intéressant car il reproduit bien la maladie de Huntington mais ne permet malheureusement pas de faire d'études longitudinales.

3. *Modèles transgéniques*

Les modèles d'animaux transgéniques fournissent une nouvelle manière d'étudier les mécanismes neuropathologiques de la maladie de Huntington. La lignée de souris transgéniques R6/2 exprime le premier exon du gène HD humain portant l'expansion de la répétition de 141-157 CAG (Mangiarini et al., 1997) et développe un nombre de signes clés de la maladie comme une détérioration motrice progressive (Carter et al., 1999), l'apparition d'inclusions neuronales intranucléaires (Davies et al., 1997), des troubles d'apprentissage discriminatif (Lione et al., 1999), et un état émotionnel altéré (File et al., 1998). Cependant, ce modèle exprime un grand nombre de répétitions de CAG que l'on ne trouve que dans la forme juvénile. On observe donc une progression rapide de la maladie associée à du diabète, ce qui n'est pas typique d'une maladie de Huntington chez l'homme et cela pourrait compliquer certaines approches thérapeutiques. De plus, même si ce modèle offre d'importantes ressources au niveau moléculaire, il n'est pas adéquat pour la répétition de la technique d'imagerie *in vivo*, de par la petite taille du modèle souris et de par le fait qu'une étude longitudinale n'est pas possible.

Le modèle qui s'approche le plus de la maladie de Huntington observée chez l'homme est celui du rat transgénique porteur de la maladie de Huntington créé par von Hörsten (von

Hörsten et al., 2003). Il possède une répétition de 51 CAG qui ressemble beaucoup au phénotype humain avec un début tardif de la maladie (forme adulte de la maladie) (**Fig. 7**). Chez ce modèle rat, les premiers symptômes moteurs apparaissent aux alentours de 6 mois et la dégénérescence striatale apparaît vers les 8 mois (von Hörsten et al., 2003 ; Nguyen et al., 2006). Nguyen et al. (2006) ont observé qu'à l'âge d'1 mois, les rats transgéniques montraient une anxiété réduite et de meilleures performances motrices comparés à des rats contrôles. A 6 mois, des troubles moteurs commençaient à apparaître et vers 9 mois, un déclin cognitif se présentait. Entre 6 et 9 mois, des sites de recrutement de polyglutamine (polyQ) apparaissent, les inclusions et les agrégats contenant de la polyQ, dus à la synthèse d'une protéine aberrante à cause de la répétition anormale de CAG. Ce sont des marqueurs de la maladie de Huntington. Les marqueurs comportementaux de la maladie précèdent les marqueurs neuropathologiques. A 12 mois, Nguyen et al. (2006) ont également observé une atrophie striatale.

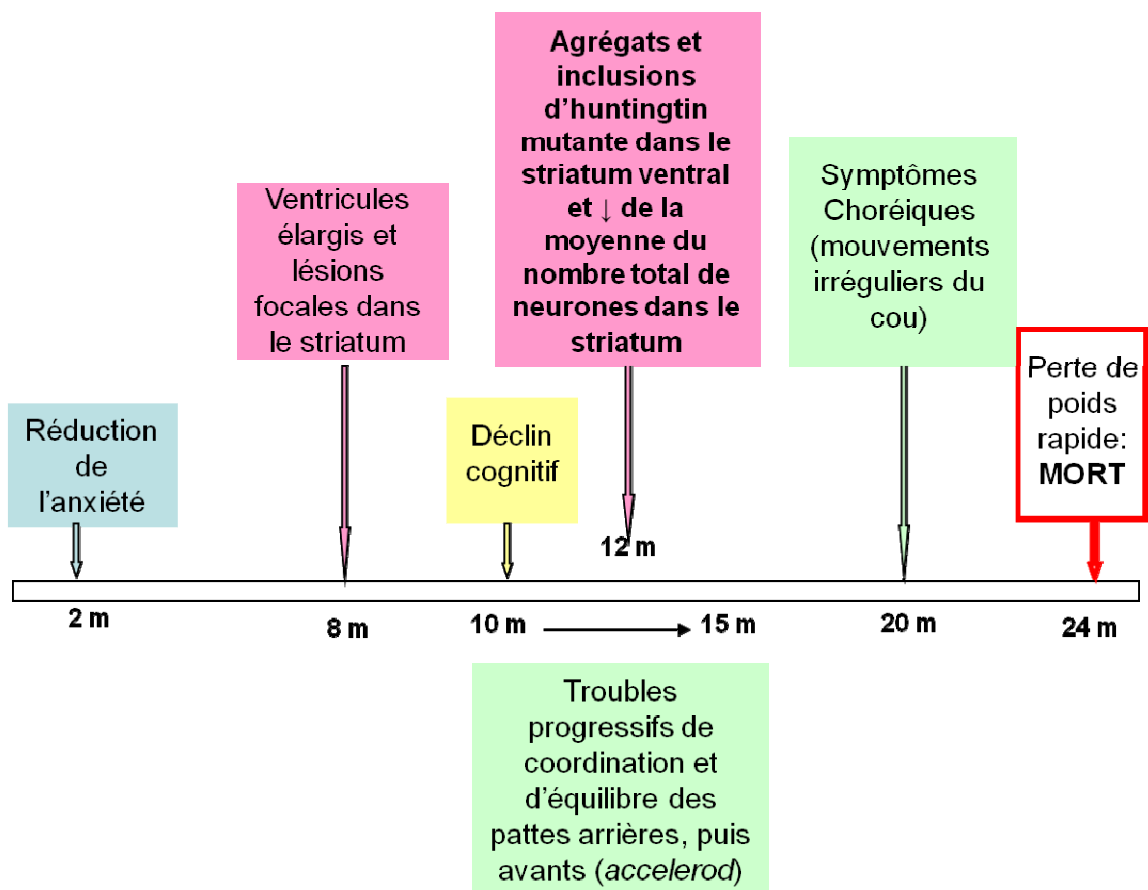


Figure 7 : Evolution de la maladie chez les rats transgéniques pour la maladie de Huntington.

Kántor et al (2006) ont voulu tester l'hypothèse selon laquelle dès le début de la maladie de Huntington, il existe une perte neuronale dans le striatum et dans la couche corticale V ainsi que des perturbations comportementales dues à l'altération de la fonction striatale dans un modèle de rat transgénique pour la maladie de Huntington. Des analyses stéréologiques ont montré qu'il y avait une réduction du nombre moyen de neurones dans le striatum mais pas dans la couche corticale V de rats transgéniques âgés de 12 mois. Il n'y avait par contre aucune altération dans le nombre de neurones du striatum à 6 mois. A 14 mois, lors d'une tâche de discrimination de fréquences de son (ils devaient appuyer sur une pédale déterminée pour un son de 2,5 KHz et sur une autre pédale pour un son de 10 KHz), ils ont testé le temps de réaction des animaux. La fonction striatale semblait bien altérée car les réponses prématurées augmentaient, le nombre de réponses correctes diminuaient et il y avait souvent un biais vers une des pédales, bien que le temps de réaction soit le même.

Des inclusions nucléaires et des agrégats de neuropiles ont été trouvés après examen neuropathologique chez ce modèle, principalement dans le striatum d'animaux âgés de 1 an et plus, présentant une distribution similaire à celle que l'on peut observer chez les humains (von Hörsten et al., 2003). L'apparition tardive de la neurodégénérescence nous a permis de réaliser une étude longitudinale pendant un an sur ce modèle transgénique pour la maladie de Huntington afin d'observer l'évolution d'un comportement temporel lors de la maladie et de déterminer si la perturbation de l'analyse temporelle dans un intervalle allant de la seconde à la minute était l'une des fonctions cognitives présymptomatiques altérées et si elle pouvait être associée avec des altérations précoces fronto-striatales.

En résumé, le modèle rat transgénique pour la maladie de Huntington semble être le modèle animal reproduisant le plus fidèlement la maladie de Huntington chez l'homme. Il est également un des modèles les plus avantageux car il permet de réaliser des études longitudinales, des études comportementales et des études électrophysiologiques.

c. La maladie de Huntington et le temps

La majorité des études portant sur l'analyse temporelle lors de la maladie de Huntington se sont concentrées sur des durées au-dessous de 1.2 s (Paulsen et al., 2004 ; Beste et al., 2007 ; Hinton et al., 2007 ; Woodruff-Pak & Papka, 1996 ; Paulsen et al., 2008 ; Rowe et al., 2010), un intervalle de durée qui englobe plutôt l'analyse automatique que cognitive (Grondin, 2001 ; Rammsayer, 1999).

A notre connaissance, la seule étude évaluant l'analyse temporelle en terme de durées supérieures à la seconde (20 s) a utilisé une tâche de « peak interval » chez des souris symptomatiques R6/2 et R6/2B porteuses de la maladie de Huntington et montrant un contrôle temporel réduit avec des courbes plus étalées (Balci et al., 2009). Ils ont observé que les deux lignées transgéniques montraient toutes deux des déficits dans le contrôle de leurs réponses. Lors des essais non renforcés, soit les souris n'apprenaient pas à terminer une réponse dépassant la durée à laquelle le renforcement était censé arriver, soit elles avaient besoin de plus d'essais d'apprentissage comparés aux souris témoins. Aucune différence n'est apparue concernant l'exactitude temporelle entre les animaux témoins et les animaux transgéniques.

Paulsen et al. (2004) ont étudié chez des patients porteurs de la maladie de Huntington mais ne l'ayant pas encore développé les marqueurs biologiques d'une dysfonction neuronale précoce par IRMf en leur faisant réaliser une tâche de généralisation temporelle où le sujet devait indiquer si les durées qu'ils entendaient étaient plus longues ou moins longues qu'une durée standard de 1200 ms. Les participants les plus proches du début de la maladie montraient de moins bonnes performances que les témoins, mais aucune différence n'était observable entre les patients à un stade plus ou moins proche du début de la maladie. De même, les participants les plus proches du début de la maladie avaient un volume caudé bilatéral plus réduit que les contrôles, mais il n'y avait pas de différence entre eux et les patients plus éloignés du début de la maladie. En terme d'IRMf, les patients les plus proches du début de la maladie montraient moins d'activation des régions sous-corticales (noyau caudé, thalamus) que les sujets sains ; les participants les plus éloignés du début de la maladie présentaient un degré intermédiaire d'activation dans ces structures mais montraient une hyperactivation des structures médianes hémisphériques (antérieur cingulaire, aire motrice présupplémentaire), ce qui pourrait être un système compensatoire.

Beste et al. (2007) ont utilisé deux tâches temporelles. Une tâche de production temporelle pour un stimulus de 1200 ms (dans leur article, cette tâche est appelée « estimation temporelle » mais il s'agit en réalité d'une tâche de production temporelle) et une tâche de discrimination temporelle. La demande motrice était élevée lors de la tâche de production mais faible lors de la tâche de discrimination. Ils ont utilisé un groupe de patients présymptomatiques, un groupe de patients symptomatiques et un groupe de sujets sains. Chez les patients symptomatiques et présymptomatiques ils ont observé un déclin des fonctions temporelles lorsque la demande motrice était trop élevée en comparaison des sujets sains. Lors de la tâche de discrimination temporelle, les performances des sujets présymptomatiques

étaient comparables à celles des sujets sains et meilleures que celles des sujets symptomatiques. Lorsqu'on testait les performances motrices des patients présymptomatiques, elles étaient similaires à celles des sujets sains et meilleurs que celles des sujets symptomatiques.

Paulsen et al. (2008) ont prouvé que l'on pouvait détecter la maladie de Huntington bien longtemps avant son diagnostic. Pour cela, ils ont utilisé des outils génétiques, neurobiologiques et cliniques afin de comprendre la progression de la maladie de Huntington lorsque celle-ci n'était pas encore déclarée, chez des personnes porteuses de la mutation génétique caractéristique de cette maladie. Le nombre de répétition du codon CAG permettait de prédire le début supposé de la maladie. Ils ont réussi à observer des changements cliniques et des modifications des marqueurs en neuroimagerie jusqu'à vingt ans avant le début de la maladie. Notamment, le rythme naturel de frappe des patients porteurs de la maladie était modifié bien avant l'apparition des premiers symptômes.

Rowe et al. (2010) ont également utilisé une tâche mesurant le rythme de frappe chez des patients présymptomatiques pour la maladie de Huntington. Ils ont diffusés des sons présentés à des intervalles de 550 ms et les sujets devaient reproduire ce rythme en appuyant sur des touches lorsque le son s'était arrêté. Les patients présymptomatiques ont montré une exactitude rythmique moins bonne que les sujets sains ce qui montre que leur jugement temporel était déjà atteint alors que les premiers symptômes de la maladie n'étaient pas encore présents.

Il est remarquable de noter que la perturbation de la perception temporelle motrice chez des patients présymptomatiques est liée avec le nombre d'années du début estimé des symptômes (Hinton et al., 2007). Hinton a demandé à 29 patients présymptomatiques qu'il a classés par années avant le début de la maladie, de réaliser une tâche de reproduction temporelle pour des durées de 600 et 1200 ms. La précision temporelle ne reflétait pas le temps restant avant l'apparition des premiers symptômes mais la variabilité des réponses, reflétait bien le nombre d'années restant avant le début de la maladie, mais pas l'âge de la personne.

Woodruff-Pak & Papka (1996) ont étudié le conditionnement du clignement de l'œil pour une durée de 400 ms chez des patients atteints de la maladie. Etant donné que le circuit neuronal (l'hippocampe et le cervelet) jouant un rôle dans ce conditionnement n'inclut pas le striatum, ils pensaient que cette performance ne serait pas altérée par la maladie. Aucune

différence n'a été observée entre les patients atteints de la maladie et les sujets sains pour la production des réponses conditionnées, mais la réponse conditionnée des malades n'était pas temporellement ajustée par rapport à l'arrivée du stimulus qui entraînait le clignement de la paupière et elle était plus variable. En comparant ces performances avec les performances réalisées par des patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou du syndrome de Down, on observa que les patients atteints de la maladie de Huntington obtenaient de meilleurs résultats. Il semblerait donc que l'aptitude à acquérir des réponses conditionnées soit normale chez des sujets Huntington mais le striatum semble jouer un rôle important dans l'ajustement temporel des réponses conditionnées.

En résumé, on observe une altération temporelle en présymptomatique et en symptomatique chez les sujets porteurs de la maladie de Huntington dès qu'une composante motrice est présente dans la tâche à réaliser. Il n'existe qu'une seule étude en présymptomatique (Beste et al., 2007) et qu'une seule étude en symptomatique (Paulsen et al., 2004) où l'on peut voir une altération de la perception temporelle lorsqu'il n'y a pas de composante motrice impliquée. Les troubles temporels se traduisent principalement par une augmentation de la variabilité des réponses. Il semble donc bien que la perception temporelle soit altérée dans la maladie de Huntington et celle-ci pourrait même être un outil qui nous permettrait de détecter la maladie de manière précoce.

d. La maladie de Huntington et la plasticité

Le striatum reçoit des entrées corticales glutamatergiques de tout le cortex cérébral de manière topographique (Gerfen, 1984). La plupart des études neurophysiologiques des modèles de la maladie de Huntington ont été réalisées *in vitro*, empêchant la caractérisation du dysfonctionnement spécifique des afférences corticales. Le peu d'études qui ont été réalisées *in vivo* ont observé une réduction de la plasticité dans le cortex moteur de patients symptomatiques (Crupi et al., 2008), et des taux de décharges des cellules striatales déréglés chez des rongeurs symptomatiques (Miller et al., 2008 ; Miller et al., 2010). Miller et al. (2010) ont implanté de manière chronique des électrodes dans le striatum dorsomédian afin d'enregistrer l'activité spontanée des neurones épineux de taille moyenne (enregistrement unitaire) chez des rats symptomatiques transgéniques pour la maladie de Huntington et chez des rats témoins qui pouvaient se déplacer librement. Comparés aux animaux témoins, les rats transgéniques montraient une diminution de taux de décharge corrélés et moins d'activations corrélées entre les paires de neurones enregistrés (Miller et al., 2010). Ce phénomène était

également observé chez des souris R6/2 et KI (Knock In) (Miller et al., 2008). Une telle détérioration du taux de décharge cellulaire a également été détectée dans le cortex préfrontal de souris symptomatiques R6/2 (Walker et al., 2008).

Cepeda et al. (2003) ont étudié *in vitro* l'altération de la voie cortico-striatales sur des tranches d'un modèle souris R6/2 de la maladie de Huntington. Ils ont enregistré les courants post-synaptiques des neurones épineux de taille moyenne du striatum avec des techniques de patch-clamp et voltage-clamp. Dès 5-7 semaines, et de manière encore plus prononcée dès 11-15 semaines, on voyait une diminution des courants excitateurs post-synaptiques spontanés chez les souris R6/2. S'ils ajoutaient de la bicuculine ou de la tetrodoxine, aucun changement n'était observé, ce qui indique que ces courants sont spécifiques au glutamate. Aux alentours de 11/15 semaines, les marqueurs des protéines diminuaient de manière pré et post-synaptique.

Kung et al. (2007) ont observé que la LTP dépendante de la dopamine dans le striatum dorsolatéral était diminuée chez les souris R6/2 atteintes de la maladie de Huntington. Pour cela, ils ont comparé la LTP et la LTD de tranches striatales de souris R6/2 avec des souris témoins. Chez les souris témoins adultes (8-19 semaines), ils ont observé de la plasticité bidirectionnelle dépendante de la fréquence. La stimulation à haute fréquence des afférences glutamatergiques du striatum entraînait une LTP et la stimulation à basse fréquence entraînait une LTD. La LTP et la LTD étaient bloquées par du NMDA, indiquant que la plasticité est dépendante de l'activation du récepteur au NMDA du glutamate. La LTP était significativement bloquée par le SCH-23390, un antagoniste des récepteurs dopaminergiques D1, indiquant que la LTP est dépendante de l'activation des récepteurs dopaminergiques D1. Chez les souris R6/2 adultes symptomatiques (8-19 semaines), la LTP était significativement réduite, tandis que la LTD restait similaire à celle des souris témoins. Ces données ont donc montré que les souris R6/2 ont des troubles de plasticité neuronale dépendant de la dopamine dans le striatum. Etant donné que la plasticité dépendant de la dopamine est un modèle proposé pour les fonctions cognitives et motrices dépendant du striatum, ces troubles pourraient contribuer aux déficits observés chez les souris R6/2.

Dallérac et al. (2011) ont voulu étudier la fonction synaptique excitatrice et la plasticité dans le cortex préfrontal médian de 2 lignées de souris atteintes de la maladie de Huntington (89 répétitions et 116 répétitions de CAG correspondant à un stade préclinique et symptomatique respectivement). Ils ont réalisé des enregistrements électrophysiologiques sur

des tranches du cortex préfrontal médian. Ils ont observé que la plasticité à court terme et la LTP étaient altérées et que la gravité de ces altérations était dépendante du nombre de répétitions du codon CAG. Ces troubles peuvent être annulés en injectant un agoniste des récepteurs D1 (le SKF38393). Une altération dopaminergique semblerait donc bien être à l'origine des troubles observés dans la fonction synaptique et les dysfonctionnements cognitifs liés à la maladie de Huntington.

Cummings et al. (2006) ont voulu évaluer la plasticité synaptique dans le cortex périrhinal qui joue un rôle dans la mémoire de reconnaissance via des phénomènes de LTD et LTP, chez des souris R6/2. Ils ont observé une diminution progressive de la LTD et de la plasticité à court terme au niveau des synapses périrhinales. Les couches II/III neuronales ont progressivement vu disparaître la LTD, ont montré de la huntingtin mutante nucléaire de manière précoce et ont progressivement perdu leur intégrité membranaire accompagné d'une réduction de l'expression des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 de la couche I du cortex périrhinal. Les altérations observées dans la plasticité à court et long terme peuvent être annulées en introduisant du quinpirole, un agoniste des récepteurs dopaminergiques D2, suggérant que les altérations dans la signalisation dopaminergique pourraient être sous-jacentes à un dysfonctionnement cognitif précoce dans la maladie de Huntington.

En résumé, il semblerait que la maladie de Huntington entraîne une perte d'activité corrélée entre les différents neurones striataux. On observe également une diminution des courants excitateurs post-synaptiques spontanés des neurones épineux de taille moyenne du striatum dorsomédian. L'altération de la voie dopaminergique pourrait être à l'origine des troubles cognitifs observés dans la maladie de Huntington Même s'il a été suggéré que la maladie de Huntington pourrait être décrite comme une démence préfronto-striatale (Lawrence et al., 1996), l'altération précoce des fonctions exécutives n'a pas encore été reliée à une déficience dans la connectivité fronto-striatale.

e. Traitements et thérapies

Actuellement, la maladie de Huntington est incurable et entraîne la mort. La recherche actuelle se dirige dans plusieurs directions, telle que des thérapies pharmaceutiques, des thérapies neuroprotectrices, l'utilisation de facteurs trophiques ou de la neurorestoration. Toujours est-il qu'une détection précoce de la maladie pourrait certainement aider à mettre en

place toutes ces thérapies de manière plus efficace. La prévention de la mort cellulaire est le but ultime de la recherche traitant des maladies neurodégénératives. Bien que quelquefois, la mort cellulaire s'enclenche justement dans un but protecteur, afin de préserver un circuit neuronal fondamental d'éléments dysfonctionnels. La recherche actuelle sur la maladie de Huntington a montré que des dysfonctions neuronales et synaptiques apparaissaient bien avant la mort cellulaire chez l'homme (Orth et al., 2010) et l'animal (Cummings et al., 2006 ; Milnerwood et al., 2006). Si l'on se penche sur les thérapies pharmaceutiques, des études récentes suggèrent que des traitements pharmacologiques précoces chez des souris transgéniques pour la maladie de Huntington pourrait annuler la dysfonction neuronale (Milnerwood et al., 2010) et retarder la progression de la neurodégénérescence (Okamoto et al., 2009). Si nous arrivions à mieux comprendre le dysfonctionnement cellulaire et moléculaire de la maladie de Huntington, nous pourrions peut-être arriver à la guérir de manière précoce. Pour cette raison, nous avons réalisé une tâche temporelle ainsi qu'une analyse électrophysiologique de manière précoce chez des rats transgéniques pour la maladie de Huntington.

III. Nos objectifs

Au travers de l'étude de la perception temporelle chez un modèle animal de la maladie de Huntington, nous avons essayé de caractériser le lien qui unit le striatum et ses afférences préfrontales à la perception et mémorisation temporelle, sachant que les circuits préfronto-striataux sont censés jouer un rôle critique dans le traitement de l'estimation temporelle (Buhusi & Meck, 2005). La maladie de Huntington se caractérise principalement par la neurodégénérescence du striatum. Nous avons donc réalisé des enregistrements électrophysiologiques dans le striatum dorsal, une structure qui est censée jouer un rôle prépondérant dans la perception temporelle des durées allant de la seconde à la minute, et nous avons également réalisé une étude longitudinale comportementale de la perception temporelle chez les rats transgéniques pour la maladie de Huntington.

Pour étudier le fonctionnement neurophysiologique des circuits préfronto-striataux, nous avons caractérisé la réponse enregistrée dans le striatum dorsomédian après stimulation du cortex préfrontal prélimbique *in vivo*, chose qui n'avait encore jamais été fait et qui nous était nécessaire pour savoir comment fonctionnait cette voie chez des animaux sains. Nous nous sommes placés au niveau du striatum dorsomédian car c'est topographiquement là que le cortex préfrontal projette (Gabbot et al., 2005). Nous avons ensuite testé cette voie chez des

rats transgéniques présymptomatiques pour la maladie de Huntington afin d'observer si une altération de la transmission synaptique pouvait devancer les premiers symptômes de la maladie et expliquer de possibles troubles précoces de la perception temporelle au travers de changements de la plasticité à court et à long terme.

Nous avons choisi une tâche de discrimination temporelle et de bissection temporelle avec des durées de 2 et 8 secondes afin de comprendre quel rôle joue le striatum et le cortex préfrontal dans la perception temporelle des durées allant de la seconde à la minute. Nous avons choisi la tâche de bissection car elle ne comporte pas de composantes motrices dans la mesure de la perception temporelle, et étant donné que la maladie de Huntington entraîne des troubles moteurs, il était important que notre tâche ne soit pas influencée par ces troubles moteurs dans sa mesure de l'estimation temporelle.

L'article 1 (Höhn et al., 2011) s'intéresse à l'étude présymptomatique comportementale et électrophysiologique de la voie préfronto-striatale des rats transgéniques pour la maladie de Huntington. La tâche comportementale consistait en une tâche de bissection pour des durées de 2 et 8 secondes pour laquelle le réseau préfronto-striatal est censé jouer un rôle. Lors de deux expériences indépendantes, les analyses comportementales ont révélé une moins bonne sensibilité temporelle à 4 mois, bien avant la détection de troubles moteurs. A un âge plus tardif symptomatique (12 mois), les animaux montraient des problèmes de discrimination temporelle comparés aux animaux témoins. Nous nous attendions à ce que la perception temporelle des durées extrêmes de la tâche de bissection soit plus mauvaise chez les rats transgéniques, ce qui n'était pas le cas, sauf pour trois de nos animaux transgéniques. Les enregistrements *in vivo* des potentiels de champs du striatum dorsomédian évoqués par la stimulation du cortex prélimbique ont été réalisés sur des rats de 4-5 mois. La plasticité était altérée, avec une plus grande facilitation par « paired-pulse », une plus grande dépression à court terme et une plus grande potentialisation à long terme après une stimulation à haute fréquence chez les rats transgéniques homozygotes. Les animaux hétérozygotes se situaient entre les animaux transgéniques homozygotes et les rats témoins. Il semble donc que la plasticité dans le circuit préfronto-striatal soit nécessaire au comportement temporel. De plus, cette étude fournit la première preuve comportementale et électrophysiologique d'une altération présymptomatique du circuit préfronto-striatal chez un animal atteint de la maladie de Huntington suggérant que l'« interval timing » pourrait être l'altération cognitive la plus précoce lors de cette maladie.

L'article 2 (Brown et al., 2011) s'intéresse aux changements de la sensibilité temporelle chez des rats transgéniques pour la maladie de Huntington lors d'une tâche de bissection temporelle. Les tests de bissection étaient répétés longitudinalement de 4 à 8 mois. Les résultats montraient que les latences des réponses évoluaient d'une fonction monotonique descendante à une fonction en forme de U inversé au fur et à mesure de la répétition des essais. Nous avons donc supposé que la sensibilité temporelle combinée à la motivation transformait la tâche de bissection d'une tâche à deux choix à une tâche à trois choix (la durée extrême courte, la durée extrême longue et les durées intermédiaires). Les changements dans la structure de la tâche et/ou la continuation des tests étaient accompagnés par une amélioration de la sensibilité temporelle. Des facteurs temporels et non temporels influenceraient donc la tâche de bissection temporelle.

L'article 3 (Faure et al., 2011) s'intéresse au côté émotionnel et motivationnel altéré chez le rat transgénique pour la maladie de Huntington. Jusqu'à présent, seules des études d'anxiété avaient été réalisées afin de tester le côté émotionnel des rats transgéniques pour la maladie de Huntington. Dans cette étude, nous avons testé les aptitudes motrices, émotionnelles et motivationnelles des rats transgéniques. De 11 à 15 mois, les rats ont subi des tests de la perception émotionnelle de sucrose en utilisant un test de réactivité, d'acquisition, d'extinction et de réacquisition de peur conditionnée discriminante Pavlovienne ainsi que la réactivité aux changements de valeur du renforcement lors d'une approche Pavlovienne dans une allée droite. Dans cette étude, j'ai personnellement réalisé les tests moteurs et dès 11 mois, des troubles moteurs étaient détectables chez les rats transgéniques. Les animaux transgéniques montraient une perception hédonique plus accentuée que les animaux témoins pour les concentrations intermédiaires de sucrose. Cependant, il existait des altérations émotionnelles avec un meilleur apprentissage et une meilleure réacquisition de conditionnement de peur conditionnée dû à un plus haut niveau de peur conditionnée à des stimuli aversifs et une hyper-réactivité à un transfert hédonique négatif pour la valeur du renforcement interprété en terme de plus grande frustration. L'évaluation neuropathologique de ces animaux a montré un rétrécissement sélectif du noyau central de l'amygdale. Certains des symptômes observés pourraient donc également être dus à un mauvais fonctionnement de l'amygdale.

Pour résumer, l'étude longitudinale temporelle (via une tâche de bissection) des rats transgéniques pour la maladie de Huntington (4-15 mois) nous a permis de suivre l'évolution de la perception temporelle alors que le striatum s'altérait peu à peu au fur et à mesure de

l'avancement de la maladie. Nous avons également réalisé des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* du striatum dorsomédian chez des animaux transgéniques homozygotes, hétérozygotes et témoins, de manière présymptomatique (4-6 mois) afin de voir si des modifications de la transmission synaptique pouvaient être corrélées à une altération de l'estimation temporelle. Mais nous nous sommes également rendus compte que les facteurs émotionnels et motivationnels entraînent en compte dans le comportement temporel des rats transgéniques pour la maladie de Huntington.

ARTICLE I

**Behavioral and *in vivo* electrophysiological evidence for
presymptomatic alteration of prefrontostriatal processing in
transgenic rat for Huntington's disease**

Höhn et al. (2011)

Behavioral and *In Vivo* Electrophysiological Evidence for Presymptomatic Alteration of Prefrontostriatal Processing in the Transgenic Rat Model for Huntington Disease

Sophie Höhn,^{1,2*} Glenn Dallérac,^{1,2*} Alexis Faure,^{1,2*} Yvonne K. Urbach,⁴ Huu Phuc Nguyen,³ Olaf Riess,³ Stephan von Hörsten,⁴ Pascale Le Blanc,^{1,2} Nathalie Desvignes,^{1,2} Nicole El Massioui,^{1,2} Bruce L. Brown,⁵ and Valerie Doyère^{1,2}

¹Université Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, Unité Mixte de Recherche 8195, F-91405 Orsay, France, ²Centre National de la Recherche Scientifique, F-91405 Orsay, France, ³Department of Medical Genetics, University of Tübingen, D-72076 Tübingen, Germany, ⁴Experimental Therapy, Franz Penzoldt Center, Friedrich Alexander University, D-91054 Erlangen-Nürnberg, Germany, and ⁵Graduate Center, City University of New York, and Department of Psychology, Queens College, Flushing, New York 11367

Cognitive decline precedes motor symptoms in Huntington disease (HD). A transgenic rat model for HD carrying only 51 CAG repeats recapitulates the late-onset HD phenotype. Here, we assessed prefrontostriatal function in this model through both behavioral and electrophysiological assays. Behavioral examination consisted in a temporal bisection task within a supra-second range (2 vs. 8 s), which is thought to involve prefrontostriatal networks. In two independent experiments, the behavioral analysis revealed poorer temporal sensitivity as early as 4 months of age, well before detection of overt motor deficits. At a later symptomatic age, animals were impaired in their temporal discriminative behavior. *In vivo* recording of field potentials in the dorsomedial striatum evoked by stimulation of the prelimbic cortex were studied in 4- to 5-month-old rats. Input/output curves, paired-pulse function, and plasticity induced by theta-burst stimulation (TBS) were assessed. Results showed an altered plasticity, with higher paired-pulse facilitation, enhanced short-term depression, as well as stronger long-term potentiation after TBS in homozygous transgenic rats. Results from the heterozygous animals mostly fell between wild-type and homozygous transgenic rats. Our results suggest that normal plasticity in prefrontostriatal circuits may be necessary for reliable and precise timing behavior. Furthermore, the present study provides the first behavioral and electrophysiological evidence of a presymptomatic alteration of prefrontostriatal processing in an animal model for Huntington disease and suggests that supra-second timing may be the earliest cognitive dysfunction in HD.

Introduction

Huntington disease (HD) is a neurodegenerative disease attributable to the expansion of a CAG repeat within the first exon of the huntingtin gene. Classical symptoms have been described as a triad of motor, cognitive, and emotional disorders (Wilson et al., 1987). Interestingly, presymptomatic carriers have been reported to exhibit subtle cognitive alterations that appear mainly executive in nature (e.g., attentional set

shifting and decision-making deficiencies) (Foroud et al., 1995; Lawrence et al., 1996, 1998).

Progressive neurodegeneration of the GABAergic medium-spiny neurons of the striatum is a hallmark of the disease (Vonsattel et al., 1985). The striatum receives glutamatergic cortical inputs from the entire cerebral cortex in a topographic manner (Gerfen, 1984). Most neurophysiological studies of HD models have been performed *in vitro*, precluding the characterization of specific cortical afferents dysfunction. The few studies performed *in vivo* reported reduced plasticity in the motor cortex of symptomatic patients (Crupi et al., 2008) and dysregulated firing patterns of striatal cells in symptomatic rodents (Miller et al., 2008, 2010). Such impaired firing pattern was also detected in the prefrontal cortex of symptomatic R6/2 mice (Walker et al., 2008). Although it has been suggested that HD may be described as a frontostriatal dementia (Lawrence et al., 1996), whether early impairment in executive functions is linked to a deficiency in frontostriatal connectivity has not yet been addressed.

Prefrontostriatal circuits are thought to play a critical role in temporal processing (Buhusi and Meck, 2005). The rare HD studies examining timing have focused on durations under 1.2 s (Woodruff-Pak and Pakpa, 1996; Paulsen et al., 2004; Beste et al.,

Received March 10, 2011; accepted April 22, 2011.

Author contributions: S.H., G.D., A.F., Y.K.U., H.P.N., O.R., S.v.H., N.E.M., B.L.B., and V.D. designed research; S.H., G.D., A.F., Y.K.U., H.P.N., O.R., S.v.H., P.L.B., N.D., N.E.M., B.L.B., and V.D. performed research; S.H., G.D., A.F., Y.K.U., H.P.N., O.R., S.v.H., N.E.M., B.L.B., and V.D. analyzed data; S.H., G.D., A.F., Y.K.U., H.P.N., O.R., S.v.H., N.E.M., B.L.B., and V.D. wrote the paper.

*S.H., G.D., and A.F. contributed equally to this work.

This work was supported by European Union Sixth Framework Program Promemoria, RATStream Life Sciences and Health Grant LSH-037846, and Agence Nationale pour la Recherche Grant ANR-07-48 Memotime. S.H. was supported by the Ministry of Research. B.L.B. was supported by Professional Staff Congress—City University of New York Grant 61336-0039.

Correspondence should be addressed to Dr. Valerie Doyère, Centre de Neurosciences Paris-Sud, CNRS, UMR 8195, Université Paris-Sud, Bat. 446, 91405 Orsay, France. E-mail: valerie.doyere@u-psud.fr.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.1238-11.2011

Copyright © 2011 the authors 0270-6474/11/318986-12\$15.00/0

2007; Hinton et al., 2007), a range that involves automatic, more than cognitive, processing (Rammsayer, 1999; Grondin, 2001). Notably, disrupted motor timing in presymptomatic patients correlates with the number of years from estimated onset of overt symptoms (Hinton et al., 2007). To our knowledge, the only study evaluating the timing of supra-second durations (20 s) used a peak-interval task in symptomatic HD mice and showed reduced temporal control with flatter peak functions (Balci et al., 2009). However, this time production procedure has inherent time-dependent motor components and is sensitive to deficient inhibitory control of behavior, therefore precluding assessment unique to temporal capabilities (Matell et al., 2006; Meck, 2006). Thus, in the present study, we sought to determine whether disruption of temporal processing in the supra-seconds range is one of the presymptomatic impeded cognitive functions and whether it could be associated with early frontostriatal alterations. We used a transgenic rat model of HD with 51 CAG repeats (tgHD) (von Hörsten et al., 2003) that closely resembles the human late-onset HD phenotype. Indeed, the first motor symptoms appear at ~6 months of age and striatal neurodegeneration from 8 months onward (von Hörsten et al., 2003; Nguyen et al., 2006). Here, using a 2 versus 8 s bisection task, a time perception procedure in which correct signal classification is not necessarily dependent on the timing of a choice response (Cheng et al., 2006, 2007), we show that tgHD rats have poorer temporal sensitivity as early as 4 months of age. *In vivo* recordings of field potentials (FPs) evoked in the dorsomedial striatum (DMS) by stimulation of the prefrontal cortex suggest that this disruption in executive function reflects modified plasticity of prefrontostriatal afferents.

Materials and Methods

Here we report four independent series of experiments. The first study consisted of assessing temporal discrimination in homozygous transgenic animals and their wild-type (wt) controls as a function of age (from 3 to 12 months of age) in a longitudinal design. Because the temporal task used a tone as the discriminative timing cue, the second study controlled for intact auditory processing in homozygous transgenic animals and wild-type controls during the first year of lifespan. The third study aimed at replicating the presymptomatic timing deficits and assessing the dependence on genotype by testing heterozygous transgenic animals in addition to homozygous and wild-type rats. The fourth study assessed presymptomatic function through *in vivo* electrophysiological recordings of prefrontostriatal field potentials.

Temporal discrimination as a function of age

Animals

This first series of experiments was performed on 21 male, 9 wt (–/–), and 12 tgHD (+/+) rats that were imported in our colony at 3 months of age and housed in pairs of same genotype in a temperature- and humidity-controlled colony room (23°C, 41% humidity). The transgenic HD rat carries a truncated huntingtin cDNA fragment with 51 CAG repeats under the control of the rat huntingtin promoter (von Hörsten et al., 2003). The genetic background of the transgenic HD rat is derived from the Sprague Dawley strain (outbred). A 12 h light/dark cycle was maintained during the experiment (light on at 8:00 A.M.). On arrival in the laboratory, rats were given access to food and water *ad libitum* for 2 weeks and handled on a daily basis. Food was then progressively reduced until rats reached 80% of their initial weight. Throughout the experiment, rats were fed a daily ration just after the behavioral task, for them to be maintained at 85% of their normal free-feeding weight. All experiments were performed in accordance with the recommendations of the European Economic Community (86/609/EEC) and the French National Committee (87/848) for care and use of laboratory animals.

Apparatus

Soundproofed chambers (Coulbourn Instruments/Harvard Apparatus) were used for the temporal training task. Lever boxes (50.8 cm long ×

63.5 cm wide × 66 cm high) were constructed with heavy-duty aluminum (floor and roof), and the walls were made of plastic and transparent Plexiglas. A pellet dispenser delivered food pellets (45 mg grain-based precision pellets) to a food cup located on the left wall of the box. Two 4 cm retractable response levers (H23-17RA; Coulbourn Instruments/Harvard Apparatus) were situated at each side of the food cup and horizontally placed 2.5 cm above the grid floor. The chamber floor was composed of 15 stainless steel rods spaced 1.7 cm apart. A speaker was located on the side of the box and permitted delivery of an auditory stimulus (1 kHz, 80 dB). Each lever box was housed in a ventilated chamber, with a 65 dB background noise. At the beginning of each session, a red light was turned on. Chambers were controlled by means of a computer that recorded behavioral responses with the Graphic State software (Coulbourn Instruments/Harvard Apparatus) and a temporal precision of 20 ms.

Behavioral procedures

The longitudinal study was conducted from 3 to 12 months. It was composed of a temporal discrimination training phase, followed by bisection tests repeated each month. At 9 months, rats were submitted to a modified staircase task, followed by a reversal task between 10 and 11 months, and the experiment ended with bisection tests at 12 months of age.

Animals were run at the same time each day in six cohorts with approximately the same number of transgenic and wt rats. Each rat was assigned to a given lever box from the beginning to the end of the experiment.

Pretraining. The pretraining phase started at 3 months of age with a magazine training session in which 30 pellets were delivered with a mean intertrial interval (ITI) of 60 s (variable intervals ranging between 20 and 100 s). On the second day, rats had one session of continuous reinforcement with the left lever, and next day one session with the right lever. The session ended when rats obtained 50 reinforcers. If this criterion was not met within 30 min, an extra session was run at the end of the day.

Temporal discrimination training. The 2 versus 8 s temporal discrimination training was implemented as described previously (Callu et al., 2009). It consisted of 3 d of 100% forced-choice trials, 3 d of 50% free-choice trials, followed by 11 d of 100% free-choice trials. The forced-choice trials consisted of the presentation of only the correct lever (left or right) associated with the corresponding tone duration (2 or 8 s), whereas both levers were presented on free-choice trials. The tone stimulus was presented for each duration with equal probability in random order in two blocks of 40 trials, for a total of 80 trials. A constraint on the random order was that no more than three trials of a given duration could occur successively. On each session, the same random order was used for all the animals. For half of the animals in each group (transgenic and wild type), a response on the left lever was reinforced after the short duration, and a response on the right lever was reinforced after the long duration; for the remaining rats, the relation of tone duration and reinforced response location was reversed. The ITI ranged from 20 to 40 s, with a mean of 30 s. The lever was retracted immediately after a response. In the absence of a response, the lever was retracted 10 s after tone–stimulus termination for the first 2 d of 100% forced-choice training and 5 s thereafter.

Bisection 1 tests. After discrimination training, a psychophysical choice procedure was conducted with five intermediate durations (2.5, 3.2, 4, 5, and 6.3 s) without reinforcement (12 trials each), in addition to the two training durations (2 and 8 s, 60 trials of each) with reinforcement. The order of trials was randomized within two blocks of 90 trials (60 training trials and six test trials for each of the five durations). The ITI varied between 20 and 40 s, with a mean of 30 s. The bisection task was conducted 4–5 d each month, from 4 to 8 months, and was always followed by 1 d of discrimination training. The longitudinal design was intended to follow the changes in temporal performance as the disease progresses in the transgenic animals. However, across sessions, tgHD and wt rats stopped pressing levers for the intermediate nonreinforced durations of the bisection task, which precluded the analysis of psychometric functions (our unpublished observations).

Reduction of anchor duration difference. At 9 months, to estimate an optimal anchor duration difference that would prevent the rats from failing to respond to intermediate signal duration in later bisection tests,

we exposed the animals to a progressive reduction of the difference between the short and long cue durations in approximately equal log steps across sessions (2.41–6.65, 2.64–6.06, 2.89–5.53, 3.17–5.04, 3.48–4.59, and 3.82–4.19 s) in the temporal discrimination task. We conducted 12 sessions, with two daily sessions per step (40 trials of each, short and long, duration per session). All trials with a correct response were reinforced.

Reversal. At 10 months, we retrained the rats in the temporal discrimination task with 2 and 8 s tone durations (12 sessions, two sessions per day) and then reversed the duration/lever correspondence. The reversal training was conducted for 8 d, with two sessions per day. As in the initial choice procedure task, 40 trials were associated with the short duration and 40 trials with the long duration.

Bisection 2. At 12 months, rats were retrained in the temporal discrimination task (10 sessions in 5 d) and tested with the bisection procedure (four sessions) with a smaller range of durations chosen from the data obtained previously when anchor duration differences were reduced. The two training durations were 2.64 and 6.06 s, and the five intermediate durations were 3.03, 3.48, 4, 4.59, and 5.28 s.

Data analysis

Response location and latency were recorded for each trial. Discrimination data were analyzed as percentage of correct responses across all trials. Bisection test data were calculated as proportion of responses on the lever assigned as correct for the long-duration stimulus on all trials with response.

The function relating proportion of “long” responses to stimulus duration (bisection function) is typically sigmoidal in shape, an example of the well-known psychometric function. The stimulus value corresponding to $p_{(\text{long})} = 0.5$ is termed the point of subjective equality (PSE) and represents the stimulation duration that has been interpreted as subjectively equidistant from 2 and 8 s training values (bisection point). Previous research in rats (Church and Deluty, 1977; Maricq et al., 1981; Maricq and Church, 1983) has found the PSE to be positioned at the geometric mean of the two extreme durations, for which correct responses were reinforced (i.e., 4 s, for 2 s and 8 s training values). The slope of the function in the vicinity of the PSE reflects temporal sensitivity. The bisection functions were averaged across sessions within each age for each rat and analyzed with the pseudolistic model fit (Killeen et al., 1997) using Prism software (GraphPad Software) and assuming negligible contribution of constant and Poisson sources of variability (Allan, 2002). The proportion of variance accounted for by the fit, the PSE, and the temporal sensitivity parameter (γ) were estimated for each rat. γ , which is proportional to the Weber fraction, is inversely related to temporal sensitivity.

Prepulse inhibition test as a function of age

We tested whether any potential disruption in timing behavior could possibly be explained by differences in processing auditory stimuli by using prepulse inhibition (PPI) of the startle reflex (SR). The PPI procedure was aimed at testing the level of reduction of the magnitude of the acoustic startle by previous presentation of the prepulse stimulus. In the present experiment, 22 animals (11 $-/-$ and 11 $+/+$) were tested in cohorts of four in the startle response system in a longitudinal design from 1 to 12 months of age.

Apparatus and paradigm

SR was measured with four TSE Startle Response Systems (TSE Systems), as described previously (Karl et al., 2003; Urbach et al., 2010). Wire-mesh cages ($27 \times 9 \times 10$ cm) were fixed on a piezo-accelerometer that can determine weight alterations within milliseconds, in a sound-attenuated chamber equipped with two loudspeakers that delivered a constant white background noise of 68 dB sound pressure level. Habituation and baseline determination of activity for a duration of 2 min were followed by 10 startle trials with a defined pulse (20 ms, 120 dB), which were presented with ITIs of 6–12 s in random order (baseline determination component). For PPI assessment, animals received three different trial types in a random order: (1) 10 prepulses of 80 dB (duration, 20 ms), followed after 100 ms by a startle pulse of 120 dB for 20 ms (PPI component); (2) three prepulses (20 ms, 80 dB) without startle pulse (prepulse-alone

component); (3) 15 pulses of 120 dB (20 ms) alone (SR component). All trials were programmed with an intertrial interval randomly set at 6 or 12 s. The whole session lasted ~ 14 min.

Data analysis

SR response intensities were averaged and expressed as arbitrary units. PPI was calculated as a percentage score: $(100 \times (\text{PPI} - 100) / \text{SR})$.

Temporal sensitivity at presymptomatic age as a function of genotype

Animals

In this second study, male transgenic homozygous ($+/+$, $n = 8$), heterozygous ($+/-$, $n = 8$), and wild-type ($-/-$, $n = 8$) rats obtained from an in-house tgHD colony (initially generated with 10 pairs of heterozygous rats) and genotyped in Germany as described previously (Kántor et al., 2006) were used. At the beginning of the study, rats were 4 months old and ~ 400 g in weight. Animal care procedures, food deprivation, and experimental procedures were as described above unless stated otherwise.

Apparatus

Six lever boxes (Coulbourn Instruments/Harvard Apparatus) in sound-proofed chambers were used. The orientation of the equipment was completely reversed (e.g., levers on the right wall) for two of the chambers. Animal–box assignment was counterbalanced between groups.

Behavioral procedure

In this study, rats were first submitted to a 2 versus 8 s temporal discrimination task, equivalent to the discrimination protocol described above, at 4.5 months of age. To determine the anchor duration for a personalized version of the bisection protocol, a staircase procedure was implemented at 5.5 months of age, and testing on the personalized bisection procedure was conducted at 6.5 months. An emotion study with the bisection task (not reported here) was subsequently conducted, and finally, at ~ 7 months of age, rats were challenged with a progressive reduction across sessions in the difference between anchor durations in the bisection task.

Temporal discrimination training. Temporal discrimination training consisted of 2 d of 100% forced-choice trials, followed by 50% free-choice sessions until the criterion of 1 d with 80% correct responses in the free-choice trials was reached for each rat. Next, a 100% free-choice procedure was run until a criterion of 2 d with 85% correct responses was attained. Free-choice sessions consisted of 120 trials (60 trials at each duration).

Staircase procedure. At 5.5 months of age, animals were submitted to a modified staircase procedure. In that protocol, 15 possible short-long anchor pairs were available in the same session with progressive reduction in the difference between short and long cue durations in logarithmic steps (starting at 2–8 s and ending at 3.91–4.09 s). All correct responses were reinforced. Sessions comprised 180 trials in blocks of a maximum 12 trials, with the rule for an increase, decrease, or no change in step set at 75% correct responses. Each day, each rat started the session with a discrimination set at a difficulty one step easier than that at the end of the session on the previous day. On each session, we calculated a mean stimulus duration difference based on step values from all the trials. The criterion for staircase stability was that this value did not change between sessions $>5\%$ in three sessions, with one reversal of sign, with the mean defining the individual difference limen (DL). When criterion was reached, one additional final session was run. Animals were run for a maximum of 26 sessions.

Personalized bisection. Analysis of the last 4 d of staircase performance provided an estimate of DL for each rat, thereby enabling estimation of the individual values for anchor (short and long) tone durations that would support a level of 80% correct responses. With this personalization procedure, we equalized the difficulty of discrimination across animals and genotypes. Using these personalized anchor values, the rats were retrained in the temporal discrimination task for 2–3 d to verify that their performance met $\sim 80\%$ of correct responses. Next, a bisection procedure was implemented with five intermediate durations (12 trials

each), in addition to the two anchor durations (short and long, 60 trials of each), comprising 180 trials in total. The intermediate durations were calculated to be equally spaced between the personalized anchor durations along a logarithmic scale. The ITI varied between 10 and 80 s, with a mean of 30 s.

Anchor difference reduction. Rats were first retested in a single session of personalized bisection as described above. Then, the difference between anchor durations was progressively reduced in two-session blocks, corresponding to six levels of estimated difficulty, i.e., 75, 70, 65, 60, and 55% of correct responses, with respect to the DL calculated during the staircase procedure (see above).

Data analysis

Discrimination and bisection data were analyzed as in the previous set of behavioral experiments (see above).

Neurophysiological assessment of presymptomatic prefrontostriatal functioning

In vivo electrophysiological characterization of the prefrontodorsostriatal pathway

The prelimbic area (PL) of the prefrontal cortex is known to project to the dorsal striatum, in majority to its medial part (Gabbott et al., 2005). However, this pathway has never been characterized electrophysiologically in the rat *in vivo*. Therefore, we first performed an initial electrophysiological characterization of the field potentials evoked in the DMS by stimulation of the PL of the prefrontal cortex on normal young adult male Sprague Dawley rats (300–400 g; Charles River).

Surgery. The animals were prepared for the operation under sodium pentobarbitone anesthesia (0.1 ml/100 g, i.p., supplemented with 0.2 ml of a dilution of 50% if necessary; Ceva Santé Animale), a dilution of 10% of Tolfedine (0.1 ml/100 g, s.c.; Vétoquinol), and 0.2 ml of atropine (intraperitoneally; Aguetant). The body temperature was maintained during the experiment at 37°C with an electric blanket to avoid hypothermia. Conventional surgical techniques were used, and coordinates were chosen according to the atlas of Paxinos and Watson (1986).

One recording electrode (nichrome, 65 μ m in diameter) attached to a guide tube and extending from it by \sim 0.5 mm was placed in the dorso-medial striatum [anteroposterior (AP), 1.2 mm; lateral (L), $-$ 2 mm]. One bipolar concentric stimulating electrode (250 μ m in diameter) was positioned in the prelimbic area of the prefrontal cortex (AP, 3.2 mm; L, $-$ 0.3 mm). A cortical silver ball, placed contralaterally on top of the visual cortex (AP, $-$ 7 mm; L, 2 mm), served as ground and reference. Histological verification of recording and stimulating electrode placements was performed on some rats. At the end of the experiment, rats were anesthetized with an overdose of sodium pentobarbitone (1 ml) and perfused transcardially with 4% paraformaldehyde. Coronal sections were cut at 40 μ m on a microtome and mounted onto glass slides. Sections were then examined using an Olympus BX60 fluorescent-imaging microscope (Leica).

PL–DMS field potential characteristics. Characteristics of the PL–DMS field potential are summarized in Figure 1. Maximal amplitude of the negative field potentials was obtained by stimulation of the dorsal part of the prelimbic cortex and recording in the dorsomedial part of the striatum (Fig. 1*A,B*). Optimal depths were found to be at \sim 2.5 and 3.5 mm below dura for stimulating and recording electrodes, respectively. The mean slope value was 0.17 ± 0.02 V/s ($n = 10$), and the mean peak latency was 13.37 ± 0.48 ms.

The field response was composed of both glutamatergic and GABAergic components (Fig. 1*C*) with spike discharges at the time of the peak of the response. Blockade of AMPA receptors with local infusion of DNQX (1 mM, 0.5 μ l) indeed produced the progressive disappearance of the negative response and spikes and the appearance, at the same latency of a positive response (Fig. 1*C*, middle). Furthermore, addition of the GABA receptor antagonist picrotoxin (1 mM, 0.5 μ l) resulted in the disappearance of the latter positive component (Fig. 1*C*, right). Thus, the extracellular field potential most likely represents a mixture of depolarization (EPSP) and hyperpolarization (IPSP), which can be analyzed through the initial slope of the response, and spikes mainly reflected in the response amplitude.

The field potentials routinely followed a train of high-frequency stimulation (50 Hz) (Fig. 1*E*), indicating that there were monosynaptic and not the result of polysynaptic activation. This was confirmed by recording of an antidromic response in the prelimbic cortex evoked by stimulation of the mediodorsal striatum (Fig. 1*D*).

Electrophysiological assessment of prefrontostriatal synaptic function in transgenic animals

Animals and surgery. This series of experiments was conducted *in vivo* under anesthesia on 12 wt ($-/-$), 19 homozygous ($+/+$), and 9 heterozygous ($+/-$) transgenic rats aged 3.5 to 5.5 months old, weighing from 300 to 500 g. They were prepared for surgery and electrophysiological recordings as described above. Final depths of the electrodes were determined using electrophysiological guidance to maximize the evoked response and were \sim 4 mm below the dura for the recording electrode (mean of 4.2, 4.1, and 4.1 mm for wt, heterozygous, and homozygous, respectively) and 2.5 mm below the dura for the stimulation electrode (mean of 2.6, 2.5, and 2.5 mm for wt, heterozygous, and homozygous, respectively).

Electrophysiological recording procedure. FPs evoked by stimulation of the prelimbic cortex (monophasic square pulse, 80 μ s) were recorded. Signals were amplified (1000 \times), filtered (bandpass, 0.1–3 kHz), digitized at 10 kHz, and stored on disk for offline analyses. Stimulation of the pathway and recording was automated using the program Advance (Copyright 1988–1997, Robert McKellar Douglas; McKellar Designs and University of British Columbia).

After stabilization of the preparation, input/output curves (I/O) were generated by collecting responses to a series of 12 increasing current intensities (80–800 μ A). FPs were evoked at 0.07 Hz, for a total of four times at each intensity. The test intensity used in all subsequent recordings was set to evoke FPs of \sim 50% of its maximum amplitude, and the intensity was chosen at 80% for the tetanic stimulation phase. Short-term plasticity was examined using a paired-pulse stimulation (PP) protocol that consisted of two stimulations with seven increasing intervals (20–1000 ms) for a total of four times at each interval. Short- and long-term plasticity was subsequently assessed. After a baseline recording of 30 min (60 FPs, 0.03 Hz), a theta-burst stimulation (TBS) consisting in three series of 10 trains (100 Hz, 100 ms) at 5 Hz, with a 10 s interseries interval, was administered. Both 5 and 100 Hz stimulation have been used to induce striatal plasticity recorded intracellularly (Charpier and Deniau, 1997; Charpier et al., 1999). We chose to use a theta-burst stimulation paradigm, which combines both frequencies, to optimize our chance of inducing long-term plasticity in the striatum. Test recordings were resumed after TBS for a 60 min period, at the end of which PP and I/O profiles were again completed.

Data analysis

The initial slope and the amplitude were measured for each FP. Values were averaged across four tests for descriptive purposes and statistical comparisons. Averaged values were normalized for each animal with respect to the mean value obtained during the baseline before the TBS. Paired-pulse ratios were calculated by dividing the averaged value obtained for the second pulse by the averaged value obtained for the first reference pulse (P2/P1). Paired-pulse facilitation is thus indicated by a ratio above 1.

Statistical analyses for all data were performed with Student's *t* tests or contrast ANOVAs (Rouanet et al., 1990), based on the a priori hypothesis that homozygous animals may differ from wt controls and that heterozygous animals may show intermediate results. An α level of 0.05 was used as the criterion for statistical significance.

Results

Temporal discrimination as a function of age

Performances during initial temporal discrimination training were analyzed with two dependent measures: percentage of correct responses during the free-choice trials and response latencies (Fig. 2*A*). Both measures showed discrimination learning with an increase in percentage correct responses and a decrease in response latencies across sessions ($F_{(10,190)} = 7.39$, $p < 0.001$ and

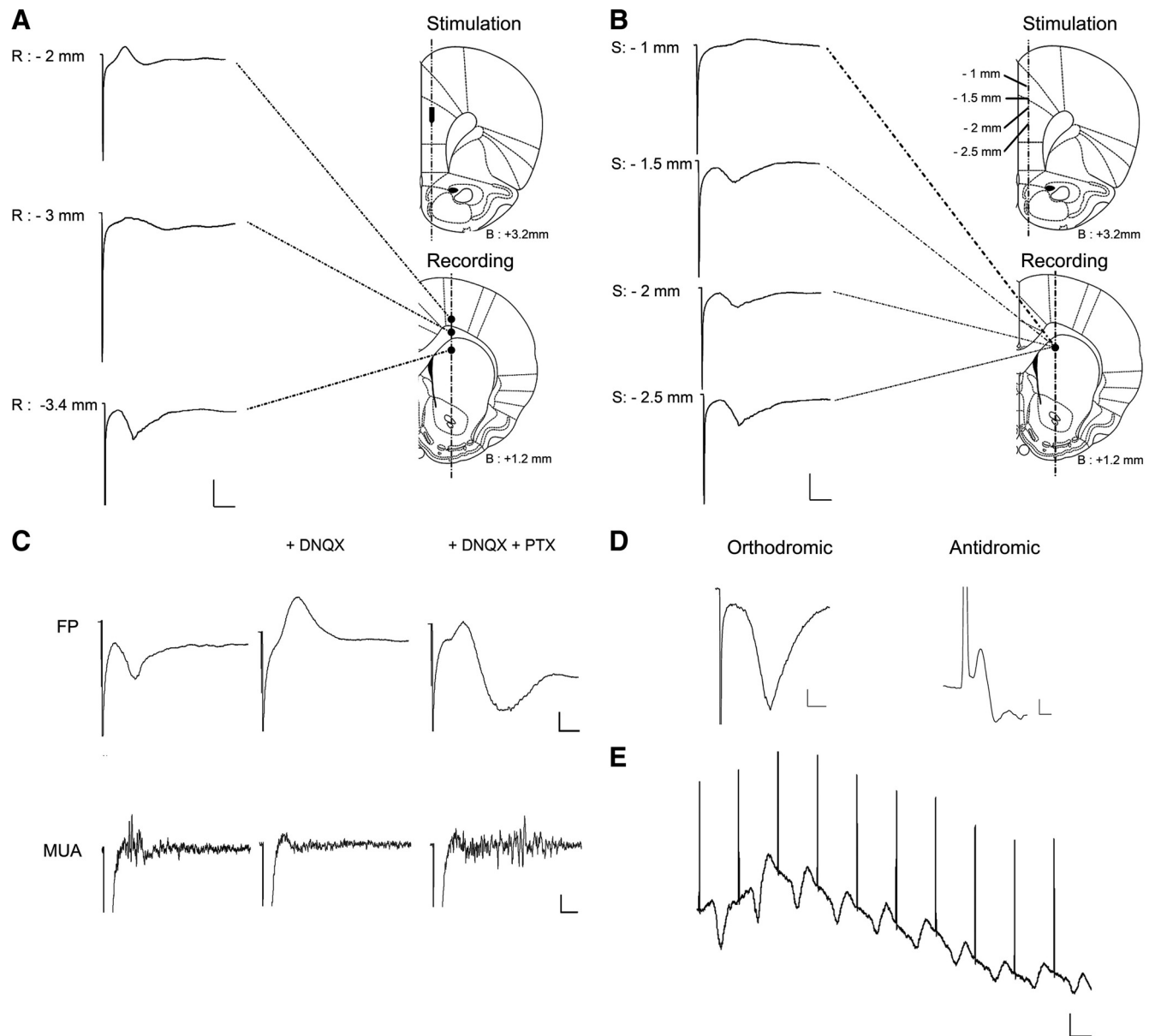


Figure 1. Characteristics of the field potentials evoked in the dorsal striatum by prefrontal cortex stimulations *in vivo*. **A**, Field potentials recorded during the lowering of the recording electrode at 2, 3, and 3.4 mm of depth below the dura, whereas the stimulation electrode is placed at the level of the dorsal part of prelimbic cortex. Calibration: 0.5 mV, 5 ms. **B**, Field potentials recorded in the dorsal striatum during the lowering of the stimulation electrode at 1, 1.5, 2, and 2.5 mm of depth below the dura. Calibration: 0.5 mV, 5 ms. **C**, Glutamatergic and GABAergic components in the evoked field potentials; examples of simultaneous recording of FPs (calibration: 0.25 mV, 5 ms) and multiunit activity (MUA; calibration: 2.5 mV, 5 ms) evoked by test stimulations. From Left to Right, Baseline conditions, after local infusion of DNQX (1 mM, 0.5 μ l), and after local infusion of DNQX + picrotoxin (PTX; 1 mM, 0.5 μ l). Multiunit was recorded in parallel to field responses to confirm that negative-going response indeed corresponds to an excitatory activity and embed a population spike as well as an fEPSP. **D**, Examples of orthodromic response recorded in the dorsomedial striatum (calibration: 0.05 mV, 5 ms) and antidromic response recorded in the prelimbic cortex after stimulation of the dorsomedial striatum (calibration: 0.05 mV, 1 ms). **E**, Example of recording during 50 Hz stimulation (calibration: 0.2 mV, 10 ms).

$F_{(10,190)} = 7.67$, $p < 0.001$, respectively). Although a trend for a slight delay in learning the task was observed in the transgenic animals compared with the wt animals, no differences reached statistical significance, for either percentage correct responses (group difference, $F_{(1,19)} = 2.07$, NS; group \times session interaction, $F_{(10,190)} = 1.20$, NS) or response latency (group difference, $F_{(1,19)} = 1.01$, NS; group \times session interaction, $F_{(10,190)} = 1.83$, NS).

At 4 months of age, both transgenic and wt rats showed normal bisection curves with proportion of responses on the lever assigned as correct for the long-duration stimulus increasing with the signal duration (Fig. 2B). As reported previously in similar conditions (Callu et al., 2009), response latencies decreased with

increasing signal durations ($F_{(6,114)} = 5.52$, $p < 0.001$) (Fig. 2C). The group effect and group \times duration interaction were not significant ($F_{(1,19)} = 1.42$, NS; and $F_{(6,114)} = 1.32$, NS, respectively), showing that transgenic and wt animals were performing similarly. When psychometric functions were fitted, the proportion of variance accounted for by the fit was obtained for each rat. The R^2 values varied from 0.968 to 0.998 and from 0.971 to 0.998 for wt and tgHD groups, respectively. Two parameters (PSE and gamma) were estimated from the psychometric function of each individual, allowing quantitative estimation of the bisection point and temporal sensitivity, respectively. There was no difference in the PSE between tgHD and wt rats (Fig. 2D) (unpaired t

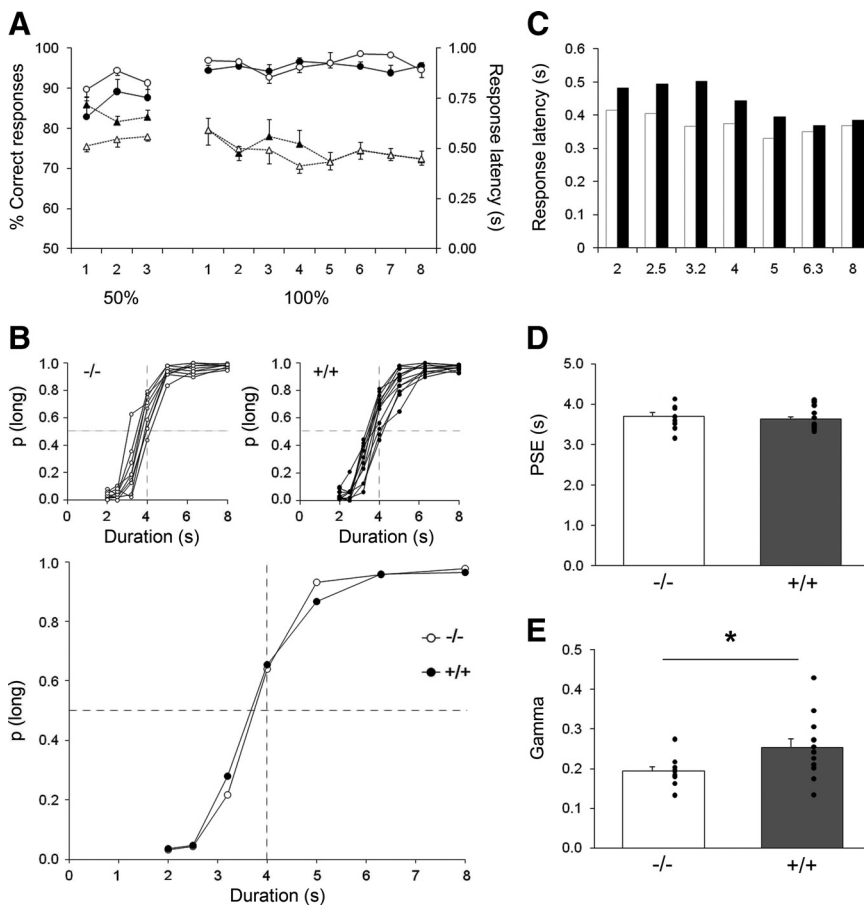


Figure 2. Temporal performance at 3–4 months of age for the transgenic HD rats (+/+, black) and their wt controls (-/-, white). **A**, Acquisition of 2 versus 8 s temporal discrimination in tgHD ($n = 12$, filled symbols) compared with their wt controls ($n = 9$, open symbols) for both percentage correct responses (solid lines) and responses latencies (dotted lines). Performances during the training phase are depicted across sessions (the 3 first sessions are 50% free-choice trials and the next 8 sessions are 100% free-choice trials). **B**, Bisection curves depict mean proportion of long responses as a function of signal duration for individual animals (insets) or group performances averaged across the five testing sessions conducted immediately after the last training session in temporal discrimination. **C**, Mean response latencies as a function of signal duration during the bisection test. Note the decrease in latency as the signal duration increases. **D**, **E**, Mean (bars) and individual (dots) values for the extracted parameters of the fitted bisection function: PSE (**D**) and gamma (**E**). * $p < 0.05$.

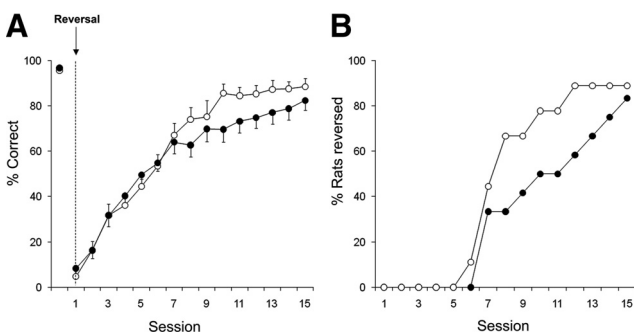


Figure 3. Mean \pm SEM percentage of correct responses (**A**) and percentage of rats reversed (**B**) across sessions at 10 months of age during reversal of the temporal discrimination task for the transgenic HD rats (+/+, filled circles) and their wt controls (-/-, open circles).

test for equal variances, $t_{(19)} = 0.439$). In contrast, there was a striking difference between tgHD and wt rats in their temporal sensitivity (Fig. 2E). A significant increase in variance was observed in tgHD rats compared with wt (F test for equality of variance, $F_{(8,11)} = 4.06$, $p < 0.03$); taking the variance difference into consideration, the tgHD rats showed poorer temporal sen-

sitivity evidenced through an increased mean gamma (unpaired t test for unequal variances, $t_{(17)} = 2.27$, $p < 0.04$), which is indeed suggested by a shallower slope in the bisection curves (Fig. 2B).

At 10 months of age, a reversal of the 2 versus 8 s temporal discrimination task was achieved by interchanging the anchor durations and their corresponding levers. The effect of the reversal was observable from the first day (Fig. 3). Both groups of rats exhibited acquisition in the new task (significant session effect, $F_{(14,266)} = 123.75$, $p < 0.001$). At the beginning of the reversal training, performances of both groups were equally disrupted (virtually 0% correct responses). Subsequently, however, tgHD rats were delayed compared with the wt rats in reaching the same terminal level of correct responses (Fig. 3A), and the percentage of rats scoring above 50% correct responses increased more slowly in the tgHD group compared with the wt group (Fig. 3B). On the percentage correct measure, difficulty in reversing for tgHD rats was confirmed by a significant group \times session interaction ($F_{(14,266)} = 2.10$, $p < 0.02$). These data therefore indicate that acquisition of the new rule was altered in the transgenic animals.

At 12 months of age, rats were tested on the bisection task with a reduced difference in anchor values to reduce duration discriminability and maintain responding at all intermediate durations (bisection 2). Response latencies did not differ significantly between groups (group, $F_{(1,19)} = 2.99$, NS; group \times duration interaction, $F < 1$), reflecting a lack of gross motor deficit. Transgenic rats presented more variability in their individual bisection curves than did wt rats (Fig. 4A).

Fitting the curves of the transgenic rats with the pseudogistic function resulted in a bimodal distribution for the proportion of variance accounted for (R^2) (Fig. 4B). Considering only rats for which R^2 was higher than 0.8, the averaged bisection curve for the tgHD group was shifted to the right compared with wt rats (Fig. 4C, left). There was a significant difference between tgHD and wt rats in mean PSE (Fig. 4C, middle) (unpaired t test for equal variances, $t_{(16)} = 2.84$, $p < 0.02$). No difference in temporal sensitivity (gamma) between groups (Fig. 4C, right) (unpaired t test for equal variances, $t_{(16)} = 1.01$) was detected. Shifts in PSE indicate a mismatch between accumulator/working memory (online subjective duration) and reference memory. They have classically been interpreted as a change in either clock speed or memory alteration (Meck, 1983). A difference in clock speed is presumed to affect temporal behavior temporarily, because new reference values are continuously stored with repeated training. In contrast, a modification of temporal behavior attributable to memory alteration would emerge progressively with repetition. In the present experiment, it is unlikely that a difference in clock speed would have affected the PSE, because animals had been trained with these durations immedi-

ately before the test, permitting adjustment of the reference memory to the prevailing contents of the accumulator/working memory. Thus, the increase in PSE may rather reflect altered temporal memory.

Auditory processing as a function of age

Poorer temporal sensitivity for tgHD animals with auditory signals may conceivably result from a disruption in processing auditory stimuli rather than a deficit in timing per se. To verify that tgHD animals displayed intact auditory processing, we examined an independent group of tgHD rats in a PPI test of the startle reflex. This test is commonly used to assess impairments in auditory stimulus processing (for review, see Fitch et al., 2008).

Startle responses and prepulse inhibition as a function of age (from 1 to 12 months) are depicted in Figure 5. Startle amplitude in pulse-alone trials (Fig. 5A) increased significantly with age ($F_{(11,231)} = 32.76, p < 0.0001$), to reach a plateau from 6 months of age for both groups. There was no significant between-groups difference ($F_{(1,11)} = 2.02, NS$). tgHD and wt animals showed also increasing amplitude of PPI with age (Fig. 5B) ($F_{(11,231)} = 4.58, p < 0.0001$), and no between-groups difference was observed ($F < 1$). These data show that short-duration auditory perception is normal in tgHD animals, indicating that the deficits observed in the bisection task are not attributable to differential auditory processing but reflect modifications in temporal behavior.

Temporal sensitivity at presymptomatic age as a function of genotype

As in the previous experiment, there was no difference in the speed of acquisition of the 2 versus 8 s temporal discrimination among groups. During temporal discrimination training, there was no genotype effect on the number of days to reach criteria in the 50% ($F < 1$) or 100% ($F_{(2,21)} = 2.65, NS$) free-choice procedures.

In the staircase procedure, we restricted the analysis to the first 9 d, before any animal met the stability criterion. As expected, a significant reduction in the mean stimulus duration difference ($F_{(8,168)} = 32.00, p < 0.001$) was observed. There was no genotype effect either during the first 9 d ($F_{(2,21)} = 1.27, NS$) or when considering only the last 4 d of staircase training used to calculate the personalized anchor durations in the bisection paradigm ($F_{(2,21)} = 2.76, NS$). The unexpected lack of difference between homozygous and wt DL may have been attributable to the fact that not all animals have reached the stability criterion and were not at an equivalent level of stabilized performances. In addition, the step sizes chosen were possibly not small enough to permit a sensitive assessment of the slight temporal disruption of temporal sensitivity (gamma) reported in the preceding experiment.

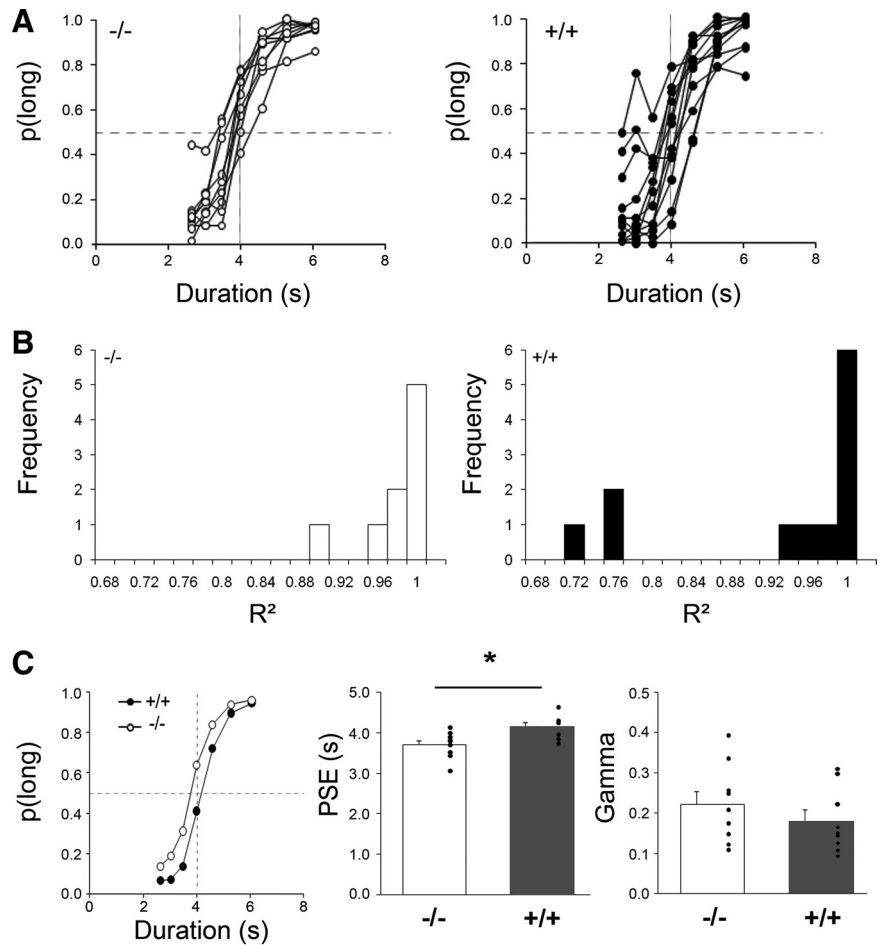


Figure 4. Performance during temporal bisection tests at 12 months of age (bisection 2) for the transgenic HD rats (+/+, black) and their wt controls (-/-, white). **A**, Individual bisection curves for wt (left) and tgHD (right) rats averaged across the six testing sessions. **B**, Distribution of R^2 for wt (left) and tgHD (right) rats. **C**, Left, Bisection curves averaged across the six testing sessions for wt and tgHD rats. Middle and Right, Mean (bars) and individual (dots) values for the extracted parameters of the fitted bisection function, respectively: PSE and gamma. * $p < 0.05$.

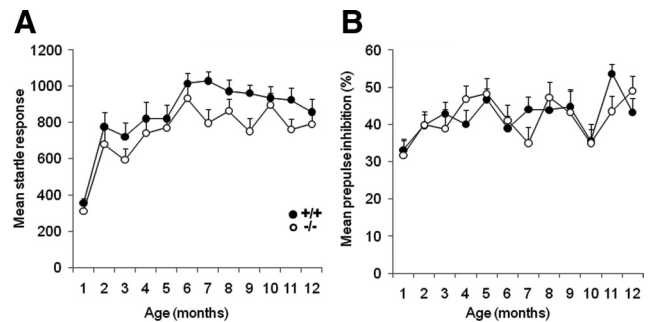


Figure 5. Auditory perception from 1 to 12 months of age for the transgenic HD rats (+/+, black) and their wt controls (-/-, white). **A**, Startle response amplitude with a 120 dB pulse at different ages. **B**, Inhibition of the startle reflex by a 80 dB prepulse.

The results obtained during the personalized bisection tests are shown in Figure 6. Because of a deviant bisection curve, a heterozygous outlier rat (based on Grubbs' test for both gamma and PSE values) was discarded from this analysis. In accordance with the data reported above in 4-month-old animals, homozygous 6-month-old rats showed a slightly shallower bisection curve compared with wt (Fig. 6A). Although a main effect of genotype was not obtained ($F_{(2,20)} = 2.45, p < 0.11$), planned

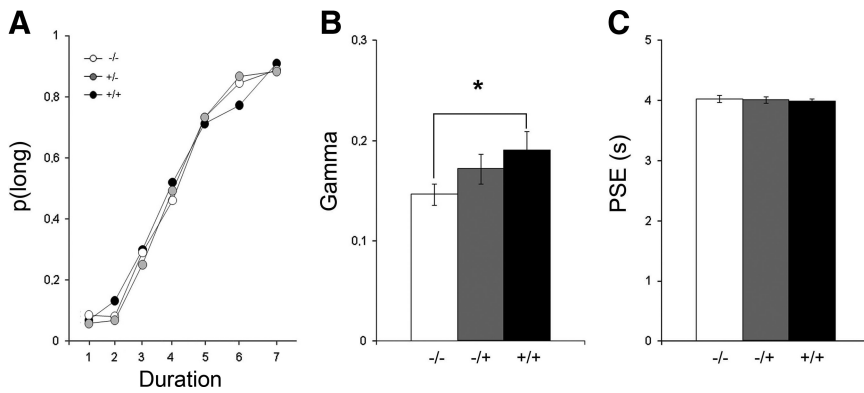


Figure 6. Performance during personalized bisection tests at 6 months of age for the homozygous (+/+, black), heterozygous (+/-, gray), and wt (-/-, white) rats. **A**, Bisection curves depict mean proportion of long responses as a function of signal duration (1–7) averaged across the two sessions. Durations were chosen for each animal according to their performance during the staircase paradigm (see Materials and Methods). **B**, **C**, Mean \pm SEM values for the extracted parameters of the fitted bisection function: gamma (**B**) and PSE (**C**).

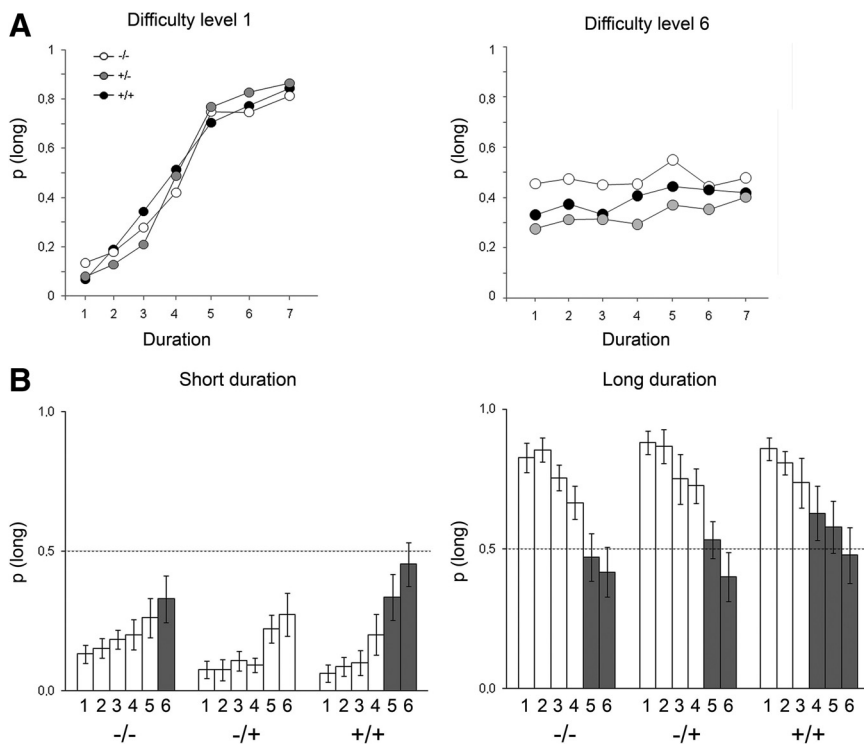


Figure 7. Performances when increasing the difficulty of the discrimination between signal durations during bisection tests. **A**, Bisection curves representing the proportion of long responses for the easiest (left) and the hardest (right) levels of difficulty for the homozygous (+/+, black), heterozygous (+/-, gray), and wt (-/-, white) rats. **B**, Group mean \pm SEM proportion of long responses during the increasing six levels of difficulty for the short (left) and long (right) anchor durations. The gray bars highlight when performances are not statistically different from 0.5, a value representing random-choice behavior.

comparisons based on the pseudologistic fit confirmed that homozygous tgHD animals displayed a significantly higher gamma (i.e., a poorer temporal sensitivity) than wt animals ($F_{(1,14)} = 4.83$, $p < 0.05$) (Fig. 6B). Heterozygous tgHD rats demonstrated an intermediate phenotype with gamma values falling between those of homozygous and wt animals; they were not significantly different from wt rats ($F_{(1,13)} = 2.1$, NS). There was no significant effect on PSE (all F values < 1) (Fig. 6C).

When the difficulty of the bisection tests was increased by progressively reducing the temporal discriminability among stimulus durations, the bisection curves of the animals flattened

(Fig. 7A), with the proportion of long responses increasing for the short-tone durations and decreasing for the long-tone durations. Notably, at both anchor durations, the homozygous tgHD reached the level of random-choice behavior (mean $p_{(\text{long})} = 0.5$) before wt or heterozygous animals did (Fig. 7B). From difficulty levels 5 and 4 for the short and long anchor durations, respectively, $p_{(\text{long})}$ was no longer different from 0.5 in the homozygous tgHD, whereas for the same levels of difficulty, wt and heterozygous animals were still showing significant discrimination ($p_{(\text{long})}$ different from 0.5). These results are in line with the poorer temporal sensitivity of homozygous models observed in the bisection curves.

Neurophysiological assessment of presymptomatic prefrontostriatal functioning

In this series of experiments, prefrontostriatal synaptic function was assessed through electrophysiological study of the FPs in the DMS evoked by the stimulation of the PL. Initial slope and amplitude of FPs were analyzed. In general, the same pattern of results was observed for both measures, although amplitudes tended to be more variable. We thus choose to report here results obtained with FP slope.

Rats were between 113 and 167 d old (113–161, 126–165, and 120–167 for wt, heterozygous, and homozygous, respectively). Because the electrophysiological phenotype of transgenic animals may evolve with age, we first tested the homozygous tgHD correlation with age. For this group, there was a tendency toward a negative correlation between age and maximum amplitude or slope of the FPs attained during the I/O protocol. However, this correlation did not reach significance for either measure (FP slope, $n = 19$, $r_{(17)} = 0.389$, $p = 0.10$), nor did the percentage of change in the maximum I/O after TBS stimulation correlated with age (FP slope, $n = 19$, $r_{(17)} = 0.135$, NS). Therefore, because no clear effect of age was detected, data were regarded as independent of this parameter.

For the I/O curve, all FPs showed a monotonic increase in slope with an increase in stimulation intensity and reached a plateau from 500 μA on average. FP slopes for the three groups of rats (wt, homozygous, and heterozygous) differed significantly (group effect, $F_{(2,37)} = 3.66$, $p < 0.05$; group \times intensity interaction, $F_{(2,407)} = 1.63$, $p < 0.05$). These effects were mainly attributable to the heterozygous tgHD FP slopes, which showed a marked reduction compared with wt (group \times intensity interaction, $F_{(1,19)} = 6.38$, $p = 0.02$), whereas homozygous animals did not differ from wt controls for FP slope (group \times intensity interaction, $F < 1$). Thus,

basal synaptic transmission does not appear to be affected in homozygous transgenic animals.

The paired-pulse function tests plasticity at very short millisecond-range intervals. Paired-pulse facilitation is thought to reflect presynaptic probability of neurotransmitter release (Zucker, 1973; Zucker and Regehr, 2002). Although wt and heterozygous animals showed no significant change in paired-pulse ratios as a function of intervals (interaction of P1/P2 \times interval, $F < 1$ and $F_{(6,48)} = 1.68$, NS, for wt and heterozygous animals, respectively), homozygous tgHD animals showed significant paired-pulse alteration (interaction of P1/P2 \times interval, $F_{(6,108)} = 3.82$, $p < 0.01$) (Fig. 8C). Additional analyses confirmed that, for this latter group only, there was significant paired-pulse facilitation at interstimuli intervals of 20 ms ($F_{(1,18)} = 7.96$, $p = 0.01$) and 50 ms ($F_{(1,18)} = 8.90$, $p < 0.01$).

Short-term and long-term plasticity at the prefrontostriatal afferents were analyzed by testing the effect of TBS. As seen on Figure 8A, TBS tended to produce a temporary decrease in FP slope that was more pronounced in homozygous rats. Statistical analyses per 10 min blocks confirmed that homozygous rats expressed a significant short-term depression (first 10 min after TBS compared with the 10 min immediately preceding the TBS, $F_{(1,18)} = 6.62$, $p < 0.02$) (Fig. 8E), which lasted up to 50 min after TBS ($F_{(1,18)} = 4.78$, $p < 0.05$). Although a similar tendency was observed in heterozygous rats, no significant depression was found in heterozygous animals ($F_{(1,8)} < 3.85$, NS) nor in wt ($F < 1$). The long-term effect of TBS was further assessed through changes in paired-pulse and I/O functions. Paired-pulse curves were not modified by the TBS for either group (Fig. 8C) (no interaction of post-TBS/pre-TBS \times interval, $F < 1$, $F_{(6,108)} = 1.49$ and $F_{(6,48)} = 1.12$, NS, for wt, heterozygous, and homozygous transgenic groups, respectively). However, I/O curves were increased after TBS (Fig. 8B). The effect was more pronounced for higher intensities, as evidenced by a pre-TBS/post-TBS \times intensity significant interaction for each group ($-/-$, $F_{(11,121)} = 3.48$; $+/-$, $F_{(11,88)} = 1.98$; $+/+$, $F_{(11,198)} = 4.81$; all p values < 0.05). Because maximum may not be reached at the same intensity for every animal, we estimated the percentage change at the maximal FP slope value (saturation level) obtained during the I/O curves before and after TBS. This analysis showed that there was a significant potentiation for the homozygous transgenic group ($F_{(1,18)} = 5.61$, $p < 0.03$) (Fig. 8D), although no significant change was observed in wt controls ($F < 1$). The percentage change for the heterozygous group was at an inter-

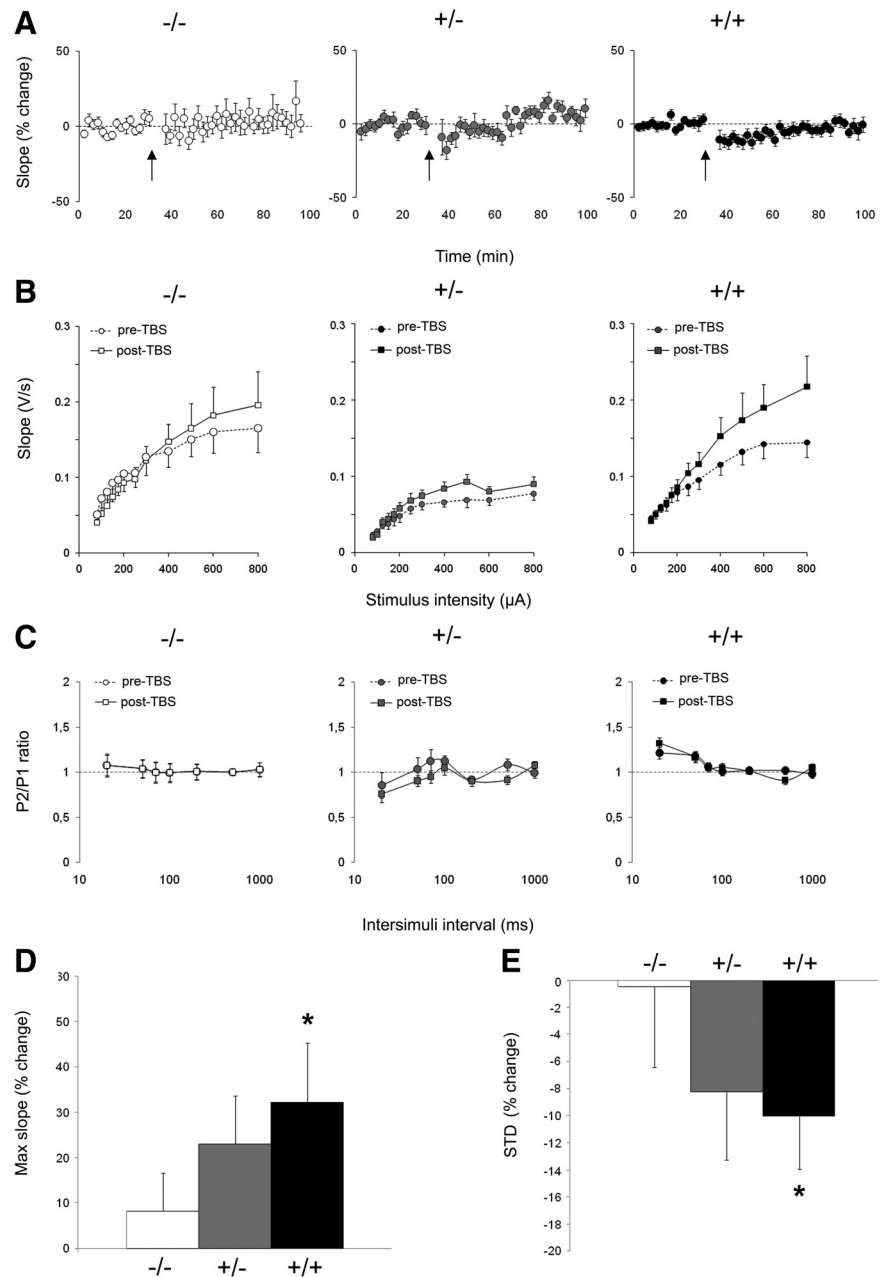


Figure 8. Effect of genotype on prefrontostriatal synaptic transmission *in vivo*. Comparison of FPs in three groups: wt ($-/-$, white), homozygous ($+/+$, black), and heterozygous ($+/-$, gray) tgHD rats. **A**, Mean \pm SEM percentage change in FP slope before and after TBS (arrow) as measured at test intensity. **B**, Input/output curves for the FP slope in function of stimulation intensity are shown before (pre; dashed lines) and 60–90 min after (post; solid lines) TBS. **C**, Paired-pulse ratios for the FP slope as a function of interstimuli intervals (in milliseconds) before (pre; dashed lines) and 60–90 min after (post; solid lines) TBS. **D**, Mean \pm SEM percentage change induced by TBS in the maximal slope attained during input/output protocols for the three groups of rats. **E**, Short-term plasticity as measured by the mean percentage change during the first 10 min after TBS. * $p < 0.05$.

mediate level between wt and homozygous rats, but the potentiation did not reach statistical significance ($F_{(1,8)} = 2.96$, NS). Because the potentiation was evidenced mainly at high intensities and the time course of the changes were tested at lower test intensities (mean of 285, 267, and 274 μ A for wt, heterozygous, and homozygous tgHD rats), whether the potentiation of the saturation level was induced immediately after TBS or whether an initial depression progressively evolved into a potentiation cannot be ascertained with our current data. In any case, the present data show that the homozygous transgenic animals demonstrate an increased plasticity, both short and long term.

Discussion

In the search for presymptomatic frontostriatal dysfunction in Huntington disease, we have tested temporal perception in a supra-second range and plasticity at prefrontal afferents to the dorsal striatum in the tgHD rat. Using a bisection task, we show that, as early as 4 months of age, homozygous transgenic animals have a poorer temporal sensitivity than wild-type controls. *In vivo* analysis of FP in age-matched animals revealed an enhanced plasticity at prefrontostriatal afferents in homozygous transgenic rats.

Symptomatic-related change in temporal behavior

Previous characterizations of the tgHD rats have shown that the first signs of motor deficits indicators of striatal degeneration emerge at ~6 months (Nguyen et al. 2006). In line with these neuropathological reports, the present results showing retarded discrimination reversal in transgenic animals at 10 months of age corroborate the striatal damage. This is also in accordance with the bisection effects reported in rats given neurotoxic regimens of methamphetamine thought to produce selective striatal damage (Cheng et al., 2007). Furthermore, motor deficits in these same tgHD rats were also shown to emerge between 7 and 11 months of age (Faure et al., 2011). However, in line with previous reports (Kántor et al., 2006), there was no gross motor disruption because the response latencies were unaltered. At 12 months of age, transgenic rats showed a profound disruption of temporal behavior in the bisection task. Some animals (3 of 12) showed a drastic reduction of temporal discrimination, to the point that their bisection functions were altered and resulted in a “z-shaped” function instead of the classical sigmoidal profile. Such a z-shape in the duration–bisection task has been proposed to appear when the distance between anchor durations is reduced, increasing the difficulty of the temporal discrimination (Penney et al., 2008). This suggests that temporal sensitivity was poorer in the aforementioned animals, preventing them from performing appropriately when challenged by a reduced difference between anchor durations (2.64 and 6.06 s).

The remaining nine transgenic animals also showed a disruption, reflected by a shift to the right of the bisection function. This cannot be attributable to spatial or position biases, because the duration–lever position combination was counterbalanced between animals within each group. Instead, the shift could reflect a “short bias,” a behavior difficult to interpret but that may possibly be related to a differential sensitivity to the reinforcement contingencies (Stubbs, 1968). Alternatively, the shift in PSE may reflect altered storage in temporal reference memory (Meck, 1983). A slower learning of temporal control with delayed peak times has been reported in symptomatic R6/2 mice in a peak interval task (Balci et al., 2009), although the authors did not attribute these deficits to temporal memory. We should note that the task they used had a substantial motor demand and was sensitive to non-temporal factors, such as behavioral inhibition, which may prevent isolation of temporal memory deficits. In our experiment, animals had already been trained for the bisection task at a presymptomatic age and were retrained immediately before bisection testing, allowing adjustments of potential differential clock speed, thus ruling out the clock as opposed to temporal memory. Because no shift in PSE was observed in 4-month-old rats and given the critical role of the dorsal striatum in temporal processing (Coull et al., 2011), the deficit observed in 12-month-old rats is likely attributable to the progressive striatal degeneration.

Altered temporal sensitivity as a presymptomatic marker

Analysis of the bisection curves in presymptomatic animals showed mild but systematically poorer temporal sensitivity (higher gamma) in homozygous transgenic rats in two independent experiments. The temporal behavior of heterozygous animals was intermediate but not different from controls. The deficit was subtle enough to leave intact the learning rate of the temporal discriminative task, presumably because the initial training was conducted with readily discriminable stimuli (2 vs 8 s).

Our results demonstrate a presymptomatic timing deficit in a supra-second range, using a cognitive task with low motor demand. In patients, timing capacities have been tested with durations below 1200 ms, with few tasks requiring low motor demand. Among these, a deficit in temporal discrimination has been reported to correlate with estimated age of onset (Paulsen et al., 2004; Beste et al., 2007). When timing was imbedded in motor processes, the deficit was clearly present in pre-HD subjects, even when tested well before the estimated disease onset (Hinton et al., 2007; Paulsen et al., 2008; Rowe et al., 2010). For these subsecond motor timing tasks, increased variability but good timing accuracy was reported. Our results showing poorer temporal sensitivity at a presymptomatic age in a supra-second discrimination task suggest that increased variability in interval timing, independently of modified motor processing, may be a cardinal feature of presymptomatic HD and may participate in the early cognitive impairments.

Altered prefrontostriatal synaptic function

The electrophysiological results we report here are more complex, because the heterozygous transgenic rats differed from the wt controls with a weaker basal synaptic transmission. However, the general trend observed in the homozygous transgenic rats was an increased plasticity as observed in paired-pulse profiles, short-term depression, and long-term potentiation.

Electrophysiological studies of HD mouse models have been performed in different brain regions, including the striatum (Zeron et al., 2001; Cepeda et al., 2003, 2007; Kung et al., 2007; Milnerwood and Raymond, 2007) and various cortices (Cummings et al., 2010; Dallérac et al., 2011). Inconsistent results (lower or normal I/O; reduced, normal, or increased paired-pulse facilitation; normal or increased LTD) have been reported, which may be attributable to the difference in animal model but also to the distance from the onset of the degenerative process, because biphasic changes in LTD have been demonstrated in the perirhinal cortex (Cummings et al., 2006). It is not known, however, whether such a biphasic evolution applies to corticostriatal afferents. In agreement with the present results, increased paired-pulse facilitation and increased long-term depression have been observed in slices from YAC mice at a presymptomatic age (Milnerwood and Raymond, 2007). In contrast to our results, a reduced LTP has generally been reported, notably in both the prefrontal cortex and the striatum (Kung et al., 2007; Dallérac et al., 2011). The state of inhibition might be responsible for such discrepancy because GABAergic regulation is weakened in slices, whereas barbiturate anesthesia strongly strengthens inhibition.

The only studies performed in the awake subject showed normal I/O but abolished LTP in the motor cortex in symptomatic patients (Crupi et al., 2008) and altered spiking of medium-spiny neurons of the dorsomedial striatum in symptomatic R6/2 and KI mice (Miller et al., 2008) and 10- to 15-month-old tgHD rats (Miller et al., 2010). The altered firing of striatal neurons in the latter studies were mainly interpreted as reflecting a loss of correlated activity in the cortex. It is noteworthy that changes in field

potentials evoked by prefrontal stimulation likely represent altered function at the level of the striatum regardless of possible modified cortical processes. The current study is therefore the first report of altered plasticity in the striatum *in vivo* at the presymptomatic stage. One possibility is that tgHD rats show an enhanced plasticity as a result of increased NMDA receptor sensitivity as shown in the YAC mouse model for HD (Zeron et al., 2002, 2004; Milnerwood and Raymond, 2007; Milnerwood et al., 2010). Additionally, because striatal plasticity is heavily influenced by dopaminergic inputs and dopaminergic dependent loss of plasticity has been reported in cortical and striatal slices (Cummings et al., 2006; Kung et al., 2007; Dallérac et al., 2011), we may speculate that the tgHD altered plasticity is also attributable to changes in dopaminergic signalization at a presymptomatic stage. However, because of the fact that simultaneous depolarization and hyperpolarization are imbedded in the extracellular field potentials, the question remains whether the observed altered plasticity reflects excitatory inputs to striatal neurons or changes in inhibitory transmission within the striatum. An increased reactivity at prefrontal excitatory inputs may potentially favor glutamate excitotoxicity, a hypothesized mechanism for degenerative processes in HD (Olney et al., 1990; Zeron et al., 2002; Estrada-Sánchez et al., 2009). A change in striatal inhibitory control would affect the striatal output.

Interestingly, the enhanced prefrontostriatal plasticity we observe in the current study corroborates the higher degree of activation reported in the cingulate cortex of presymptomatic patients far from disease onset (>12 years) (Paulsen et al., 2004). Such facilitation may reflect early compensatory processes. Alternatively, the enhanced plasticity observed in homozygous tgHD rats may be a consequence of higher glutamine stores (for review, see Antzoulatos and Byrne, 2004), because polyglutamine proteins have been proposed to serve as intracellular storage of glutamine and thereby positively influence learning (Brusilow, 2006). Hence, presymptomatic HD may be associated with enhanced plasticity until degradation of the large polyglutamine tracts by the proteasomes and lysosomes becomes overwhelmed, thus resulting in degenerative changes and impaired plasticity.

Concluding remarks

The present study provides the first behavioral and electrophysiological evidence of a presymptomatic alteration of prefrontostriatal processing in HD. Whether these modifications are present from birth or have developed earlier will be a critical question to answer if one hopes to use supra-second timing as an early predictive marker of the disease progression. Although it remains to be understood how altered prefrontostriatal function, as evidenced through neurophysiological tests, is responsible for the observed modifications at the behavioral level, our results provide data suggesting that normal plasticity in prefrontostriatal circuits may be necessary for reliable and precise timing behavior.

References

Allan LG (2002) The location and interpretation of the bisection point. *J Exp Psychol B* 55:43–60.

Antzoulatos EG, Byrne JH (2004) Learning insights transmitted by glutamate. *Trends Neurosci* 27:555–560.

Balci F, Day M, Rooney A, Brunner D (2009) Disrupted temporal control in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Behav Neurosci* 123:1353–1358.

Beste C, Saft C, Andrich J, Müller T, Gold R, Falkenstein M (2007) Time processing in Huntington's disease: a group-control study. *PLoS One* 2:e1263.

Brusilow WS (2006) Is Huntington a glutamine storage disease? *Neuroscientist* 12:300–304.

Buhusi CV, Meck WH (2005) What make us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat Rev Neurosci* 6:755–765.

Callu D, El Massioui N, Dutrieux G, Brown BL, Doyere V (2009) Cognitive processing impairments in a supra-second temporal discrimination task in rats with cerebellar lesion. *Neurobiol Learn Mem* 91:250–259.

Cepeda C, Hurst RS, Calvert CR, Hernández-Echeagaray E, Nguyen OK, Jocoy E, Christian LJ, Ariano MA, Levine MS (2003) Transient and progressive electrophysiological alterations in the corticostriatal pathway in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci* 23:961–969.

Cepeda C, Wu N, André VM, Cummings DM, Levine MS (2007) The corticostriatal pathway in Huntington's disease. *Prog Neurobiol* 81:253–271.

Charpier S, Deniau JM (1997) *In vivo* activity-dependent plasticity at cortico-striatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:7036–7040.

Charpier S, Mahon S, Deniau JM (1999) *In vivo* induction of striatal long-term potentiation by low-frequency stimulation of the cerebral cortex. *Neuroscience* 91:1209–1222.

Cheng RK, MacDonald CJ, Meck WH (2006) Differential effects of cocaine and ketamine on time estimation: Implications for neurobiological models of interval timing. *Pharmacol Biochem Behav* 85:114–122.

Cheng RK, Etchegaray M, Meck WH (2007) Impairments in timing, temporal memory, and reversal learning linked to neurotoxic regimens of methamphetamine intoxication. *Brain Res* 1186:255–266.

Church RM, Deluty MZ (1977) Bisection of temporal intervals. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 3:216–228.

Coull JT, Cheng RK, Meck WH (2011) Neuroanatomical and neurochemical substrates of timing. *Neuropsychopharmacology* 36:3–25.

Crupi D, Ghilardi MF, Mosiello C, Di Rocco A, Quartarone A, Battaglia F (2008) Cortical and brainstem LTP-like plasticity in Huntington's disease. *Brain Res Bull* 75:107–114.

Cummings DM, Milnerwood AJ, Dallérac GM, Waights V, Brown JY, Vatsavayai SC, Hirst MC, Murphy KP (2006) Aberrant cortical synaptic plasticity and dopaminergic dysfunction in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15:2856–2868.

Cummings DM, Cepeda C, Levine MS (2010) Alterations in striatal synaptic transmission are consistent across genetic mouse models of Huntington's disease. *ASN Neuro* 2:e00036.

Dallérac GM, Vatsavayai SC, Cummings DM, Milnerwood AJ, Peddie CJ, Evans KA, Walters SW, Rezaie P, Hirst MC, Murphy KP (2011) Impaired long-term potentiation in the prefrontal cortex of Huntington's disease mouse models: rescue by D1 dopamine receptor activation. *Neurodegener Dis* 8:230–239.

Estrada-Sánchez AM, Montiel T, Segovia J, Massieu L (2009) Glutamate toxicity in the striatum of the R6/2 Huntington's disease transgenic mice is age-dependent and correlates with decreased levels of glutamate transporters. *Neurobiol Dis* 34:78–86.

Faure A, Höhn S, Von Hörsten S, Delatour B, Raber K, Le Blanc P, Desvignes N, Doyère V, El Massioui N (2011) Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease. *Neurobiol Learn Mem* 95:92–101.

Fitch RH, Threlkeld SW, McClure MM, Peiffer AM (2008) Use of a modified prepulse inhibition paradigm to assess complex auditory discrimination in rodents. *Brain Res Bull* 76:1–7.

Foroud T, Siemers E, Kleindorfer D, Bill DJ, Hodes ME, Norton JA, Conneally PM, Christian JC (1995) Cognitive scores in carriers of Huntington's disease gene compared to noncarriers. *Ann Neurol* 37:657–664.

Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P, Busby SJ (2005) Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492:145–177.

Gerfen CR (1984) The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311:461–464.

Grondin S (2001) Discriminating time intervals presented in sequences marked by visual signals. *Percept Psychophys* 63:1214–1228.

Hinton SC, Paulsen JS, Hoffmann RG, Reynolds NC, Zimbleman JL, Rao SM (2007) Motor timing variability increases in preclinical Huntington's disease patients as estimated onset of motor symptoms approaches. *J Int Neuropsychol Soc* 13:539–543.

Kántor O, Temel Y, Holzmann C, Raber K, Nguyen HP, Cao C, Türkoglu HO, Ruten BP, Visser-Vandewalle V, Steinbusch HW, Blokland A, Korr H, Riess O, von Hörsten S, Schmitz C (2006) Selective striatal neuron loss and alterations in behavior correlate with impaired striatal function in Huntington's disease transgenic rats. *Neurobiol Dis* 22:538–547.

- Karl T, Pabst R, von Hörsten S (2003) Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Exp Toxicol Pathol* 55:69–83.
- Killeen PR, Fetterman JG, Bizo LA (1997) Time's causes. In: *Time and behavior: psychological and neurological analyses* (Bradshaw CM, Szabadi E, eds), pp 79–131. Amsterdam: Elsevier Science.
- Kung VW, Hassam R, Morton AJ, Jones S (2007) Dopamine-dependent long term potentiation in the dorsal striatum is reduced in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neuroscience* 146:1571–1580.
- Lawrence AD, Sahakian BJ, Hodges JR, Rosser AE, Lange KW, Robbins TW (1996) Executive and mnemonic functions in early Huntington's disease. *Brain* 119:1633–1645.
- Lawrence AD, Hodges JR, Rosser AE, Kershaw A, French-Constant C, Rubinsztein DC, Robbins TW, Sahakian BJ (1998) Evidence for specific cognitive deficits in preclinical Huntington's disease. *Brain* 121:1329–1341.
- Maricq AV, Church RM (1983) The differential effects of haloperidol and methamphetamine on time estimation in the rat. *Psychopharmacology* 79:10–15.
- Maricq AV, Roberts S, Church RM (1981) Methamphetamine and time estimation. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 7:18–30.
- Matell MS, Bateson M, Meck WH (2006) Single-trials analyses demonstrate that increases in clock speed contribute to the methamphetamine-induced horizontal shifts in peak-interval timing functions. *Psychopharmacology* 188:201–212.
- Meck WH (1983) Selective adjustment of the speed of internal clock and memory processes. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 9:171–201.
- Meck WH (2006) Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Res* 1109:93–107.
- Miller BR, Walker AG, Fowler SC, von Hörsten S, Riess O, Johnson MA, Rebec GV (2010) Dysregulation of coordinated neuronal firing patterns in striatum of freely behaving transgenic rats that model Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 37:106–113.
- Miller BR, Walker AG, Shah AS, Barton SJ, Rebec GV (2008) Dysregulated information processing by medium spiny neurons in striatum of freely behaving mouse models of Huntington's disease. *J Neurophysiol* 100:2205–2216.
- Milnerwood AJ, Raymond LA (2007) Corticostriatal synaptic function in mouse models of Huntington's disease: early effects of huntingtin repeats length and protein load. *J Physiol* 585:817–831.
- Milnerwood AJ, Cummings DM, Dalléac GM, Brown JY, Vatsavayi SC, Hirst MC, Rezaie P, Murphy KP (2006) Early development of aberrant synaptic plasticity in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15:1690–1703.
- Milnerwood AJ, Gladding CM, Pouladi MA, Kaufman AM, Hines RM, Boyd JD, Ko RW, Vasuta OC, Graham RK, Hayden MR, Murphy TH, Raymond LA (2010) Early increases in extrasynaptic NMDA receptor signaling and expression contributes to phenotype onset in Huntington's disease mice. *Neuron* 65:178–190.
- Nguyen HP, Kobbe P, Rahne H, Wörpel T, Jäger B, Stephan M, Pabst R, Holzmann C, Riess O, Korr H, Kántor O, Petrasch-Parwez E, Wetzel R, Osmand A, von Hörsten S (2006) Behavioral abnormalities precede neuropathological markers in rats transgenic for Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15:3177–3194.
- Olney JW, Zorumski CF, Stewart GR, Price MT, Wang GJ, Labruyere J (1990) Excitotoxicity of L-dopa and 6-OH-dopa: implications for Parkinson's and Huntington's diseases. *Exp Neurol* 108:269–272.
- Paulsen JS, Zimbelman JL, Hinton SC, Langbehn DR, Leveroni CL, Benjamin ML, Reynolds NC, Rao SM (2004) fMRI biomarker of early neuronal dysfunction in presymptomatic Huntington's disease. *Am J Neuroradiol* 25:1715–1721.
- Paulsen JS, Langbehn DR, Stout JC, Aylward E, Ross CA, Nance M, Guttman M, Johnson S, MacDonald M, Beglinger LJ, Duff K, Kayson E, Biglan K, Shoulson I, Oakes D, Hayden M; Predict-HD Investigators and Coordinators of the Huntington Study Group (2008) Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the predict-HD study. *J Neurosurg Psychiatry* 79:874–880.
- Paxinos G, Watson C (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic.
- Penney TB, Gibbon J, Meck WH (2008) Categorical scaling of duration bisection in pigeons (*Columba livia*), mice (*Mus musculus*), and humans (*Homo sapiens*). *Psychol Sci* 19:1103–1109.
- Rammesayer TH (1999) Neuropharmacological evidence for different timing mechanisms in humans. *Q J Exp Psychol B* 52:273–286.
- Rouanet H, Bernard J-M, Le Roux B (1990) *Analyse inductive des données*. In: *Statistique en sciences humaines*. Paris: Dunod.
- Rowe KC, Paulsen JS, Langbehn DR, Duff K, Beglinger LJ, Wang C, O'Rourke JJ, Stout JC, Moser DJ (2010) Self-paced timing detects and tracks change in prodromal Huntington disease. *Neuropsychology* 24:435–442.
- Stubbs A (1968) The discrimination of stimulus duration by pigeons. *J Exp Anal Behav* 11:223–238.
- Urbach YK, Bode FJ, Nguyen HP, Riess O, von Hörsten S (2010) Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. *Methods Mol Biol* 597:333–356.
- von Hörsten S, Schmitt I, Nguyen HP, Holzmann C, Schmidt T, Walther T, Bader M, Pabst R, Kobbe P, Krotova J, Stiller D, Kask A, Vaarmann A, Rathke-Hartlieb S, Schulz JB, Grasshoff U, Bauer I, Vieira-Saecker AM, Paul M, Jones L, Lindenberg KS, Landwehrmeyer B, Bauer A, Li XJ, Riess O (2003) Transgenic rat model for Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 12:617–624.
- Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED, Richardson EP Jr (1985) Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 44:559–577.
- Walker AG, Miller BR, Fritsch JN, Barton SJ, Rebec GV (2008) Altered information processing in the prefrontal cortex of Huntington's disease mouse models. *J Neurosci* 28:8973–8982.
- Wilson RS, Como PG, Garron DC, Klawans HL, Barr A, Klawans D (1987) Memory failure in Huntington's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* 9:147–154.
- Woodruff-Pak DS, Papka M (1996) Huntington's disease and eyeblink classical conditioning: normal learning but abnormal timing. *J Int Neuropsychol Soc* 2:323–334.
- Zeron MM, Chen N, Moshaver A, Lee AT, Wellington CL, Hayden MR, Raymond LA (2001) Mutant huntingtin enhances excitotoxic cell death. *Mol Cell Neurosci* 17:41–53.
- Zeron MM, Hansson O, Chen N, Wellington CL, Leavitt BR, Brundin P, Hayden MR, Raymond LA (2002) Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron* 33:849–860.
- Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, Shehadeh J, Wellington CL, Leavitt BR, Baimbridge KG, Hayden MR, Raymond LA (2004) Potentiation of NMDA receptor-mediated excitotoxicity linked with intrinsic apoptotic pathway in YAC transgenic mouse model of Huntington's disease. *Mol Cell Neurosci* 25:469–479.
- Zucker RS (1973) Changes in the statistics of transmitter release during facilitation. *J Physiol* 229:787–810.
- Zucker RS, Regehr WG (2002) Short-term plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355–405.

ARTICLE II

Temporal sensitivity changes with extended training in a bisection task in a transgenic rat model

Brown et al. (2011)



Temporal sensitivity changes with extended training in a bisection task in a transgenic rat model

Bruce L. Brown^{1,2}, Sophie Höhn^{3,4}, Alexis Faure^{3,4}, Stephan von Hörsten⁵, Pascale Le Blanc^{3,4}, Nathalie Desvignes^{3,4}, Nicole El Massioui^{3,4} and Valérie Doyère^{3,4}*

¹ Department of Psychology, Queens College, Flushing, NY, USA

² Department of Psychology, Graduate Center, City University of New York, New York, NY, USA

³ Centre de Neurosciences Paris-Sud, Université Paris-Sud, UMR 8195, Orsay, France

⁴ CNRS, Orsay, France

⁵ Experimental Therapy, Franz Penzoldt Center, Friedrich-Alexander University, Erlangen-Nürnberg, Germany

Edited by:

Warren H. Meck, Duke University, USA

Reviewed by:

Rosario Moratalla, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Spain

Toshimichi Hata, Doshisha University, Japan

***Correspondence:**

Valérie Doyère, Centre de Neurosciences Paris-Sud, CNRS-UMR 8195, Université Paris-Sud, Bat. 446, 91405 Orsay, France.
 e-mail: valerie.doyere@u-psud.fr

The present study investigated temporal perception in a Huntington disease transgenic rat model using a temporal bisection procedure. After initial discrimination training in which animals learned to press one lever after a 2-s tone duration, and the other lever after a 8-s tone duration for food reward, the bisection procedure was implemented in which intermediate durations with no available reinforcement were interspersed with trials with the anchor durations. Bisection tests were repeated in a longitudinal design from 4 to 8 months of age. The results showed that response latencies evolved from a monotonic step-function to an inverted U-shaped function with repeated testing, a precursor of non-responding on trials with intermediate durations. We inferred that temporal sensitivity and incentive motivation combined to control the transformation of the bisection task from a two-choice task at the outset of testing to a three-choice task with repeated testing. Changes in the structure of the task and/or continued training were accompanied by improvement in temporal sensitivity. In sum, the present data highlight the possible joint roles of temporal and non-temporal factors in the temporal bisection task, and suggested that non-temporal factors may compensate for deficits in temporal processing.

Keywords: temporal bisection, temporal discrimination, latency, sensitivity, non-sensory factors, transgenic rat model, Huntington disease

INTRODUCTION

The temporal bisection procedure has been used extensively to study temporal perception in animals. The procedure is a variant of the classical psychophysical method of constant stimuli. It entails an initial conditional discrimination training phase in which one response is rewarded following a short-duration stimulus, while the other response is rewarded following a long-duration stimulus. In a subsequent test phase, the short and long anchor stimuli are presented in addition to intermediate test durations, which are assumed to encompass an interval of uncertainty within which stimuli are indiscriminable from each other (Woodworth and Schlosberg, 1954). A virtue of the method is that it can provide separate measures of the point of subjective equality (PSE), difference limen and Weber fraction that are extracted from the resulting psychometric function. Variations in these measures are assumed to reflect the operations of fundamental mechanisms of temporal perception.

The original purpose of the current study was to investigate temporal perception in a Huntington disease (HD) transgenic rat model. In this model, the striatum is one of the primary structures affected, with the first motor symptoms appearing around 6 months of age and striatal neurodegeneration detectable from 8 months onward (von Hörsten et al., 2003; Nguyen et al., 2006). As prefronto-striatal circuits are thought to play a critical role in

temporal processing (Buhusi and Meck, 2005), we sought to track the concomitant deterioration in timing behavior over the course of 4–8 months in homozygous models and wt controls. While deficits in timing behavior have been observed at 4 months (Höhn et al., 2011), the data reported here suggest that non-temporal factors may counteract deficits in temporal processing.

MATERIALS AND METHODS

The procedure and apparatus have been reported elsewhere (see Höhn et al., 2011). Details specific to the present study are reported here.

ANIMALS

A cohort of nine wild type (wt) and 12 transgenic (tgHD) rat models for HD was imported at 3 months old (von Hörsten et al., 2003). Subjects were housed in pairs in a temperature- and humidity-controlled colony room (23°C, 41% humidity), with a light–dark cycle of 12:12 (lights on at 08:00 AM). After 2 weeks of adaptation, daily food rations were progressively reduced until rats reached 80% of their initial weight before the start of training, and the rats were maintained at 85% of normative weight afterward. All experiments were carried out in accordance with the recommendations of the EEC (86/609/EEC) and the French National Committee (87/848) for care and use of laboratory animals.

APPARATUS

Four operant Skinner boxes (50.8L cm × 63.5W cm × 66H cm) in soundproof ventilated chambers (background noise 65 dB) were controlled with the Graphic State program (Coulbourn Instruments, Harvard Apparatus, USA). On the left panel were a pellet dispenser for delivery of 45 mg grain-based precision pellets in a food cup, and two 4-cm retractable response levers. A speaker was located on the opposite side of the box and permitted delivery of an auditory stimulus (1 kHz, 80 dB). At the beginning of each session, a red house light was illuminated.

BEHAVIORAL PROCEDURES

After an initial training phase for temporal discrimination, bisection tests were run monthly in a longitudinal design from 4 to 8 months. The temporal discrimination and the bisection test procedures were identical to those reported previously (Callu et al., 2009; Höhn et al., 2011). Animals were run in six cohorts of four transgenic and wt rats, and were fed in their home cage at the end of the experimental session.

Pretraining

At 3 months of age, rats were magazine trained in one session (30 pellets delivered on a variable time 60 s schedule). The next 2 days, they were trained on a continuous reinforcement schedule for each lever separately until 50 reinforcements were earned.

Temporal discrimination training

Responses to one of two levers (left vs. right) were reinforced following one of two tone durations (2 vs. 8 s). Two blocks of 40 trials, for a total of 80 trials, were presented with equal probability for each tone duration in each of 17 sessions. The relation of tone duration and reinforced response location was counter-balanced between groups. The levers were retracted immediately after a response or after 5 s. The inter-trial interval (ITI) was 30 s on average (range 20–40 s).

Bisection tests

Rats were then tested in a psychophysical choice procedure with five intermediate durations (2.5, 3.2, 4, 5, and 6.3 s) on non-reinforced trials (12 trials each duration), in addition to the two training anchor durations (2 and 8 s, 60 trials each) with reinforcement available. The mean ITI was 30 s. Four to six bisection sessions were run each month, from 4 to 8 months, followed by one session of discrimination training.

DATA ANALYSIS

Response location and latency were recorded for each trial. Analysis of latency included only trials with a response. Bisection data were calculated as proportion of responses on the lever assigned as correct for the long-duration stimulus on all trials with response. The bisection function relating proportion “long” responses to stimulus duration is typically sigmoidal in shape. The stimulus value corresponding to $p(\text{“Long”}) = 0.5$ typically falls at the geometric mean of the anchor durations PSE. The slope of the function in the vicinity of the PSE reflects temporal sensitivity. The bisection function was analyzed with the pseudo-logistic

model (PLM; Killeen et al., 1997) fit for each rat on the averaged curve obtained at each month, using Prism software; With the assumption that scalar variance dominated (Allan, 2002; Callu et al., 2009), the fits were good (median proportion of variance accounted for = 0.997 and 0.995 for wt and tgHD groups, respectively). The PSE and the temporal sensitivity parameter (γ) were estimated for each rat using the following formula (Allan, 2002, Eq. 5):

$$P(R_L) = \left[1 + \exp \left(\frac{T_{1/2} - t}{\frac{\sqrt{3}}{\pi} \gamma t} \right) \right]^{-1}$$

γ , which is proportional to the Weber fraction, increases as temporal sensitivity decreases.

Contrast analyses of variance (ANOVAs; Rouanet et al., 1990) with an alpha level of 0.05 were used for statistical assessments.

RESULTS

RESPONSE LATENCY AND PERCENT RESPONSE

As reported elsewhere for these animals (Höhn et al., 2011), performances during initial temporal discrimination training were similar for wt and tgHD rats. At 4 months, tgHD rats showed a typical bisection curve, with similar PSE but poorer sensitivity (higher γ) than wt. Both groups showed a decrease in response latency with increasing stimulus duration.

During the 25 bisection test sessions that were conducted over a 5-month period, both wt and tgHD rats progressively learned not to respond following intermediate durations, with no available reinforcement, while responding was maintained on trials with the anchor durations. The latter trend was evidenced in a sharp decrease in the mean percent of trials with a response (percent response) as intermediate values approached the 4-s geometric mean of the anchor duration values, and an increase in mean response latency which peaked near the geometric mean of the anchor durations (Figures 1A,B). On the final session, the minimum percent response on a given intermediate duration varied between 0 and 100% for tgHD rats, and between 16.67 and 100% for wt rats. Four of 12 tgHD and five of nine wt rats still responded on at least 95% of trials on average for the intermediate durations. Performance was analyzed for these subgroups of animals who had stopped responding or not (with a criterion of 95%) on the final session. On the 4-month test, in addition to the decrease in latency with stimulus duration previously reported (Höhn et al., 2011), an ANOVA indicated that mean latency for subgroup “stop” significantly exceeded that for subgroup “no-stop” [137 ms; $F(1,17) = 6.43, p < 0.05$], with no effects involving genotype ($F_s < 1$). In order to characterize the development of performance patterns that foreshadowed the cessation of responding, the difference in latency was calculated between the test session immediately prior to cessation of responding for each animal and the 4-month test (Figure 1C right panel). For the percent response measure (Figure 1C left panel), the difference calculation was based on the 4-month test and the last (25th) test session. Similar inverted U-shaped curves for latency and U-shaped curves for percent response were obtained for wt and tgHD rats

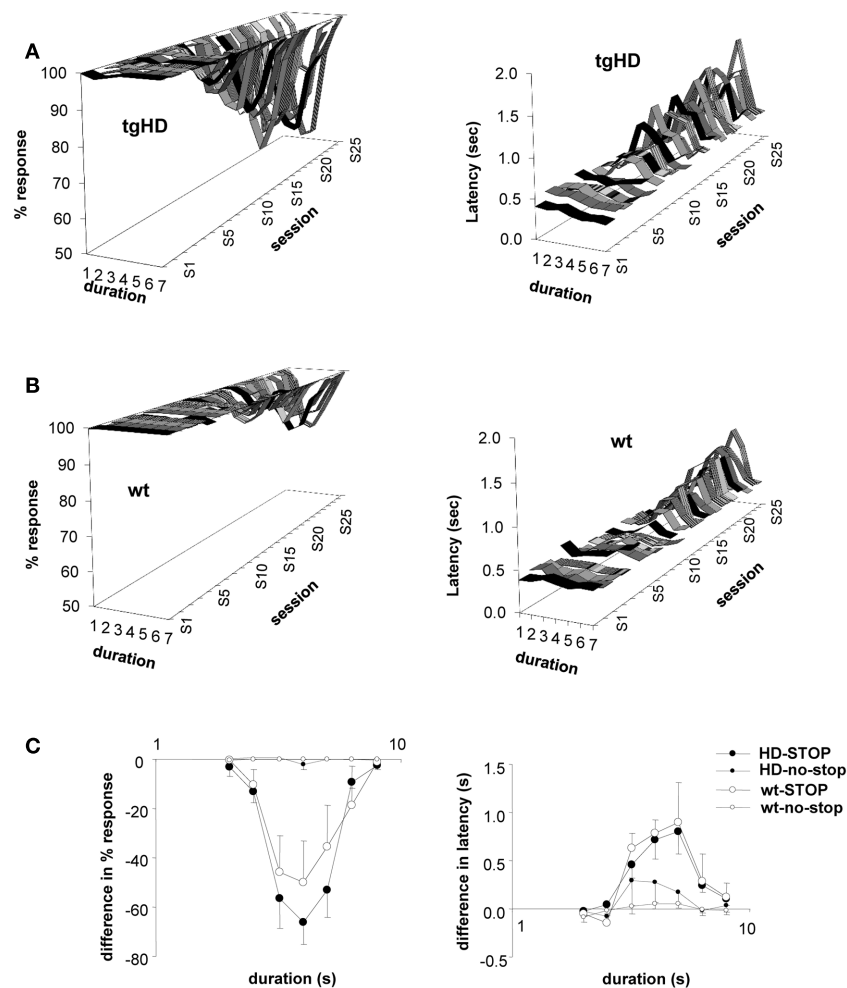


FIGURE 1 | Increased response latency for intermediate durations leads to cessation of responding. Percent responses (left) and response latencies (right) across signal durations and sessions during temporal bisection tests for tgHD (A) and wt (B) rats. In (C) left panel, mean (\pm SEM) difference in percent responses between the last test session and the 4-months tests for subgroups of animals that stopped responding or not to

intermediate durations (with a criterion of 95%). In (C) right panel, mean (\pm SEM) difference in response latencies between the 4-months tests and (a) the last test session prior to stopping responding (95% criterion) for subgroups of animals that stopped responding or (b) the last test session for the no-stop subgroups. For both panels, data are shown as a function of both genotype and duration.

which stopped responding. In genotype \times subgroup \times duration ANOVAs for both dependent measures, there were no significant effects involving genotype (all F s < 1). Curves for the stop subgroup differed significantly from the curves of the no-stop subgroup [subgroup \times duration interaction, $F(6,102) = 4.63$ and $F(6,102) = 14.21$, p s < 0.001, for response latency and percent response, respectively]. While the stop and no-stop subgroups did not differ at the two anchor durations [$F(1,17) = 1.59$ and $F < 1$ for response latency and percent response, respectively], they differed significantly at the middle three intermediate durations [$F(1,17) = 12.29$ and $F(1,17) = 25.31$; $p < 0.01$ for response latency and percent response]. Thus, the greater effect of duration on latency for the stop subgroup compared to the no-stop subgroup was associated with subsequently observed differences in the tendency to cease responding to non-reinforced intermediate durations.

TEMPORAL SENSITIVITY AND PERCENT RESPONSE

The foregoing findings represent the acquisition of a temporal discrimination between intermediate and anchor durations in the bisection protocol. One factor that may control the speed of acquisition of that discrimination is temporal sensitivity. Considering tgHD rats only, which showed a large variability between animals in temporal sensitivity at 4 months (Höhn et al., 2011), there was a significant positive correlation between gamma measured at 4 months and the session number at which the percent response measure fell below 95% [Figure 2A, $r(10) = 0.60$, $p < 0.04$]. The significant correlation held when considering both wt and tgHD rats [z -scores, $r(19) = 0.50$, $p < 0.03$]. Thus, better temporal sensitivity at 4 months predicted faster acquisition of the tendency to stop responding on intermediate durations. Owing to stable high levels of responding to the anchor durations throughout testing, this tendency reflected the acquisition

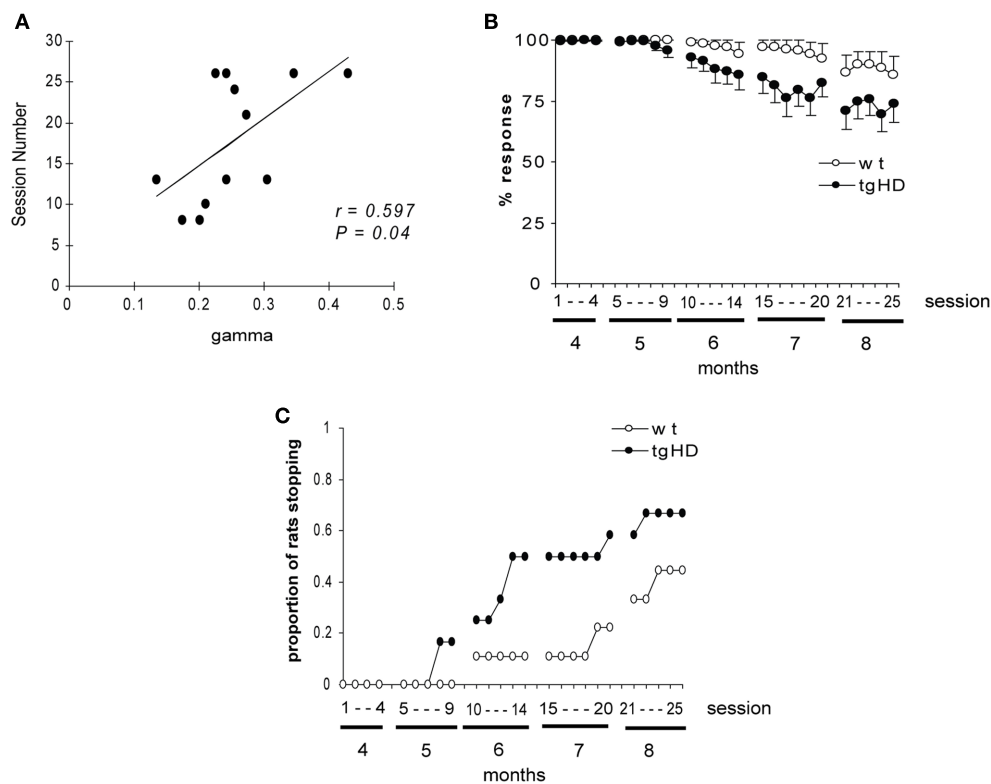


FIGURE 2 | During the course of bisection testing, tgHD animals stop responding to intermediate stimulus durations earlier than wt animals do. (A) Correlation between the session number at which the rats stop responding to intermediate durations (criterion < 95%) and gamma measured

at 4 months, for tgHD rats. **(B)** Mean (\pm SEM) percent responses to intermediate durations on the 25 sessions of testing in months 4–8 for tgHD (filled symbols) and wt (empty symbols) rats. **(C)** Proportion of rats in each group stopping to respond across the 25 sessions of testing.

of a discrimination between intermediate durations and anchor durations.

As mentioned above, tgHD rats showed on average poorer sensitivity at 4 months than wt, and therefore would be expected to be slower in learning the discrimination. The opposite was observed, however, as tgHD rats stopped responding to intermediate durations earlier than wt rats as shown in **Figure 2B** [significant group \times session interaction, $F(24,456) = 1.87$, $p < 0.01$]. A trend toward faster learning was also observed when calculating the proportion of animals in each group that stopped responding, for each of the 25 test sessions (**Figure 2C**), although the difference in proportion observed during sessions 13 to 18 was only marginally significant (Fisher Exact Test, $p = 0.07$). Thus, other factors in addition to temporal sensitivity combine to govern temporal performance in the bisection task.

TEMPORAL BISECTION FUNCTION

The fact that animals progressively stopped responding to intermediate durations precluded the analysis of the bisection curves for these animals with repeated testing. Fewer than 50 percent of the total number of animals (four tgHD and five wt) were responding at 8 months, whereas more than 50% were still responding at 7 months. When restricting the analysis to animals that were responding at the 7-month testing phase (wt,

$n = 7$; tgHD, $n = 6$), the analysis of this subset confirmed that at 4 months of age tgHD rats showed poorer sensitivity, but similar PSE, compared to wt rats [**Figures 3A,B**, $F(1,11) = 8.12$, $p < 0.02$, and $F < 1$, for gamma and PSE, respectively]. Interestingly, both PSE and gamma decreased with repeated testing across the 4 months [$F(3,33) = 3.38$, $p < 0.03$, $F(3,33) = 8.39$, $p < 0.001$, respectively]. Furthermore, while PSE did not change differentially between genotypes (no group \times test month interaction, $F < 1$), gamma tended to decrease more rapidly in tgHD than in wt rats. Both groups showed a significant decrease in gamma across months [$F(3,18) = 3.80$ and $F(3,15) = 5.61$; $ps < 0.05$, for wt and tgHD groups respectively]. However, a marginally significant group \times test month interaction [$F(3,33) = 2.80$, $p = 0.055$], in addition to the fact that gamma for tgHD was significantly lower than for wt at 7 months of age [$F(1,11) = 6.28$, $p < 0.03$] show that temporal sensitivity improved faster for the tgHD than for wt rats. These data indicate that PSE and gamma were differentially sensitive to repeated testing.

DISCUSSION

INCREASED RESPONSE LATENCY FOR INTERMEDIATE DURATIONS LEADS TO CESSATION OF RESPONDING

On initial test sessions, both groups showed a decrease in response latency with increasing test stimulus duration (Höhn et al., 2011),

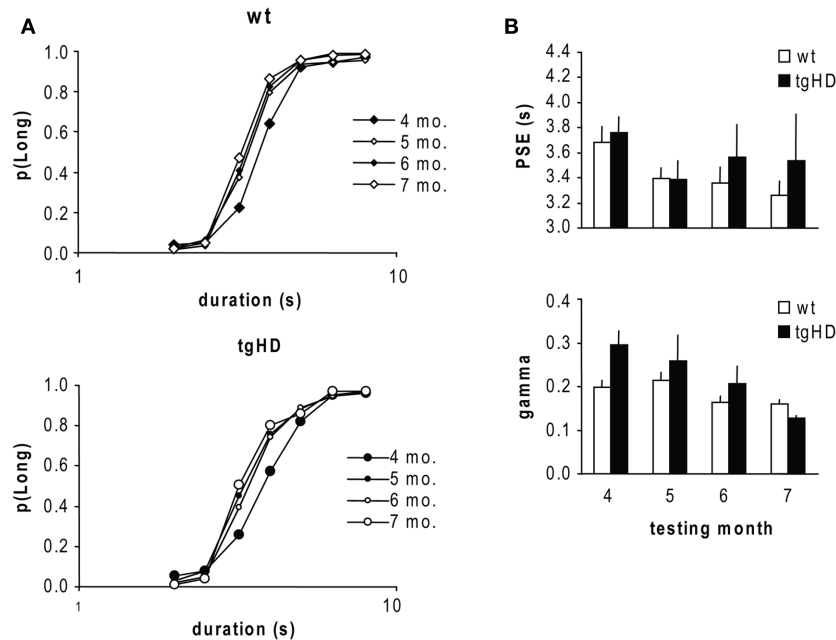


FIGURE 3 | Repetition of bisection testing sharpens temporal sensitivity. (A) Evolution of bisection curves for test months 4–7 for subgroups of animals that were responding at 7 months (top, wt rats;

bottom, tgHD rats). **(B)** Mean (+SEM) PSE (top) and gamma (bottom) values estimated from the bisection curves for test months 4–7 represented in **(C)**.

replicating previously reported findings (Callu et al., 2009). The present data demonstrate that in rats, an inverted U-shaped function of response latency emerges as the animals learn to discriminate the intermediate durations from the anchors, and that it leads to cessation of responding to intermediate durations with continued testing. The inverted U-shaped function has been reported previously with both rat and human subjects (Maricq and Church, 1983; Meck, 1983; Rodríguez-Gironés and Kacelnik, 1998). Maricq and Church suggested that elevated latencies for intermediate durations in rats reflect either response conflict or discrimination learning between anchor vs. intermediate durations signaling availability vs. non-availability of reinforcement, respectively. The present data support the latter view, as the inverted U-shaped function was absent during initial test sessions, and was followed by the selective reduction in probability of responding to the intermediate test durations. Thus, intermediate durations used in the present study were discriminatively different from the anchors as indicated by performance in well-trained animals, suggesting that the bisection task functionally shifted from a two- to a three-alternative (two anchors and intermediate durations) discrimination task with repeated testing.

REPETITION OF BISECTION TESTING SHARPENS TEMPORAL SENSITIVITY

Point of subjective equality decreased and temporal sensitivity increased with repeated testing in the present study. The changes in both variables may be unrelated, but a decision-theoretic account, the PLM (Killeen et al., 1997), predicts a decrease in the PSE, from the arithmetic mean of the anchor durations to the harmonic mean as a limit, as gamma decreases. The change in PSE

was also accompanied by the emergence of a behavioral discrimination between anchor and intermediate stimulus durations. It is not clear how that discrimination is related to the assumptions of PLM, but it is possible that judgments of “short” vs. “not short” (intermediate and long) that emerge with training may determine the location of the criterion in that model, or response bias in a scalar expectancy theory (SET) account (Gibbon, 1981; Allan and Gibbon, 1991) of the indifference point in the bisection task.

The improvement in temporal sensitivity could also be related to the change in the functional properties of the discrimination task. The introduction of new, intermediate durations in the test phase represents an increase in discrimination difficulty, which has been shown to decrease Weber fraction in humans (see Ferrara et al., 1997). Alternatively, temporal sensitivity may increase as a result of repeated exposure to the test stimuli in the absence of a change in task structure, consistent with the sharpening of stimulus generalization gradients with pre-exposure to the training stimulus (Honey, 1990) or increased amounts of training (Brown, 1970).

The foregoing phenomena may be taken to represent the acquisition of stimulus control, that is, the establishment of behavioral control by specific differences in the properties of stimuli along one or more continua. Thus, animals may learn to identify relevant stimulus dimensions, and change their behavior accordingly, only with repeated discrimination training. Alternatively, stimulus control may be established immediately upon the initial exposure to the discriminative stimuli, with increased training serving only to bring behavior under sharper control by the prevailing contingencies of reinforcement. Thus, sharpening of psychometric

functions in the present study may reflect the effect of repeated exposure to the contingencies of reinforcement on performance, while stimulus differences are fully discriminated early in training (Balsam et al., 2002; Drew et al., 2005). In support of this idea are the results of Droit-Volet and Izaute (2009) who manipulated the availability of a third “I do not know” response in the temporal bisection procedure in human observers. Adults who were given that response option exhibited sharper bisection functions (smaller Weber fractions) immediately in a single test session compared to control subjects with only the two standard response options. Thus, temporal sensitivity may depend upon available response options in both rats and humans, with difference in rate of emergence reflecting the use of verbal vs. contingency-based instructions.

TEMPORAL AND NON-TEMPORAL FACTORS GOVERN THE TEMPORAL PERFORMANCE

Initial measures of sensitivity to temporal properties of stimuli between tgHD and wt rats predicted a difference in speed of acquisition of a temporal discrimination that was opposite to the one observed, that is, at 4 months, the tgHD rats had poorer sensitivity (higher gamma) than wt, but the tgHD rats stopped responding to the intermediate duration sooner than wt. Thus, it is likely that other factors in addition to temporal sensitivity combine to govern temporal performance in the bisection task. Superior learning capacities in tgHD rats could be one factor, as increased prefronto-striatal plasticity has been reported in presymptomatic tgHD rats (Höhn et al., 2011). However, initial learning of the simple 2 vs. 8 s discrimination was similar for tgHD and wt rats, although a more challenging discrimination task might have revealed a difference in temporal learning. In addition, Höhn et al. reported that at 10 months, the same tgHD rats were inferior to wt in learning a discrimination reversal. Therefore, superior learning is not a likely factor, and increased plasticity in young adult tgHD rats may be an index of compensatory mechanisms secondary to dysfunctional networks. Another factor may reside in age-related neurodegeneration in transgenic animals. The monotonic continuous decrease in percent response observed across sessions (Figure 2B), however, more likely reflects learning through repetition rather than an age-related effect (which would be expected to produce decreases between but not within months). Yet another factor may be greater sensitivity to non-reinforcement in tgHD rats, as responses to intermediate durations were never reinforced. In a separate study (Faure et al., 2011), using a runway task in which the sucrose reinforcement was suddenly changed to a lower or a higher concentration (i.e., a less or more rewarding value) tgHD rats were more reactive than wt rats to changes in reward values. It is therefore likely that incentive motivation is a factor in the speed of discrimination learning between anchor (reinforcement) and intermediate (no reinforcement) durations.

CONCLUSION

Our data highlight the dynamic properties of the temporal bisection procedure. A number of factors have been shown to modulate performance in that procedure in animals and humans, including pharmacological agents (e.g., Meck, 1983; Santi et al., 2001),

temporal and non-temporal stimulus properties (e.g., Church and Deluty, 1977; Penney et al., 2000), arousal/emotion (e.g., Droit-Volet and Wearden, 2002; Grommet et al., 2011), lesion (e.g., Meck et al., 1984; Breukelaar and Dalrymple-Alford, 1999), and disease (e.g., Smith et al., 2007; Carroll et al., 2008). The present study shows that repetition or amount of training/testing is another relevant variable (see also Machado and Keen, 2003). Repetition resulted in a sharpening of the bisection function and discrimination between anchor durations and intermediate test durations, both of which were more pronounced in tgHD rats. This difference was correlated with responsiveness to motivational factors, reflecting higher sensitivity to changes in reward values.

Transgenic Huntington disease animals exhibit poorer temporal sensitivity at 4 months than wt animals, as shown in two different ways in Höhn et al. (2011). We show here that higher temporal sensitivity was correlated with earlier stopping to respond to intermediate non-reinforced durations during the course of bisection testing. The fact that tgHD animals stopped earlier than wt animals, in contrast to what would be expected from their poorer initial temporal sensitivity, shows that the speed with which stopping to respond occurs does not reflect only temporal sensitivity. We hypothesize that sensory factors and non-sensory (motivational) factors may play competing roles in temporal bisection performance, and that an enhanced sensitivity to non-reinforcement can offset lower levels of temporal sensitivity to produce more rapid expression of the discrimination between anchor vs. intermediate stimulus durations. While initial bisection testing provides a valid measure of temporal sensitivity (gamma), repeated testing in the bisection task provides an opportunity for motivational factors (reinforcement vs. non-reinforcement) to exert their effect on the tendency to respond vs. not respond.

Changes in temporal performance after genetic or other biological manipulations may be related to non-sensory (motivational) factors in addition to sensory (temporal) factors, and control of these factors may be critical in determining underlying mechanisms. Inasmuch as the role of motivational factors in timing performance has been inferred in different timing protocols including both the peak interval procedure (e.g., Ward et al., 2009) and the bisection procedure in this report, the isolation of temporal control of behavior may require more sophisticated measures in the general case. A technical solution to the presumed motivational confound encountered in the present study would be to use narrow anchor duration ranges that closely encompass the interval of uncertainty, as assumed in the method of constant stimuli, thus preserving response tendencies along all test durations. Owing to the joint effects of both anchor stimulus range and repeated stimulus exposure, assessment of temporal sensitivity may require continued adjustments in stimulus range until stable performance is observed.

Sharpening of the bisection function with repetition may reflect an increase in temporal sensitivity apart from the influence of non-temporal factors. At an empirical level it is not known whether repeated exposure to the reinforcement contingencies involving the anchor durations or repeated exposure to the test durations was critical, as these variables were confounded in the present

study. From the perspective of temporal information processing theory (SET, Gibbon et al., 1984), variation in temporal sensitivity could be related to variability in the perception of the anchor stimuli or in memory representation (Allan and Gerhardt, 2001), or possibly in the decision mechanism (Penney et al., 2008). A challenge for future research is the dissociation among these mechanisms as accounts of the effects of repeated training/testing upon performance in the bisection task.

REFERENCES

- Allan, L. G. (2002). The location and interpretation of the bisection point. *Q. J. Exp. Psychol.* 55B, 43–60.
- Allan, L. G., and Gerhardt, K. (2001). Temporal bisection with trial referents. *Percept. Psychophys.* 63, 524–540.
- Allan, L. G., and Gibbon, J. (1991). Human bisection at the geometric mean. *Learn. Motiv.* 22, 39–58.
- Balsam, P. D., Drew, M. R., and Yang, C. (2002). Timing at the start of associative learning. *Learn. Motiv.* 33, 141–155.
- Breukelaar, J. W., and Dalrymple-Alford, J. C. (1999). Effects of lesions to the cerebellar vermis and hemispheres on timing and counting in rats. *Behav. Neurosci.* 113, 78–90.
- Brown, B. L. (1970). Stimulus generalization in salivary conditioning. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 71, 467–477.
- Buhusi, C. V., and Meck, W. H. (2005). What make us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 755–765.
- Callu, D., El Massioui, N., Dutrieux, G., Brown, B. L., and Doyère, V. (2009). Cognitive processing impairments in a supra-second temporal discrimination task in rats with cerebellar lesion. *Neurobiol. Learn. Mem.* 91, 250–259.
- Carroll, C. A., Boggs, J., O'Donnell, B. F., Shekhar, A., and Hetrick, W. P. (2008). Temporal processing dysfunction in schizophrenia. *Brain Cogn.* 67, 150–161.
- Church, R. M., and Deluty, M. Z. (1977). Bisection of temporal intervals. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 3, 216–228.
- Drew, M. R., Zupan, B., Cooke, A., Couvillon, P. A., and Balsam, P. D. (2005). Temporal control of conditioned responding in goldfish. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 31, 31–39.
- Droit-Volet, S., and Izaute, M. (2009). Improving time discrimination in children and adults in a temporal bisection task: The effects of feedback and no forced choice on decision and memory processes. *Q. J. Exp. Psychol.* 62, 1173–1188.
- Droit-Volet, S., and Wearden, J. (2002). Speeding up an internal clock in children? Effects of visual flicker on subjective duration. *Q. J. Exp. Psychol. B.* 55, 193–211.
- Faure, A., Höhn, S., von Hörsten, S., Delatour, B., Raber, K., Leblanc, P., Desvignes, N., Doyère, V., and El Massioui, N. (2011). Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.* 95, 92–101.
- Ferrara, A., Lejeune, H., and Wearden, J. H. (1997). Changing sensitivity to duration in human scalar timing: an experiment, a review, and some possible explanations. *Q. J. Exp. Psychol. B* 50B, 217–237. [See Wearden and Ferrara (1995). *QJEP* 49, 24–44].
- Gibbon, J. (1981). On the form and location of the psychometric bisection function for time. *J. Math. Psychol.* 24, 58–87.
- Gibbon, J., Church, R. M., and Meck, W. H. (1984). Scalar timing in memory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 423, 52–77.
- Grommet, E. K., Droit-Volet, S., Gil, S., Hemmes, N. S., Baker, A. H., and Brown, B. L. (2011). Time estimation of fear cues in human observers. *Behav. Processes* 86, 88–93.
- Höhn, S., Dallérac, G., Faure, A., Urbach, Y., Nguyen, H. P., Riess, O., von Hörsten, S., Le Blanc, P., Desvignes, N., El Massioui, N., Brown, B. L., and Doyère, V. (2011). Behavioral and in vivo electrophysiological evidence for presymptomatic alteration of prefronto-striatal processing in the transgenic rat model for Huntington disease. *J. Neurosci.* 31, 8986–8997.
- Honey, R. C. (1990). Stimulus generalization as a function of stimulus novelty and familiarity in rats. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 16, 178–184.
- Killeen, P. R., Fetterman, J. G., and Bizo, L. A. (1997). "Time's causes," in *Time and Behaviour: Psychological and Neurobehavioral Analyses*, eds C. M. Bradshaw and E. Szabadi (Amsterdam: Elsevier), 79–131.
- Machado, A., and Keen, R. (2003). Temporal discrimination in a long

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants from Agence Nationale de la Recherche (ANR) and a Partner University Fund grant awarded to Valérie Doyère, and by a PSC-CUNY grant awarded to Bruce L. Brown by the Research Foundation of CUNY (Grant 61336-0039). Sophie Höhn was supported by Ministry of Research (MRT). The publication of this paper is sponsored by the COST Action TIMELY.

- operant chamber. *Behav. Process.* 62, 157–182.
- Maricq, A. V., and Church, R. M. (1983). The differential effects of haloperidol and methamphetamine on time estimation in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 79, 10–15.
- Meck, W. H., Church, R. M., and Olton, D. S. (1984). Hippocampus, time, and memory. *Behav. Neurosci.* 98, 3–22.
- Meck, W. H. (1983). Selective adjustment of the speed of internal clock and memory processes. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 9, 171–201.
- Nguyen, H. P., Kobbe, P., Rahne, H., Wörpel, T., Jäger, B., Stephan, M., Pabst, R., Holzmann, C., Riess, O., Korr, H., Kántor, O., Petrasch-Parwez, E., Wetzel, R., Osmand, A., and Von Hörsten, S. (2006). Behavioral abnormalities precede neuropathological markers in rats transgenic for Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.* 15, 3177–3194.
- Penney, T., Gibbon, J., and Meck, W. (2000). Differential effects of auditory and visual signals on clock speed and temporal memory. *J. Exp. Psychol. Hum. Percept. Perform.* 26, 1770–1787.
- Penney, T. B., Gibbon, J., and Meck, W. H. (2008). Categorical scaling of duration bisection in pigeons (*Columba livia*), mice (*Mus musculus*), and humans (*Homo sapiens*). *Psychol. Sci.* 19, 1103–1109.
- Rodríguez-Gironés, M. A., and Kacelnik, A. (1998). "Response latencies in temporal bisection: implications for timing models," in *Time and the Dynamic Control of Behavior*, eds V. De Keyser, G. d'Ydewalle, and A. Vandierendonck (Seattle: Hogrefe & Huber), 51–70.
- Rouanet, H., Bernard, J.-M., and Le Roux, B. (1990). *Analyse Inductive des Données: Statistique en Sciences Humaines*. Paris: Dunod.
- Santi, A., Coppa, R., and Ross, L. (2001). Effects of the dopamine D2 agonist, quinpirole, on time and number processing in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 68, 147–155.
- Smith, J. G., Harper, D. N., Gittings, D., and Abernethy, D. (2007). The effect of Parkinson's disease on time estimation as a function of stimulus duration range and modality. *Brain Cogn.* 64, 130–143.
- von Horsten, S., Schmitt, I., Nguyen, H. P., Holzmann, C., Schmidt, T., Walther, T., Bader, M., Pabst, R., Kobbe, P., Krotova, J., Stiller, D., Kask, A., Vaarmann, A., Rathke-Hartlieb, S., Schulz, J. B., Grasshoff, U., Bauer, I., Vieira-Saecker, A. M., Paul, M., Jones, L., Lindenberg, K. S., Landwehrmeyer, B., Bauer, A., Li, X. J., and Riess, O. (2003). Transgenic rat model of Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.* 12, 617–624.
- Ward, R. D., Kellendonk, C., Simpson, E. H., Lipatova, O., Drew, M. R., Fairhurst, S., Kandel, E. R., and Balsam, P. D. (2009). Impaired timing precision produced by striatal D2 receptor overexpression is mediated by cognitive and motivational deficits. *Behav. Neurosci.* 123, 720–730.
- Woodworth, R. S., and Schlosberg, H. (1954). *Experimental Psychology*. New York: Holt.

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Received: 13 June 2011; paper pending published: 14 July 2011; accepted: 09 August 2011; published online: xx September 2011.

Citation: Brown BL, Höhn S, Faure A, Hörsten Sv, Blanc PL, Desvignes N, Massioui NE and Doyère V (2011) Temporal sensitivity changes with extended training in a bisection task in a transgenic rat model. *Front. Integr. Neurosci.* 5:44. doi: 10.3389/fnint.2011.00044

Copyright © 2011 Brown, Höhn, Faure, Hörsten, Blanc, Desvignes, Massioui and Doyère. This is an open-access article subject to a non-exclusive license between the authors and Frontiers Media SA, which permits use, distribution and reproduction in other forums, provided the original authors and source are credited and other Frontiers conditions are complied with.

Author Queries Form

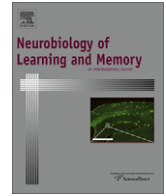
Queries

Query No.	Details required	Author's Reponse
Q1	The Caption for "Figure 3C" is appearing whereas the artwork and citation for the same is missing. Please advice.	
Q2	Please provide year of publication for "Höhn et al."	
Q3	We have changed "Penney et al., 1998" to "Penney et al., 2000" as per the reference list. Please confirm if this is fine.	
Q4	We have changed "Breukelaar et al.,1999" to "Breukelaar and Dalrymple-Alford, 1999" as per the reference list. Please confirm if this is fine.	

ARTICLE III

**Altered emotional and motivational processing in the transgenic
rat model for Huntington's disease**

Faure et al. (2011)



Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease

A. Faure^{a,b,*}, S. Höhn^{a,b}, S. Von Hörsten^c, B. Delatour^{a,d}, K. Raber^c, P. Le Blanc^{a,b}, N. Desvignes^{a,b}, V. Doyère^{a,b}, N. El Massioui^{a,b}

^a Univ Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, UMR 8195, Orsay F-91405, France

^b CNRS, Orsay F-91405, France

^c Exptl. Therapy, Franz Penzoldt Center, Friedrich-Alexander University, Erlangen-Nürnberg, Germany

^d CRICM, Université Pierre & Marie Curie, CNRS UMR 7225, Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 June 2010

Revised 15 November 2010

Accepted 19 November 2010

Available online 25 November 2010

Keywords:

Affective perception

Taste reactivity

Neurodegeneration

Fear conditioning

Hedonic

Behavior

ABSTRACT

Huntington disease (HD) is caused by an expansion of CAG repeat in the Huntingtin gene. Patients demonstrate a triad of motor, cognitive and psychiatric symptoms. A transgenic rat model (tgHD rats) carrying 51 CAG repeats demonstrate progressive striatal degeneration and polyglutamine aggregates in limbic structures. In this model, emotional function has only been investigated through anxiety studies. Our aim was to extend knowledge on emotional and motivational function in symptomatic tgHD rats. We subjected tgHD and wild-type rats to behavioral protocols testing motor, emotional, and motivational abilities. From 11 to 15 months of age, animals were tested in emotional perception of sucrose using taste reactivity, acquisition, extinction, and re-acquisition of discriminative Pavlovian fear conditioning as well as reactivity to changes in reinforcement values in a runway Pavlovian approach task. Motor tests detected the symptomatic status of tgHD animals from 11 months of age. In comparison to wild types, transgenic animals exhibited emotional blunting of hedonic perception for intermediate sucrose concentration. Moreover, we found emotional alterations with better learning and re-acquisition of discriminative fear conditioning due to a higher level of conditioned fear to aversive stimuli, and hyper-reactivity to a negative hedonic shift in reinforcement value interpreted in term of greater frustration. Neuropathological assessment in the same animals showed a selective shrinkage of the central nucleus of the amygdala.

Our results showing emotional blunting and hypersensitivity to negative emotional situations in symptomatic tgHD animals extend the face validity of this model regarding neuropsychiatric symptoms as seen in manifest HD patients, and suggest that some of these symptoms may be related to amygdala dysfunction.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Huntington's disease (HD) is a devastating, autosomal dominant, neurodegenerative disorder with total penetrance, caused by an extended CAG repeat expansion within the coding region of the huntingtin gene. Clinical manifestation impresses first through psychiatric abnormalities, then cognitive decline, and eventually movement disorders. At the very early symptomatic phase, psychiatric manifestations such as dysphoria, agitation, irritability, apathy, and anxiety can be observed with high prevalence (Duff, Paulsen, Beglinger, Langbehn, & Stout, 2007; Folstein, Abbott, Chase, Jensen, & Folstein, 1983; Paradiso et al., 2008; Paulsen,

Ready, Hamilton, Mega, & Cummings, 2001; Tabrizi et al., 2009) having deleterious impacts on patients' life quality. In addition to the well established atrophy of the caudate and putamen (de la Monte, Vonsattel, & Richardson, 1988; Lange, Thorner, Hopf, & Schroder, 1976), alterations of the limbic system including amygdala and nucleus accumbens have been described (Bots & Bruyn, 1981; Deng et al., 2004; Douaud et al., 2006; Pavese et al., 2003; Reiner et al., 1988; Rosas et al., 2003). The general role devoted to these particular structures in emotional and motivational processing let suppose that their dysfunction could underlie some of the psychiatric disorders reported in HD patients.

Emotional function and regulation is not yet well characterized in patients and animals' models of HD and a variety of sometimes opposite effects have been reported. In patients, lack of emotional control (Paradiso et al., 2008), as well as deficits in recognition of negative emotion in facial and other domains (Sprengelmeyer,

* Corresponding author at: Univ Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, UMR 8195, Orsay F-91405, France. Fax: +33(0) 1 69 15 77 26.

E-mail address: alexis.faure@u-psud.fr (A. Faure).

Schroeder, Young, & Epplen, 2006; Sprengelmeyer et al., 1996) have been described in clinical and preclinical stage of the disease. In **mouse** models, studies report contradictory anxiety changes, with a reduction at 6 weeks of age (File, Mahal, Mangiarini, & Bates, 1998), but an increase at 5 and 12 weeks in R6/2 mice (Hickey, Gallant, Gross, Levine, & Chesselet, 2005; Menalled et al., 2009) and an increase in 6 week old CAG140 KI mice (Hickey & Chesselet, 2003). Deficits in learning Stimulus–Response (S–R) fear-based active or place avoidance have also been found in 8–12 weeks old R6/2 mice (Ciamei & Morton, 2008; Rudenko, Tkach, Berezin, & Bock, 2009). A deficit in contextual fear-conditioning was shown in R6/2 mice (Bolivar, Manley, & Messer, 2003), but an enhanced fear response was observed at 4 months in CAG140 KI mice (Hickey et al., 2008). In the transgenic rat model (tgHD rats), which carries a truncated huntingtin cDNA fragment with 51 CAG repeats and demonstrates slow progressive striatal degeneration and motor deficits close to common adult onset HD (von Horsten et al., 2003), disruption of emotional behaviors have essentially been characterized by a drastic reduction of anxiety at early stages (Bode et al., 2008; Nguyen et al., 2006; Urbach, Bode, Nguyen, Riess, & von Horsten, 2010; von Horsten et al., 2003).

The present study aimed at refining a multi-facets analysis of emotional and motivational behavior in the transgenic HD rat model at a symptomatic stage of the disease (von Horsten et al., 2003), in the hope to provide us with specific tools for future assessment of emotional alterations at presymptomatic stages. In the rat model, formation of polyglutamine (polyQ)-containing inclusions and aggregates appear around 6 months of age (Kantor et al., 2006) in various structures including ventral striatum and amygdala (Petrasch-Parwez et al., 2007). We have therefore selected several behavioral tasks relevant to the different anatomical loci of neuropathological alterations: discriminative Pavlovian fear conditioning was more particularly designed to assess the impact of amygdala function (LeDoux, 2000; Pare, Quirk, & Ledoux, 2004); hedonic perception and hedonic shifts were designed to be potently sensitive to ventral striatum alterations (nucleus accumbens) (Faure, Richard, & Berridge, 2010; Pecina, Smith, & Berridge, 2006); finally, the motor tasks were designed to assess basal ganglia function.

2. Materials and methods

2.1. Synopsis

We subjected tgHD and wild-type rats to behavioral protocols testing emotional and motivational abilities at a symptomatic age from 11 to 15 months. Before that age, these animals were engaged in a behavioral longitudinal study (temporal discrimination experiment using food reinforcement). During this study, we were able to perform earlier evaluation of motor capabilities. From previous studies in our laboratory, we never observed any interference in learning this type of task and the tasks used in the present experiments.

2.2. Animals

The transgenic HD (tgHD) rat carries a truncated huntingtin cDNA fragment with 51 CAG repeats under the control of the rat huntingtin promoter (von Horsten et al., 2003). The genetic background of the transgenic HD rat is the Sprague–Dawley strain (outbred) derived. A cohort composed of 12 homozygous transgenic and 9 wild-type (WT) male rats was imported in our animal facility at the age of 3 months. Rats were housed in pairs of same genotype in a temperature- and humidity-controlled colony room and maintained under a 12 h light/dark cycle.

All experiments were performed in accordance with the recommendation of the European Economic Community (EEC) (86/609/

EEC) and the French National Committee (87/848) for care and use of laboratory animals.

2.3. Motor tests

Wire suspension and beam walking tests were performed when rats were 6, 7, 11 and 14 months old in order to detect the early signs of deficits in muscle tone and motor coordination, respectively.

2.3.1. Wire suspension test

Each animal was hanged by its front paws on a horizontal iron bar (4 mm diameter) placed 60 cm above a cushioned floor for a maximum of 1 min. Latencies to fall were measured.

2.3.2. Beam walking test

A wooden bar (2 cm large, 120 cm length, graded every 5 cm) was disposed between two non-accessible platforms, 50 cm above a cushioned floor. Each animal was placed at the middle and perpendicular to the bar. We measured the distance traveled by the animal during 60 s.

2.4. Discriminative fear conditioning

Rats were exposed to acquisition, extinction and re-acquisition of a discriminative learning paradigm using a shock-paired stimulus (CS+) and a no-shock-paired stimulus (CS–) while engaged in an instrumental task. Animals were trained in two identical Skinner boxes (for details of boxes see (Brown, Richer, & Doyere, 2007)). A VHS video system allowed the recording of behavior. One week before the experiment, rats underwent a food deprivation schedule to reduce their weight to 85% of their original free-feeding body weight.

Instrumental learning (11-mo old rats): On day 1, subjects were magazine trained for 30 min with a variable-interval (VI) 60-s schedule of reinforcement. On day 2, the lever was inserted, and each lever press was reinforced. The session was repeated at the end of the day for animals that failed to press at least 50 times in 30 min. On days 3, 4 and 5, lever-pressing was reinforced on a VI 30-s schedule for 30 min. *Pavlovian fear discrimination acquisition (Days 6–8):* On this instrumental baseline (VI30s schedule), 8 CS+ and 8 CS– were presented (pseudorandom sequence) during a 48-min session. CS+ and CS– were not counterbalanced. Because of the limited number of tgHD animals available at the time of these experiments and the possible differential effects that would add variability, we chose not to counterbalance the stimuli for CS+ and CS–.

The CS+ was a green light mounted above the lever and flashing for 20 s (0.5 s on/ 0.5 s off), co-terminating with a 0.5 s electrical footshock. Footshock intensity was 0.27 mA on the first day and 0.3 mA on the two following days. The CS– consisted of a 20 s turn off of the white house light. *Extinction (Days 9–11):* On the three following days, animals were subjected to 48 min extinction sessions with presentations of 8 CS– and 8 CS+ without footshock delivery.

Pavlovian fear discrimination re-acquisition (15-mo old rats) (2 days): Food deprived rats were submitted again to 2 days in the Pavlovian fear discrimination task. During re-acquisition, electrical footshock was set at 0.3 mA.

For each animal and each CS (CS+ and CS–), suppression ratios $a/(a+b)$ were calculated, where a is the number of lever presses during the 20-s CS and b the number of lever presses before the CS (20-s). Data were averaged by blocks of two trials and by session. A discrimination index was also calculated by subtracting suppression ratios to CS– from suppression ratios to CS+. Freezing to CS+, expressed as the percentage of time spent freezing during the stimulus was scored during the first session of each phase.

2.5. Test of hedonic sucrose perception: taste reactivity paradigm

At the age of 13 months, hedonic affective perception was studied using a taste reactivity paradigm, adapting a voluntary intake procedure which allows studying oro-facial hedonic expressions elicited by the taste of sucrose in animals' mouth (Berridge, 2000; Pecina, Cagniard, Berridge, Aldridge, & Zhuang, 2003).

2.5.1. Apparatus

Taste reactivity testing was performed in a square chamber (24 × 24.5 cm and 35 cm high) with opaque wall and transparent floor all made in Plexiglas. A transparent dish (5 cm diameter) containing 15 ml of one of three sucrose solutions was disposed inside the chamber. A mirror placed beneath the chamber floor allowed videotaping rat's mouth through the transparent floor.

2.5.2. Taste reactivity

To avoid neophobia to sucrose taste, rats were first habituated to the to-be-used doses of sucrose in a different apparatus. Rats were also habituated to the testing chamber (described in supplementary materials), without dish, for 15 min on the day before the first testing day. To ensure intake attempts, rats were water-deprived 30 min before each test. 1h30 before the test, 10 g of home food cage were also given in order to equalize animals' alimentary motivation. Each test session began by a 10 min habituation period followed by a 5 min testing period with sucrose solution (0.01, 0.1, or 1.0 M) during which behavior was videotaped for off-line analysis. The three concentrations of sucrose were compared presented in a counterbalanced order during three trials spaced 48 h apart.

2.5.3. Video analysis

Affective hedonic reaction patterns were scored in slow-motion video analysis using the freeware J watcher + video 1.0 ((c) 2000–2007–Daniel T. Blumstein, Janice C. Daniel, and Christopher S. Evans). We scored hedonic, aversive and neutral oro-facial reactions, in time bins, during a standardized 5-s period occurring immediately after each drinking bout as previously described (Berridge, 2000; Pecina et al., 2003). In order to standardize the results, a rate of affective reaction was calculated for each animal by dividing the total number of affective reactions by the total number of drinking bouts. We also scored rearings (as single occurrence) and grooming behaviors (in 5-s time bins).

2.6. Pavlovian approach task

At 14 months of age, rats were finally trained to run for a 0.1 M sucrose reward in a straight runway described in (Delatour & Gisquet-Verrier, 1996). After learning, two successive shifts in reward hedonic value were performed: a positive and a negative one. Rats were food deprived (90% of their original free-feeding body weight) and the experiment was conducted with a white noise as masking background. Rats were water deprived for 1 h before each session.

2.6.1. Pre-training

Pre-training started with 2 habituation sessions of 15 min to the maze and the reward, during which the number of entries in each part of the apparatus was scored on-line allowing the analysis of the spontaneous behavior of each animal (total distance and running speed). Rats were then subjected to 2 sessions during which they were placed in the start box for 10 s before being allowed to explore the runway during 15 min with 1 ml of sucrose 0.1 M in the goal box. On the second day, rats were placed directly in the goal box in presence of same reward during three trials until they consume it.

2.6.2. Training

Training was performed over five sessions of 10 trials to reach an optimum moderate learning performance still allowing to detect an effect of the first (positive) shift (according to preliminary data). Rats were tested by squads of four animals and the inter-trial interval was the time for the four rats to perform the first trial. For each trial, rats were placed in the start box for 10 s. The door was then opened and rats had to run and reach the goal box. The goal door was then closed and rats allowed drinking the 0.1 ml sucrose 0.1 M reward for at least 15 s with a 90 s cut-off. Maximum latency to exit from the start box was set to 120 s after what rats were gently pushed in the alley. The maximum latency to reach the goal box was 120 s after what rats were directly put in the goal box.

2.6.3. Positive hedonic shift (HEDO+)

For the next two sessions, the reward was shifted from 0.1 M sucrose to 1 M sucrose.

2.6.4. Negative hedonic shift (HEDO–)

On the two following sessions, the reward was shifted from 1 M sucrose to 0.01 M sucrose.

Latencies to leave the start box, to reach the goal box and to drink the reward were recorded. "Breaks" in direct run comprising sum of stops and returns (reversals of direction in the runway) were noted. We evaluated the impact of the shift by calculating for each behavioral measure a coefficient of change $a/(a + b)$ where a is the behavioral measure on the 2 days of shift and b the behavioral measure from the 2 days preceding the shift.

2.7. Neuropathology

At 15 months of age, rats were killed with an overdose of pentobarbital (120 mg/kg, i.p.; Sanofi) and perfused transcardially with 100 ml of 0.9% sodium chloride containing 5% heparin and 1% sodium nitrite, followed by 300 ml of cold 4% paraformaldehyde (4 °C) in 0.1 M phosphate buffer (PB). Brains were removed, post-fixed for 4 h at 4 °C in the same fixative, and immersed in a graded series of sucrose phosphate-buffered solutions (12%, 16%, and 18%). Serial coronal sections (40 μm thick) of the right brain hemisphere were cut on a freezing microtome and collected in an anatomical series. Using a random first section, a 1:12 series of sections was sampled throughout the dorsal striatum and the nucleus accumbens and a 1:4 series of sections was sampled throughout the central and basolateral nuclei of amygdala (from bregma –1.6 mm to –2.8 mm). Those sections were stained with 0.15% galloycyanine (Gurr, Poole, UK) and digitized using a Nikon super coolscan 5000 ED (Nikon, Champigny sur Marne, France). Outlines of the dorsal part of the striatum as well as ventricles were done according to (Nguyen et al., 2006) and outlines of nucleus accumbens and amygdala subparts were done in reference to the brain atlas (Paxinos & Watson, 2004). Surfaces were then obtained with ImageJ freeware (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. NIH, Bethesda, Maryland, USA,) using a macro command. We calculated mean surface per section and volume using the following formula: $\text{Volume} = \sum(\text{surface} * \text{sampling} * \text{thickness})$.

2.8. Statistics

Data were analyzed with contrast analysis of variance (ANOVAs).

3. Results

3.1. Motor tests

At each age of testing, tgHD animals traveled an equivalent distance on the beam compared to wild-types (Fig. 1A; 6, 11,

14 months; $F < 1$ and 7 months $F(1, 19) = 1.19$; *ns*). Wire suspension test evidenced no genotype difference in 6 or 7 months of age ($F < 1$; *ns* and $F(1, 19) = 1.98$; *ns*). However, as expected, transgenic animals performed significantly worse than WT at 11 ($F(1, 19) = 4.31$; $p = .05$) and 14 months ($F(1, 19) = 5.97$; $p < .05$), confirming the emergence of slight motor symptoms (Fig. 1B).

3.2. Discriminative fear conditioning

3.2.1. Instrumental pre-training

There was no significant effect of genotype on the rate of instrumental responses during the entire VI paradigm ($F < 1$), but a significant genotype * session interaction ($F(2, 38) = 3.93$; $p < .05$)

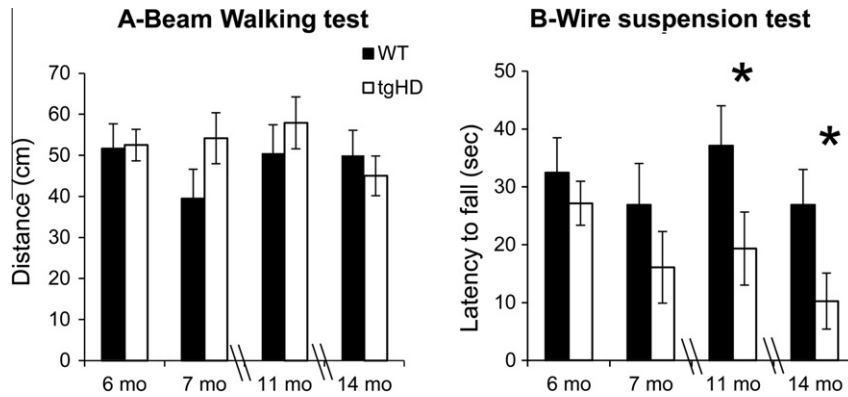


Fig. 1. Motor tests performed at 6, 7, 11 and 14 months of age. Mean distance travelled during the beam walking test (A) and mean latency to fall during the wire suspension test (B) are represented for transgenic (tgHD, white histograms) and wild-type animals (WT, black histograms). Note the emergence of motor impairment beginning at 11 months with significant lower latency to fall for tgHD rats. Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

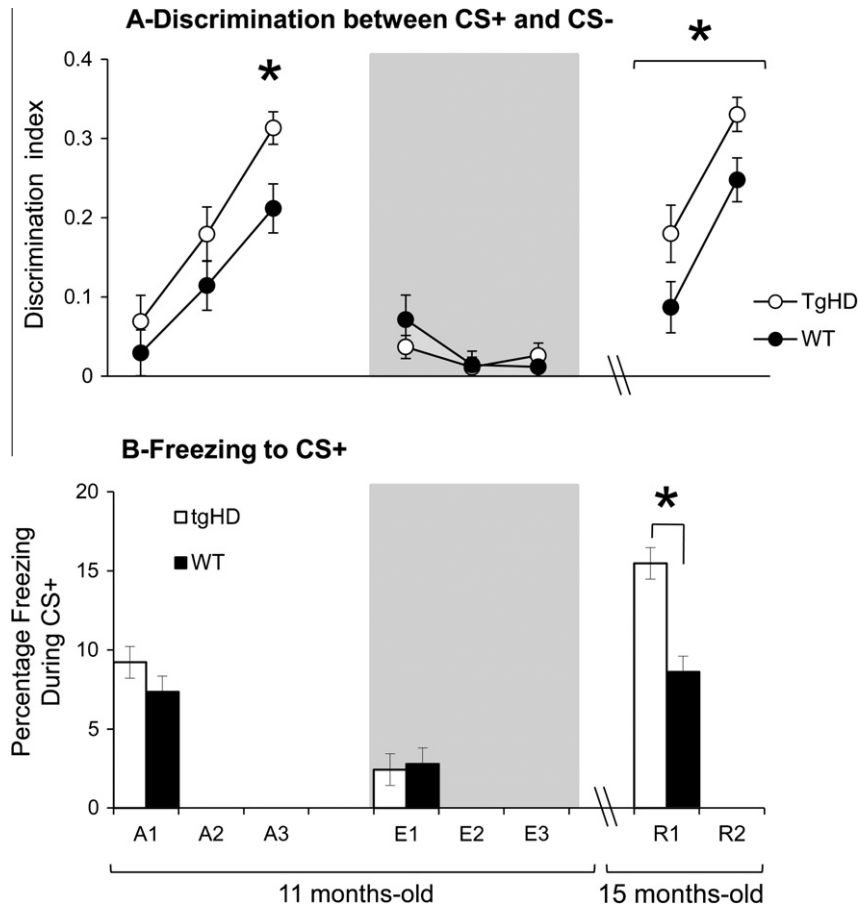


Fig. 2. Discriminative Pavlovian fear conditioning with acquisition and extinction performed at 11 months and re-acquisition at 15 months of age. Mean discrimination index between CS+ and CS- (A) and mean percentage of freezing during the CS+ (B) on the first sessions of acquisition (A1), extinction (E1) and re-acquisition (R1) are represented for transgenic (tgHD, white histograms) and wild-type animals (WT, black histograms). Note that tgHD animals display a significantly better discrimination index than WT during acquisition and re-acquisition, as well as a significantly higher freezing to the CS+ during the first re-acquisition session. Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

indicating that tgHD animals increased more their rate of lever presses during VI sessions than WT.

3.2.2. Acquisition

Fear discrimination learning was evidenced in both genotypes by a significant increase of the discrimination index during the three sessions ($F(2, 38) = 56.59$; $p < .001$) and by the development of freezing to the CS+ during the first session (Fig. 2A and B; due to some video recording technical problems, freezing of only 8 tgHD and 6 WT rats was scored). Transgenic animals tended to show a better discrimination index than WT ($F(1, 19) = 4.21$; $p = .054$) with no genotype * session interaction ($F(2, 38) = 1.1$; ns). This difference became clearly significant on the last day of acquisition ($F(1, 19) = 9.05$; $p < .01$) (Fig. 2A). To test further whether the genotype effect on discrimination performance was due to differential effect on CS+ relative to CS-, we investigated further response rates for each CS separately. The better discrimination was not linked to a genotype effect on suppression to CS+ ($F(1, 19) = 1.14$; ns) but to a reduced suppression to CS- by tgHD rats compared to WT ($F(1, 19) = 8.98$; $p < .01$) (Fig. S1).

3.2.3. Extinction

Extinction learning was evidenced by a drop of the discrimination index between the last training session and the first extinction one ($F(1, 19) = 69.9$; $p < .001$) and by a further reduction across extinction sessions ($F(2, 38) = 4.68$; $p < .05$) (Fig. 2A). TgHD rats demonstrated a stronger suppression to CS- ($F(1, 19) = 4.27$; $p = .05$) compared to WT (Fig. S1). With regard to CS+, tgHD rats showed more suppression than WT on the last day of extinction ($F(1, 19) = 4.25$; $p = .05$) (Fig. S1). Freezing to CS+ during the first extinction session was also drastically decreased compared to the first training session ($F(1, 12) = 9.98$; $p < .01$) (Fig. 2B) without a genotype effect ($F < 1$).

3.2.4. Re-acquisition

The discrimination index increased significantly between the last day of extinction and the first day of re-acquisition ($F(1, 19) = 20.67$; $p < .001$) (Fig. 2A). Similarly, a significantly higher level of freezing to CS+ (scored on 12 tgHD and 8 WT) appeared between the first session of extinction and the first session of re-acquisition ($F(1, 18) = 57.34$; $p < .0001$) (Fig. 2B). During the 2 days of re-acquisition, both groups significantly increased their discrimination indexes ($F(1, 19) = 36.6$; $p < .0001$) (Fig. 2A) with tgHD rats showing, once again, a significantly higher discrimination index than WT rats ($F(1, 19) = 7.77$; $p < .05$) (Fig. 2A). This was due to a more rapid relearning of the aversive value of the CS+ in tgHD animals than in WT rats ($F(1, 19) = 6.1$; $p < .05$), with no genotype effect on CS- ($F < 1$) (Fig. S1). tgHD rats also demonstrated significantly more freezing to the CS+ than WT animals during the first re-acquisition session ($F(1, 18) = 5.33$; $p < .05$) (Fig. 2B).

3.3. Test of affective perception

Even though animals were pre-exposed to liquid sucrose, one homozygous and three wild-type rats demonstrated neophobia for sucrose and were discarded from taste reactivity and runway experiments. All the remaining rats presented relevant sucrose-induced hedonic reactions. During the test, neither genotype ($F_s < 1$) nor sucrose concentration had significant effects on rearing ($F(2, 30) = 3.07$; ns) or grooming behaviours ($F(2, 30) = 1.56$; ns). As expected, however, increasing sucrose concentration produced a significant increase of the number of drinking bouts ($F(2, 30) = 15.07$; $p < .001$) (Fig. 3A) and the total number of hedonic responses ($F(2, 30) = 19.67$; $p < .001$, data not shown). There was no significant effect of genotype on the number of drinking bouts ($F < 1$). To analyze the hedonic perception taking into

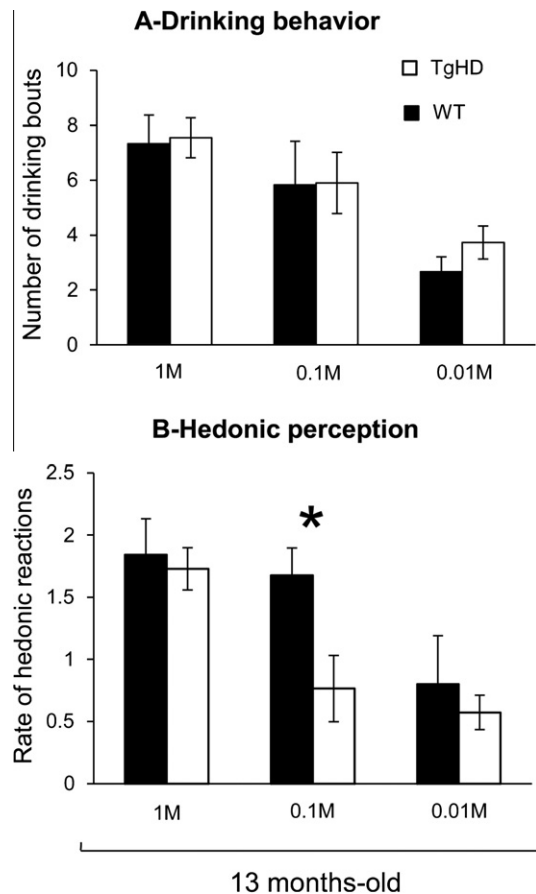


Fig. 3. Mean number of drinking bouts (A) and mean rate of hedonic reactions (B), as a function of sucrose concentrations (1 M, 0.1 M and 0.01 M), are represented for 13 months-old transgenics (tgHD, white histograms) and wild-type animals (WT, black histograms). Note that tgHD animals show a significantly lower mean rate of hedonic reactions to mild sucrose concentration than WT. Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

account the fact that animals do not necessarily perform equivalent numbers of drinking bouts, we calculated the rate of affective reactions normalizing the number of hedonic responses with regard to the number of drinking bouts for each animal during each test. With this measure, there was a clear impact of genotype on the rate of affective reactions to sucrose ($F(1, 15) = 5.63$; $p < .05$) (Fig. 3B), mainly due to a reduced rate of hedonic reactions demonstrated by tgHD rats to the intermediate 0.1 M sucrose concentration ($F(1, 15) = 7.10$; $p < .05$) (Fig. 3B). We suggest that the absence of genotype effect on hedonic perception in highest and lowest sucrose concentration might be linked to a ceiling effect for the highly concentrated sucrose solution and to an insufficient number of hedonic responses triggered by the low-concentrated solution.

3.4. Pavlovian approach task

During habituation to the runway task, tgHD rats demonstrated comparable running speeds as WT rats ($F(1, 15) < 1$; ns), indicating no gross motor symptoms in these transgenics.

3.4.1. Learning

With repeated testing, all animals showed decreased latencies to exit the start box ($F(4, 60) = 14.49$; $p < .001$), to reach the goal box ($F(4, 60) = 6.19$; $p < .001$), number of breaks ($F(4, 60) = 8.16$; $p < .001$) and time spent to consume the reward ($F(4, 60) = 21.50$; $p < .001$) (Fig. 4). No genotype effect or genotype * session interaction was obtained for any of these parameters: Start latency ($F(1, 15) < 1$; ns and $F(4, 60) = 1.14$; ns), latency to reach the goal

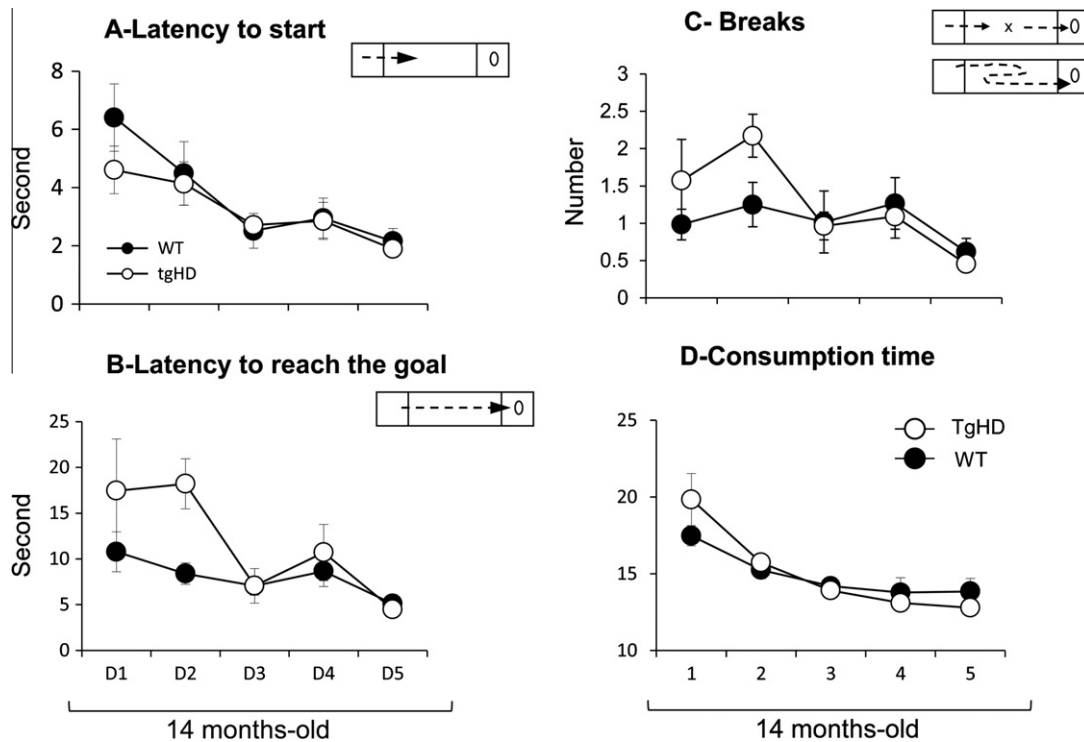


Fig. 4. Learning of the pavlovian approach task in runway for 14 months-old animals. Mean latency to start (A), latency to reach the goal (B), number of breaks (C) and reinforcement consumption time (D) are represented during the five learning sessions for transgenic (tgHD, open circles) and wild-type animals (WT, black circles). Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

box ($F(1, 15) = 1.98$; *ns* and $F(4, 60) = 1.14$; *ns*), number of breaks ($F(1, 15) < 1$; *ns* and $F(4, 60) = 1.96$; *ns*) and consumption time ($F(1, 15) < 1$; *ns* and $F(4, 60) = 1.53$; *ns*).

3.4.2. Hedonic shifts

- (1) HEDO+: When animals were shifted to a more hedonic value of reinforcement (HEDO+, from 0.1 M during learning to sucrose 1 M), both genotypes demonstrated a significant decrease of latencies to start and to reach the goal box, and of the number of breaks (coefficients significantly under 0.5; respectively : $F(1, 15) = 54.43$; $p < .001$; $F(1, 15) = 138.44$; $p < .001$; $F(1, 15) = 375.88$; $p < .001$) with no change in consumption time ($F(1, 15) = 1.69$; *ns*) (Fig. 5). While both genotypes were similarly impacted on latency to start, latency to reach the goal box or time to consume reward ($F(1, 15) = 2.48$; *ns*, $F < 1$; $F(1, 15) = 1.6$; *ns*) (Fig. 5A, B and D), tgHD rats demonstrated a significantly greater decrease in the number of breaks evidenced by a lower coefficient of change in comparison to WT rats ($F(1, 15) = 4.92$; $p < .05$) (Fig. 5C).
- (2) HEDO-: Changing the reward from a highly hedonic one (1 M) to a very low hedonic one (0.01 M, HEDO-) induced, for both genotypes, an increase in all measured parameters (coefficient of change > 0.5): the latency to start ($F(1, 15) = 16.07$; $p < .01$) and to reach the goal box ($F(1, 15) = 68.96$; $p < .001$), the number of breaks performed ($F(1, 15) = 199.02$; $p < .001$), and also the time spent to consume reward ($F(1, 15) = 97.07$; $p < .001$), leading even to the occurrence of trials with no consumption (Fig. 6). Interestingly, while there was no genotype effect on both latency measures ($F(1, 15) = 1.7$; *ns*, $F(1, 15) = 1.65$; *ns*) (Fig. 5A and B), tgHD rats demonstrated a greater increase in the number of breaks evidenced by a significantly higher coefficient of change ($F(1, 15) = 9.16$; $p < .01$) (Fig. 5C). The observed major

impact of HEDO- shift on breaks and, to a lesser extent, on latencies might in part be explained by the fact that latencies measures are usually very variable, and therefore could be less sensitive to subtle impairments. This effect of genotype for breaks might partly be biased by the performance obtained in the HEDO+ shift, as the behavior during the previous shift acts as reference for calculation. Nevertheless, the observed effect on breaks was coherent with the concurrent tendency of tgHD rats to take also more time consuming the reward than WT rats during the HEDO- phase ($F(1, 15) = 4.07$; $p = .06$), while presenting normal performance on this measure during HEDO+. Such increased number of breaks (reversal in run and stops) has previously been shown to be a clear marker of reduced motivation to catch the reward (Pecina et al., 2003).

3.5. Neuropathology

Compared to WT rats, the 15-month-old tgHD rats did not demonstrate any evident lesion of the dorsal striatum: mean surface per section and volume were similar in the two genotypes ($F_s < 1$, Fig. 6), with no detectable ventricular enlargement in tgHD rats ($F < 1$; data not shown). Regarding limbic structures, we found no reduction in mean surface per section or volume for the nucleus accumbens or the basolateral nucleus of the amygdala ($F_s < 1$, Fig. 6). In contrast, tgHD rats demonstrated a significant reduction in mean surface per section of the central nucleus of the amygdala, compared to WT animals ($F(1, 19) = 4.76$; $p < .05$ Fig. 6A), with a trend for a volume shrinkage ($F(1, 19) = 2.66$; $p = .12$, Fig. 6B).

4. Discussion

In this study, we characterized emotional alterations in aged transgenic rats for Huntington disease. In symptomatic tgHD rats,

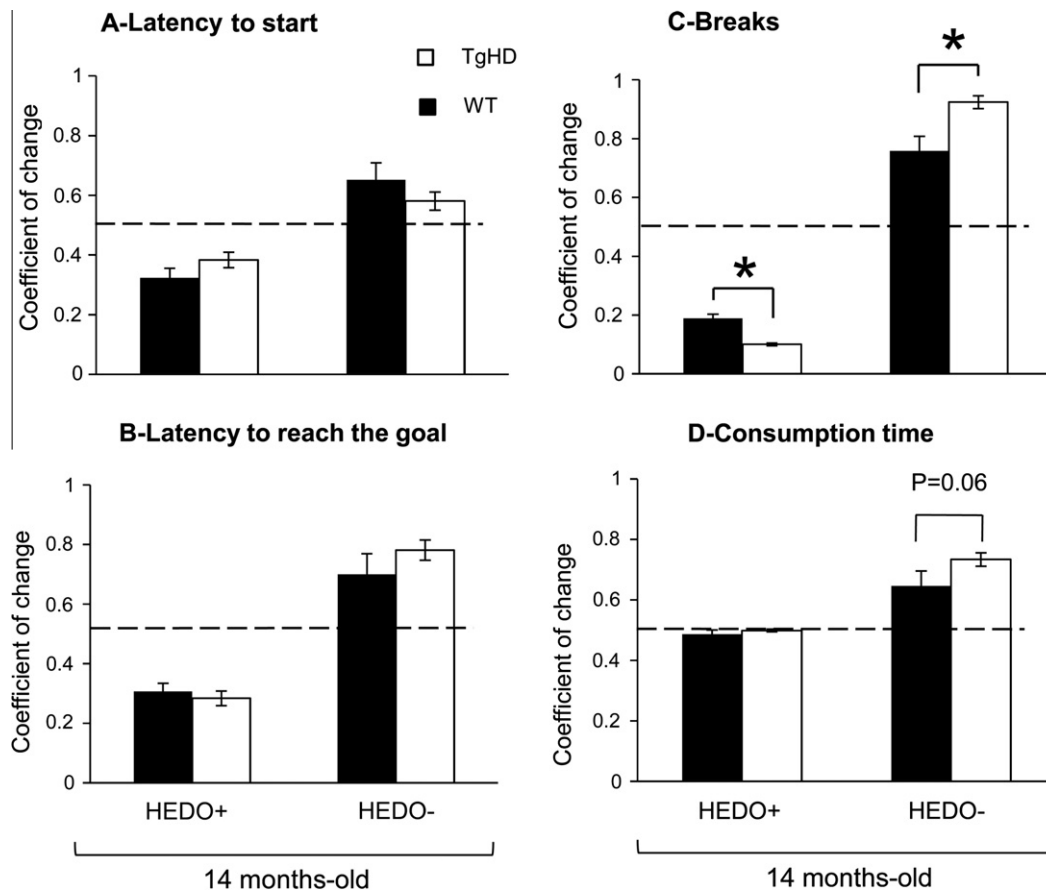


Fig. 5. Effects of positive (HEDO+, from 0.1 M to 1 M sucrose concentration) or negative (HEDO-, 1 M–0.01 M sucrose concentration) shifts of the hedonic value of the reinforcement in a Pavlovian approach task in 14 months old animals. Mean coefficients of change during HEDO+ or HEDO- for latency to start (A), latency to reach the goal (B), number of breaks (C) and reinforcement consumption time (D) are represented for transgenic (tgHD, white histograms) and wild-type animals (WT, black histograms). Note the significant greater impact of HEDO+ and HEDO- shift in tgHD animals for coefficients of change in breaks in comparison to WT. Similarly, tgHD rats showed a tendency to increase their consumption times as compared to WT rats during HEDO-. Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

we found a blunt of oro-facial hedonic reactions following consumption of sucrose. Alterations in aversive learning and emotional control were also observed, with a better learning and re-acquisition of emotional fear conditioning and hyper-reactivity to both positive and negative shifts in the reward value. These emotional alterations were accompanied by a significant shrinkage of the central nucleus of the amygdala.

4.1. Motor impairments and striatal dysfunction

In agreement with previous results (Nguyen et al., 2006), motor symptoms appeared in our tgHD rats between 7 and 11 months with a progressive deterioration of muscular tone. Presence of motor symptoms with no striatal volume reduction in our study is in line with a recent behavioral longitudinal study showing slight motor impairments with no striatal volume loss but with slight significant decrease of DARPP32 positive striatal cell in 14 month-old tgHD animals (Bode et al., 2008). We thus might suggest that in our tgHD rats discrete striatal degeneration was present but not revealed through volume quantification. Another possibility is that in our study, the previous longitudinal behavioral study may have delayed the progression of pathological neurodegeneration in tgHD animals, as the reports of positive effects of rehabilitation on patients or in mice model also suggest (Laviola, Hannan, Macri, Solinas, & Jaber, 2008; Zinzi et al., 2007). However, the presence of motor symptoms in our tgHD rats from 11 months of age suggests the beginning of a dorsal striatum dysfunction.

4.2. Emotional alterations

A decrease of emotional hedonic responses following mild sucrose consumption was observed in 13 month-old tgHD animals. The blunt in the evaluation of emotional hedonic value of sucrose in transgenic rats might be associated with anhedonic behavior demonstrated by YAC128 Huntington disease mice (Pouladi et al., 2009). More than emotional perception blunting, tgHD rats also demonstrated better emotional learning in discriminative Pavlovian fear conditioning, both during acquisition and re-acquisition. This was however due to opposite effects depending on the rats' age or experience: lower unconditioned fear response to CS- at 11 months and higher conditioned fear to CS+ at 15 months. The reduced anxiety in tgHD rats reported previously (Bode et al., 2008; Nguyen et al., 2006) may have been responsible for a reduction in fear generalization from the aversive context or from the CS+ which normally induces unconditioned fear reactions to CS- early in training. It may be worth mentioning that the genotype effect seen on CS- unconditioned fear response might have been unraveled because this particular CS- (house light off) may not have been totally neutral, still inducing unconditioned fear reaction and suppression at the end of learning. In contrast, during re-acquisition, the higher discriminative performance in tgHD rats relied specifically on more fear responses to CS+. One may suggest that, with progression of disease, 15 month-old tgHD rats became more sensitive to the emotional value of electrical footshock and therefore developed greater conditioned responses to CS+.

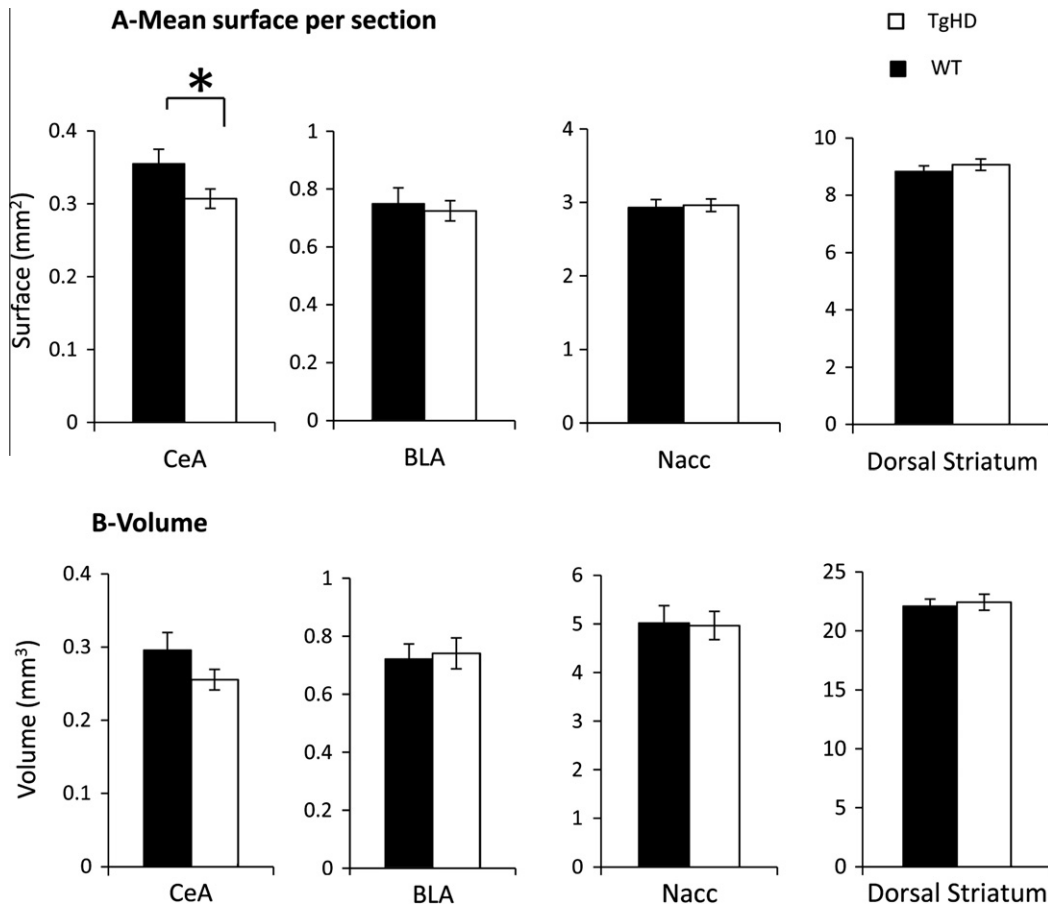


Fig. 6. Mean surface per section (A) and volume (B) of amygdala nuclei (Basolateral, BLA and central nucleus, CeA) and ventral (nucleus accumbens, Nacc) or dorsal striatum for transgenic (tgHD, white histograms) and wild-type animals (WT, black histograms). Data are expressed as means \pm S.E.M. * $p < .05$.

In line with an age-related emergence of hypersensitivity to aversive events, tgHD rats also demonstrated hyper-reactivity to partial absence or to changes in emotional value of reinforcement in different tasks at 11 and 14 months of age. In the Pavlovian approach task, whereas the higher reactivity to the positive shift in the hedonic value of the sucrose reinforcement in tgHD rats might reflect their differential hedonic perception, their higher reactivity to the negative shift cannot be accounted for by it. A lower hedonic perception to mild sucrose with a normal emotional perception of higher sucrose concentration may result in a perceptive greater positive hedonic shift in tgHD rats. In contrast, hyper-reactivity of tgHD rats to negative hedonic shift would not be related to difference in hedonic perception of tgHD rats. In normal animals, the reduction in quality or quantity of expected reinforcement has been suggested to induce aversive emotional response of frustration, thus sustaining deleterious effect on performance (Aguilar et al., 2002; Amsel, 1962; Roozendaal, Wiersma, Driscoll, Koolhaas, & Bohus, 1992; Rosas et al., 2007; Salinas & White, 1998; Torres et al., 2005). We may suggest that the greater impact of hedonic negative shift in tgHD rats is linked to an increase in frustration in relation to their increased emotional response to aversive stimuli at 15 months. Similarly, greater response rate of tgHD animals in variable interval schedule of reinforcement during pre-training could also reflect greater frustration due to the partial rate of reinforcement in this task.

Our results thus suggest two distinct types of emotional alterations early in symptomatic tgHD rats, emotional blunting of unconditioned affective hedonic perception and progressive hyper-sensitivity to aversive emotional events demonstrated by greater

acquisition of fear responses to aversive stimuli and stronger frustration to negative situations.

4.3. Possible neurobiological substrate

Our data showing a shrinkage of CeA is relevant to the known polyglutamine (polyQ)-containing inclusions and aggregates in CeA in this tgHD model (Petrasch-Parwez et al., 2007) and to amygdala volume reduction mentioned in HD patient (Douaud et al., 2006). We might suggest that CeA shrinkage would be responsible for some of the emotional alterations, in particular the hypersensitivity to aversive events in relation to the known involvement of this structure in control or expression of fear responses (LeDoux, 2003; Pare et al., 2004). However, one major issue is to understand how shrinkage of CeA, suggesting a decreased number of cells, may induce hypersensitivity rather than a decreased sensitivity to aversive emotional events. Interestingly, recent results show increased fear responses to a conditioned stimulus along with an increased basal cFos expression in a shrunk CeA in a transgenic mice model for dystonia (Yokoi et al., 2009). Those results highlight the possibility that a shrunk CeA might in fact be hyperactive. Moreover, an activated state of the amygdala has already been associated with pathological negative emotional manifestations in depressive patients (Drevets 1999; Drevets 2003). We could thus suggest that during the progression of degeneration in CeA, remaining cells might be hyperactive, in a compensatory process, leading to hypersensitivity to aversive events.

Dysfunction in brain circuits processing or controlling emotion and motivation may be linked to emotional alterations such as

hypersensitivity to aversive emotional events. Blunting of emotional oro-facial perception in tgHD rats might be due to dysfunction of circuits involving the ventral striatum which is highly involved in emotional affective reactions to sucrose taste (Faure et al., 2010; Pecina & Berridge, 2005; Reynolds & Berridge, 2002) and where aggregates have been observed in this animal model (Petrasch-Parwez et al., 2007). Similarly, it is known that frontostriatal abnormalities influence the course of emotional pathology and of behavioral reaction to changes in reinforcement availability (Morgan, Romanski, & LeDoux, 1993; Quirk & Beer, 2006). Electrophysiological and morphological studies have reported dysfunction of cortico-striatal networks that may originate in part from cortical alteration in mouse as well as rat tgHD models (Cepeda et al., 2003; Laforet et al., 2001; Miller et al., 2008; Walker et al., 2008). Furthermore, in humans, increased amygdala activity (Drevets, 1999) has been shown to be associated with dysfunction of the prefrontal cortex and monoamine neurotransmitter systems that normally modulate such responses, leading to hypothesize that such amygdala dysfunction is a result of its inadequate inhibition by prefrontal centers (Drevets, 2003).

Some of the emotional alterations that we demonstrate here in the rat model of tgHD may thus reflect a dysfunction of the limbic system and/or of the frontal control on limbic structures.

5. Conclusion

In conclusion, we show emotional blunting and hypersensitivity to aversive emotional events in early symptomatic tgHD rats. These new results extend the face validity of this model of Huntington disease regarding neuropsychiatric symptoms, in coherence with emotional blunting and emotion dyscontrol seen in clinically affected HD patients (Kingma, van Duijn, Timman, van der Mast, & Roos, 2008; Paradiso et al., 2008; Snowden et al., 2008; Sprengelmeyer et al., 1996; Thompson, Snowden, Craufurd, & Neary, 2002; Wang, Hoosain, Yang, Meng, & Wang, 2003). Functional alteration in brain circuits including limbic circuitries, in particular with shrinkage of the central nucleus of the amygdala along with a possible deficit in frontal control, may be responsible for these emotional disorders. Whether these emotional disturbances are present at a presymptomatic stage in this tgHD model remains to be tested. The fine characterization of emotional disorders in HD will provide tools for an early detection of their appearance, at the beginning or even before clinical onset of HD, and therefore potentially improve the efficiency of candidate therapeutics to slow the progression of HD in the near future.

Financial disclosures

The authors reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

Acknowledgments

This research was supported by a grant from the French National Research Agency ANR-Neuro-048 MEMOTIME to Valérie Doyère and a grant from the National Center for Scientific Research (CNRS) to Nicole El Massioui.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.nlm.2010.11.010.

References

- Aguilar, R., Gil, L., Flint, J., Gray, J. A., Dawson, G. R., Driscoll, P., et al. (2002). Learned fear, emotional reactivity and fear of heights: A factor analytic map from a large F(2) intercross of Roman rat strains. *Brain Res Bull*, *57*, 17–26.
- Amsel, A. (1962). Frustrative nonreward in partial reinforcement and discrimination learning: Some recent history and a theoretical extension. *Psychol Rev*, *69*, 306–328.
- Berridge, K. C. (2000). Measuring hedonic impact in animals and infants: Microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neurosci Biobehav Rev*, *24*, 173–198.
- Bode, F. J., Stephan, M., Suhling, H., Pabst, R., Straub, R. H., Raber, K. A., et al. (2008). Sex differences in a transgenic rat model of Huntington's disease: Decreased 17beta-estradiol levels correlate with reduced numbers of DARPP32+ neurons in males. *Hum Mol Genet*, *17*, 2595–2609.
- Bolivar, V. J., Manley, K., & Messer, A. (2003). Exploratory activity and fear conditioning abnormalities develop early in R6/2 Huntington's disease transgenic mice. *Behav Neurosci*, *117*, 1233–1242.
- Bots, G. T., & Bruyn, G. W. (1981). Neuropathological changes of the nucleus accumbens in Huntington's chorea. *Acta Neuropathol*, *55*, 21–22.
- Brown, B. L., Richer, P., & Doyere, V. (2007). The effect of an intruded event on peak-interval timing in rats: Isolation of a postcue effect. *Behav Process*, *74*, 300–310.
- Cepeda, C., Hurst, R. S., Calvert, C. R., Hernandez-Echeagaray, E., Nguyen, O. K., Jocoy, E., et al. (2003). Transient and progressive electrophysiological alterations in the corticostriatal pathway in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*, *23*, 961–969.
- Ciamei, A., & Morton, A. J. (2008). Rigidity in social and emotional memory in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Learn Mem*, *89*, 533–544.
- de la Monte, S. M., Vonsattel, J. P., & Richardson, E. P. Jr. (1988). Morphometric demonstration of atrophic changes in the cerebral cortex, white matter, and neostriatum in Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, *47*, 516–525.
- Delatour, B., & Gisquet-Verrier, P. (1996). Prelimbic cortex specific lesions disrupt delayed-variable response tasks in the rat. *Behav Neurosci*, *110*, 1282–1298.
- Deng, Y. P., Albin, R. L., Penney, J. B., Young, A. B., Anderson, K. D., & Reiner, A. (2004). Differential loss of striatal projection systems in Huntington's disease: A quantitative immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat*, *27*, 143–164.
- Douaud, G., Gaura, V., Ribeiro, M. J., Lethimonnier, F., Maroy, R., Verny, C., et al. (2006). Distribution of grey matter atrophy in Huntington's disease patients: A combined ROI-based and voxel-based morphometric study. *Neuroimage*, *32*, 1562–1575.
- Drevets, W. C. (1999). Prefrontal cortical-amygdalar metabolism in major depression. *Ann NY Acad Sci*, *877*, 614–637.
- Drevets, Wayne. C. (2003). Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders. *Ann NY Acad Sci*, *985*, 420–444.
- Duff, K., Paulsen, J. S., Beglinger, L. J., Langbehn, D. R., & Stout, J. C. (2007). Psychiatric symptoms in Huntington's disease before diagnosis: The predict-HD study. *Biol Psychiatry*, *62*, 1341–1346.
- Faure, A., Richard, J. M., & Berridge, K. C. (2010). Desire and dread from the nucleus accumbens: Cortical glutamate and subcortical GABA differentially generate motivation and hedonic impact in the rat. *PLoS One*, *5*, e11223.
- File, S. E., Mahal, A., Mangiarini, L., & Bates, G. P. (1998). Striking changes in anxiety in Huntington's disease transgenic mice. *Brain Res*, *805*, 234–240.
- Folstein, S., Abbott, M. H., Chase, G. A., Jensen, B. A., & Folstein, M. F. (1983). The association of affective disorder with Huntington's disease in a case series and in families. *Psychol Med*, *13*, 537–542.
- Hickey, M. A., & Chesselet, M. F. (2003). The use of transgenic and knock-in mice to study Huntington's disease. *Cytogenet Genome Res*, *100*, 276–286.
- Hickey, M. A., Gallant, K., Gross, G. G., Levine, M. S., & Chesselet, M. F. (2005). Early behavioral deficits in R6/2 mice suitable for use in preclinical drug testing. *Neurobiol Dis*, *20*, 1–11.
- Hickey, M. A., Kosmalska, A., Enayati, J., Cohen, R., Zeitlin, S., Levine, M. S., et al. (2008). Extensive early motor and non-motor behavioral deficits are followed by striatal neuronal loss in knock-in Huntington's disease mice. *Neuroscience*, *157*, 280–295.
- Kantor, O., Temel, Y., Holzmann, C., Raber, K., Nguyen, H. P., Cao, C., et al. (2006). Selective striatal neuron loss and alterations in behavior correlate with impaired striatal function in Huntington's disease transgenic rats. *Neurobiol Dis*, *22*, 538–547.
- Kingma, E. M., van Duijn, E., Timman, R., van der Mast, R. C., & Roos, R. A. (2008). Behavioural problems in Huntington's disease using the problem behaviours assessment. *Gen Hosp Psychiatr*, *30*, 155–161.
- Laforet, G. A., Sapp, E., Hopf, A., McIntyre, C., Boyce, F. M., Campbell, M., et al. (2001). Changes in cortical and striatal neurons predict behavioral and electrophysiological abnormalities in a transgenic murine model of Huntington's disease. *J Neurosci*, *21*, 9112–9123.
- Lange, H., Thorne, G., Hopf, A., & Schroder, K. F. (1976). Morphometric studies of the neuropathological changes in choreatic diseases. *J Neurol Sci*, *28*, 401–425.
- Laviola, G., Hannan, A. J., Macri, S., Solinas, M., & Jaber, M. (2008). Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis*, *31*, 159–168.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, *23*, 155–184.
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol*, *23*, 727–738.

- Menalled, L., El-Khodori, B. F., Patry, M., Suarez-Farinas, M., Orenstein, S. J., Zahasky, B., et al. (2009). Systematic behavioral evaluation of Huntington's disease transgenic and knock-in mouse models. *Neurobiol Dis*, 35, 319–336.
- Miller, B. R., Walker, A. G., Fowler, S. C., von Horsten, S., Riess, O., Johnson, M. A., et al. (2008). Dysregulation of coordinated neuronal firing patterns in striatum of freely behaving transgenic rats that model Huntington's disease. *Neurobiol Dis*, 37, 106–113.
- Morgan, M. A., Romanski, L. M., & LeDoux, J. E. (1993). Extinction of emotional learning: Contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett*, 163, 109–113.
- Nguyen, H. P., Kobbe, P., Rahne, H., Worpel, T., Jager, B., Stephan, M., et al. (2006). Behavioral abnormalities precede neuropathological markers in rats transgenic for Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 15, 3177–3194.
- Paradiso, S., Turner, B. M., Paulsen, J. S., Jorge, R., Ponto, L. L., & Robinson, R. G. (2008). Neural bases of dysphoria in early Huntington's disease. *Psychiat Res*, 162, 73–87.
- Pare, D., Quirk, G. J., & Ledoux, J. E. (2004). New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *J Neurophysiol*, 92, 1–9.
- Paulsen, J. S., Ready, R. E., Hamilton, J. M., Mega, M. S., & Cummings, J. L. (2001). Neuropsychiatric aspects of Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*, 71, 310–314.
- Pavese, N., Andrews, T. C., Brooks, D. J., Ho, A. K., Rosser, A. E., Barker, R. A., et al. (2003). Progressive striatal and cortical dopamine receptor dysfunction in Huntington's disease: A PET study. *Brain*, 126, 1127–1135.
- Paxinos, G., Watson, C. (2004). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (5 ed.): Elsevier.
- Pecina, S., & Berridge, K. C. (2005). Hedonic hot spot in nucleus accumbens shell: Where do mu-opioids cause increased hedonic impact of sweetness? *J Neurosci*, 25, 11777–11786.
- Pecina, S., Cagniard, B., Berridge, K. C., Aldridge, J. W., & Zhuang, X. (2003). Hyperdopaminergic mutant mice have higher "wanting" but not "liking" for sweet rewards. *J Neurosci*, 23, 9395–9402.
- Pecina, S., Smith, K. S., & Berridge, K. C. (2006). Hedonic hot spots in the brain. *Neuroscientist*, 12, 500–511.
- Petrascu-Parwez, E., Nguyen, H. P., Lobbecke-Schumacher, M., Habbes, H. W., Wiczorek, S., Riess, O., et al. (2007). Cellular and subcellular localization of Huntingtin [corrected] aggregates in the brain of a rat transgenic for Huntington disease. *J Comp Neurol*, 501, 716–730.
- Pouladi, M. A., Graham, R. K., Karasinska, J. M., Xie, Y., Santos, R. D., Petersen, A., et al. (2009). Prevention of depressive behaviour in the YAC128 mouse model of Huntington disease by mutation at residue 586 of huntingtin. *Brain*, 132, 919–932.
- Quirk, G. J., & Beer, J. S. (2006). Prefrontal involvement in the regulation of emotion: Convergence of rat and human studies. *Curr Opin Neurobiol*, 16, 723–727.
- Reiner, A., Albin, R. L., Anderson, K. D., D'Amato, C. J., Penney, J. B., & Young, A. B. (1988). Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85, 5733–5737.
- Reynolds, S. M., & Berridge, K. C. (2002). Positive and negative motivation in nucleus accumbens shell: Bivalent rostrocaudal gradients for GABA-elicited eating, taste "liking"/"disliking" reactions, place preference/avoidance, and fear. *J Neurosci*, 22, 7308–7320.
- Roosendaal, B., Wiersma, A., Driscoll, P., Koolhaas, J. M., & Bohus, B. (1992). Vasopressinergic modulation of stress responses in the central amygdala of the Roman high-avoidance and low-avoidance rat. *Brain Res*, 596, 35–40.
- Rosas, J. M., Callejas-Aguilera, J. E., Escarabajal, M. D., Gomez, M. J., de la Torre, L., Agüero, A., et al. (2007). Successive negative contrast effect in instrumental runway behaviour: A study with Roman high- (RHA) and Roman low- (RLA) avoidance rats. *Behav Brain Res*, 185, 1–8.
- Rosas, H. D., Koroshetz, W. J., Chen, Y. L., Skeuse, C., Vangel, M., Cudkovic, M. E., et al. (2003). Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: An MRI-based morphometric analysis. *Neurology*, 60, 1615–1620.
- Rudenko, O., Tkach, V., Berezin, V., & Bock, E. (2009). Detection of early behavioral markers of Huntington's disease in R6/2 mice employing an automated social home cage. *Behav Brain Res*, 203, 188–199.
- Salinas, J. A., & White, N. M. (1998). Contributions of the hippocampus, amygdala, and dorsal striatum to the response elicited by reward reduction. *Behav Neurosci*, 112, 812–826.
- Snowden, J. S., Austin, N. A., Sembi, S., Thompson, J. C., Craufurd, D., & Neary, D. (2008). Emotion recognition in Huntington's disease and frontotemporal dementia. *Neuropsychologia*, 46, 2638–2649.
- Sprengelmeyer, R., Schroeder, U., Young, A. W., & Epplen, J. T. (2006). Disgust in pre-clinical Huntington's disease: A longitudinal study. *Neuropsychologia*, 44, 518–533.
- Sprengelmeyer, R., Young, A. W., Calder, A. J., Karnat, A., Lange, H., Homberg, V., et al. (1996). Loss of disgust. Perception of faces and emotions in Huntington's disease. *Brain*, 119(Pt 5), 1647–1665.
- Tabrizi, S. J., Langbehn, D. R., Leavitt, B. R., Roos, R. A., Durr, A., Craufurd, D., et al. (2009). Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: Cross-sectional analysis of baseline data. *Lancet Neurol*, 8, 791–801.
- Thompson, J. C., Snowden, J. S., Craufurd, D., & Neary, D. (2002). Behavior in Huntington's disease: Dissociating cognition-based and mood-based changes. *J Neuropsychiat Clin Neurosci*, 14, 37–43.
- Torres, C., Candido, A., Escarabajal, M. D., de la Torre, L., Maldonado, A., Tobena, A., et al. (2005). Successive negative contrast in one-way avoidance learning in female Roman rats. *Physiol Behav*, 85, 377–382.
- Urbach, Y. K., Bode, F. J., Nguyen, H. P., Riess, O., & von Horsten, S. (2010). Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. *Methods Mol Biol*, 597, 333–356.
- von Horsten, S., Schmitt, I., Nguyen, H. P., Holzmann, C., Schmidt, T., Walther, T., et al. (2003). Transgenic rat model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 12, 617–624.
- Walker, A. G., Miller, B. R., Fritsch, J. N., Barton, S. J., & Rebec, G. V. (2008). Altered information processing in the prefrontal cortex of Huntington's disease mouse models. *J Neurosci*, 28, 8973–8982.
- Wang, K., Hoosain, R., Yang, R. M., Meng, Y., & Wang, C. Q. (2003). Impairment of recognition of disgust in Chinese with Huntington's or Wilson's disease. *Neuropsychologia*, 41, 527–537.
- Yokoi, F., Dang, M. T., Miller, C. A., Marshall, A. G., Campbell, S. L., Sweatt, J. D., et al. (2009). Increased c-fos expression in the central nucleus of the amygdala and enhancement of cued fear memory in Dyt1 DeltaGAG knock-in mice. *Neurosci Res*, 65, 228–235.
- Zinzi, P., Salmaso, D., De Grandis, R., Graziani, G., Maceroni, S., Bentivoglio, A., et al. (2007). Effects of an intensive rehabilitation programme on patients with Huntington's disease: A pilot study. *Clin Rehabil*, 21, 603–613.

DISCUSSION

DISCUSSION

Au travers de cette étude, nous avons voulu analyser le rôle du striatum dans la perception temporelle, ceci en observant s'il existait un dysfonctionnement de la voie préfronto-striatale ainsi qu'un déficit de perception temporelle dans la maladie de Huntington, maladie génétique caractérisée par la dégénérescence du striatum. Nous avons pour cela utilisé un modèle de rat transgénique pour la maladie de Huntington dont l'évolution est graduelle, ce qui nous a permis de réaliser une étude longitudinale temporelle (du présymptomatique au début du symptomatique). Nous avons soumis nos animaux à une tâche de bissection temporelle qui nous a montré que dès 4 mois, les animaux transgéniques homozygotes avaient une moins bonne sensibilité temporelle que les animaux contrôles, de manière présymptomatique. L'analyse *in vivo* des potentiels de champs enregistrés dans le striatum dorsomédian après stimulation du cortex préfrontal prélimbique chez des animaux appariés en âge a révélé une augmentation de la plasticité chez les rats homozygotes transgéniques comparés aux animaux contrôles, avec comme résultat intermédiaire les animaux hétérozygotes (article 1, Höhn et al., 2011). Lors de l'étude longitudinale, nous nous sommes rendus compte que les animaux apprenaient à différencier les durées extrêmes renforcées des durées intermédiaires non renforcées en ne répondant plus à ces dernières. Nous n'avons donc pas pu réaliser l'étude longitudinale telle que nous l'avions initialement prévu. Nous avons tout de même été en mesure de détecter une altération de la perception temporelle à 12 mois chez les animaux transgéniques homozygotes pour la maladie de Huntington.

L'étude des latences de réponse nous a montré que ces dernières évoluaient au fur et à mesure de la répétition de la tâche, présentant tout d'abord une courbe monotone descendante, puis se transformant en une fonction en forme de U inversé, cette dernière étant un précurseur de l'absence de réponses pour les durées intermédiaires non renforcées (article 2, Brown et al., 2011). Bien que leur sensibilité temporelle soit moins bonne, les rats transgéniques ont appris plus vite que les rats témoins à ne pas appuyer sur la pédale pour les durées intermédiaires non renforcées. L'effet du non-renforcement pourrait être plus important chez les animaux transgéniques dû à une motivation au renforcement plus grande. La motivation et la perception temporelle semblent ici jouer un rôle prépondérant et des facteurs non temporels pourraient donc compenser les déficits dans l'analyse temporelle dus à la maladie de Huntington.

La valeur du renforcement semble être plus importante pour les animaux transgéniques homozygotes que pour les animaux témoins, les animaux transgéniques ayant appris bien plus rapidement à ne pas répondre aux essais non renforcés lors de la tâche de bissection temporelle que les animaux témoins. Nous avons observé des perturbations motrices dès 11 mois dans ce modèle de rat transgénique pour la maladie de Huntington (article 3, Faure et al., 2011). A ce stade symptomatique (de 11 à 15 mois dans cette expérience), les rats transgéniques montraient des réactions émotionnelles plus importantes à une perception hédonique de concentration intermédiaire de sucrose. Ils présentaient également un meilleur apprentissage et une meilleure réacquisition lors d'un conditionnement aversif discriminant dû à un plus haut niveau de peur conditionnée à un stimulus aversif et à une hyper réactivité à un transfert négatif hédonique de la valeur du renforcement. De plus, on a observé chez ces animaux un rétrécissement sélectif du noyau central de l'amygdale (article 3, Faure et al., 2011). Certains des symptômes observés pourraient donc être dus à un dysfonctionnement de l'amygdale.

I. Lien entre la plasticité et la maladie de Huntington

Lors de notre étude, nous avons obtenu des résultats électrophysiologiques complexes. Les rats transgéniques hétérozygotes étaient différents des rats contrôles avec une transmission basale synaptique plus faible, tandis que la tendance générale chez les rats transgéniques homozygotes était une augmentation de la plasticité lors de la « paired-pulse facilitation », la dépression à court terme et la potentialisation à long terme.

Peu d'études ont été réalisées *in vivo*. Miller et al. (2008) ont enregistré des populations de neurones épineux de taille moyenne chez des souris éveillées symptomatiques transgéniques R6/2 qui montrent des symptômes comportementaux très robustes et chez des souris knock-in qui montrent des symptômes comportementaux moins forts. Le taux de décharge des neurones épineux de taille moyenne était plus élevé chez les souris R6/2 que chez les souris knock-in et les souris témoins. Les taux de décharge à haute fréquence étaient par contre altérés chez les deux modèles transgéniques comparés aux animaux témoins. Egalement, les taux de décharge simultanés que l'on peut retrouver chez des paires de neurones du striatum dorsomédian, étaient moins élevés chez les animaux transgéniques que chez les animaux témoins. Ils ont réalisé la même expérience chez des rats transgéniques pour la maladie de Huntington de 10-15 mois en 2010 et ont également observé un manque

d'activité simultanée et coordonnée entre des paires de neurones striataux (Miller et al., 2010). Ces modifications des taux de décharge des neurones striataux ont été principalement interprétées en tant que perte d'activité coordonnée et synchronisée dans le cortex.

Un autre étude réalisée sur des sujets éveillés atteints de la maladie de Huntington a montré chez des humains une I/O normale mais une disparition de la LTP dans le cortex moteur chez des patients symptomatiques (Crupi et al., 2008) lors d'une stimulation appariée associative du cortex moteur et lors d'une induction de LTP dans le circuit réflexe du clignement de la paupière. Or, lors de notre étude, nous avons observé une augmentation de la plasticité chez les animaux transgéniques comparés aux animaux contrôles. Ce phénomène pourrait peut-être s'expliquer par le fait que nous avons réalisé nos enregistrements à un stade présymptomatique de la maladie, à un moment où des mécanismes compensatoires étaient peut-être en place. Egalement, le fait que notre étude ait été réalisée *in vivo* et non *in vitro*, comme la majorité des études, pourrait expliquer cette augmentation de plasticité. Cependant, Crupi et al. (2008) avaient observé une diminution de la LTP *in vivo* chez des patients symptomatiques, mais au niveau cortical. Il serait intéressant de réaliser les mêmes enregistrements électrophysiologiques vers les 12 mois sur nos rats transgéniques afin de pouvoir comparer les résultats : obtiendrions-nous les mêmes résultats ou au contraire, observerions-nous une diminution de la plasticité, en cohérence avec les autres études ?

Notre étude est la première à avoir observé une plasticité striatale altérée *in vivo* à un stade présymptomatique. Il est possible que les rats tgHD montrent une augmentation de la plasticité en réponse à une sensibilité accrue des récepteurs au NMDA, comme cela été montré de manière présymptomatique chez les modèles de souris YAC pour la maladie de Huntington (Zeron et al., 2002, 2004 ; Milnerwood et al., 2007, 2010). L'excitotoxicité des récepteurs au NMDA est impliquée dans la pathogénèse de la maladie de Huntington. Il a été démontré que chez des souris YAC Huntington l'expression extrasynaptique des récepteurs au NMDA, ainsi que leurs courants postsynaptiques, augmentaient dans le striatum, ceci de manière précoce, avant l'apparition du phénotype de la maladie ou d'altérations dendritiques morphologiques (Milnerwood et al., 2010). En bloquant pharmacologiquement les récepteurs au NMDA extrasynaptiques, avec de la mémantine, les déficits de signalisation et d'apprentissage moteur disparaissaient (Milnerwood et al., 2010). De plus, la mort excitotoxique des MSNs augmentait après injection intra-striatale *in vivo* d'acide quinolique, qui est un agoniste des récepteurs au NMDA, ainsi qu'après exposition de NMDA en culture

(Zeron et al., 2002). Egalement, étant donné que la plasticité striatale est fortement influencée par les entrées dopaminergiques et qu'il a été démontré que la perte de la plasticité était dépendante de la dopamine sur des tranches corticales et striatales (Cummings, 2006 ; Kung, 2007 ; Dallérac et al., 2011), on peut supposer que la plasticité altérée chez les rats tgHD est aussi due à des changements de signalisation dopaminergique à un stade présymptomatique. La LTD ainsi que la plasticité à court terme au niveau des synapses du cortex périrhinal étaient altérées chez des souris transgéniques pour la maladie de Huntington R6/1, et parallèlement, Cummings et al. (2006) ont observé une diminution des récepteurs D1 et D2 à la dopamine dans la couche I du cortex périrhinal. Il a été possible d'annuler ces modifications en injectant du quinpirole, un agoniste des récepteurs dopaminergiques D2, ce qui laisse penser que l'altération de la voie dopaminergique pourrait être à l'origine des troubles cognitifs précoces dans la maladie de Huntington (Cummings et al., 2006). Egalement, dans le striatum dorsolatéral où une LTP peut être induite par des stimulations à haute fréquence, on a pu bloquer cette LTP en injectant du SCH-23390 qui est un antagoniste des récepteurs dopaminergiques D1 (Kung et al., 2007), ce qui va dans le sens de nos observations concernant l'augmentation de la plasticité chez des rats transgéniques pour la maladie de Huntington. Le système dopaminergique pourrait donc jouer un rôle dans la maladie de Huntington et dans les changements de plasticité observés aux stades précoces et symptomatiques de la maladie.

Il est intéressant de noter que l'augmentation de la plasticité préfronto-striatale à un stade présymptomatique lors de notre expérience corrobore l'hyperactivation des structures hémisphériques médianes (cortex antérieur cingulaire, aire motrice présupplémentaire) observée chez des patients dont la maladie devait se déclarer au bout de 12 ans ou plus (>12 ans, Paulsen et al., 2004). Au contraire, les patients dont la maladie devait se déclarer plus tôt (moins de 12 ans) présentaient moins d'activation dans les régions sous-corticales (noyau caudé et thalamus) que les sujets contrôles. L'hyperactivation des régions médianes préfrontales pourrait compenser la participation sous-corticale réduite durant la phase présymptomatique, notamment lors de tâches temporelles. D'une autre manière, la plasticité augmentée chez les rats tgHD homozygotes pourrait être la conséquence d'un plus grand stockage de glutamine (voir Antzoulatos & Byrne, 2004 pour une revue), car les protéines polyglutamines pourraient servir au stockage intracellulaire de glutamine et influencer positivement l'apprentissage (Brusilow, 2006). Donc, au stade présymptomatique, la maladie

de Huntington pourrait être associée à une augmentation de la plasticité jusqu'à ce que la dégradation des grands faisceaux de polyglutamine par les protéasomes et les lysosomes soit trop forte, résultant en des changements dégénératifs et en une plasticité réduite.

Cependant, étant donné que la dépolarisation et l'hyperpolarisation simultanées sont reflétées dans les potentiels de champs extracellulaires, il reste toujours la question de savoir si la modification de la plasticité reflète des entrées excitatrices sur les neurones striataux ou des changements dans la transmission inhibitrice au niveau du striatum. Une réactivité augmentée au niveau des entrées excitatrices préfrontales pourrait potentiellement favoriser l'excitotoxicité du glutamate, un mécanisme hypothétique pour les processus dégénératifs dans la maladie de Huntington (Olney et al., 1990 ; Zeron, 2002). A 14 semaines, des souris R6/2 transgéniques pour la maladie de Huntington ayant reçu du glutamate ont montré une plus grande sensibilité que des souris témoins avec davantage de dommages causés par l'excitotoxicité du glutamate ainsi qu'une augmentation de l'activité électrique du cerveau (électroencéphalogramme ; Estrada-Sánchez et al., 2009). Un changement dans le contrôle inhibiteur striatal pourrait affecter les sorties striatales. Mais ces changements sont-ils présents dès la naissance ou apparaissent-ils de manière progressive comme un mécanisme compensatoire résultant de la maladie et des altérations qu'elle entraîne ? Il s'agit d'une question à laquelle il nous faut encore répondre.

II. Lien entre le temps et la maladie de Huntington

Lors de deux expériences indépendantes, nous avons analysé des courbes de bissection chez des animaux présymptomatiques et nous avons montré une diminution de la sensibilité temporelle, légère mais systématique, chez des rats transgéniques homozygotes. Le comportement temporel chez des animaux hétérozygotes était intermédiaire, mais pas significativement différent des animaux témoins. Nos résultats ont démontré qu'un déficit présymptomatique de jugement temporel dans une gamme de durées allant de la seconde à la minute existe, dans une tâche cognitive avec une faible demande motrice, chez des rats atteints de la maladie de Huntington. Lors de cette maladie, le striatum s'altère peu à peu. Les troubles du comportement temporel sont aggravés à 12 mois. La modification de la perception temporelle chez des rats transgéniques pour la maladie de Huntington pourrait donc être liée à l'altération graduelle du striatum. Cela n'explique cependant pas le fait que dès 4 mois on détecte une diminution de la sensibilité temporelle chez les rats transgéniques, alors qu'a

priori à cet âge, le striatum n'est pas encore atteint. La modification de la transmission synaptique pourrait expliquer ce phénomène comme nous l'avons vu précédemment en I. Chez l'homme, à un stade précoce de la maladie, il a été observé lors d'un test de la fonction mnémotechnique et exécutive utilisant des techniques de reconnaissance spatiale et de discrimination visuelle, que ces fonctions étaient déjà altérées contrairement à ce que l'on observe normalement lors de pathologie incluant des altérations des ganglions de la base (Lawrence et al., 1996). Par exemple, chez les patients atteints de la maladie de Huntington, on observe des troubles de reconnaissance visuelle, mais ces troubles ne sont généralement pas observables lors de la maladie de Parkinson même à des stades avancés de la maladie. On observe ces troubles chez les patients atteints de la maladie de Parkinson que lorsque ceux-ci sont à un stade proche de la démence (Owen et al., 1993).

D'après les données de la littérature, les premiers signes d'altération comportementale, telle qu'une réduction de l'anxiété, apparaissent vers 1 mois chez les rats transgéniques (Nguyen et al., 2006), bien avant que l'on puisse détecter une modification striatale. Vers 6 mois, des déficits moteurs indicateurs d'une dégénérescence striatale émergent et on peut observer vers les 6-9 mois des sites de recrutement de polyglutamine (polyQ), la polyglutamine étant contenue dans les inclusions et agrégats apparaissant au cours de la maladie (Nguyen et al., 2006). Lors de notre étude longitudinale, nous avons réalisé une tâche de renversement temporel lorsque nos animaux avaient 10 mois, qui consistait à inverser la relation durée-pédale. Nous avons observé un retard dans le renversement temporel chez les animaux transgéniques comparés aux animaux témoins (article 1, Höhn et al., 2011). Ceci confirmait la présence de dommages striataux. De plus, des déficits moteurs sont apparus entre 7 et 11 mois chez ces mêmes rats (article 3, Faure et al., 2011) caractérisés par une détérioration progressive de la tonicité musculaire. Cependant, tout comme cela avait été montré précédemment lors d'une tâche de temps de réaction de choix (Kántor et al., 2006), il n'y a pas eu de grosse perturbation motrice car les latences de réponses dans la tâche de bissection n'étaient pas altérées. A 12 mois, les rats transgéniques ont montré une grande perturbation temporelle lors de la tâche de bissection avec une sensibilité temporelle diminuée pour 3 de nos animaux et un déplacement de la courbe de bissection vers la droite pour les 9 autres rats qui pourrait refléter un biais vers la durée courte et être relié à une sensibilité différentielle au renforcement (Stubbs, 1986). Pour la durée courte, le renforcement arrive plus tôt que pour la durée longue, et pour arriver à la durée longue, il faut toujours d'abord

passer par la durée courte. En proportion, on joue donc plus souvent la durée courte que la longue. Cette situation pouvait créer un biais vers la durée courte.

Des facteurs sensoriels et des facteurs non sensoriels motivationnels rentrent en jeu et en compétition dans notre tâche de bissection. Une augmentation de la sensibilité au non renforcement (pour les valeurs intermédiaires de la bissection) pourrait compenser une sensibilité temporelle plus faible en produisant une expression de la discrimination temporelle plus rapide (article 2, Brown et al., 2011). Alternativement, le changement de PSE pourrait indiquer un stockage altéré de la mémoire temporelle de référence (Meck, 1983). Un apprentissage plus lent du contrôle temporel avec des pics temporels retardés est apparu chez des souris R6/2 symptomatiques dans une tâche de 'peak interval' (Balci et al., 2009), même si les auteurs n'ont pas attribué ces déficits à un problème de mémoire temporelle. Cependant, l'exactitude des réponses temporelles étaient identiques chez les souris transgéniques et témoins. Il faut cependant prendre en compte le fait que la tâche qu'ils ont utilisé avait une demande motrice importante et était sensible aux facteurs non temporels comme l'inhibition comportementale, qui pourrait empêcher l'isolation des déficits de mémoire temporelle.

Dans notre expérience, les animaux avaient déjà été entraînés à la tâche de bissection à un âge présymptomatique et ont été ré-entraînés immédiatement avant la tâche de bissection, ce qui nous empêche de voir les différentes vitesses d'horloge entre les individus. Etant donné que nous n'avons pas vu de changement de PSE à 4 mois, et étant donné le rôle critique du striatum dorsal dans l'analyse temporelle (Coull et al., 2010) démontré lors d'études de neuroimagerie où le striatum dorsal, et non le ventral, était activé chez des sujets sains lors de tâches temporelles (tâches rythmiques, estimation de durées...), le déficit observé à 12 mois est probablement dû à la dégénérescence progressive du striatum. Par contre, la moins bonne sensibilité temporelle à 4 mois pourrait provenir d'un dysfonctionnement dans la transmission synaptique de la voie préfronto-striatale, jusqu'ici non détectée de manière présymptomatique.

Chez des patients atteints de la maladie de Huntington, peu de tâches testant la perception temporelle ont été réalisées pour des durées supérieures à 1200 ms. Egalement, peu de tâches ne nécessitaient pas de demande motrice.

Il a été démontré que le déficit dans la discrimination temporelle était proportionnel à l'âge estimé du début de la maladie. Paulsen et al. (2004) ont observé lors d'une tâche de

discrimination temporelle que les patients plus proches du début de la maladie réalisaient de plus mauvaises performances que les patients les plus éloignés.

Beste et al (2007) ont utilisé dans leur expérience une tâche de production temporelle ayant une grande demande motrice et une tâche de discrimination temporelle, avec une demande motrice plus faible. Lorsque la demande motrice était trop élevée, il observait un déclin des performances temporelles chez des patients symptomatiques et présymptomatiques, comparés à des personnes saines. Par contre, lors de la tâche de discrimination temporelle, les performances des sujets présymptomatiques étaient comparables aux sujets sains. Lorsque la perception temporelle impliquait des tâches motrices, le déficit de perception temporelle était donc clairement présent chez des sujets présymptomatiques, même lorsque ceux-ci étaient testés bien avant le début de la maladie. Hinton et al. (2007) ont demandé à des patients présymptomatiques de réaliser une tâche de reproduction temporelle pour des durées de 600 et 1200 ms. Ils ont classé ces patients par nombre d'années avant l'apparition de la maladie. La précision temporelle des patients ne reflétaient pas le nombre d'années avant l'apparition de la maladie, par contre, là c'était bien le cas pour la variabilité de leurs réponses. Cette variabilité des réponses avait également été observée dans l'expérience de Balci et al. (2009) pour des souris R6/2, ce qui est compatible avec nos résultats.

Nos résultats montrant une sensibilité temporelle moins bonne pour des durées allant de la seconde à la minute lors d'une tâche de discrimination temporelle suggèrent que l'augmentation de la variabilité dans l' « interval timing », indépendamment des modifications motrices, pourrait être un signe clé de la maladie de Huntington à un moment présymptomatique et pourrait participer aux troubles cognitifs précoces.

III. Lien entre la motivation, le temps et la maladie de Huntington

Lors de la tâche de bissection que nous avons utilisée, les rats témoins et les rats transgéniques ont progressivement appris à ne pas appuyer sur la pédale pour les durées intermédiaires non renforcées (article 2, Brown et al., 2011). Durant l'entraînement initial, les deux groupes avaient des performances similaires pour la tâche temporelle, bien que les rats tgHD montraient une sensibilité temporelle moindre ainsi qu'une grande variabilité individuelle en comparaison avec les rats témoins. Cependant, les rats transgéniques ont appris plus vite que les rats témoins à ne pas appuyer sur la pédale pour les durées intermédiaires. Il y a donc d'autres facteurs mis à part la sensibilité temporelle entrant en jeu,

qui voudraient que moins bonne est la sensibilité temporelle, plus tard les rats seraient censés arrêter d'appuyer sur la pédale pour les durées intermédiaires. Les rats tgHD pourraient avoir de meilleures capacités d'apprentissage, même si leur apprentissage initial de la discrimination simple entre 2 et 8 secondes était similaire à celle des animaux témoins. Cela pourrait peut-être être dû à un phénomène de compensation lors du processus de dégénérescence au fur et à mesure de l'avancement de la maladie. Une plus grande sensibilité au renforcement est un autre facteur possible, car les réponses aux durées intermédiaires ne sont jamais renforcées.

Lors d'une autre étude (article 3, Faure et al., 2011), nous avons observé que les rats tgHD étaient plus réactifs que les rats témoins aux changements de la valeur de la récompense. Les rats tgHD ont montré une hyper réactivité à l'absence partielle ou aux changements de la valeur émotionnelle du renforcement dans différentes tâches à 11 et 14 mois. Dans la tâche d'approche Pavlovienne, la plus grande réactivité au transfert négatif de la valeur hédonique du renforcement de sucrose chez les tgHD aurait pu refléter leur perception hédonique différentielle, mais nous avons suggéré que le plus grand impact du transfert négatif hédonique chez les rats tgHD pourrait être relié à une augmentation de la frustration due à l'accroissement de leur réponse émotionnelle à des stimuli aversifs à 15 mois. De manière similaire, l'arrêt d'appuis sur la pédale pour les durées intermédiaires de nos animaux tgHD pourrait refléter une plus grande frustration due au non renforcement des durées intermédiaires dans cette tâche.

Nos résultats suggèrent deux types d'altérations émotionnelles arrivant tôt chez les rats symptomatiques tgHD, une détérioration de la perception hédonique et une hyper sensibilité progressive à des événements émotionnels aversifs démontré par une meilleure acquisition des réponses de peur à des stimuli aversifs et une plus grande frustration à des situations négatives. Il est donc probable que la motivation soit un facteur critique dans la vitesse de discrimination entre les durées extrêmes (renforcées) et les durées intermédiaires (non renforcées).

La modification de la perception émotionnelle oro-faciale chez les rats tgHD pourrait être due au dysfonctionnement des circuits incluant le striatum ventral qui joue grandement un rôle dans les réactions affectives émotionnelles avec le sucrose (article 3, Faure et al., 2011 ; Pecina & Berridge, 2005 ; Reynolds & Berridge, 2002) ainsi que l'amygdale, deux structures

où les agrégats ont été plus observés qu'ailleurs chez ce modèle animal (Petrasch-Perwaz et al., 2007). Alexis Faure (article 3, Faure et al., 2011) a observé chez les rats transgéniques pour la maladie de Huntington à 11 mois un meilleur apprentissage et une meilleure réacquisition lors d'un conditionnement aversif dû à un niveau plus élevé de peur conditionnée au stimulus aversif. Chez ces mêmes animaux, un rétrécissement du noyau central de l'amygdale a été observé, ce qui pourrait expliquer les différences motivationnelles observées chez les rats transgéniques. De manière similaire, on sait que les anomalies fronto-striatales influencent le cours de la pathologie émotionnelle et des réactions comportementales aux changements de la valeur du renforcement (Morgan et al., 1993 ; Quirk & Beer, 2006).

Des facteurs sensoriels et non sensoriels motivationnels pourraient être en compétition lors de la tâche de bissection temporelle. Une plus grande sensibilité au non renforcement pourrait compenser une sensibilité temporelle moins bonne, produisant une plus rapide expression de la discrimination temporelle et donnant l'impression que les animaux transgéniques apprennent plus vite la tâche que les animaux témoins, alors qu'ils ont une sensibilité temporelle moins bonne. Les changements dans la performance temporelle pourraient donc être liés à des facteurs temporels sensoriels ainsi qu'à des facteurs non temporels. Les facteurs motivationnels jouent un rôle dans différentes tâches temporelles (Ward et al., 2009) mais ils nous faudrait des mesures plus sophistiquées pour isoler totalement le contrôle temporel des autres facteurs.

Avec la répétition, le PSE diminue et la sensibilité augmente. L'amélioration de la sensibilité temporelle pourrait être liée au changement des propriétés de la tâche de discrimination, d'une tâche simple avec deux alternatives à une tâche de discrimination plus difficile avec trois alternatives. Dans ce sens, des études réalisées sur des humains ont montré que la sensibilité temporelle augmentait lorsque l'on passait d'une tâche avec deux alternatives à une tâche avec trois alternatives de réponse possibles (Droit-Volet & Izaute, 2009), ou lorsque des plus petits intervalles entre les durées extrêmes courtes et longues étaient utilisés (Ferrara et al., 1997). Une alternative serait que la sensibilité temporelle pourrait augmenter due à l'exposition répétée aux stimuli en l'absence d'un changement dans la structure de la tâche (Honey, 1990).

IV. Conclusion

La présente étude nous a fourni la première évidence comportementale et électrophysiologique d'une altération présymptomatique du traitement préfronto-striatal dans la maladie de Huntington. Que ces modifications soient présentes depuis la naissance ou qu'elles se soient développées au fur et à mesure est une question critique à laquelle il faudra répondre si on espère utiliser la perception temporelle allant de la seconde à la minute en tant que marqueur prédictif de la progression de la maladie. Même s'il reste à comprendre comment la modification de la fonction préfronto-striatale (comme il a été mis en évidence au travers de tests neurophysiologiques) est responsable des modifications au niveau comportemental, nos résultats ont fourni des données suggérant que la plasticité normale dans les circuits préfronto-striataux serait nécessaire pour une perception temporelle précise et fiable.

Nous avons également détecté une plus grande variabilité inter-individuelle de réponse à une tâche de bissection temporelle chez les animaux Huntington, ceci de manière présymptomatique. Cette augmentation de la variabilité pourrait être un signe capital présymptomatique de la maladie de Huntington et pourrait participer aux altérations cognitives précoces. Elle pourrait être due à une altération précoce de la plasticité synaptique et un manque de coordination des taux de décharge des neurones épineux de taille moyenne du striatum. Ceci s'inscrit dans le cadre du modèle SBF de Matell & Meck (2000), dans lequel le striatum fonctionnerait comme un détecteur de coïncidences. A 12 mois, le striatum est plus atteint et la perception temporelle est plus altérée qu'à un stade plus précoce de la maladie. Lors de la maladie de Huntington, la coordination des décharges entre neurones appariés dans le striatum est plus faible que chez des animaux témoins. Il y aurait donc un problème de transmission des informations temporelles entre les différents neurones qui entraînerait une sensibilité temporelle moins bonne. Cependant, nous n'avons pas pu établir de corrélation directe entre la plasticité synaptique modifiée et la perturbation de la perception temporelle. Il nous faudrait pouvoir tester la relation causale entre ces deux perturbations.

Nos données suggèrent également que les facteurs temporels et les facteurs motivationnels non temporels pourraient jouer des rôles compétitifs dans la performance de la bissection temporelle. Donc, les changements dans la performance temporelle après des manipulations génétiques ou biologiques (drogues, lésions...) pourraient être liées à des

facteurs non sensoriels en plus des facteurs sensoriels temporels (Stubbs, 1968), et le contrôle de ces facteurs pourrait être critique à la détermination des mécanismes sous-jacents.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Allan LG (2002) The location and interpretation of the bisection point. *Q J Exp Psychol B* 55(1):43-60.
- Artieda J, Pastor MA, Lacruz F & Obsedo JA (1992) Temporal discrimination is abnormal in Parkinson's disease. *Brain* 115:199-210.
- Antzoulatos EG & Byrne JH (2004) Learning insights transmitted by glutamate. *Trends Neurosci* 27(9):555-60.
- Balci F, Day M, Rooney A & Brunner D (2009) Disrupted temporal control in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Behav Neurosci* 123(6):1353-8.
- Beste C, Saft C, Andrich J, Muller T, Gold R & Falkenstein M (2007) Time Processing in Huntington's Disease: A Group-Control Study. *PLoS One* 12, e1263.
- Brannon EM, Libertus ME, Meck WH & Woldorff MG (2008) Electrophysiological measures of time processing in infant and adult brains: Weber's Law holds. *J Cogn Neurosci* 20(2):193-203.
- Borlongan CV, Koutouzis TK, Freeman TB, Cahill DW & Sanberg PR (1995) Behavioral pathology induced by repeated systemic injections of 3-nitropropionic acid mimics the motoric symptoms of Huntington's disease. *Brain Res* 697(1-2):254-7.
- Brouillet E, Hantraye P, Ferrante RJ, Dolan R, Leroy-Willig A, Kowall NW & Beal MF (1995) Chronic mitochondrial energy impairment produces selective striatale degeneration and abnormal choreiform movements in primates. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 92(15):7105-9.
- Brusilow WS (2006) Is Huntington a glutamine storage disease? *Neuroscientist* 12(4):300-4.
- Buhusi CV & Meck Wh (2002) Differential effects of methamphetamine and haloperidol on the control of an internal clock. *Behav Neurosci* 116(2):291-7.

- Buhusi CV & Meck WH (2005) What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat Rev Neurosci* 6(10):755-65.
- Callu D, El Massioui N, Dutrieux G, Brown BL & Doyère V (2009) Cognitive processing impairments in a supra-second temporal discrimination task in rats with cerebellar lesion. *Neurobiol Learn Mem* 91(3):250-9.
- Catania AC (1970) *The theory of reinforcement schedules*, ed. WN Shoenfeld, Appleton-Century-Crofts, New York: 1-42.
- Cepeda C, Hurst RS, Calvert CR, Hernández-Echeagaray E, Nguyen OK, Jocoy E, Christian LJ, Ariano MA & Levine MS (2003) Transient and progressive electrophysiological alterations in the corticostriatal pathway in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci* 23:961–969.
- Cepeda C, Wu N, Andre VM, Cummings DM & Levine MS (2007) The corticostriatal pathway in Huntington's Disease. *Prog Neurobiol* 81: 253–271.
- Chiba A, Oshio K & Inase M (2008) Striatal neurons encoded temporal information in duration discrimination task. *Exp Brain Res* 186(4):671-6.
- Christian KM & Thompson RF (2003) Neural substrates of eyeblink conditioning: acquisition and retention. *Learning and Memory* 10:427-455.
- Church RM & Deluty MZ (1977) Bisection of temporal intervals. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 3(3):216-28.
- Church RM & Gibbon J (1982) Temporal generalization. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 8(2):165-86.
- Church RM & Broadbent HA (1990) Alternative representations of time, number and rate. *Cognition* 37(1-2):55-81.
- Cole RP, Barnet RC & Miller RR (1995) Temporal encoding in trace conditioning. *Anim Learn & Behav* 23(2):144-153.

- Coull JT, Cheng RK & Meck WH (2011) Neuroanatomical and neurochemical substrates of timing. *Neuropsychopharmacology* 36(1):3-25.
- Crupi D, Ghilardi MF, Mosiello C, Di Rocco A, Quartarone A & Battaglia F (2008) Cortical and brainstem LTP-like plasticity in Huntington's disease. *Brain Res Bull* 75(1):107-14.
- Cummings DM, Milnerwood AJ, Dallérac GM, Waights V, Brown JY, Vatsavayai SC, Hirst MC & Murphy KP (2006) Aberrant cortical synaptic plasticity and dopaminergic dysfunction in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15(19):2856-68.
- Cummings DM, Cepeda C & Levine MS (2010) Alterations in striatal synaptic transmission are consistent across genetic mouse models of Huntington's disease. *ASN Neuro* 2(3):e00036.
- Dallérac G, Vatsavayai SC, Cummings DM, Milnerwood AJ, Evans KA, Walters SW, Rezaie P, Hirst MC & Murphy KPSJ. (2011) Impaired Long-Term Potentiation in the Prefrontal Cortex of Huntington's Disease Mouse Models: Rescue by D1 Dopamine Receptor Activation. *Neurodegener Dis* 8(4):230-9.
- Droit-Volet S & Wearden J (2003) Les modèles d'horloge interne en psychologie du temps. *L'Année Psychologique* 104 :617-654.
- Droit-Volet S & Izaute M (2009) Improving time discrimination in children and adults in a temporal bisection task: the effects of feedback and no forced choice on decision and memory processes. *Q J Exp Psychol (Colchester)* 62(6):1173-88.
- Estrada-Sánchez AM, Montiel T, Segovia J & Massieu L (2009) Glutamate toxicity in the striatum of the R6/2 Huntington's disease transgenic mice is age-dependent and correlates with decreased levels of glutamate transporters. *Neurobiol Dis* 34(1):78-86.

- Faure A, Höhn S, von Hörsten S, Delatour B, Raber K, Leblanc P, Desvignes N, Doyère V & El Massioui N (2011) Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease. *Neurobiol Learn Mem.* 95(1):92-101.
- Fitch RH, Threlkeld SW, McClure MM & Pfeiffer AM (2008) Use of a modified prepulse inhibition paradigm to assess complex auditory discrimination in rodents. *Brain Research Bulletin* 76:1-7.
- Foroud T, Siemers E, Kleindorfer D, Bill DJ, Hodes ME, Norton JA, Conneally PM & Christian JC (1995) Cognitive scores in carriers of Huntington's disease gene compared to noncarriers. *Ann Neurol* 37:657-664.
- Fraisse P (1984) Perception and estimation of time. *Annu RevPsychol* 35:1-37.
- Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P & Busby SJ (2005) Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492(2):145-77.
- Gerfen CR (1984) The neostriatal mosaic: compartmentalization of corticostriatal input and striatonigral output systems. *Nature* 311(5985):461-4.
- Gibbon J (1977) Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychol Rev* 84:279-325.
- Gibbon J, Church RM & Meck WH (1984) Scalar timing in memory. *Ann N Y Acad Sci* 423:52-77.
- Graybiel AM, Aosaki T, Flaherty AW & Kimura M (1994) The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265(5180):1826-31.
- Grondin S (2001) Discriminating time intervals presented in sequences marked by visual signals. *Percept Psychophys* 63(7):1214-28.

- Hinton SC & Meck WH (1997) The 'internal clocks' of circadian and interval timing. *Endeavour* 21(2):82-7.
- Hinton SC & Meck WH (2004) Frontal-striatal circuitry activated by human peak-interval timing in the supra-seconds range. *Brain Res Cogn Brain Res* 21(2):171-82.
- Hinton SC, Paulsen JS, Hoffmann RG, Reynolds NC, Zimbelman JL & Rao SM (2007) Motor timing variability increases in preclinical Huntington's disease patients as estimated onset of motor symptoms approaches. *J Int Neuropsychol Soc* 13:539-43.
- Hoagland H (1933) The physiological control of judgments of duration: evidence for a chemical clock. *J Gen Psychol* 9:267-287.
- Holson RR, Bowyer JF, Clausing P & Gough B (1996) Methamphetamine-stimulated striatal dopamine release declines rapidly over time following microdialysis probe insertion. *Brain Res* 739:301-307.
- Honey RC (1990) Stimulus generalization as a function of stimulus novelty and familiarity in rats. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 16(2):178-84.
- Houk JC (1995) Information processing in modular circuits linking basal ganglia and cerebral cortex. In: Houk JC, Davis JL & Beiser DG, editors. *Models of information processing in the basal ganglia*. Cambridge, MA: MIT Press, p 3-10.
- Ivry RB & Keele (1989) Timing functions of the cerebellum. *J Cogn Neurosci* 1:136-152.
- Ivry RB & Spencer RMC (2004) The neural representation of time. *Curr Opin Neurobiol* 14(2):225-232.
- Jahanshahi M, Jones CR, Dirnberger G & Frith CD (2006) The substantia *nigra pars compacta* and temporal processing. *J Neurosci* 26(47):12266-73.
- Jantzen KJ, Steinberg FL & Kelso JAS (2005) Functional MRI reveals the existence of modality and coordination-dependent timing networks.

- Jantzen KJ, Oullier O, Marhsall M, Steinberg FL & Kelso JA (2007) A parametric fMRI investigation of context effects in sensorimotor timing and coordination. *Neuropsychologia* 45:673-684.
- Kántor O, Temel Y, Holzmann C, Raber K, Nguyen HP, Cao C, Türkoglu HO, Rutten BP, Visser-Vandewalle V, Steinbusch HW, Blokland A, Korr H, Riess O, von Hörsten S & Schmitz C (2006) Selective striatal neuron loss and alterations in behavior correlate with impaired striatal function in Huntington's disease transgenic rats. *Neurobiol Dis* 22(3):538-47.
- Karl T, Pabst R & von Hörsten S (2003) Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Exp Toxicol Pathol* 55(1):69-83.
- Killeen PR & Weiss MA (1987) Optimal timing and the Weber function. *Psychological Review* 94:455-468.
- Killeen PR & Fetterman G (1988) A behavioural theory of timing. *Psychological Review* 95(2):274-295.
- Killeen PR, Fetterman JG & Bizo LA (1997) Time's causes. In: *Time and behavior: Psychological and neurological analyses* (Bradshaw CM, Szabadi E, Eds) pp79-131. Amsterdam: Elsevier Science.
- Koch G, Olivieri M, Torriero S, Salemo S, Lo Gerfo E & Caltagirone C (2007) Repetitive TMS of cerebellum interferes with millisecond time processing. *Neurology* 59:1658-1659.
- Kung VWS, Hassam R, Morton AJ & Jones S (2007) Dopamine-dependent long term potentiation in the dorsal striatum is reduced in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neurosci* 146:1571-1580.

- Lawrence AD, Sahakian BJ, Hodges JR, Rosser AE, Lange KW & Robbins TW (1996) Executive and mnemonic functions in early Huntington's disease. *Brain* 119(Pt 5):1633-1645.
- Lawrence AD, Hodges JR, Rosser AE, Kershaw A, Ffrench-Constant C, Rubinsztein DC, Robbins TW & Sahakian BJ (1998) Evidence for specific cognitive deficits in preclinical Huntington's disease. *Brain* 121 (Pt 7):1329-1341.
- Lejeune H & Wearden JH (1991) The comparative psychology of fixed-interval responding: some quantitative analysis. *Learn Motiv* 22:84-111.
- Lejeune H (1998) Switching or gating ? The attentional challenge in cognitive models of psychological time. *Behav Processes* 44:127-145.
- Lewis PA & Miall RC (2003) Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 13:205-255.
- Lewis PA & Miall RC (2006) Remembering the time: a continuous clock. *Trends Cogn Sci* 10(9):401-6.
- Malapani C, Rakitin B, Levy R, Meck WH, Deweer B, Dubois B & Gibbon J (1998) Coupled temporal memories in Parkinson's disease: a dopamine-related dysfunction. *J Cogn Neurosci* 10(3):316-31.
- Malapani C, Deweer B & Gibbon J (2002) Separating storage from retrieval dysfunction of temporal memory in Parkinson's disease. *J Cogn Neurosci* 14(2):311-22.
- Mangels JA, Ivry RB & Shimizu N (1998) Dissociable contributions of the prefrontal and neocerebellar cortex to time perception. *Cogn Brain Res* 7:15-39.

- Maricq AV, Roberts S & Church RM (1981) Methamphetamine and time estimation. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 7(1):18-30.
- Maricq AV & Church RM (1983) The differential effects of haloperidol and methamphetamine on time estimation in the rat. *Psychopharmacology* 79(1):10-5.
- Matell MS & Meck WH (2000) Neuropsychological mechanisms of interval timing behaviour. *Bioessays* 22(1):94-103.
- Matell MS, Meck WH & Nicolelis MA (2003) Interval timing and the encoding of signals duration by ensembles of cortical and striatal neurons. *Behav Neurosci* 117:760-773.
- Matell MS, King GR & Meck WH (2004) Differential modulation of clock speed by the administration of intermittent versus continuous cocaine. *Behav Neurosci* 118:150-156.
- Meck WH (1983) Selective adjustment of the speed of internal clock and memory processes. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 9(2):171-201.
- Meck WH & Church RM (1987) Cholinergic modulation of the content of the temporal memory. *Behav Neurosci* 101:457-464.
- Meck WH (1996) Neuropharmacology of timing and time perception. *Cogn Brain Res* 3:227-242.
- Meck WH (2003) Functional and neuronal mechanisms of interval timing. Ed. CRC, Boca Raton, Florida.
- Meck WH & Malapani C (2004) Neuroimaging of interval timing. *Cogn Brain Res* 21:133-37.

- Meck WH *a* (2006) Neuroanatomical localization of an internal clock: a functional link between mesolimbic, nigrostriatal, and mesocortical dopaminergic systems. *Brain Res* 1109(1):93-107.
- Meck WH *b* (2006) Frontal cortex lesions eliminate the clock speed effect of dopaminergic drugs on interval timing. *Brain Res* 1108:157-167.
- Meck WH, Penney TB & Pouthas V (2008) Cortico-striatal representation of time in animals and humans. *Curr Opin Neurobiol* 18(2):145-52.
- Menalled LB, Sison JD, Dragatsis I, Zeitlin S & Chesselet MF (2003) Time course of early motor and neuropathological anomalies in a knock-in mouse model of Huntington's disease with 140 CAG repeats. *J Comp Neurol* 465(1):11-26.
- Miall R (1989) The storage of time intervals using oscillatory neurons. *Neural Computation* 1:359-371.
- Miall R (1996) Models of neural timing, in *Time, internal clocks and movement*, Pastor M & Artieda J, Amsterdam, Elsevier Sciences 69-94.
- Miller BR, Walker AG, Shah AS, Barton SJ & Rebec GV (2008) Dysregulated information processing by medium spiny neurons in striatum of freely behaving mouse models of Huntington's disease. *J Neurophysiol* 100(4):2205-16.
- Miller BR, Walker AG, Fowler SC, Von Hörsten S, Riess O, Johnson MA & Rebec GV (2010) Dysregulation of coordinated neuronal firing patterns in striatum of freely behaving transgenic rats that model Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 37(1):106-13.

- Milnerwood AJ, Cummings DM, Dallérac GM, Brown JY, Vatsavayai SC, Hirst MC, Rezaie P & Murphy KP (2006) Early development of aberrant synaptic plasticity in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15(10):1690-703.
- Milnerwood AJ & Raymond LA (2007) Corticostriatal synaptic function in mouse models of Huntington's disease: early effects of huntingtin repeats length and protein load. *J Physiol* 585(Pt 3):817-31.
- Milnerwood AJ, Gladding CM, Pouladi MA, Kaufman AM, Hines RM, Boyd JD, Ko RW, Vasuta OC, Graham RK, Hayden MR, Murphy TH & Raymond LA (2010) Early increase in extrasynaptic NMDA receptor signaling and expression contributes to phenotype onset in Huntington's disease mice. *Neuron* 65(2):178-90.
- Morgan MA, Romanski LM & LeDoux JE (1993) Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett* 163(1):109-13.
- Nguyen HP, Kobbe P, Rahne H, Wörpel T, Jäger B, Stephan M, Pabst R, Holzmann C, Riess O, Korr H, Kántor O, Petrasch-Parwez E, Wetzell R, Osmand A & Von Hörsten S (2006) Behavioral abnormalities precede neuropathological markers in rats transgenic for Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15(21):3177-94.
- Okamoto S, Pouladi MA, Talantova M, Yao D, Xia P, Ehrnhoefer DE, Zaidi R, Clemente A, Kaul M, Graham RK, Zhang D, Vincent Chen HS, Tong G, Hayden MR & Lipton SA (2009) Balance between synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor activity influences inclusions and neurotoxicity of mutant huntingtin. *Nat Med* 15(12):1407-13.
- Ottens U, Wenk GL, Church RM & Meck WH (1988) Attention and the frontal cortex as examined by simultaneous temporal processing. *Neuropsychologia* 26:307-318.

- Ornstein RE (1969) On the experience of time. Harmondsworth, Middlesex, England: Penguin Books.
- Orth M, Schippling S, Schneider SA, Bhatia KP, Talelli P, Tabrizi SJ & Rothwell JC (2010) Abnormal motor cortex plasticity in premanifest and very early manifest Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81(3):267-70.
- Owen AM, Beksinska M, James M, Leigh PN, Summers BA, Marsden CD, Quinn NP, Sahakian BJ & Robbins TW (1993) Visuospatial memory deficits at different stages of Parkinson's disease. *Neuropsychologia* 31(7):627-44.
- Paulsen JS, Zimelman JL, Hinton SC, Langbehn DR, Leveroni CL, Benjamin ML, Reynolds NC & Rao SM (2004) fMRI biomarker of early neuronal dysfunction in presymptomatic Huntington's Disease. *Am J Neuroradiol* 25:1715 – 1721.
- Paulsen JS, Langbehn DR, Stout JC, Aylward E, Ross CA, Nance M, Guttman M, Johnson S, MacDonald M, Beglinger LJ, Duff K, Kayson E, Biglan K, Shoulson I, Oakes D & Hayden M (2008) Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the predict-HD study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79(8):874-80.
- Pavlov IP (1927) Conditioned reflexes. London: Routledge & Kegan Paul.
- Paxinos G & Watson C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press.
- Penney TB, Gibbon J & Meck WH (2008) Categorical scaling of duration bisection in pigeons (*Columba livia*), mice (*Mus musculus*), and humans (*Homo sapiens*). *Psychol Sci* 19(11):1103-9.
- Pöppel E (1972) Oscillations as the possible basis for time perception, in *The study of time*, Fraser J, Haber F & Muller G, New York.

- Quirk GJ & Beer JS (2006) Prefrontal involvement in the regulation of emotion: convergence of rat and human studies. *Curr Opin Neurobiol* 16(6):723-7.
- Raby CR, Alexis DM, Dickinson A & Clayton NS (2007) Planning for the future by western scrub-jays. *Nature* 445(7130):919-21.
- Rakitin BC, Gibbon J, Penney TB, Malapani C, Hinton SC & Meck WH (1998) Scalar expectancy theory and peak-interval timing in humans. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 24(1):15-33.
- Rammsayer TH (1990) Temporal discrimination in schizophrenic and affective disorders: evidence for a dopamine-dependent internal clock. *Int J Neurosc* 53(2-4):111-20.
- Rammsayer TH (1993) On dopaminergic modulation of temporal information processing. *Biol Psychol* 36:209-222.
- Rammsayer TH (1999) Neuropharmacological evidence for different timing mechanisms in humans. *Q J Exp Psychol B* 52(3):273-86.
- Rouanet H, Bernard J-M & Le Roux B (1990) *Analyse Inductive des Données*. In: *Statistique en Sciences Humaines*. Paris: Dunod.
- Rowe KC, Paulsen JS, Langbehn DR, Duff K, Beglinger LJ, Wang C, O'Rourke JJ, Stout JC & Moser DJ (2010) Self-paced timing detects and tracks change in prodromal Huntington disease. *Neuropsychology* 24(4):435-42.
- Skinner BF (1938) *The behavior of organisms*. Appleton-Century-Crofts, New York.
- Stubbs A (1968) The discrimination of stimulus duration by pigeons. *J Exp Anal Behav* 11(3):223-38.

Urbach YK, Bode FJ, Nguyen HP, Riess O & von Hörsten S (2010) Neurobehavioral tests in rat models of degenerative brain diseases. *Methods Mol Biol* 597:333-356.

Von Hörsten S, Schmitt I, Nguyen HP, Holzmann C, Schmidt T, Walther T, Bader M, Pabst R, Kobbe P, Krotova J, Stiller D, Kask A, Vaarmann A, Rathke-Hartlieb s, Schulz JB, Grasshoff U, Bauer I, Vieira-Saecker AM, Paul M, Jones L, Lindenberg KS, Landwehrmeyer B, Bauer A, Li XJ & Riess O (2003) Transgenic rat model for Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 12(6):617-24.

Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED & Richardson EP (1985) Neuropathological classification of Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 44(6):559-77.

Walker AG, Miller BR, Fritsch JN, Barton SJ & Rebec GV (2008) Altered information processing in the prefrontal cortex of Huntington's disease mouse models. *J Neurosci* 28(36):8973-82.

Ward RD, Kellendonk C, Simpson EH, Lipatova O, Drew MR, Fairhurst S, Kandel ER & Balsam PD (2009) Impaired timing precision produced by striatal D2 receptor overexpression is mediated by cognitive and motivational deficits. *Behav Neurosci* 123(4):720-30.

Wearden JH & MacShane B (1988) Interval productions as an analogue of the peak procedure: evidence for similarity of humans and animal timing processes. *Q J Exp Psychol* 40B:363-375.

Wearden JH (1991) Human performance on an analogue of an interval bisection task. *Q J Exp Psychol* 43B:59-81.

- Wearden JH (1992) Temporal generalization in humans. *Journal of Exp Psychol: Anim Behav Process* 18(2):134-144.
- Wearden JH (2004) Origins and development of internal clock theories of psychological time. *Psychol Française* 50:7-25.
- Wearden JH, Smith-Spark JH, Cousins R, Edelstyn NM, Cody FW & O'Boyle DJ (2008) Stimulus timing by people with Parkinson's disease. *Brain Cogn* 67:264-279.
- Weber EH (1851) *Anatomical and physiological observations*. C. F. Kohler, Leipzig, Germany.
- Wickens JR, Begg AJ & Arbuthnott GW (1996) Dopamine reverses the depression of rat corticostriatal synapses which normally follows high-frequency stimulation of cortex *in vitro*. *Neuroscience* 70:1-5.
- Wilson RS, Como PG, Garron DC, Klawans HL, Barr A & Klawans D (1987) Memory failure in Huntington's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* 9(2):147-54.
- Woodruff-Pak DS & Papka M (1996) Huntington's disease and eyeblink classical conditioning: normal learning but abnormal timing. *J Int Neuropsychol Soc* 2(4):323-34.
- Zakay D (1993) Time estimation methods – do they influence prospective duration estimates? *Perception* 22:91-101.
- Zelaznik HN, Spencer RM & Ivry RB (2002) Dissociation of explicit and implicit timing in repetitive tapping and drawing movements.

Zeron MM, Chen N, Moshaver A, Lee AT, Wellington CL, Hayden MR & Raymond LA (2001) Mutant huntingtin enhances excitotoxic cell death. *Mol Cell Neurosci* 17(1):41-53.

Zeron MM, Hansson O, Chen N, Wellington CL, Leavitt BR, Brundin P, Hayden MR & Raymond LA (2002) Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron* 33(6):849-60.

Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, Shehadeh J, Wellington CL, Leavitt BR, Baimbridge KG, Hayden MR & Raymond LA (2004) Potentiation of NMDA receptor-mediated excitotoxicity linked with intrinsic apoptotic pathway in YAC transgenic mouse model of Huntington's disease. *Mol Cell Neurosci* 25(3):469-79.

Zucker RS (1973) Changes in the statistics of transmitter release during facilitation. *J Physiol* 229(3):787-810.

Zucker RS & Regehr WG (2002) Short-term plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355-405.