



HAL
open science

Sensibilisation à la douleur chez un modèle murin de troubles du déficit de l'attention et de l'hyperactivité

Otmane Bouchatta

► **To cite this version:**

Otmane Bouchatta. Sensibilisation à la douleur chez un modèle murin de troubles du déficit de l'attention et de l'hyperactivité. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux; Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc). Faculté des sciences Semlalia, 2018. Français. NNT : 2018BORD0356 . tel-02132136

HAL Id: tel-02132136

<https://theses.hal.science/tel-02132136v1>

Submitted on 16 May 2019

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.

ROYAUME DU MAROC



كلية العلوم
السملالية - مراكش
FACULTÉ DES SCIENCES
SEMLALIA - MARRAKECH

université
de BORDEAUX

THÈSE EN COTUTELLE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE:

DOCTEUR DE

UNIVERSITÉ CADI AYYAD – MARRAKECH, MAROC

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX, FRANCE

ED UCA: SCIENCES, TECHNIQUES ET INGENIERIE

SPECIALITÉ: NEUROSCIENCES

ED UBX: SCIENCE DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

SPECIALITÉ: NEUROSCIENCES

Par **Otmane Bouchatta**

Sensibilisation à la douleur chez un modèle murin de troubles du déficit de l'attention et de l'hyperactivité

Sous la direction de:

Mohamed Bennis. Pr. Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.

Marc Landry. Pr. Université de Bordeaux, France.

Soutenue le 21/12/2018 devant la commission d'examen:

Président: **Abdeslam Benali.** Pr. Hôpital Militaire, Marrakech, Maroc.

Examineurs: **Ipek Yalcin.** DR CNRS. Université de Strasbourg, France.

Fatiha Chigr. Pr. Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, Maroc.

Francisco. E. Olucha-Bordonau. Pr. Univ de Castillo de la Plana, Espagne.

Saadia Ba-M'Hamed. Pr. Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.

Titre: Sensibilisation à la douleur chez un modèle murin de troubles du déficit de l'attention et de l'hyperactivité.

Résumé:

L'ADHD (Attention-deficit/hyperactivity disorder) est une maladie du développement caractérisée par l'impulsivité, l'hyperactivité, et l'inattention. Les voies neuronales impliquées dans ces déficits indiquent des dysfonctionnements dans les réseaux catécholaminergiques frontal-sous-corticaux, impliquant l'innervation dopaminergique et noradrénergique. Des études récentes ont mis en évidence une hypersensibilité à la douleur chez les patients ADHD et soulignent une possible comorbidité entre l'ADHD et la douleur. Cependant, les mécanismes et les circuits neuraux impliqués dans ces interactions sont inconnus.

Afin de décrypter cette relation, nous avons généré un modèle ADHD de souris à P5 par une lésion néonatale des voies dopaminergiques centrales avec la 6-Hydroxydopamine (6-OHDA) et nous avons démontré la validité du modèle pour mimer le syndrome ADHD. Ensuite, nous avons analysé les comportements douloureux dans le modèle de souris 6-OHDA. Ces derniers présentent un abaissement des seuils de la douleur, ce qui suggère que l'ADHD induit une sensibilisation à la douleur (comorbidité ADHD-Douleur). Nous avons confirmé à l'aide d'enregistrements extracellulaires unitaires, que les modifications de la sensibilité à la douleur des souris 6-OHDA sont dues à une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière.

Cette sensibilisation passe donc par une altération de l'intégration sensorielle dans la moelle épinière via la mise en jeu de contrôles descendants. La connectivité "*cortex cingulaire antérieur (ACC) – insula postérieure (PI)*" est la clé dans cette comorbidité ADHD-douleur, impliquée dans les fonctions exécutives, les émotions et elle envoie aussi des projections vers la corne dorsale de la moelle épinière. En effet, en combinant les analyses électrophysiologiques, optogénétiques et comportementales, nous avons démontré que les effets de l'ADHD sur la sensibilisation douloureuse passent par la mise en jeu de l'ACC et de la voie ACC – PI.

En conclusion, nous montrons que les conditions ADHD induisent une hyperactivation des neurones nociceptifs de la moelle épinière et une hypersensibilité à la douleur. Nous suggérons également que le circuit ACC – PI pourrait déclencher un dysfonctionnement des neurones de la moelle épinière sur la douleur dans les conditions ADHD.

Mots-clés: ADHD, douleur, dopamine, 6-OHDA, cortex cingulaire antérieur, insula postérieure, moelle épinière.

Unités de recherche

- Laboratoire de Pharmacologie, Neurobiologie et Comportement (URAC-37)
Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Institut Interdisciplinaire de Neurosciences CNRS UMR5297
Centre Broca Nouvelle-Aquitaine, Bordeaux, France.

Title: Pain sensitivity dysfunction in a mouse model of Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder (ADHD).

Abstract:

Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is characterized by the core symptoms of inattention, hyperactivity and impulsivity. Neural pathways underlying these deficits point to deficits within frontal-subcortical catecholaminergic networks, involving dopaminergic and noradrenergic innervation. Hence, impairment of the dopaminergic neurotransmission is a frequent target of ADHD medication. Low-dose psychostimulants, including methylphenidate (MpH) and amphetamines (AMP) are the most widely used treatments of ADHD. Recent evidence pointed to pain hypersensitivity in subjects with ADHD history, and suggests possible comorbidity of ADHD with pain. However, the mechanisms and neural circuits involved in these interactions are unknown.

In order to understand this comorbidity, the first objective was to create a good animal model of ADHD. We generated a mouse model at P5 by neonatal disruption of central dopaminergic pathways with 6-Hydroxydopamine (6-OHDA) and we demonstrated the validity of the model to mimic ADHD syndrome. Next, we analyzed nociceptive responses in the 6-OHDA mouse model of ADHD. We found that 6-OHDA mice exhibited a marked decrease of withdrawal thresholds, suggesting that ADHD increase nociceptive sensitivity. Interestingly, by using *in vivo* electrophysiological recordings, we demonstrated that allodynia and hyperalgesia may be caused by neuronal hyperexcitability in the dorsal spinal cord. Moreover, we found that both lowered withdrawal threshold and increased activity of nociceptive neurons in ADHD-like mice was not normalized by MpH.

We tested the hypothesis that descending controls are responsible for pain alterations through the modulation of spinal circuits. The '*anterior cingulate cortex (ACC) – posterior insular (PI)*' connectivity is at the cross-road of ADHD and pain, being involved in executive functions and emotions, as well as sending projections to the dorsal horn of the spinal cord. By combining electrophysiological, optogenetic and behavioral analyzes, we have shown that the effects of ADHD on painful sensitization involve the implication of ACC and the ACC - PI pathway.

In conclusion, we showed that ADHD conditions induce spinal cord nociceptive neurons hyperactivation and pain hypersensitivity. We also suggest that the ACC - PI circuit may trigger dysfunction of spinal cord neurons in ADHD conditions.

Keywords: ADHD, pain, dopamine, 6-OHDA, anterior cingulate cortex, posterior insular, spinal cord.

Research units

- Laboratory of Pharmacology, Neurobiology and Behavior (URAC-37),
Faculté Faculty of Sciences, Cadi Ayyad University, Marrakesh, Morocco.
- Interdisciplinary Institute of Neuroscience, CNRS UMR 5297,
Centre Broca Nouvelle-Aquitaine, Bordeaux, France.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement chaque membre du jury:

Le Pr. **Abdeslam Benali** d'avoir accepté de présider ce jury.

Le Dr. **Ipek Yalcin** et le Professeur **Fatiha Chigr** d'avoir acceptées d'être rapporteurs de cette thèse et d'accorder du temps à la lecture de ce manuscrit.

Le Pr. **Francisco. E. Olucha-Bordonau** d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse.

Je voudrais remercier chaleureusement la Pr. **Saadia Ba-M'Hamed** d'avoir acceptée d'être examinateur de ma thèse. Je vous remercie Madame d'avoir passé tant de temps à m'écouter, à me laisser faire des erreurs pour mieux comprendre, à m'apprendre et à me conseiller. Vos connaissances que vous avez su me transmettre m'ont permis d'initier avec succès les premiers travaux expérimentaux. Outre la rigueur indispensable à la recherche que vous avez su m'inculquer, votre appui intellectuel ainsi que votre soutien moral m'ont été très bénéfiques tout au long de cette aventure.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mon cher Directeur de thèse, le Pr. **Mohamed Bennis**, pour m'avoir permis de réaliser ce travail sous sa direction. Il me paraît évident que sans vous je n'aurais pas pu réaliser l'ensemble de ce travail. Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir accepté comme étudiant. Je suis reconnaissant de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de votre grande compétence, de votre rigueur intellectuelle, de votre dynamisme, et de votre efficacité certaine que je n'oublierai jamais. Je vous remercie de m'avoir inculqué l'exigence scientifique, la persévérance et d'avoir respecté mon petit côté autonome et indépendant. Je pense avoir beaucoup mûri au cours de ces années et je crois pouvoir dire que vous y êtes pour beaucoup.

J'adresse de chaleureux remerciements à mon cher Directeur de thèse, le Pr. **Marc Landry**, pour son attention de tout instant sur mes travaux, pour ses conseils avisés et son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de cette thèse. Votre énergie et votre confiance ont été des éléments moteurs pour moi. Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein de votre équipe. Je vous suis également reconnaissant pour le temps conséquent que vous m'avez accordé, vos qualités pédagogiques et scientifiques,

vosre franchise et votre sympathie. Enfin je vous remercie de m'avoir toujours fait confiance pour les manip et la gestion de mon temps. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je vous adresse ma gratitude pour tout cela. J'ai pris un grand plaisir à travailler avec vous.

Je vous remercie mes deux chers Patrons pour vos qualités humaines qui ont fait que vous avez toujours fait passer mes intérêts en premier. Merci pour les discussions que nous avons eu malgré un emploi du temps surchargé de Professeur. Merci d'avoir passé autant de temps à apporter des corrections à toutes mes présentations orales et autre rapport de thèse, demandes de financements et bien entendu ce manuscrit. Cela a été un véritable plaisir de travailler avec vous au cours de ces années et je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé dans mes débuts d'« apprenti-chercheur ». Soyez assuré de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Je tiens à vous remercier ma chère Dr. **Rabia Benazzouz**, pour l'accueil, vos multiples conseils et pour toutes les heures que vous m'avez consacrées. J'aimerais également à vous dire à quel point j'ai apprécié votre grande disponibilité et pour les nombreuses discussions autour d'un thé, d'un petit gâteau ou autre... Merci pour le partage de tous vos petits secrets de manip d'in vivo et d'immunohistochimie qui m'ont énormément facilité la vie. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à vos qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral. Pour tout ça: merci beaucoup !

C'est avec beaucoup de plaisir que je remercie le Pr. **Pascal Fossat**. Merci pour votre confiance, vos conseils et votre soutien. Je vous remercie également de m'avoir offert la possibilité de goûter à l'électrophysiologie. Je vous remercie sincèrement pour les moyens que vous avez mis en œuvre pour me donner accès aux manip de l'optogénétique ainsi que pour vos conseils enthousiastes à chaque fois que je vous ai rencontré.

Je voudrais remercier les membres du laboratoire de l'unité Landry: **Alexandre Favereaux, Yves le-feuvre, Christel Baudet** et **André Calas** qui m'ont soutenu, écouté et conseillé au cours de ces années. J'adresse mes remerciements les plus sincères à tous les membres pour leur présence et leur bonne humeur.

J'en arrive aux étudiants des deux labos !!! Un énorme merci à tous sans qui cette thèse n'aurait sûrement pas été la même...

Je voudrais sincèrement remercier **Houria** pour sa bonne humeur, son humour, son écoute, sa présence (la liste peut être longue...). Je ne pense pas qu'il y ai beaucoup de thésard qui ai la chance de faire leur thèse avec une collègue comme toi. Collègue ou plutôt amie car on en a vécu des choses depuis 7 ans. Nous avons franchi tous les étapes importantes au laboratoire à deux avec un soutien mutuel qui est plus que rassurant dans les moments de stress. Merci pour le soutien, la confiance et puis toutes ces choses qui ne s'expliquent pas mais qui se vive au quotidien. Merci à toi !

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à toi, **Franck**, pour ton soutien scientifique et moral ainsi que pour la très bonne ambiance que j'ai toujours trouvé au centre. Je n'oublierai jamais les séances de chirurgie à l'animalerie A1, manips de comportements et nos mémorables batailles pour... (Tu sais ce que je veux dire !). Pour l'ensemble des choses qui font ce que tu es: 'Tout ça, la vie, les choses' quoi...

Je tiens à remercier chaleureusement **Chaimaa**. Merci pour ta joie de vivre et ton rire toujours présent. Merci pour ta gentillesse et ta grande générosité envers les autres. Merci aussi pour toutes ces conversations sur les sujets de base de la vie, l'art ou encore la fiction!

Je n'oublie pas de remercier **Houda** et **Lamiaa**. Merci pour avoir été présentes du début de cette aventure, dans les bons comme dans les mauvais moments, pour vos attentions et vos écoutes. Merci pour tous ces week-ends en France !

Je souhaite exprimer ma grande sympathie à **Asmae**. Je la remercie pour son immense gentillesse, sa disponibilité, les moments partagés au laboratoire et en dehors. Qu'elle trouve ici toute mon estime.

Je voudrais également remercier **Joao**. Merci pour ton amitié 'bro' et d'avoir été toujours à l'écoute. Pour les innombrables pauses café sur le balcon. Merci pour ton aide, ton soutien scientifique et moral ainsi que la bonne ambiance au labo.

Merci également à **Zineb** pour sa joie de vivre, son dynamisme et sa bonne humeur à toute épreuve. Merci pour tous si bons moments !

Je voudrais également remercier **Wahiba** et **Soukaina** pour leurs amitiés. Merci pour la bonne humeur et d'être toujours là deux ans après ! Merci pour toutes les soirées ailleurs, merci pour tous ces week-ends, merci d'avoir été vous !

A tous mes collègues passés et présents: **Nadia Zouhairi, Hasnae Lahouaoui, Zakaria Ouhaz, Zakaria Fathy, Yassine Bentefour, Hanae Melloul, Hasna Elboukhari, Mouhibatou Abdou Alio, Yassine Ait Bali, Abdelfatah Ait Baba, Radouane Elfari, Ibtissame Bendaoud, Nouredine Kaikai, Abdelaziz Belaadel, Malak Ferdaous Mahdani, Noura Mnouer, Charline Kambrun, Anais Soula, Maria-lopez Gonzales, Laura Gonzales, Gabriella Trigilio, Olivier-Roca Lapirot, Cynthia Abboud, Constantin Delmas** et **Sara Whitestone** un grand merci pour tous ces bons moments passés et bonne chance à vous !

Merci également à Mr. **Abderazak Regragui**, pour sa disponibilité, pour son investissement dans l'entretien de l'élevage des animaux à Marrakech.

Je tiens à remercier très chaleureusement Dr. **Elisabeth Normand**, Responsable Pôle In Vivo à Bordeaux. Je te remercie pour l'accueil, tes multiples conseils et pour toutes les heures que tu m'as consacrées. J'aimerais également à te dire à quel point j'ai apprécié ta confiance et ta grande disponibilité.

Après Elisabeth vient **Audrey Lacquemant, Melissa Deshors**. Je vous remercie toutes les deux pour s'être si bien occupé de mes petites bêtes pendant quatre ans. Même si vous avez souvent râlé mois après mois, série d'animaux après série d'animaux. Plus sérieusement, je voudrais vous remercier de l'énorme travail que vous avez fourni pour que cette thèse voit le jour (parce que sans un animalier en or, je n'aurais pas réussi)! Merci à vous 'grands chefs supérieurs'!

Je tiens à remercier le plus chaleureusement possible **Sébastien** pour tout ! Pour ces quatre années passées en connexion constante... Je veux te remercier pour le soutien inconditionnel que tu m'as toujours apporté ! Pour ces nombreuses soirées que nous avons passé ensemble à parler de tout et de rien. Merci pour les nombres incalculables de

fou rire qu'on a pu avoir en France et au Maroc. Que de chemin parcouru et que de souvenirs!!! Un grand merci à toi !

Je voudrais remercier **Brahim** pour ces quatre dernières années ! Et oui le temps passe !!!
Merci pour le soutien pendant cette thèse qui n'a pas été de tout repos malgré tout...
Merci pour les nombres incalculables de fou rire qu'on a pu avoir: de Marrakech à Bordeaux en passant par Barcelone, de Genève à Fribourg en passant par Lausanne...
Que de beaux souvenirs!!!

Un grand 'big up' pour **Yassine** !!! Je n'ose calculer le nombre d'année... Je pense pouvoir dire pas loin de 15 !!! Et il s'en est passé des choses en 15 ans mais tu as toujours été là...
Pour ça, tu sais que tu auras toute ma reconnaissance. Je ne peux pas dire grand-chose d'autre que merci pour ton amitié ! Je pense qu'on est bien partis pour une nouvelle quinzaine non ?

Je tiens à remercier tout particulièrement mon **père**, ma **mère** et ma **sœur** pour le soutien inconditionnel depuis le début. Vous avez été là à chaque étape de ma vie et vous m'avez permis de réaliser mon chemin en me laissant toujours faire mes propres choix et mes propres erreurs. Cette liberté avec laquelle j'ai grandi m'a permis de me construire et d'être arrivé là je suis maintenant. Loin de moi l'idée de dire que je suis sans défaut mais je vous remercie pour ce que je suis devenu grâce à vous...

Enfin et pour finir, je voudrais remercier tout ce que je n'ai pas cité plus haut qui ont compté pour moi: la famille, proche ou lointaine, et les amis...

Merci à vous...

Avant-propos

FICHE PRÉSENTATIVE DE LA THÈSE

- Prénom et Nom de l'auteur: Otmane Bouchatta

- Intitulé du travail: **Sensibilisation à la douleur chez un modèle murin de troubles du déficit de l'attention et de l'hyperactivité.**

Thèse en cotutelle:

- Encadrant:

- Prénom, nom et grade: Pr. Mohamed Bennis, Professeur d'enseignement supérieur
- Laboratoire et institution: Laboratoire de Pharmacologie, Neurobiologie et Comportement (URAC-37), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

- Co-encadrant:

- Prénom, nom et grade: Pr. Marc Landry, Professeur des universités
- Laboratoire et institution: Institut Interdisciplinaire des Neurosciences (IINS), CNRS UMR 5297, Centre Paul Broca-Nouvelle Aquitaine, Université de Bordeaux, France.

- Lieux de réalisation des travaux (laboratoires, institution,...):

- Laboratoire de Pharmacologie, Neurobiologie et Comportement (URAC-37), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Institut Interdisciplinaire des Neurosciences (IINS), CNRS UMR 5297, Centre Paul Broca-Nouvelle Aquitaine, Université de Bordeaux, France.

Période de réalisation du travail de thèse: 2013 – 2018

Ce travail a donné lieu aux résultats suivants (communications, publications,...):

Principales publications auxquelles ce travail a donné lieu:

- Bouchatta, O., Manouze, H., Bouali-Benazzouz, R., Kerekes, N., Ba-M'hamed, S., Fossat, P., Landry, M., & Bennis, M. (2018). Neonatal 6-OHDA lesion model in mouse induces Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD)-like behaviour. *Scientific reports*. 8(1), 15349.
- Landry, M., Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Kerekes, N., Fossat, P., Bennis, M. (2017). Mechanisms of pain hypersensitivity in a pharmacological mouse model of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Neurochemistry*. 142, 1.

Communications internationales:

- Bouchatta, O., Bouali-Benazzouz, R., Kerekes, N., Ba-M'hamed, S., Fossat, P., Bennis, M., and Landry, M. **Descending control dysfunctions related to pain hypersensitivity in a pharmacological mouse model of Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder (ADHD).**
11th Fens Forum of Neuroscience – Juillet 7 – 11, 2018 – Berlin, Allemagne.
- Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Kerekes, N., Bennis, M., and Landry, M. **Descending control dysfunctions related to pain hypersensitivity in a pharmacological mouse model of Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder (ADHD).**
47th Annual Meeting of the SfN – Novembre 11 – 15, 2017 – Washington DC, USA.
- Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Kerekes, N., Bennis, M., and Landry, M. **Mechanisms of pain hypersensitivity in a pharmacological mouse model of Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder.**
NeuroFrance 2017 – mai 2017 – Bordeaux, France.
- Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Kerekes, N., Bennis, M., and Landry, M. **Mechanisms of pain hypersensitivity in a pharmacological mouse model of Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder.**
6th Mediterranean Neuroscience Society Conference 2017 – Juin 12 – 15, 2017 – Malte.
- Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Kerekes, N., Bennis, M., and Landry, M. **Alterations of Pain Response in a pharmacological model of ADHD mouse.**
10th FENS Forum of Neuroscience – Juillet 2 – 6, 2016 – Copenhague, Danemark.
- Bouchatta, O., Ba-M'hamed, S., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Kerekes, N., Bennis, M., and Landry, M. **Alterations of Pain Response in 6-OHDA mouse model of ADHD.**
1st Moroccan Congress of Neurophysiology – Mars 18 – 19, 2016 – Marrakech, Maroc.

Sommaire

Liste des illustrations	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	7
1^{ère} Partie: Généralités sur l'ADHD	8
I. Introduction	8
II. Contributions génétiques et environnementales à l'ADHD	9
III. Endophénotypes neuropsychologiques	11
IV. Neurobiologie et traitements pharmacologiques de l'ADHD	12
V. Modèles animaux de l'ADHD	16
1. Modèles génétiques	18
1.1. Souches consanguins	18
1.2. Animaux <i>knock-out</i> et transgéniques	19
2. Modèles induits chimiquement	22
2.1. Exposition à la toxine	22
2.2. Modèles de lésions chimiques au niveau cérébral	23
3. Modèles de traumatismes physiques	26
2^{ème} Partie: Généralités sur la douleur	27
I. Introduction	27
II. La douleur - une partie importante de la vie - une figure insaisissable	29
III. Les voies et les régions du cerveau impliquées dans le traitement de la douleur	29
1. Fibres nociceptives périphériques	29
2. Voies centrales ascendantes	31
3. Matrice de la douleur	31
IV. Neurochimie de la douleur	31
1. L'initiation de la douleur	31
2. Médiateurs et récepteurs aux synapses du premier ordre	34
3. Signalisation supraspinale et modulation de la douleur	35
4. Modulation descendante de la douleur	36
V. Augmentation de la sensibilité à la douleur et chronicité de la douleur	36
1. Problème clinique particulier de la douleur chronique	36
2. Sensibilisation périphérique et la 'soupe inflammatoire'	37
3. Sensibilisation centrale - sensibilisation des synapses du premier ordre	38
4. Une autre « soupe » autour des terminaisons nerveuses centrales	39
5. Importance de la matrice de la douleur pour la chronicité de la douleur et le chevauchement entre les régions du cerveau traitant la douleur physique et émotionnelle	40
Chapitre I: Mise en place d'un modèle murin de l'ADHD.....	41
I. Introduction	42
II. Matériel et Méthodes	43
1. Animaux	43
2. Chirurgie (Lésion néonatale 6-OHDA)	44

3.	Traitement pharmacologique (Méthylphenidate)	46
4.	Tests de comportement du phénotype ADHD	47
4.1.	Test du champ ouvert (Open field "OF")	47
4.2.	Test du labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze "EPM")	48
4.3.	Test de reconnaissance du nouvel objet (Novel Object Recognition "NOR")	49
4.4.	Test de l'interaction sociale (Social Interaction "SI")	50
4.5.	Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task "5-CSRTT"	52
4.5.1.	Dispositif	52
4.5.2.	Protocole de recherche	53
5.	Histologie	55
5.1.	Préparation du tissu	55
5.2.	Coloration de Nissl	55
5.3.	Coloration de Golgi Cox	55
5.3.1.	Procédure	56
5.3.2.	Quantification des composantes neuronales	56
5.3.3.	Diamètre dendritique et complexité	57
5.3.4.	Densité des épines	58
5.4.	Immunohistochimie: Tyrosine Hydroxylase (TH)	58
6.	Analyses statistiques	59
7.	Analyse en composantes principales (PCA)	60
III.	Résultats	61
1.	Les souris 6-OHDA juvéniles présentent une hyperactivité	61
2.	Les souris 6-OHDA adolescentes montrent un comportement anxieux	62
3.	Les souris 6-OHDA adolescentes présentent un comportement antisocial	63
4.	Les souris adolescentes 6-OHDA montrent un déficit de la mémoire à court terme	65
5.	Les souris 6-OHDA adultes présentent un déficit d'attention et une impulsivité	67
5.1.	Test de la performance initiale de base du 5-CSRTT	67
5.2.	Test de l'impulsivité	68
5.3.	Test de l'attention	69
5.4.	Test du méthylphenidate	71
6.	Analyse PCA du modèle ADHD induit par la 6-OHDA chez la souris	71
7.	L'injection de la 6-OHDA à P5 diminue l'immunoréactivité de la dopamine	75
8.	L'injection de la 6-OHDA induit une altération corticale	76
IV.	Discussion	78
V.	Conclusion	86

Chapitre II: Autres anomalies comportementales associées à l'ADHD chez le modèle de souris 6-OHDA..... 87

I.	Introduction	88
II.	Matériel et Méthodes	90
1.	Animaux	90
2.	Lésion néonatale 6-OHDA à P5	90
3.	Tests de comportement	91
3.1.	Conception de l'étude	91
3.2.	Test de l'inhibition latente (LI)	91
3.3.	Test de la réaction de l'évitement de chute (Cliff Avoidance Reaction)	92
3.4.	Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task (5-CSRTT)	93
3.4.1.	Dispositif	93

3.4.2.	L'habituatation et la mise en place de la manipulation initiale du 5- CSRTT	93
3.4.3.	Approche méthodologique	94
4.	Analyses statistiques	96
III.	Résultats	97
1.	Déficit de l'inhibition latente chez les souris 6-OHDA	97
2.	Déficit du comportement de l'évitement de chute chez les souris 6-OHDA	98
3.	Déficit de l'attention et l'impulsivité chez les souris 6-OHDA	98
3.1.	Croissance du poids corporel durant l'entraînement 5-CSRTT	98
3.2.	Mise en forme et acquisition au 5-CSRTT	99
3.3.	ITI long	101
3.4.	ITI réduit	103
3.5.	SD réduite	103
IV.	Discussion	104
V.	Conclusion	111

Chapitre III: Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD de souris 6-OHDA 112

I.	Introduction	113
II.	Matériel et Méthodes	116
1.	Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD	116
1.1.	Animaux	116
1.2.	Modèle ADHD (Lésion néonatale 6-OHDA)	116
1.3.	Modèle inflammatoire (Injection du CFA)	117
1.4.	Tests de comportement douloureux	117
1.4.1.	Test de Von Frey	117
1.4.2.	Test de la plaque chaude/froide (Hot/Cold plate)	118
1.5.	Traitement médicamenteux de l'ADHD (injection du Méthylphenidate)	119
1.6.	Enregistrement unitaire <i>in vivo</i> des neurones nociceptifs spinaux	120
2.	Comorbidité ADHD – Douleur	122
2.1.	Animaux	122
2.2.	Conception de l'étude	122
3.	Dysfonctionnement des voies descendantes de la douleur	123
3.1.	Dysfonctionnement de l'ACC dans l'ADHD	123
3.1.1.	Animaux	123
3.1.2.	Electrophysiologie unitaire <i>in vivo</i>	124
3.1.2.1.	Enregistrement de l'activité des neurones de l'ACC	124
3.1.2.2.	Enregistrement des neurones WDR en manipulant l'ACC	125
3.2.	Dysfonctionnement de la voie excitatrice 'ACC – PI' dans l'ADHD	126
3.2.1.	Animaux	126
3.2.2.	Chirurgie	127
3.2.2.1.	Micro-injection intracérébrale de virus	127
3.2.2.2.	Implantation de fibres optiques	128
3.2.3.	Tests de comportement douloureux	129
3.2.3.1.	Sensibilité mécanique (von Frey)	129
3.2.3.2.	Sensibilité thermique (Hargreaves)	130
3.2.4.	Manipulations optogénétiques	131
3.2.5.	Electrophysiologie <i>in vivo</i> dans la corne dorsale de la moelle épinière	131
3.2.6.	Immunohistochimie	132
4.	Analyse statistique	132

III.	Résultats	133
1.	Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD	133
1.1.	Mise en évidence d'un abaissement des seuils de la douleur chez les souris 6-OHDA	133
1.2.	Hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA dans les conditions de douleur persistante	134
1.3.	Hyperexcitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA	136
2.	Influence de la douleur persistante sur les symptômes de l'ADHD	138
2.1.	Les conditions inflammatoires n'influencent pas l'hyperactivité des souris juvéniles 6-OHDA	138
2.2.	Les conditions inflammatoires n'influencent pas le comportement anxieux des souris adolescentes 6-OHDA	140
2.3.	Les conditions inflammatoires n'influencent pas le comportement antisocial et agressif des souris adolescentes 6-OHDA	142
2.4.	Les conditions inflammatoires n'influencent pas le dysfonctionnement de la mémoire à court terme des souris adolescentes 6-OHDA	143
2.5.	Les conditions inflammatoires n'ont aucun effet sur l'inattention et l'impulsivité des souris adultes 6-OHDA	144
3.	Dysfonctionnement des voies de la douleur chez le modèle ADHD	146
3.1.	ACC à l'origine du dysfonctionnement des contrôles descendants	146
3.1.1.	Hyperactivité de l'ACC chez les souris 6-OHDA	146
3.1.2.	Effet de la régulation de l'ACC sur l'activité des neurones nociceptifs	147
3.2.	L'ACC exerce un contrôle bidirectionnel de la modulation des voies descendantes et de la perception de la douleur chez les souris 6-OHDA	150
3.2.1.	L'activation des neurones excitateurs de l'ACC augmente la perception de la douleur et l'activité des neurones spinaux chez les souris 6-OHDA	151
3.2.2.	L'inhibition des neurones excitateurs de l'ACC diminue la perception de la douleur et l'activité des neurones spinaux chez les souris 6-OHDA	153
3.3.	La voie excitatrice 'ACC – PI' a un rôle bidirectionnel dans la modulation et le maintien de la sensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA	158
3.3.1.	L'activation des projections excitatrices ACC – PI potentialise l'hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA	159
3.3.2.	L'inhibition des projections excitatrices ACC – PI réverse et maintient la sensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA	162
IV.	Discussion	168
V.	Conclusion	178

Conclusion générale179

Références184

Liste des illustrations

Fig. 1: Aperçu global du syndrome ADHD (Faraone et al., 2015)	9
Fig. 2: Structures du cerveau impliquées dans l'ADHD (Faraone et al., 2015)	13
Fig. 3: Circuits cortico-striataux hypothétiques sous-tendant différentes fonctions cognitives et processus affectés par la lésion de structures corticales et sous-corticales spécifiques chez le rat	25
Fig. 4: Les voies et les régions du cerveau impliquées dans la transmission et la modulation des signaux de douleur (Brodin et al., 2016)	30
Fig. 5: Mécanismes impliqués dans la sensibilisation périphérique pendant l'inflammation (Brodin et al., 2016)	33
Fig. 6: Mécanismes impliqués dans la sensibilisation centrale (Brodin et al., 2016)	34
Fig. 7: Plateforme stéréotaxique utilisée pour la réalisation de la lésion néonatale à P5	45
Fig. 8: Diagramme représentant le déroulement de notre étude	47
Fig. 9: Test de l'open Field chez la souris	48
Fig. 10: Test de l'EPM chez la souris	49
Fig. 11: Test NOR chez la souris	50
Fig. 12: Test de l'interaction sociale dans un nouvel environnement	51
Fig. 13: Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task (5-CSRTT)	53
Fig. 14: Illustration des régions du cerveau et des types de neurones qui ont été analysés: cortex cingulaire antérieur dorsal (ACd) d'un dègue mâle periadolescent (Zehle et al., 2007)	57
Fig. 15: Activité locomotrice spontanée à P24	61
Fig. 16: Comportement anxieux chez les souris 6-OHDA	63
Fig. 17: Interaction antisociale (A, B) et agressivité (C, D) chez les souris 6-OHDA	65
Fig. 18: Altération de la mémoire à court terme chez les souris 6-OHDA	66
Fig. 19: Performance de base (ITI = 5 s; SD = 1 s) des souris sham et 6-OHDA dans le 5-CSRTT pour les quatre derniers jours successifs (axe X) de l'entraînement	68
Fig. 20: Impulsivité et inattention des souris 6-OHDA dans le 5-CSRTT	70
Fig. 21: Analyse en composantes principales (PCA) des 20 variables comportementales mesurées dans les groupes expérimentaux	72
Fig. 22: Les enveloppes des groupes sélectionnés du même PCA sont présentées séparément afin de faciliter les comparaisons	73
Tableau 1: La force de chaque variable analysée dans la PCA en ce qui concerne les 2 composants	74
Fig. 23: Déplétion dopaminergique chez les souris 6-OHDA	75
Fig. 24: Rétrécissement corticale chez les souris 6-OHDA	76
Fig. 25: Anomalies morphologiques des neurones de l'ACd chez les souris 6-OHDA	77
Fig. 26: Représentation schématique du plan expérimental de notre étude	91
Fig. 27: Design expérimental de l'inhibition latente chez les deux groupes expérimentaux (sham et 6-OHDA)	92
Fig. 28: Représentation illustrative d'une souris sham et 6-OHDA sur la plateforme du test CAR	93
Fig. 29: Inhibition latente chez les souris sham et 6-OHDA	97
Fig. 30: Réaction de l'évitement de chute (CAR) chez les souris sham et 6-OHDA	98
Fig. 31: Poids corporel des souris nourries librement et des souris à restriction alimentaire ayant subi l'entraînement au 5-CSRTT	99

Fig. 32: Mise en forme et acquisition à 5 choix	101
Fig. 33: Effets de l'augmentation de l'ITI sur les performances du 5-CSRTT	102
Fig. 34: Effets de la diminution de l'ITI (A-C) et de la SD (D-F) sur les performances du 5-CSRTT	104
Fig. 35: Modèle de douleur inflammatoire et évaluation de la sensibilité mécanique chez la souris (injection du CFA dans la partie postérieure droite)	118
Fig. 36: Evaluation de la sensibilité thermique chez les différents groupes expérimentaux	119
Fig. 37: Diagramme de conception de l'étude avec les différents groupes expérimentaux	119
Fig. 38: Enregistrement unitaire (Single unit) des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière	121
Fig. 39: Conception de l'étude de comorbidité ADHD – douleur avec les différents groupes expérimentaux	123
Fig. 40: Effet de l'ACC en controlatérale sur l'activité neuronale des neurones WDR de la moelle épinière en réponses aux stimulations mécaniques (filaments de Von Frey) de la patte ipsilatérale droite	126
Fig. 41: Diagramme du déroulement de l'expérimentation optogénétique	127
Fig. 42: Test de Von Frey chez la souris en réponses aux manipulations optogénétiques	130
Fig. 43: Test Plantaire pour la souris en réponses aux stimulations optogénétiques	131
Fig. 44: Hyperalgésie thermique et allodynie mécanique chez les souris 6-OHDA	134
Fig. 45: Hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA dans les conditions de douleur persistante	135
Fig. 46: Hyperexcitabilité des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA	137
Fig. 47: Activité locomotrice spontanée chez les souris 6-OHDA	139
Fig. 48: Comportement anxieux chez les souris 6-OHDA	141
Fig. 49: Interaction sociale (A) et agressivité (C, D) chez les souris 6-OHDA	142
Fig. 50: Mémoire à court-terme chez les souris 6-OHDA	144
Fig. 51: Performance de base (ITI = 5 s; SD = 1 s) dans le 5-CSRTT pour les quatre jours successifs (axe X) de l'entraînement chez les souris 6-OHDA	145
Fig. 52: Hyperactivité des neurones de l'ACC chez les souris 6-OHDA	147
Fig. 53: Effets de la stimulation de l'ACC sur la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques	148
Fig. 54: Effets de l'inhibition de l'ACC sur la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques	149
Fig. 55: Manipulations optogénétiques de l'ACC dans la modulation de la douleur	150
Fig. 56: Activation des neurones CamKII positifs de l'ACC diminue les seuils de douleur chez les souris 6-OHDA	152
Fig. 57: Activation des neurones CamKII positifs de l'ACC augmente la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques chez les souris 6-OHDA	153
Fig. 58: Inhibition des neurones CamKII positifs de l'ACC reverse les seuils de douleur chez les souris 6-OHDA	154
Fig. 59: Inhibition des neurones CamKII positifs dans l'ACC diminue la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques chez les souris 6-OHDA	155
Fig. 60: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) dans la réaction nociceptive	156
Fig. 61: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) des l'activité des neurones WDR	157

Fig. 62: Manipulations optogénétiques des projections ACC- PI ipsilatérales dans la modulation de la douleur en conditions ADHD	158
Fig. 63: Activation des projections ACC – PI excitatrices potentialise et maintient la sensibilité douloureuse	160
Fig. 64: Activation des projections ACC – PI excitatrices potentialise la décharge des neurones WDR de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA	162
Fig. 65: Inhibition des projections ACC – PI excitatrices réverse et maintient la sensibilité douloureuse	164
Fig. 66: Inhibition des projections ACC – PI excitatrices bloque la décharge des neurones WDR de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA	165
Fig. 67: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) dans la réaction nociceptive	166
Fig. 68: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) des l'activité des neurones WDR	167

Liste des abréviations

5-CSRTT: Five-choice serial reaction time task

5-HT: 5-hydroxytryptamine

6-OHDA: 6-Hydroxydopamine

AAV: Adeno-Associated Virus

ACC: Anterior Cingulate Cortex

ACd: dorsal Anterior cingulate Cortex

ACH: Acetylcholine

ADD: Attention Deficit Disorder

ADHD: Attention-deficit/hyperactivity disorder

AMP: Amphetamine

AMPA: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

ArchT: Archaelrhodopsin

ATP: Adenosine triphosphate

BLA: Basolateral Amygdala

BSA: Bovine Serum Albumin

CADDRA: Canadian Attention Deficit Hyperactivity Disorder Resource Alliance

CamKII: Calmodulin-dependent protein Kinase II

CAR: Cliff Avoidance Reaction

Cav2: Canine Virus

CDER: Center for Drug Evaluation and Research

CFA: Complet Freund Adjuvant

Cg1 : Cingulate 1

CGRP: Calcitonin Gene Related Peptide

ChR: Channelrhodopsin

CNO: Clozapine N-oxide

CPT: Continuous Performance Task

CS: Conditioned Stimulus

DA: Dopamine

DAT: Dopamine Transporter

DAT-KO: Dopamine Transporter KnockOut

DMN: Default-Mode Network

DRD4: D4 Dopamine Receptor

DREADD: Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs

DRG: Dorsal Root Ganglia

DSM-V: Diagnostic and statistical manual of mental disorders -V

eGFP: Enhanced Green Fluorescent Protein

EPM: Elevated plus maze

ERK: Extracellular regulated kinases

GABA: gamma-Aminobutyric acid

GFP: Green Fluorescent Protein

Glu: Glutamate

Gly: Glycine

GxE: Gene Environment Interaction

HEM: Hemisphere

IASP: International Association for the Study of Pain

IgG: Immunoglobulin G

LI: Latent inhibition

IL: Infralimbic Cortex

IRM: Imagerie par résonance magnétique

IRMf: Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

ITI: Inter-trial interval

LC: Locus Coeruleus

LH: Limited Hold

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinases

m-CPP: meta-Chlorophenylpiperazine

MpH: Methylphenidate

NAc: Nucleus Accumbens

NE: Norepinephrine

NET: Norepinephrine Transporter

NGF: Nerve Growth Factor

NMDA: N-methyl-D-aspartate receptor

NOR: Novel Object Recognition

NP: Non pre-exposed

OF: Open field

OFC: Orbitofrontal Cortex

OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man

P: Pre-exposed

P5: Postnatal 5

PAG: Periaqueductal grey

PBS: Phosphate-buffered saline

PCA: Principal Component Analysis

PFC: Prefrontal Cortex

PI: Posterior Insular

PKA: Protein kinases A

PKC: Protein kinase C

PND: Postnatal day

PrL: Prelimbic Cortex

rACC: rostral Anterior Cingulate Cortex

RVM: Rostral Ventral Medulla

SD: Stimulus duration

SERT: Serotonin transporter

SHR: Spontaneously hypertensive rat

SI: Social Interaction

SNC: Substantia Nigra compacta

SP: Substance P

SSRT: Stop-signal reaction time

SST: Stop-signal task

TH: Tyrosine hydroxylase

TMD: Temporomandibular joint Disorders

TO: Time Out

TRP: Transient Receptor Potential

TRPV1: TRP vanilloid 1

US: Unconditioned Stimulus

VGSC: Voltage Gated Sodium Channels

VTA: Ventral Tegmental Area

WDR: Wide dynamic range

WK: Wistar-Kyoto

Introduction générale

Des enfants en échec scolaire, en voie de désocialisation majeure, en souffrance familiale,... Nous en voyons fréquemment dans notre pratique quotidienne. Comment distinguer un vrai « hyperkinétique » d'un enfant en souffrance psychosociale ou simplement difficile? De quoi s'agit-il vraiment?

Il n'y a pas de protocole bien établi. Il n'y a pas non plus de moyen diagnostique infaillible. Il n'y a que les médecins, les parents et l'entourage de l'enfant pour mesurer un « degré de suspicion » avec l'aide de logopèdes et de psychomotriciens.

*« Beaucoup d'enfant 'mal élevés' et turbulents ne sont pas des hyperactifs, loin s'en faut! Il peut 'seulement' s'agir d'enfants qui manquent de limites éducatives ou qui perturbent délibérément leur environnement dans des situations précises (stress, ...) Dans ce cas, le déficit de l'attention n'est pas retrouvé chez ces enfants. Il pourrait être déculpabilisant pour certains parents de faire passer une carence éducative pour une hyperactivité, de même que l'enfant pourrait se retrancher derrière la 'protection' que confère ce diagnostic. Il est donc fondamental d'éviter l'écueil qui consisterait à excuser le comportement perturbateur de certains enfants sous prétexte d'hyperactivité. La plupart d'entre eux ne souffrent de rien d'autre que d'une insuffisance d'autorité parentale engendrant un manque de respect des limites et des consignes éducatives. » **Dr. Michel Lecendreux.***

Qu'est-ce que c'est hyperkinétisme ou TDA/H ou encore ADHD ? D'où vient cette notion ? **Le Trouble du Déficit de l'Attention avec ou sans Hyperactivité (TDA/H)** est l'une des pathologies psychiatriques les plus fréquentes chez l'enfant avec une prévalence estimée à 8 - 12% dans le monde (**Caye et al., 2016**). Les acronymes en français sont: "TDAH", "TDA" (anciennement "THADA") et en anglais "ADHD" (*Attention Deficit hyperactivity Disorder*), "ADD" (*Attention Deficit Disorder*). Ses principaux symptômes sont l'**hyperactivité**, l'**inattention** et l'**impulsivité** (**American Psychiatric Association, 2013**). Il ne disparaît pas à l'âge adulte, mais il se transforme, en mieux ou en pire. Enfin, **25% des habitants de la planète** sont globalement concernés par cette manière intuitive et non séquentielle de fonctionner (notamment les surdoués, les créatifs, ou ceux qu'on appelle les 'cerveaux droits'). On constate aussi souvent des problèmes d'**hypersensibilité**, des fluctuations fréquentes et courtes dans l'énergie, les **émotions** et

l'humeur, ainsi que des **difficultés d'organisation** se traduisant souvent par de la procrastination. Les dysfonctionnements neuropsychologiques de l'ADHD font l'objet de débats continus. Les voies neuronales impliquées dans ces déficits indiquent des dysfonctionnements dans les réseaux catécholaminergiques frontaux-sous-corticaux, impliquant l'innervation dopaminergique et noradrénergique (Nigg, 2006). Par conséquent, les déficits de la neurotransmission **dopaminergique** semblent être hautement pertinents pour la neurobiologie et donc les cibles des médicaments de l'ADHD. Les psychostimulants à faible dose, notamment le méthylphénidate (MpH) et les amphétamines (AMP), sont les médicaments les plus utilisés contre l'ADHD (Frölich et al., 2012). Il a été démontré que le MpH réduisait considérablement les principaux symptômes ADHD dans une proportion allant jusqu'à 70% des enfants ADHD (Swanson et al., 2007). Cependant, le MpH a également des effets négatifs, par exemple: sur le sommeil, c'est-à-dire que certains auteurs ont noté des troubles du sommeil associés au traitement par le MpH chez des patients ADHD de tous les âges (Ironsides et al., 2010; Snitselaar et al., 2013). En dépit de preuves cohérentes selon lesquelles de faibles doses de MpH ont une influence sur les déficits dopaminergiques dans le cerveau (Engert et Pruessner, 2008; Berridge et al., 2006), les mécanismes neuronaux qui sous-tendent son action clinique ne sont pas encore totalement compris (Berridge et al., 2006). De plus en plus de données suggèrent que la dopamine est impliquée non seulement dans les symptômes principaux de l'ADHD, mais également dans d'autres déficits de la perception, tels que la perception des couleurs (Roessner et al., 2008), la perception du temps (Greenhill et al., 2002; Rubia et al., 2003; 2009) et la perception de la douleur (Treister et al., 2015).

La douleur est ainsi une comorbidité fréquente chez les patients ADHD. Les douleurs chroniques et l'ADHD sont des comorbidités fréquemment associées aux perturbations de l'humeur et l'anxiété. Des interactions ont ainsi été décrites avec des épisodes douloureux telles que les migraines (Parisi et al., 2014). Les douleurs chroniques quant à elles sont fréquemment accompagnées par des désordres émotionnels (Nicolson et al., 2009). Des études ont mis en évidence une hypersensibilité à la douleur chez les patients ADHD et soulignent une possible comorbidité entre l'ADHD et la douleur. Une étude a mis en évidence que la prévalence des douleurs chroniques peut atteindre jusqu'à

80% chez des sujets ADHD au lieu de 17% dans une population contrôle (Stray et al., 2013). Une autre étude expérimentale démontre des modifications de la perception douloureuse chez des patients ADHD (Treister et al., 2013). Cependant, les mécanismes et les circuits neuronaux impliqués dans ces interactions sont encore peu développés.

Les questions de départ:

1. Quel modèle animal préclinique d'ADHD peut-on développer ?
2. Quels sont les symptômes de l'ADHD que présentera ce modèle animal d'ADHD ?
3. Quelles sont les comorbidités douloureuses associées à ce modèle animal d'ADHD ?
4. Quels sont les mécanismes qui sous-tendent les associations entre ADHD et douleur ?

L'existence de comorbidités entre l'ADHD et la douleur devrait inciter les praticiens à explorer les manifestations de sensibilisation douloureuse chez les patients ADHD. Le traitement des pathologies associées est en outre une stratégie pour lutter contre l'ADHD en ciblant des mécanismes partagés, et en prévenant les effets aggravants de ces pathologies comorbides.

Les objectifs de ce travail sont les suivants:

1. Conception, mise en place et validation du modèle animal
2. Evaluation du comportement douloureux chez le modèle ADHD
3. Analyse du comportement ADHD dans les conditions de douleur persistante
4. Evaluation de l'intégration sensorielle dans la moelle épinière chez le modèle ADHD
5. Identification, analyse et évaluation des dysfonctionnements des contrôles descendant de la douleur

Afin de déterminer ces interactions entre ADHD et douleur, la première étape consiste à établir un modèle animal valide d'ADHD. Le modèle lésionnel d'ADHD le plus largement utilisé est obtenu par la lésion néonatale du système dopaminergique chez le rat par la 6-Hydroxydopamine (6-OHDA). Une seule étude a utilisé un tel modèle chez la souris et a démontré une hyperactivité à l'âge juvénile ([Avale et al., 2004](#)). Cependant, les données concernant le comportement impulsif ou les déficits d'attention étaient indisponibles ou contradictoires ([Sontag et al., 2010](#)). Nous avons généré un modèle de souris à P5 par interruption néonatale des voies dopaminergiques centrales par la 6-OHDA. Nous avons démontré que plusieurs caractéristiques comportementales observées chez les sujets ADHD étaient reproduites dans ce modèle: l'hyperactivité locomotrice pendant l'adolescence, le déficit d'attention et l'impulsivité à l'âge adulte. De plus, les doses thérapeutiques équivalentes du MPH atténuent efficacement les symptômes ADHD chez le modèle de souris 6-OHDA.

Dans un deuxième temps, nous avons caractérisé les différences de l'attention et l'impulsivité chez les souris 6-OHDA pendant l'adolescence. Nous avons adapté le protocole qui permet de mesurer l'attention et l'impulsivité pendant la période de l'adolescence chez les rongeurs. Les souris 6-OHDA présentent un déficit du contrôle inhibiteur et présentent une grande perte de performances attentionnelles, ce qui suggère que les souris adolescentes 6-OHDA présentent des anomalies comportementales correspondant aux symptômes connus de l'ADHD. Cette partie du travail nous a donc permis de mettre en place le modèle animal ADHD.

Enfin, dans un troisième temps, nous avons analysé les comportements douloureux dans le modèle de souris 6-OHDA. Les souris 6-OHDA présentent un abaissement des seuils de la douleur, ce qui suggère que l'ADHD induit une sensibilisation à la douleur (comorbidité ADHD-Douleur). Pour déterminer si l'ADHD influence la sensibilisation induite par l'inflammation à différents stimuli douloureux, nous avons induit une réponse inflammatoire persistante dans la patte postérieure droite des animaux. Nous avons observé une augmentation de l'hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA dans les conditions de douleur persistante. Nous avons aussi constaté que le MPH n'avait aucun effet sur les seuils douloureux des souris 6-OHDA. Nous avons confirmé par la suite, à l'aide d'enregistrements extracellulaires unitaires, que les

modifications de la sensibilité à la douleur des souris 6-OHDA sont dues à une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière. Cette sensibilisation passe donc par une altération de l'intégration sensorielle dans la moelle épinière via la mise en jeu de contrôles descendants. Le cortex cingulaire antérieur (ACC) est une région clé, étant impliqué dans l'ADHD, les émotions et aussi dans les voies descendantes de la douleur. Nous avons démontré que les neurones de l'ACC sont hyperactifs en conditions ADHD. Nous avons déterminé que l'application des stimuli mécaniques (pression croissante) sur la patte postérieure de l'animal provoque une augmentation de décharge de ces neurones de l'ACC chez les souris 6-OHDA. Ceci suggère fortement l'implication de l'ACC dans les dérèglements de la perception douloureuse qui affectent les souris 6-OHDA. En effet, en combinant les analyses électrophysiologiques, optogénétiques et comportementales, nous avons ensuite démontré que les effets de l'ADHD sur la sensibilisation douloureuse passent par la mise en jeu de l'ACC et de la voie ACC – PI (cortex insulaire postérieur).

L'ensemble des résultats est présenté au travers de trois chapitres incluant chacun une discussion. Une brève conclusion générale est ensuite donnée.

Synthèse bibliographique

1^{ère} Partie: Généralités sur l'ADHD

I. Introduction

L'ADHD (Attention Deficit/Hyperactivity Disorder) est une maladie neurologique développementale très répandue, caractérisée par les symptômes de l'inattention et l'impulsivité/hyperactivité à un degré incompatible avec le niveau de développement. Les symptômes ADHD persistent jusqu'à l'âge adulte chez la majorité des patients (**Biederman, 1998**) et sont associés à une déficience fonctionnelle, un risque élevé de la dépression, la toxicomanie et le comportement antisocial. La présentation clinique est hétérogène avec trois sous-types identifiés en fonction des symptômes les plus fréquents (principalement inattentifs, hyperactifs/impulsifs et/ou combinés) et avec une dépendance relative au contexte de l'expression des symptômes, bien que la maladie ait une évolution chronique. L'ADHD est associée dans le contrôle inhibiteur à des troubles cognitifs et les fonctions exécutives, mais avec des profils neuropsychologiques qui peuvent montrer également une variabilité inter et intra-individuelle considérable. Cette hétérogénéité clinique est susceptible de refléter la multiplicité des voies de causalité conduisant au développement du trouble et d'une série de facteurs modérateurs et médiateurs impliqués dans l'expression des symptômes.

Le traitement de l'ADHD implique des stratégies pharmacologiques et non pharmacologiques. Les systèmes catécholaminergiques sont les principales cibles des médicaments stimulants et non stimulants utilisés pour soulager les symptômes ADHD. Des études convergentes confirment que des facteurs génétiques sont impliqués dans l'apparition des symptômes ADHD (OMIM 143465). Les recherches de la dernière décennie ont mis en évidence diverses anomalies du système nerveux central chez des patients ADHD, confirmant ainsi le fondement neurobiologique de la maladie. Cependant, les mécanismes qui lient les génotypes, les processus neuronaux et les symptômes cognitifs/comportementaux sont encore mal connus. Des découvertes indiquent que d'autres troubles du développement neurologique, tels que l'autisme, la schizophrénie et l'épilepsie, partagent des variantes génétiques avec l'ADHD (**Williams et al., 2010**). Ces développements devraient encourager la recherche de phénotypes cliniques ou cognitifs intermédiaires pertinents, plus susceptibles d'être liés aux mécanismes neurobiologiques

sous-jacents impliqués dans les symptômes ADHD que le diagnostic catégorique lui-même (Fig. 1). Les traits communs à différentes conditions neuropsychiatriques particulièrement méritent une plus grande attention (Burbach, 2010).

La neurobiologie de l'ADHD étant un domaine de recherche en évolution rapide, cette synthèse bibliographique vise à fournir une mise à jour des découvertes récentes en génétique, en biologie moléculaire et en neuroimagerie, ainsi qu'une revue des principaux modèles neurocognitifs et biologiques de l'ADHD.

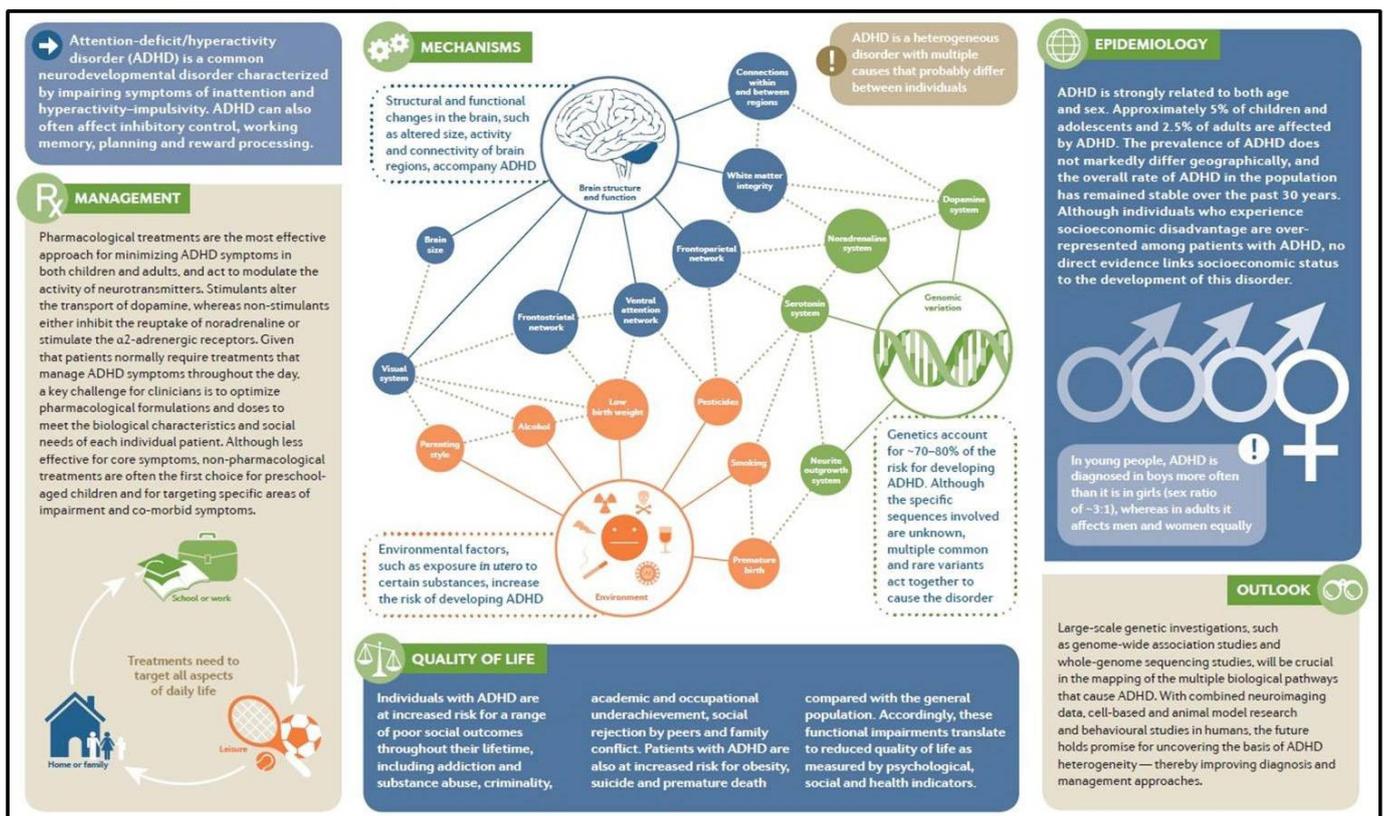


Fig. 1: Aperçu global du syndrome ADHD (Faraone et al., 2015).

II. Contributions génétiques et environnementales à l'ADHD

Des études d'antécédents familiaux ont montré que les proches de patients ADHD courent un risque élevé de développer cette maladie (Faraone et Biederman, 1994). La classification familiale des symptômes ADHD peuvent s'expliquer à la fois par des sources de transmission génétiques et environnementales. En effet, des études ont permis d'estimer la contribution relative des gènes et de l'environnement à la variance phénotypique de l'ADHD dans la population (D'Onofrio et al., 2008; Hicks et al., 2009;

Rice et Thapar, 2010). Les études sur les jumeaux fournissent une estimation de l'héritabilité en comparant les taux de concordance du diagnostic ou des traits caractéristiques de l'ADHD chez les jumeaux monozygotes et dizygotes. Ils ont systématiquement montré que les facteurs génétiques expliquent une forte proportion de la variance de l'ADHD (**Faraone et al., 2005**). Les études d'adoption sont une autre méthode permettant de vérifier si la génétique contribue à la transmission familiale d'un trouble. Ils ont constaté que les taux de l'ADHD étaient plus élevés chez les parents biologiques d'enfants ADHD que dans les familles adoptives (**Sprich et al., 2000**). Les résultats d'une étude méta-analyse sur les jumeaux et les adoptés ont indiqué que les facteurs génétiques contribuent respectivement à 71 et 73% de la variance des symptômes inattentifs et hyperactifs. Des effets génétiques non additifs (par exemple, des interactions entre des allèles d'un loci à un autre) ont montré une influence plus forte sur l'inattention par rapport à l'hyperactivité (15% versus 2%), ce qui suggère que des facteurs étiologiques spécifiques influencent chaque dimension du symptôme (**Nikolas et Burt, 2010**).

Plusieurs facteurs environnementaux ont été identifiés comme des facteurs de risque potentiels pour l'ADHD. Le stress maternel pendant la grossesse (**Talge et al., 2007**), l'exposition prénatale au tabac, à l'alcool et à d'autres drogues/toxines de l'environnement (**Pineda et al., 2007; Ribas-Fito et al., 2007**), les complications liées à la grossesse/naissance (**Pineda et al., 2007**), le retard de croissance intra-utérin et l'insuffisance pondérale à la naissance/prématurité (**Bhutta et al., 2002; Strang-Karlsson et al., 2008**) ont été associés à l'ADHD. Parmi les influences environnementales postnatales précoces liées à l'ADHD ou à ses symptômes principaux figurent une anoxie néonatale, une lésion cérébrale (**Pineda et al., 2007**), une exposition au plomb (**Nicolescu et al., 2010**) et aux biphényles polychlorés (**Jacobson et Jacobson, 2003**). L'adversité psychosociale et le niveau élevé de conflits familiaux étaient également associés à l'ADHD (**Biederman et al., 1995; Ellis et Nigg, 2009**). Des études relient l'ADHD à des problèmes familiaux plus spécifiques, tels que la parentalité incohérente (**Ellis et Nigg, 2009**) et l'évaluation négative du conflit familial par les enfants (**Counts et al., 2005**). Les enfants ayant subi une privation précoce institutionnelle pendant une durée de 6 mois ou plus présentent des niveaux élevés de symptômes ADHD, mais dans cette population,

l'inattention/hyperactivité était également fortement liée aux troubles de l'attachement (Rutter et Sonuga-Barke, 2010).

Les interactions gène-environnement (GxE) fonctionnent de deux manières: 1) un facteur génétique peut augmenter ou diminuer l'impact d'un environnement particulier et 2) un facteur environnemental peut activer un effet génétique. Cette interaction peut expliquer une proportion importante de l'hétérogénéité clinique de l'ADHD en augmentant la variance phénotypique au-delà des principaux effets des gènes et de l'environnement (Coghill et Banaschewski, 2009). La GxE a été rapportée entre diverses variantes génétiques et des facteurs environnementaux tels que le tabagisme maternel et la consommation d'alcool durant la grossesse et l'adversité psychosociale (Nigg et al., 2010).

III. Endophénotypes neuropsychologiques

La complexité clinique et étiologique de l'ADHD, ainsi que la faible proportion de variance des symptômes ADHD expliquée par les gènes candidats, a encouragé la recherche d'endophénotypes, des traits héréditaires considérés comme plus proches de l'étiologie génétique du trouble. Les déficits cognitifs ont été systématiquement identifiés dans l'ADHD et sont des marqueurs potentiels des dysfonctionnements neuronaux du trouble. Les sujets ADHD présentent des déficits dans les fonctions exécutives, en particulier dans les tâches impliquant un contrôle exécutif (inhibition de la réponse, mémoire de travail) (Barkley, 1997), une variabilité dans la vitesse de réponse (Sergeant et al., 2003) et dans le *timing* moteur (Rommelse et al., 2008). Les déficits cognitifs dans l'ADHD persistent au fil du temps, même chez les sujets présentant une rémission des symptômes comportementaux (Biederman et al., 2009). En utilisant des tests neuropsychologiques ayant précédemment montré une héritabilité significative dans une analyse du couplage entre le génome et l'ADHD, Rommelse et al. (2008) ont trouvé deux signaux de liaison significatifs à l'échelle du génome, un pour la tâche de synchronisation moteur sur le chromosome 2q21.1 (LOD score: 3.944) et un pour le test Digit Span sur 13q12.11 (LOD score: 3.959). L'évaluation des endophénotypes neuropsychologiques est une méthode prometteuse pour identifier des sous-groupes de patients plus homogènes, augmentant ainsi la possibilité de détecter des effets

généétiques mineurs et des mécanismes neurobiologiques spécifiques impliqués dans l'étiologie de l'ADHD.

IV. Neurobiologie et traitements pharmacologiques de l'ADHD

Un grand nombre de preuves suggère que de multiples neurotransmetteurs et structures cérébrales jouent un rôle dans l'ADHD (**Ouakil et al., 2011; Cortese, 2012; Faraone et al., 2015**). Bien que de nombreuses recherches aient été consacrées à la dopamine (DA) et la noradrénaline (NE), l'ADHD a été également associé à un dysfonctionnement des voies de la sérotonine (5-hydroxytryptamine [5-HT]), de l'acétylcholine (ACH), des opioïdes et du glutamate (Glu) (**Blum et al., 2008; Elia et al., 2011; Cortese, 2012; Maltezos et al., 2014; Potter et al., 2014**). Les altérations de ces systèmes de neurotransmetteurs affectent la fonction des structures cérébrales qui modèrent les fonctions exécutives, la mémoire de travail, la régulation émotionnelle et le traitement de la récompense (**Fig. 2; Faraone et al., 2015**).

Les personnes ADHD sont souvent diagnostiquées avec des comorbidités psychiatriques supplémentaires, notamment l'anxiété, l'humeur, la toxicomanie, les troubles du sommeil et les troubles de la personnalité antisociale (**Konofal et al., 2010; Kooij et al., 2012; Mao et Findling, 2014**). Il est important de noter que les substrats neurobiologiques qui sous-tendent les comportements associés à l'ADHD partagent dans une certaine mesure des points communs avec ceux impliqués dans ces troubles comorbides (**Farb et Ratner, 2014; Schwartz et Kilduff, 2015; Sternat et Katzman, 2016**). Des études génétiques ont également identifié des facteurs de risque génétiques communs entre l'ADHD et les troubles comorbides associés (**Sharp et al., 2014; Carey et al., 2016**). En tant que tels, les comorbidités doivent être prises en compte lors de l'utilisation de la pharmacothérapie chez les personnes ADHD.

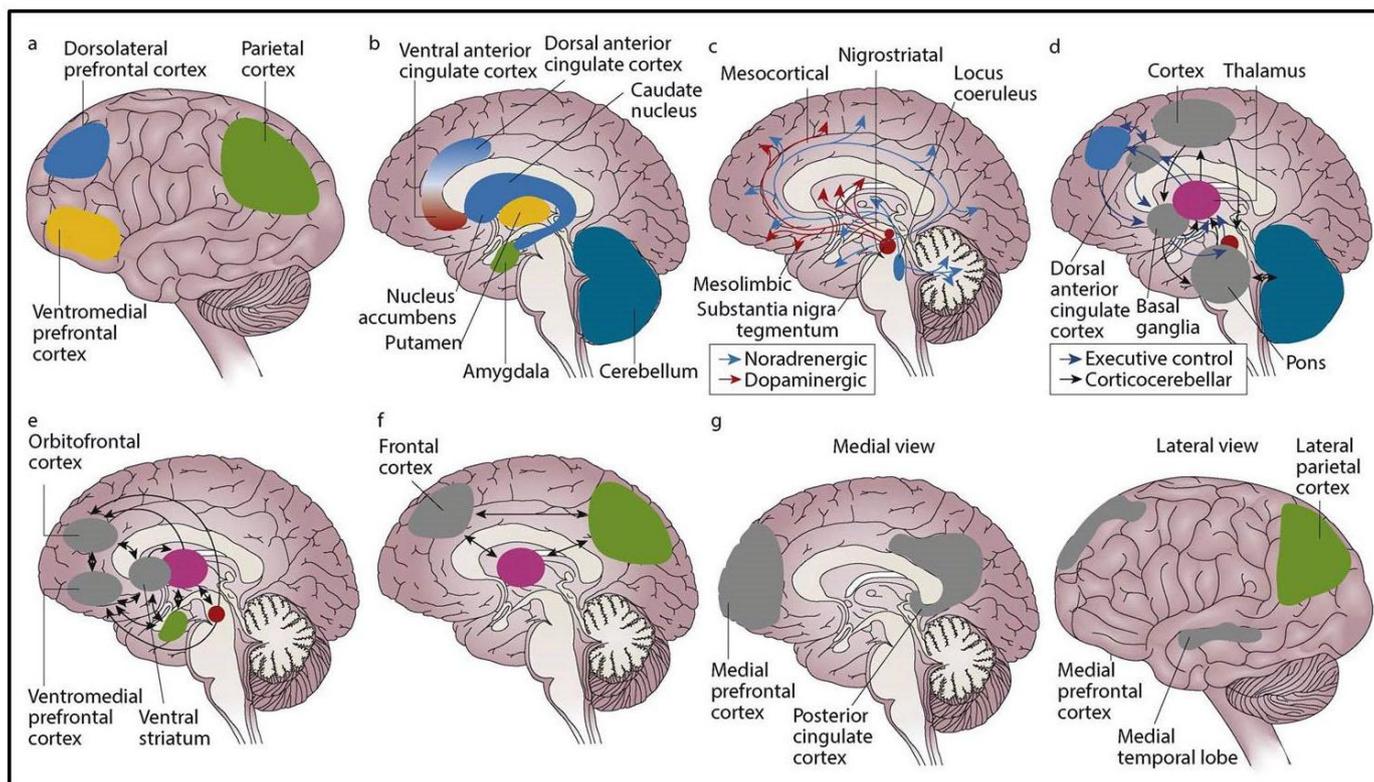


Fig. 2: Structures du cerveau impliquées dans l'ADHD (Faraone et al., 2015).

Les régions corticales du cerveau jouent un rôle dans l'ADHD (Fig. 2A). Le cortex préfrontal dorsolatéral est lié à la mémoire de travail, le cortex préfrontal ventromédial à la prise de décision et à la planification stratégique, et le cortex pariétal à l'orientation de l'attention. L'ADHD implique les structures sous-corticales (vue médiale) du cerveau (Fig. 2B). Le cortex cingulaire antérieur ventral et le cortex cingulaire antérieur dorsal sont au service des composants affectifs et cognitifs du contrôle exécutif. Avec les noyaux gris centraux (comprenant le noyau accumbens, le noyau caudé et le putamen), ils forment le circuit frontostriatal (voir la revue Faraone, 2018). Des études de neuroimagerie ont montré des anomalies structurelles et fonctionnelles dans toutes ces structures chez des patients ADHD, allant jusqu'à l'amygdale et le cervelet (Faraone, 2018). Plusieurs circuits de neurotransmetteurs sont impliqués dans l'ADHD (Fig. 2C). Le système dopaminergique joue un rôle important dans la planification et l'initiation des réponses motrices, l'activation, le *switching*, la réaction à la nouveauté et le traitement de la récompense. Le système noradrénergique influence la modulation de l'excitation, les rapports signal/bruit dans les zones corticales, les processus cognitifs dépendants de l'état et la préparation cognitive de stimuli urgents. Les réseaux du contrôle exécutif sont également affectés

chez les patients ADHD (**Fig. 2D**). Le contrôle exécutif et les réseaux cortico-cérébelleux coordonnent le fonctionnement exécutif, par ex. la planification, le comportement axé sur les objectifs (*goal-directed behavior*), l'inhibition, la mémoire de travail et l'adaptation flexible au contexte. Ces réseaux sont sous-activés et ont une connectivité fonctionnelle interne inférieure chez les individus ADHD par rapport aux personnes saines. L'ADHD implique aussi le réseau de récompense (**Fig. 2E**), notamment le cortex préfrontal ventromédial, le cortex orbitofrontal et le striatum ventral sont au centre du réseau cérébral qui répond à l'anticipation et à la réception de la récompense. Les autres structures impliquées sont le thalamus, l'amygdale et les corps cellulaires des neurones dopaminergiques de la substance noire et interagissent de manière complexe. Les réponses comportementales et neuronales à la récompense sont anormales dans l'ADHD. Le réseau d'alerte est altéré dans l'ADHD (**Fig. 2F**). Les zones corticales frontale et pariétale et le thalamus interagissent de manière intensive dans le réseau d'alerte (indiqué par les flèches sur **Fig. 2G**), ce qui favorise le fonctionnement de l'attention et il est plus faible chez les personnes ADHD que chez les témoins. L'ADHD implique le réseau en mode par défaut (DMN; *default-mode network*). Le DMN comprend le cortex préfrontal médial et le cortex cingulaire postérieur (vue médiale), ainsi que le cortex pariétal latéral et le lobe temporal médial. Les fluctuations du DMN sont déphasées de 180° par rapport aux fluctuations des réseaux qui s'activent lors de tâches orientées vers l'extérieur, reflétant probablement une concurrence entre les processus opposés pour le traitement des ressources. Les corrélations négatives entre le DMN et le réseau de contrôle frontopariétal sont plus faibles chez les patients ADHD que chez les personnes saines (**Faraone, 2018**).

Bien que les stimulants (l'amphétamine [AMP] et le méthylphénidate [Mph]) et non stimulants (par exemple l'atomoxétine, la clonidine et la guanfacine) soient approuvés pour le traitement de l'ADHD (**Thomas et al., 2013**), les stimulants sont considérés comme un traitement de première intention chez les enfants, adolescents et adultes ADHD en raison de leur grande efficacité (**Rostain, 2008; Atkinson and Hollis, 2010; Kooij et al., 2010; Canadian Attention Deficit Hyperactivity Disorder Resource Alliance (CADDRA), 2011; Subcommittee on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder et al., 2011; Bolea-Alamanac et al., 2014**). L'AMP et le Mph ont démontré une efficacité comparable dans 2

méta-analyses (Faraone et Glatt, 2010; Catala-Lopez et al., 2017), par contre, d'autres analyses rapportent que l'AMP a des effets modérément plus importants que le Mph (Faraone et Buitelaar, 2010; Stuhec et al., 2015; Joseph et al., 2017). Les profils de tolérance et de sécurité de l'AMP et du Mph en termes d'effets indésirables, d'arrêt de traitement et d'effets cardiovasculaires sont généralement comparables (Duong et al., 2012; Vaughan et Kratochvil, 2012; Martinez-Raga et al., 2017), bien que la perte de poids et l'insomnie seraient plus courantes avec l'AMP qu'avec le Mph (Catala-Lopez et al., 2017). Bien que l'augmentation de la disponibilité synaptique DA et NE soit un résultat clé de l'exposition à la fois à l'AMP et au Mph (Zhu et Reith, 2008; dela Pena et al., 2015), des différences dans les mécanismes d'action cellulaires spécifiques de l'AMP et du Mph peuvent influencer leur effets sur les substrats neurobiologiques de l'ADHD et la réponse au traitement chez les personnes ADHD, ainsi que leurs effets sur les comorbidités courantes, telles que la dépression et l'anxiété.

Les traitements pharmacologiques de l'ADHD optimisent toute la signalisation catécholamine dans le cortex préfrontal. Les mécanismes d'action des stimulants (Mph et AMP) comprennent le blocage des transporteurs de la DA (SLC6A3/DAT) et la NE (SLC6A2/NET), l'inhibition de la monoamine oxydase et la libération élevée des catécholamines (Solanto, 1998). Les stimulants agissent principalement sur les récepteurs DA *D1* du cortex préfrontal et sur les récepteurs *D2* du striatum. L'atomoxétine, un médicament non stimulant utilisé dans l'ADHD, bloque le transporteur de la NE et augmente les niveaux NE et DA dans le cortex préfrontal. La guanfacine, un autre médicament non stimulant, agit au niveau des récepteurs postsynaptiques *alpha-2A* pour améliorer la transmission NE. Les effets thérapeutiques de la stimulation DA impliqueraient un affaiblissement des réseaux de connexions inappropriées (c'est-à-dire, produisant une diminution du "bruit"), alors qu'une transmission élevée de la NE peut fonctionner en renforçant les connexions appropriées (c'est-à-dire une augmentation du "signal") (Arnsten, 2009). Les connaissances actuelles sur les mécanismes neurobiologiques des traitements pharmacologiques de l'ADHD suggèrent qu'en dépit de certains chevauchements, les médicaments présentent des effets différentiels avec les stimulants ayant des effets généraux sur les déficits de l'attention et les symptômes moteurs et les non stimulants susceptibles d'avoir une action plus spécifique dans le

cortex préfrontal. Les développements récents de la recherche thérapeutique ont élargi la gamme de médicaments pour le traitement de l'ADHD. Des recherches supplémentaires sont susceptibles d'améliorer le ciblage des traitements sur les patterns de symptômes individuels, le niveau de développement et éventuellement sur l'état de maturation du cerveau.

L'amélioration de l'adaptation des traitements aux besoins individuels est également l'objectif des approches pharmacogénétiques. Les études pharmacogénétiques recherchent des facteurs génétiques impliqués dans la pharmacodynamique et la pharmacocinétique de médicaments qui pourraient expliquer la variabilité interindividuelle de la réponse au traitement ou de la tolérance. Une méta-analyse d'études pharmacogénétiques *SLC6A3/DAT1* sur un total de 475 sujets a montré une association significative entre les génotypes 10 et 10 des répétitions *tandem* de nucléotides variables de 40-bp et de faibles taux de réponse du MpH ([Purper-Ouakil et al., 2008](#)). Récemment, une variante de la carboxylestérase 1, la principale enzyme métabolisant le MpH, a été associée à des dosages nécessaires pour obtenir une réponse au traitement; les patients hétérozygotes (Gly/Glu) avaient besoin de doses plus faibles pour des effets thérapeutiques optimaux par rapport aux homozygotes (Gly/Gly) ([Nemoda et al., 2009](#)). Des analyses de la réponse clinique couplées aux interventions pharmacologiques, la pharmacogénétique et à l'imagerie du fonctionnement du cerveau, comme proposé par [Szobot et al. \(2011\)](#) sont susceptibles d'améliorer encore les connaissances sur l'ADHD et son traitement.

V. Modèles animaux de l'ADHD

En manipulant des modèles animaux de maladies humaines au laboratoire, permet aux chercheurs d'élucider leur pathogenèse et les mécanismes mis impliqués, ce qui permettrait de prévenir les maladies chez l'homme et d'améliorer le diagnostic et le traitement. Étant donné que les modèles animaux jouent un rôle essentiel dans la compréhension des maladies humaines, il est important de caractériser chaque modèle, en mettant l'accent sur la reconnaissance de ses avantages et de ses limites.

« Quels critères font un modèle animal adapté à l'étude d'une maladie humaine? »

Une considération fondamentale pour un modèle animal de l'ADHD est sa ressemblance phénotypique à la maladie humaine, appelée « *face validity* ». Identifier la *face validity* est la condition principale pour l'établissement des modèles animaux de l'ADHD depuis le premier modèle animal proposé pour l'ADHD (rat portant une lésion 6-Hydroxydopamine (6-OHDA)) (Shaywitz et al., 1976a).

Bien que l'ADHD se caractérise par l'inattention, l'impulsivité et l'hyperactivité, les trois symptômes ne touchent pas forcément tous les patients ADHD. En fait, le DSM-V divise la classification des patients ADHD en un type essentiellement inattentif, un type principalement hyperactif-impulsif et un type combiné. La dichotomie dans la présentation des symptômes associés à l'ADHD chez l'homme, combinée avec les résultats des études chez l'animal suggèrent que l'inattention, l'impulsivité et l'hyperactivité ne peuvent pas partager un substrat commun (Sagvolden et al., 1998), suggérant fortement différents mécanismes neurobiologiques sous-jacents les trois symptômes. Par conséquent, pour établir la *face validity* d'un modèle animal de l'ADHD, le modèle n'a pas besoin de présenter tous les symptômes comportementaux de la maladie. Cependant, un modèle animal ayant une *face validity* pour l'ADHD peut répondre à d'autres critères rendant ce modèle apte à l'étude de l'ADHD. Un modèle qui présente une réponse comportementale à une intervention pharmacologique similaire à la réponse à une maladie humaine répond à une « *predictive validity* ». Un modèle animal de l'ADHD atteint la « *etiological* ou *construct validity* » lorsque la ou les causes (telles que les mutations géniques ou les toxines environnementales) des comportements analogues à l'ADHD sont identiques à celles observées chez l'homme.

Sur la base de leur capacité à remplir au moins l'un de ces trois critères - *face validity*, *predictive validity*, *construct validity* - près de dix modèles animaux de l'ADHD ont vu le jour depuis le lancement du modèle de rat 6-OHDA. L'ADHD étant un trouble hétérogène associé à de multiples anomalies génétiques et à de multiples facteurs de risque environnementaux, chacun de ces modèles animaux est utile pour déchiffrer la pathogenèse de l'ADHD.

Parmi les modèles animaux de l'ADHD quatre sont les plus étudiés: le rat lésé en néonatal par la 6-OHDA, la souris mutante *coloboma*, la souris *knock-out/down* DAT et le rat

spontanément hypertendu (SHR). Dans ce qui suit, nous discutons des caractéristiques comportementales et neurochimiques de chacun de ces modèles.

1. Modèles génétiques

L'ADHD a été associé à des polymorphismes dans plusieurs gènes, dont la plupart sont impliqués dans la neurotransmission catécholaminergique, tels que le transporteur de la DA (DAT) (Lim et al., 1989), le récepteur de la DA D4 (DRD4) (LaHoste et al., 1996; Faraone et al., 2001) et les gènes de la DA β -hydroxylase (Roman et al., 2002). De plus, l'ADHD est l'un des troubles psychiatriques les plus héréditaires (Faraone et al., 2005), ce qui suggère que les bons modèles animaux de l'ADHD devraient avoir des traits phénotypiques héréditaires.

1.1. Souches consanguines

L'un des modèles animaux de l'ADHD les plus utilisés est le rat spontanément hypertendu (SHR; *spontaneously hypertensive rat*), une souche hybride dérivée du rat Wistar-Kyoto (WK), pour laquelle de très différentes sous-lignes existent, ce qui complique son utilisation en tant que souche de contrôle appropriée (Kurtz et Morris, 1987). Dans un premier temps choisi pour l'hypertension (Okamoto et Aoki, 1963), le SHR a montré de façon inattendue des niveaux élevés d'hyperactivité et d'impulsivité qui se développent sur des tests répétés et sont particulièrement évidents dans les milieux à faible taux de renforcement (Moser et al., 1988; Bull et al., 2000; Sagvolden, 2000; Sagvolden et al., 2005). De même pour les patients ADHD, le SHR est plus sensible à la récompense immédiate et moins sensible à la récompense retardée (Sagvolden et al., 1992; Sutherland et al., 2009), et présente des déficits d'apprentissage et de mémoire (Wyss et al., 1992). Ces traits sont présents avant que les SHR ne développent une hypertension et restent stables à l'âge adulte (Adriani et al., 2003). Les concentrations de NE et l'expression génique de la tyrosine hydroxylase (TH) se sont révélées plus élevées (de Villiers et al., 1995; Reja et al., 2002), tandis que l'efflux de DA est réduit dans le striatum de SHR par rapport aux rats WK (Linthorst et al., 1991; Heal et al., 2008). De plus, le cerveau des SHR présente des anomalies neuroanatomiques similaires à celles des patients ADHD (Bendel et Eilam, 1992) et des densités faibles de DAT (Watanabe et al., 1997; Leo et al., 2003), ce qui peut expliquer la réactivité réduite aux psychostimulants

(Russell et al., 2005). La neurotransmission de la 5-HT semble également être altérée chez les SHR (Pollier et al., 2000; Stocker et al., 2003), bien que la 5-HT ne soit pas considérée comme essentielle au phénotype de ce modèle animal (Russell et al., 2005). En dépit de sa haute *face validity*, le modèle de SHR ne montre pas de déficits cognitifs dans toutes les tâches comportementales de l'impulsivité et de l'attention soutenue (par exemple, van den Bergh et al., 2006), et la capacité des médicaments utilisés dans le traitement de l'ADHD à améliorer les performances de ce modèle animal a été incohérent (Wultz et al., 1990; Sagvolden, 2006; van den Bergh et al., 2006; Bizot et al., 2007; Hand et al., 2009) de manière critique en fonction du test de comportement utilisé et de la souche de rat utilisée comme contrôle (Alsop, 2007; Heal et al., 2008; Russell, 2007; Sanabria et Killeen, 2008). Par exemple, les SHR sont plus impulsifs dans des tâches telles que les défis à intervalle/extinction fixe et le renforcement retardé (Sagvolden et al., 1998; Sagvolden, 2000; Johansen et al., 2007; Fox et al., 2008; Orduna et al., 2009), mais ne sont pas affectés par des tâches nécessitant une attention soutenue, telles que les procédures de 5-CSRTT (*Five-choice serial reaction time task*) et de discrimination visuelle (van den Bergh et al., 2006; Thanos et al., 2010) par rapport aux rats normotendus. Il a été noté que le rat WK, habituellement utilisé comme souche témoin, est hypoactif, exagérant ainsi les différences de niveaux d'activité par rapport au SHR (van den Bergh et al., 2006), ce qui aurait une influence sur les résultats dans diverses tâches. Alsop (2007) a montré que les différences de taux de réponse de base (*baseline response*) expliquaient les différences entre les deux souches dans les tâches d'impulsivité et d'attention. En résumé, les grandes différences comportementales (Alsop, 2007) et génétiques (Festing et Bender, 1984; Johnson et al., 1992) par rapport aux SHR rendent les rats WK inappropriés en tant que souche témoin pour des expériences comportementales et physiologiques.

1.2. Animaux knock-out et transgéniques

Les souris dépourvues de DAT (DAT-KO) sont hyperactives dans de nouveaux environnements et présentent des déficits d'apprentissage et de mémoire (Giros et al., 1996; Gainetdinov et Caron, 2000; 2001). Les souris DAT-KO se caractérisent par des taux élevés de DA extracellulaire dans le striatum et par une libération réduite de DA phasique (Gainetdinov et al., 1999a). L'hyperactivité dans ce modèle est réduite par les psychostimulants et les agents 5-HT (la fluoxétine; inhibiteur du transporteur de la 5-HT,

la quizapine; agoniste des récepteurs 5-HT et les précurseurs de la 5-HT), mais pas par les inhibiteurs de la recapture de la NE ([Gainetdinov et al., 1999b](#); [Gainetdinov et Caron, 2001](#)). Ceci a été considéré comme une preuve que, dans ce modèle, les psychostimulants ne diminuent pas directement l'hyperlocomotion en améliorant la neurotransmission catécholaminergique, mais en modulant le système 5-HT. Bien que les médicaments ciblant le système 5-HT se soient avérés d'une utilisation limitée dans le traitement de l'ADHD humain, un polymorphisme du gène du récepteur 5-HT_{2A} a été associé à cette maladie ([Quist et al., 2000](#)) et les antagonistes de ce récepteur améliorent les déficits des souris DAT-KO ([Barr et al., 2004](#)). Il serait donc intéressant d'examiner le potentiel des récepteurs 5-HT des souris knock-out en tant que modèles génétiques de l'ADHD (par exemple, [Dalton et al., 2004](#)). Malgré la grande *face validity* de ce modèle animal de l'ADHD, il présente également des caractéristiques qui ne ressemblent pas à la condition humaine, telles que le retard de croissance et la mort prémature ([Gainetdinov et al., 1998](#); [Giros et al., 1996](#)). De plus, on ne sait pas encore si l'ADHD est caractérisé par une augmentation ou une diminution de la fonction DAT, dont la disponibilité dans le cerveau humain change de manière significative en réponse à un traitement médicamenteux ([Krause et al., 2000](#); [Cheon et al., 2003](#); [Jucaite et al., 2005](#)). Ce dernier point illustre bien la complexité d'utiliser des preuves issues d'études génétiques humaines pour créer des modèles animaux valables.

En ce qui concerne la souris mutante *Coloboma* qui porte une mutation du gène SNAP-25, produite par irradiation neutronique, a été proposée comme modèle de l'ADHD ([Barr et al., 2000](#)). La SNAP-25 est une protéine importante nécessaire à la libération des neurotransmetteurs exocytotiques et à la translocation des protéines. Des polymorphismes du gène SNAP-25 ont été associés à l'ADHD chez l'homme ([Mill et al., 2002](#); [Kustanovich et al., 2003](#); [Feng et al., 2005](#)). Les souris mutante *Coloboma* présentent une impulsivité lors d'une tâche de renforcement retardée ([Bruno et al., 2007](#)) et leur hyperlocomotion est diminuée par l'AMP, mais pas par le M_pH ([Hess et al., 1996](#); [Wilson, 2000](#); [Fan et al., 2010](#)). Il a été suggéré que le phénotype hyperactif de ce modèle est dû à un déséquilibre entre l'hyperfonction NE et l'hypofonction DA ([Jones et al., 2001a,b](#); [Jones et Hess, 2003](#); [Russell, 2007](#)) et que son hyperactivité dépend de la neurotransmission NA ([Jones et Hess, 2003](#)). La souris *Coloboma* est un modèle

prometteur de l'ADHD et des rapports indiquent des voies possibles pour tester sa *predictive validity*, suggérant de nouvelles cibles pharmacologiques pour le traitement de l'ADHD (Fan et al., 2010).

Bien que l'ADHD ait été associé à plusieurs reprises aux polymorphismes du gène DRD4 (Faraone et al., 2005), les souris *knock-out* DRD4 ne sont pas souvent utilisées comme modèles animaux de l'ADHD (Mill, 2007). En effet, ils présentent un phénotype essentiellement hypoactif et une hypersensibilité à diverses drogues faisant l'objet d'abus de drogues (Rubinstein et al., 1997), caractéristiques qui ne ressemblent pas à l'ADHD humain. Cependant, l'utilisation combinée de la déplétion néonatale en DA (décrite ci-dessous) et des animaux inactivés par le DRD4 a donné des résultats intéressants. Avale et al. (2004) ont constaté que les souris *knock-out* DRD4 ne présentaient pas de l'hyperactivité après la déplétion de la DA, contrairement aux souris contrôles (*wild-type*), et que l'administration d'antagonistes de la DRD4 empêchait les animaux lésés en DA de développer le phénotype hyperactif. Pris ensemble, ces résultats confirment l'importance de DRD4 dans l'expression de l'hyperactivité lorsque le système DA est compromis, bien que la comparaison de ce phénotype avec le polymorphisme humain associé à l'ADHD n'apparaisse pas clairement. De plus, les souris *knock-out* DRD4 ne sont pas impulsives dans les tâches de réduction de délai et de test *go/no-go*, mais ne font que montrer une recherche élevée de la nouveauté (Helms et al., 2008), confirmant ainsi les limites de l'utilisation de ces souris *knock-out* comme modèle de l'ADHD.

Un autre modèle de souris génétique basé sur la délétion de la sous-unité $\beta 2$ du récepteur nicotinique a été décrit comme présentant une inflexibilité comportementale de type ADHD et des déficits inhibiteurs (Granon et al., 2003). Considérant une association entre les polymorphismes de la sous-unité du récepteur nicotinique et l'ADHD (Todd et al., 2003), l'incidence élevée de l'usage de la cigarette chez les personnes ADHD (Wilens et al., 2008) et les effets bénéfiques de l'administration de nicotine sur la fonction de l'attention (Levin et Rezvani, 2002), une étude plus approfondie de ce modèle est justifiée (Granon et Changeux, 2006).

Les souris transgéniques mâles exprimant une forme mutante du récepteur de l'hormone thyroïdienne humaine (*TRbeta1*) présentent une hyperactivité croissante au fil du temps,

de l'impulsivité et de l'inattention (**McDonald et al., 1998; Siesser et al., 2006**). L'hormone thyroïdienne contrôle le développement des zones du cerveau impliquées dans la régulation des fonctions exécutives (**Thompson et Potter, 2000; Bernal, 2002**). Ce modèle génétique montre une augmentation de la DA striatale et de l'hyperactivité qui est réduite par l'administration du MpH (**Siesser et al., 2006**).

2. Modèles induits chimiquement

En dépit de sa forte héritabilité, certaines formes de l'ADHD seraient dues à une exposition aux métaux lourds (**Braun et al., 2006; Nigg, 2006; Nigg et al., 2008**) ou à une intoxication médicamenteuse (**Streissguth et al., 1994; Linnet et al., 2003; Button et al., 2005**) au cours du développement pré, péri et post-natal. De tels facteurs environnementaux peuvent avoir des effets tératogènes sur le fœtus pendant la grossesse, ce qui entraînera des symptômes ADHD chez la progéniture (**Linnet et al., 2003**).

2.1. Exposition à la toxine

Étant donné que l'exposition aux produits chimiques pendant la grossesse représente un facteur de risque indépendant pour le développement de l'ADHD (**Biederman et al., 1995; Mick et al., 2002**), il pourrait être utile de créer des modèles animaux simulant de telles conditions. Par exemple, la découverte de déficits cognitifs de type ADHD chez des animaux exposés à la nicotine avant la naissance (**Paz et al., 2007**) renforce la conclusion selon laquelle le tabagisme maternel pendant la grossesse augmente le risque de développement de l'ADHD chez les enfants (**Fung et Lau, 1989; Richardson et Tizabi, 1994; Milberger et al., 1998**).

L'exposition prénatale à l'éthanol (**Fahlke et Hansen, 1999; Hausknecht et al., 2005**) provoque des symptômes similaires à ceux de l'ADHD chez les animaux. Les rats exposés prénatalement à l'éthanol présentent une dérégulation des neurones DA dans la région tegmentale ventrale (VTA), normalisée par l'administration de l'AMP et le MpH (**Xu et Shen, 2001; Shen et Choong, 2006**).

L'exposition aux métaux lourds au début de l'ontogenèse provoque une hyperactivité qui s'améliore après l'administration aiguë d'AMP ou de MPH. Chez les animaux exposés au plomb, les taux de la 5-HT et de la DA sont réduits respectivement dans le cortex préfrontal et dans le striatum ([Silbergeld et Goldberg, 1974; 1975](#)). On pense que d'autres métaux lourds, tels que le manganèse et le cadmium, ont des effets similaires à l'exposition au plomb produisant des rats hyperactifs ([Kostrzewa et al., 2008](#); mais voir [Zimering et al., 1982](#)).

2.2. Modèles de lésions chimiques au niveau cérébral

Des études de neuroimagerie ont montré à plusieurs reprises des anomalies morphologiques et fonctionnelles du cerveau chez des patients ADHD ([Seidman et al., 2005](#)). On pense que les réseaux fronto-striataux sont dysfonctionnels dans l'ADHD, probablement en raison de la modification de la transmission monoaminergique. Les anomalies structurelles les plus courantes ont été observées dans le cervelet, le corps calleux, le striatum droit et les structures corticales (principalement dans l'hémisphère droit) ([Valera et al., 2007](#)). L'idée répandue est que les zones corticales hypofonctionnelles ne régulent pas de manière adéquate les structures sous-corticales, ce qui provoque une dérégulation des fonctions comportementales et cognitives ([Fineberg et al., 2009](#)). Par conséquent, interférer avec les structures et les systèmes de neurotransmetteurs dysfonctionnels chez les personnes ADHD est un outil puissant pour tester les conséquences comportementales de ces interventions. L'utilisation de cette méthode de création de modèles animaux de l'ADHD peut (1) informer sur les fonctions cognitives desservies par la zone lésée, (2) aider à développer une meilleure compréhension de ce trouble en décomposant le syndrome de l'ADHD en déficits plus discrets et (3) tester les effets des médicaments de l'ADHD sur un système compromis pour lequel le processus pathogénique est connu. Cependant, les modèles animaux créés par l'utilisation de neurotoxines ne renseignent pas du tout sur les causes de l'ADHD, mais constituent des outils utiles pour étudier la contribution de zones ou de circuits cérébraux spécifiques aux processus cognitifs affectés par cette pathologie.

Le modèle neurodéveloppemental de l'ADHD le plus largement utilisé, créé par les systèmes cérébraux lésés, est le rat néonatal 6-hydroxydopamine (6-OHDA). [Shaywitz et](#)

al. (1976a, b) ont montré pour la première fois que des rats présentant une lésion 5 jours après la naissance avec une perfusion intracérébroventriculaire de 6-OHDA manifestaient apparemment une hyperactivité et d'autres déficits cognitifs atténués par une administration aiguë de l'AMP. D'autres recherches ont démontré que le phénotype comportemental s'améliorait également après l'administration du MPH (Davids et al., 2003) et que ces animaux présentaient une densité de DAT striatale faible, une expression élevée de DRD4 et des altérations du système 5-HT ressemblant à la condition humaine (Hanna et al., 1996; LaHoste et al., 1996; Dougherty et al., 1999; Zhang et al., 2001; Kostrzewa et al., 2008). Ces rats présentent des profils d'hyperactivité similaires à ceux de l'ADHD chez l'enfant, en ce sens que leur hyperlocomotion est moins évidente dans les nouveaux environnements et augmente ensuite avec les expositions répétées au dispositif du test (Archer et al., 1988a; Luthman et al., 1989), mais ne sont pas impulsives. Ainsi, le modèle 6-OHDA a une bonne *face validity*, mais manque de *construct validity* car il est peu probable qu'une destruction presque complète du système DA reflète avec précision la pathologie neurochimique de l'ADHD. Néanmoins, ce modèle pourrait fournir des informations importantes sur la relation entre les altérations monoaminergiques de l'ADHD et les mécanismes sous-jacents de l'hyperactivité. Par exemple, l'absence d'effet des antagonistes sélectifs DAT sur l'hyperactivité suggère que les psychostimulants pourraient exercer leur action principalement sur les autres transporteurs de monoamine de ce modèle (Zhang et al., 2002; Russell et al., 2005). En conséquence, les inhibiteurs du transporteur 5-HT et NE, ainsi que les antagonistes du récepteur DRD4, réduisent considérablement l'hyperactivité chez les rats porteurs de lésions 6-OHDA (Davids et al., 2002; Zhang et al., 2002).

Un autre modèle développemental de l'ADHD est basé sur les effets de la lésion du cervelet au jour postnatal 1–12, qui provoque un retard de croissance cérébelleux et différents niveaux de déficits comportementaux selon la méthode utilisée (Archer et al., 1988b; Ferguson, 1996). Une exposition précoce à l'acétate de méthylazoxyméthanol, à la dexaméthasone ou à l'acide trans-rétinoïque entraîne des lésions cérébelleuses et une hyperactivité mimant en partie la condition humaine (Ferguson, 1996; 2001; Holson et al., 1997). Cependant, ces modèles n'ont pas été utilisés largement dans la recherche ADHD.

Des lésions de zones spécifiques du cerveau ont été également utilisées conjointement avec des tests comportementaux d'impulsivité et d'inattention. Les effets de telles lésions sont compatibles avec l'implication différente de « loops » fronto-striatales partiellement ségréguées (Alexander et al., 1990), qui servent les fonctions exécutives et seraient dysfonctionnelles dans l'ADHD (Fig. 3).

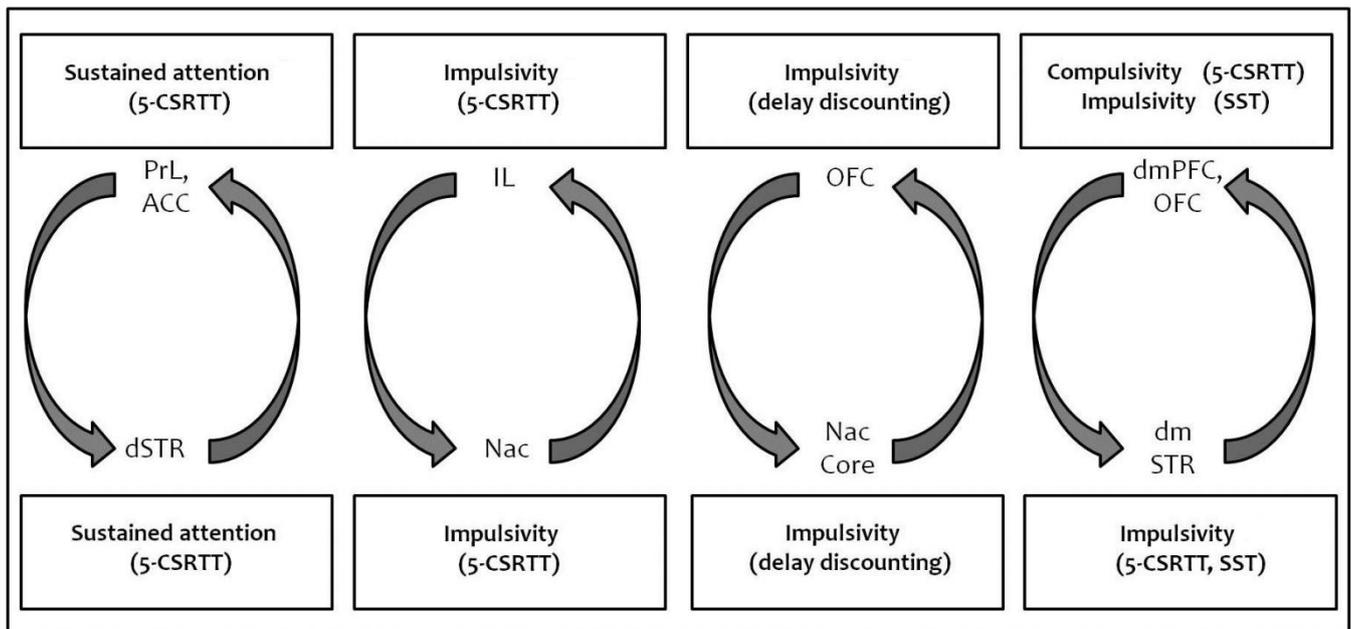


Fig. 3: Circuits cortico-striataux hypothétiques sous-tendant différentes fonctions cognitives et processus affectés par la lésion de structures corticales et sous-corticales spécifiques chez le rat.

Abréviations: ACC (cortex cingulaire antérieur), d (dorsal), dm (dorsomedial), IL (Infralimbique), Nac (Nucleus accumbens), (cortex orbitofrontal) OFC, STR (Striatum).

Dans la tâche du 5-CSRTT, les lésions des cortex cingulaire antérieur (ACC) et prélimbique (PrL) du rat altèrent l'attention soutenue (Muir et al., 1996), tandis que les lésions infralimbiques (IL) augmentent les réponses impulsives: la lésion du cortex orbitofrontal (OFC) provoque une réponse persévérante (Chudasama et al., 2003). Dans la même tâche, la lésion du striatum interne altère la précision de la réponse et augmente les réponses prématures et persévérantes (Rogers et al., 2001), tandis que les lésions du noyau accumbens (Nac) augmentent l'impulsivité sans affecter la précision de la réponse (Christakou et al., 2004). De plus, la déplétion cérébrale de la 5-HT par l'infusion intracérébroventriculaire de la 5,7 dihydroxytryptamine à l'âge adulte engendre une hyperactivité et une impulsivité persistantes dans le 5-CSRTT, sans altération de

l'attention ([Harrison et al., 1997](#); [Robbins, 2002](#)). Enfin, des déficits de l'attention sans augmentation de l'impulsivité ont été obtenus en interférant globalement avec la neurotransmission ACH et, dans certaines conditions, avec le système NE ([Carli et al., 1983](#); [Cole et Robbins, 1987](#); [Robbins et al., 1989](#); [Muir et al., 1994](#)). En utilisant la tâche SST (*Stop-signal task*), [Eagle et al. \(2008a\)](#) ont montré que les lésions de l'OFC altéraient les performances d'arrêt chez le rat, alors que [Bari et al. \(2008b\)](#) ont constaté que l'inactivation réversible du PFC dorso-médial par une infusion locale de muscimole ralentissait sélectivement la SSRT (*Stop-signal reaction time*). De plus, la SSRT est plus lente chez les rats porteurs de lésions striatales médianes ([Eagle et Robbins, 2003](#)), région recevant des afférences OFC, probablement homologue du noyau caudé chez l'homme, qui s'est avéré plus petit ou dysfonctionnel chez les patients ADHD ([Filipek et al., 1997](#); [Rubia et al., 1999](#)). Dans un paradigme de réduction des délais (*delay discounting paradigm*), [Cardinal et al. \(2001\)](#) ont montré que les lésions du noyau NAc rendaient les animaux moins tolérants aux retards, laissant la préférence intacte pour la grande récompense quand aucun retard n'était interposé, alors que les lésions de l'OFC augmentaient l'impulsivité dans une étude ([Mobini et al., 2002](#)), mais pas dans une autre utilisant un paradigme similaire ([Winstanley et al., 2004](#)). Dans cette dernière étude, il a été démontré que les lésions de l'amygdale basolatérale (BLA) induisaient un choix impulsif semblable à celui de la lésion centrale de NAc.

Pris ensemble, ces résultats confirment les hypothèses selon lesquelles des substrats neuroanatomiques discrets seraient impliqués dans différents types de contrôle des impulsions (**Fig. 3**). Les secteurs dorsaux du striatum (servis par la voie DA nigrostriatale) et les parties médiales du PFC sont impliqués dans l'action (*patience/inhibition*), tandis que les aspects plus limbiques du striatum (NAc, servis par la voie mésolimbique) et du PFC (OFC, probablement latéraux) sont importants pour les types d'inhibition comportementale, tels que le retard de la gratification, ainsi que pour l'expression d'un comportement compulsif.

3. Modèles de traumatismes physiques

Les modèles de traumatisme physique de l'ADHD comprennent l'hypoxie néonatale et l'exposition aux rayons X ([Kostrzewa et al., 2008](#)). L'hypoxie néonatale est un facteur de

risque de l'ADHD chez l'homme (Lou, 1996) et provoque des dérégulations monoaminergiques et comportementales persistantes dans le cerveau du rat (Dell'Anna et al., 1991; 1993; Iuvone et al., 1996). L'exposition aux rayons X pendant le développement endommage l'hippocampe et provoque une hyperactivité et des déficits d'apprentissage chez le rat (Kostrzewa et al., 2008). Ces deux modèles possèdent une *predictive validity* puisqu'ils répondent à l'administration aiguë de l'AMP (Speiser et al., 1983; Highfield et al., 1998), mais sont créés par des traumas physiques qui ne sont pas susceptibles d'être la cause de la majorité des cas de l'ADHD chez l'homme.

2^{ème} Partie: Généralités sur la douleur

I. Introduction

Aristote, célèbre philosophe grec né en 384 avant Jésus-Christ, avait décrit la douleur comme une « **passion de l'âme** ». Cette vision avant-gardiste a attribué à la douleur une dimension émotionnelle qui sera confirmée avec le temps, l'évolution des savoirs et des techniques, et qui deviendra très importante dans la compréhension et la caractérisation de ce phénomène. La douleur est donc un phénomène modulé par l'esprit en réaction aux influences physiologique et physiopathologique internes et environnementales externes.

Ainsi, selon la définition de l'Association Internationale de l'Etude de la Douleur (IASP): « **La douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire existant ou potentiel ou décrite en termes d'un tel dommage** » (Merskey et al., 1979). Cette définition présente deux éléments frappants. D'une part, la douleur est décrite à la fois comme une expérience sensorielle (relative aux sens et à la perception consciente) et comme une expérience émotionnelle/affective (caractère désagréable et sentiments de déplaisir subjectifs). D'autre part, le lien de cause à effet entre l'expérience de la douleur et le stimulus (traumatisme, lésion) est rompu, de telle sorte qu'une douleur sans lésions apparentes devient aussi légitime qu'une douleur provoquée par une atteinte physique. Par conséquent, la douleur est considérée comme étant un phénomène personnel et subjectif, qui sera comme toutes les expériences individuelles modulées par les apprentissages antérieurs (spécifiques de l'histoire de

chaque individu) et par les motivations actuelles (également propres à chacun qui détermineront le déclenchement ou non d'une réaction). Dans le but de caractériser la complexité de ce phénomène, quatre composantes fondamentales étroitement associées ont été identifiées: (1) la **composante sensori-discriminative**, elle correspond aux mécanismes et processus neurophysiologiques mis en œuvre et faisant référence à la nociception, permettant l'encodage et l'analyse de la qualité, de l'intensité, de la durée et de la localisation des stimulations nocives; (2) la **composante affective et émotionnelle**, elle attribue à la douleur son caractère désagréable, pénible et parfois insupportable; (3) la **composante cognitive**, elle fait référence à l'ensemble des facteurs capables de moduler la perception de la douleur, tels que l'attention (focaliser son attention sur un processus dont l'affect est neutre pour faire diversion), l'anticipation (prévoir une réaction comportementale en fonction de l'apprentissage qui permettra d'éviter ou de minimiser la douleur), l'interprétation (dépendant de la culture, de la religion et du milieu social); (4) la **composante comportementale**, elle fait référence aux manifestations verbales (plaintes, gémissements) et non verbales (postures antalgiques, mimiques du visage) observées chez les patients en condition de douleur (Calvino, 2006).

La compréhension des mécanismes moléculaires à la base de la transmission et de la modulation de la douleur, ainsi que des circuits cérébraux impliqués dans le traitement des composantes sensorielles discriminantes, affectives, cognitives et motivationnelles de la douleur, a considérablement augmenté au cours des dernières années.

Dans cette partie, nous donnons un aperçu des voies et des régions du cerveau impliquées dans le traitement de la douleur, les plus importants médiateurs, récepteurs et canaux ioniques, ainsi que des mécanismes périphériques et centraux pour la sensibilité élevée à la douleur accrue et la chronicité de la douleur. Nous abordons également les similitudes frappantes entre la façon dont nous traitons la douleur physique et émotionnelle et les preuves accumulées selon lesquelles une douleur physique et sociale grave peut altérer le fonctionnement du cerveau et que de tels changements peuvent contribuer à la transition de la douleur aiguë à la douleur chronique et à la comorbidité entre douleur chronique, dépression et troubles anxieux.

II. La douleur - une partie importante de la vie - une figure insaisissable

Chaque fois que nous ressentons la douleur, il s'agit d'une expérience individuelle et hautement subjective. Comme l'amour, la faim et la colère, la douleur ne peut être mesurée en termes quantitatifs (métriques). Au mieux, elle ne peut être évaluée de manière générale que par nous-mêmes ou par quelqu'un qui peut interpréter notre apparence et notre comportement en relation avec la douleur. L'expérience de la douleur et les réactions à la douleur sont multidimensionnelles et comportent des composantes sensorielles discriminantes, affectives, cognitives et motivationnelles. Par exemple, les processus de mémoire et les changements de comportement sont fortement influencés par les expériences de douleur (Zaman et al., 2015).

Il n'est donc pas surprenant que les informations sur la douleur soient traitées par plusieurs régions du cerveau, qui participent également à la gestion de nombreux autres aspects de notre vie mentale. En outre, nous sommes dotés de nombreux mécanismes susceptibles de modifier la sensibilité à la douleur, à la fois dans des situations aiguës comme la plupart des maux de dents et dans les syndromes douloureux pathologiques chroniques tels que les troubles de l'articulation temporo-mandibulaire (TMD). Dans ce qui suit, nous essayons de décrire certains aspects du traitement de la douleur périphérique et centrale et des modifications pathologiques potentiellement pertinentes pour le développement et le traitement, et dans le meilleur des cas même la prévention, de la douleur chronique.

III. Les voies et les régions du cerveau impliquées dans le traitement de la douleur

1. Fibres nociceptives périphériques

Les « capteurs de douleur », les nocicepteurs, par exemple la pulpe dentaire et la muqueuse buccale, sont les terminaisons nerveuses libres des fibres afférentes primaires. Il existe deux types de fibres nociceptives périphériques (« douleur »), les fibres A myélinisées de diamètre moyen et les fibres C, minces et non myélinisées. Les fibres A médient la douleur rapide (première), tandis que les fibres C médient la douleur lente (deuxième) et mal localisée en réponse à un stimulus nociceptif aigu. Comme tous les autres neurones sensoriels primaires, les neurones des fibres C et A ont leurs corps

cellulaires dans les ganglions de la racine dorsale (DRG) et le ganglion trijumeau (innervation de la bouche et du visage). Les terminaisons centrales de ces neurones établissent des contacts synaptiques avec des neurones situés respectivement dans la corne dorsale de la moelle épinière et dans le complexe trijumeau spinal (**Fig. 4**).

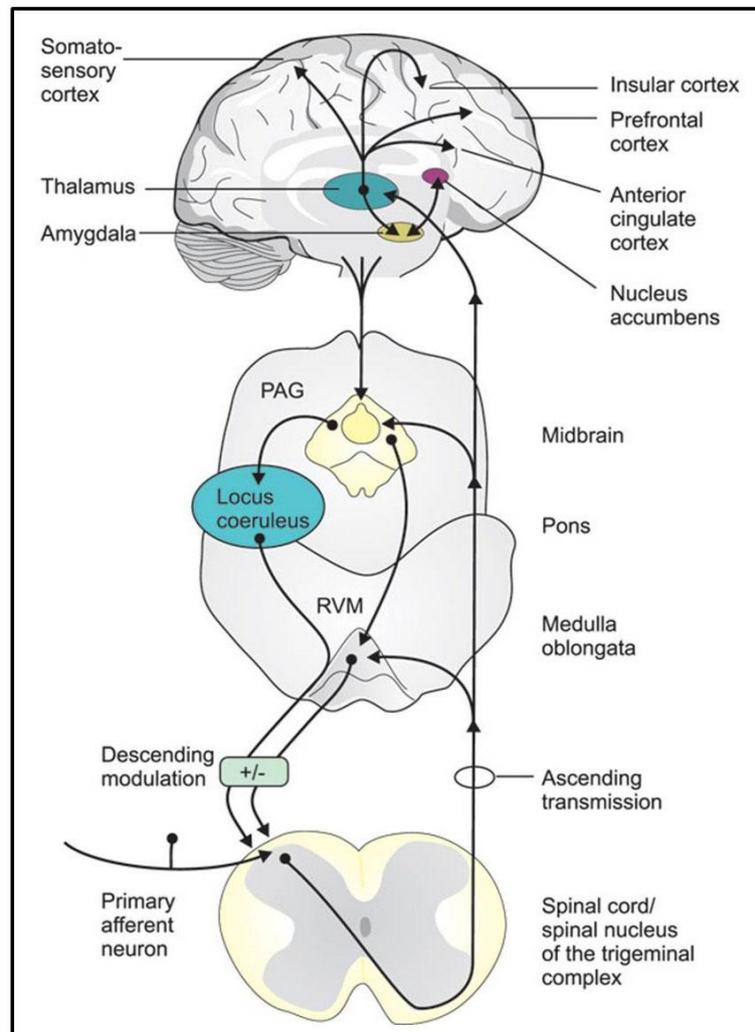


Fig. 4: Les voies et les régions du cerveau impliquées dans la transmission et la modulation des signaux de douleur (**Brodin et al., 2016**).

Les neurones afférents primaires, avec leurs corps cellulaires dans les ganglions de la racine dorsale ou le ganglion trijumeau (bouche et visage), se couplent aux neurones secondaires de la corne dorsale de la moelle épinière ou du noyau spinal du complexe trijumeau.

Les axones des neurones du second ordre traversent la ligne médiane et se projettent sur le thalamus et diverses autres cibles situées dans la médulla oblongata, le pons et le cerveau moyen (Midbrain), y compris la médulla ventrale rostrale (RVM) et la substance grise périaqueducale (PAG). Les neurones de troisième ordre, avec leurs corps cellulaires dans le thalamus, se projettent sur le cortex somatosensoriel, responsable des aspects sensori-discriminants (intensité, localisation et qualité) de la douleur, ainsi que sur les zones corticales limbiques, telles que le cortex cingulaire antérieur (ACC), insulaire (IL) et le cortex préfrontal (PFC) impliqué dans la médiation des composantes affectives / émotionnelles (aversiveness) de la douleur. Les neurones thalamiques se projettent également sur

l'amygdale, qui à son tour interagit avec le noyau accumbens (NAc), une région impliquée à la fois dans le traitement de la douleur et la médiation du comportement de motivation par récompense. Ces différentes régions du cerveau apportent également une contribution au PAG qui, via les noyaux de raphé dans le RVM, et au locus coeruleus (LC), renvoie des projections modulatrices descendantes de la douleur aux premières synapses des voies afférentes.

2. Voies centrales ascendantes

Les axones des neurones du second ordre traversent la ligne médiane et se projettent vers le thalamus et diverses autres cibles situées dans le tronc cérébral, le cerveau moyen et le cerveau antérieur. Les neurones de troisième ordre, avec leurs corps cellulaires dans le thalamus, se projettent sur les cortex somatosensoriel primaire et secondaire (S1 et S2), responsables des aspects discriminants sensoriels (intensité, localisation et qualité) de la douleur, ainsi que sur les zones corticales limbiques, telles que le cortex cingulaire antérieur (ACC) et le cortex insulaire (IL), impliqués dans la médiation des composantes affectives/émotionnelles (*aversiveness*) de la douleur (**Fig. 4**).

3. Matrice de la douleur

Les voies nociceptives ascendantes contribuent également, directement ou indirectement, à d'autres parties de la « matrice de la douleur » impliquées dans le traitement émotionnel et cognitif de la douleur. Outre le thalamus, les régions corticales cérébrales S1, S2, ACC et IL, la matrice de la douleur comprend également l'amygdale, le NAc, l'hippocampe et le PFC ainsi que la PAG, une importante station de relais pour (entre autres choses) des voies de modulation de la douleur descendante (**Fig. 4**). La PAG reçoit également des entrées descendantes de diverses régions corticales cérébrales, de l'amygdale et de l'hypothalamus. Les neurones PAG se projettent à leur tour de manière caudale vers les noyaux de la RVM et vers le LC, qui envoient des projections modulatrices de la douleur descendante au tronc cérébral et à la corne dorsale (**Fig. 4**).

IV. Neurochimie de la douleur

1. L'initiation de la douleur - les premières étapes de la signalisation de la douleur

La compréhension des mécanismes par lesquels différents stimuli activent les nocicepteurs a énormément progressé au cours des dernières années. L'identification des

canaux du potentiel transitoire de récepteur (TRP) a été une étape importante. Cette famille de canaux ioniques (c'est-à-dire les « pores » des membranes cellulaires qui régulent le passage des ions et qui servent en même temps de récepteurs pour les substances chimiques) a été conservée au cours de l'évolution et se trouve dans un grand nombre d'espèces, y compris les levures, les invertébrés et les vertébrés, et de servir un grand nombre de fonctions (**Nilius et Owsianik, 2011**). Certains membres de cette famille, présents dans les terminaisons nerveuses nociceptives de mammifères, y compris l'homme, sont activés par des stimuli thermiques, différents canaux étant responsables de différentes plages de température, mais également par des stimuli chimiques (**Moran et al., 2011**). Par exemple, une chaleur douloureuse ($>43^{\circ}\text{C}$) active le canal TRP vanilloïde 1 (TRPV1), qui répond également à la capsaïcine, l'ingrédient piquant du piment, et aux protons (pH bas). L'activation conduit à l'afflux d'ions positifs (sodium et calcium) et donc à la dépolarisation de la membrane cellulaire (**Fig. 5**). À l'inverse, le récepteur TRPM8 répond à la fois au froid et au menthol. Ces deux exemples expliquent la sensation de brûlure après l'ingestion d'aliments épicés (chauds) et expliquent pourquoi le menthol est ressenti comme (froid), respectivement. En outre, il existe un large éventail de récepteurs sur ces terminaisons nerveuses qui peuvent être activés par diverses substances formées ou libérées en relation avec des lésions tissulaires et une inflammation, telles que les prostaglandines, le facteur de croissance nerveuse, la bradykinine, la sérotonine, l'histamine et l'ATP (**Fig. 5**), alors que d'autres, par ex. la bradykinine et le NGF, atténuent leurs effets par le biais de seconds messagers (**Julius et Basbaum, 2001**).

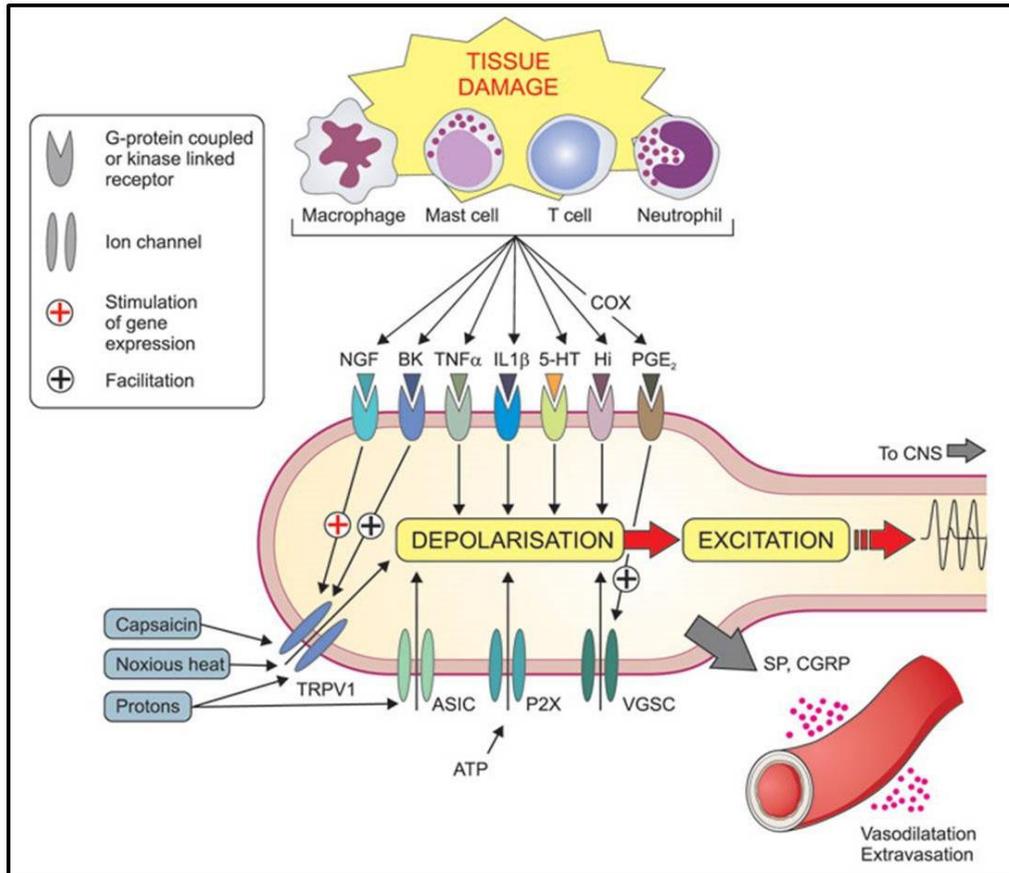


Fig. 5: Mécanismes impliqués dans la sensibilisation périphérique pendant l'inflammation (Brodin et al., 2016).

Les lésions tissulaires entraînent la formation et la libération locales de nombreuses substances chimiques autour des principales terminaisons nerveuses afférentes, en raison de la perturbation et l'activation de diverses cellules spécialisées, notamment les macrophages, les mastocytes, les cellules T, les neutrophiles et d'autres cellules immunitaires. Les médiateurs libérés sont les protons (H⁺), les purines (par exemple, l'adénosine triphosphate, l'ATP), le facteur de croissance nerveuse (NGF), la bradykinine (BK), le facteur de nécrose tumorale (TNF), les interleukines (par exemple, IL-1), la sérotonine (5-HT), l'histamine (Hi) et les prostaglandines (par exemple, PGE₂). Les prostaglandines sont formées par les enzymes cyclooxygénases (COX) (qui sont inhibées par les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les AINS tels que l'ibuprofène et le naproxène). Ensemble, ces médiateurs (et d'autres) forment la « soupe inflammatoire » qui contribue à une sensibilité accrue des nocicepteurs périphériques en se couplant aux canaux ioniques liés à la membrane (y compris les canaux à potentiel de récepteur transitoire (TRP) (par exemple, TRPV1), les canaux ioniques sensibles à l'acide (ASIC) et récepteurs purinergiques (P2X) et récepteurs liés aux kinases (récepteurs NGF, TNF et IL-1) et récepteurs couplés aux protéines G (récepteurs de la bradykinine 2 et de la prostaglandine). Globalement, ces mécanismes peuvent conduire à une dépolarisation et à une excitation du neurone ainsi qu'à une modification à long terme de la régulation génique (par exemple, le NGF et la bradykinine, ce qui augmente l'expression de TRPV1 - et les prostaglandines, ce qui accroît l'expression des canaux sodiques voltage dépendants (VGSC). Les terminaux peuvent eux-mêmes libérer la substance P (SP) et le peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP), qui provoquent une vasodilatation et une extravasation plasmatique (inflammation neurogène).

2. Médiateurs et récepteurs aux synapses du premier ordre

Le glutamate est la principale substance excitatrice libérée par les extrémités des neurones afférents primaires (**Fig. 6**). Deux types de récepteurs du glutamate sont particulièrement importants pour cette signalisation. Dans des conditions normales (pour évoquer une « douleur quotidienne » de courte durée), le glutamate active les récepteurs AMPA sur les neurones situés dans la corne dorsale et le complexe trigeminal spinal. En réponse à une stimulation nociceptive intense prolongée, un autre type de récepteurs du glutamate, les récepteurs NMDA sont engagés, agissant comme des « turbo-agrégats » dans ces synapses et seraient impliqués dans les mécanismes de sensibilisation (voir ci-dessous). D'autres médiateurs proalgésiques, libérés des terminaux afférents primaires et contribuant à la sensibilisation et à la prolongation de la douleur (via leurs propres récepteurs), comprennent la SP, le peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP) et l'ATP.

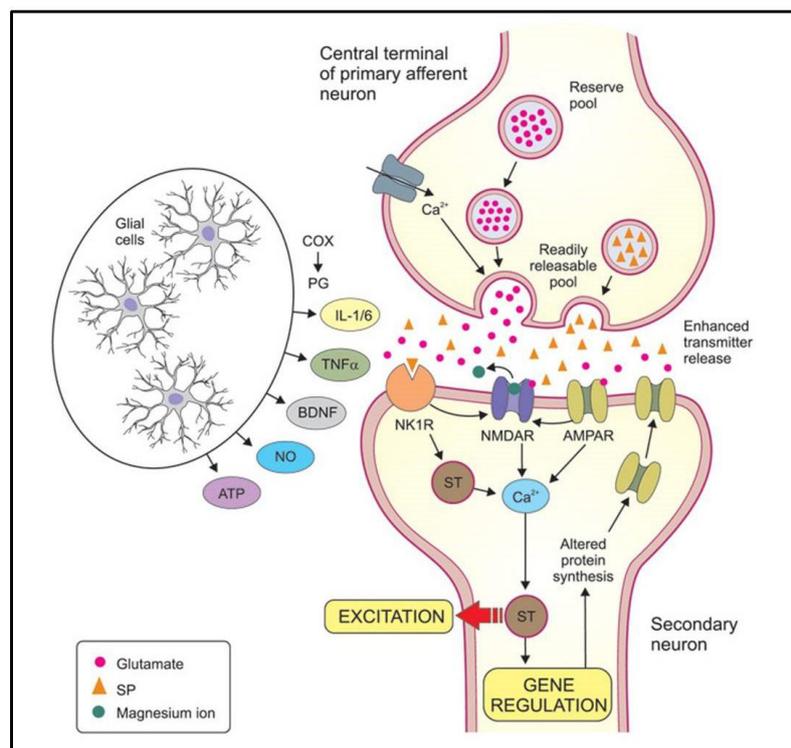


Fig. 6: Mécanismes impliqués dans la sensibilisation centrale ([Brodin et al., 2016](#)).

La sensibilisation centrale est en grande partie due à la potentialisation synaptique entre les terminaisons centrales des afférences primaires nociceptives (haut de la figure) et les neurones secondaires de la corne dorsale (ou du noyau trigémeau caudal). Les mécanismes présynaptiques peuvent inclure un afflux accru de calcium qui facilite la libération du transmetteur et une augmentation des pools de transmetteurs libérables. Le glutamate et la substance P (SP) sont tous deux des substances transmissives excitatrices libérées par les principaux afférents. Le glutamate agit sur les récepteurs AMPA et NMDA, qui sont tous deux des canaux ioniques qui augmentent

directement l'afflux de calcium dans les neurones secondaires, tandis que le SP agit sur les récepteurs de la neurokinine-1 (NK1R) et augmente le calcium intracellulaire via des mécanismes de transduction de signal (ST). Une libération massive de glutamate et de la substance P, suivie d'une forte stimulation de l'AMPA et du NK1R, entraînera l'élimination du magnésium bloqueur ionique normalement présent dans le canal NMDA, permettant à une quantité élevée d'ions calcium de s'écouler dans la cellule postsynaptique. Par le biais de divers mécanismes ST, l'augmentation de la concentration en calcium conduit à une excitation élevée du neurone postsynaptique et à des altérations à long terme de la régulation des gènes, ce qui peut conduire par exemple à une augmentation du nombre de récepteurs AMPA dans la membrane postsynaptique et à une augmentation de la transmission. Ces mécanismes sont déclenchés et/ou facilités par un grand nombre de molécules de médiateur extracellulaires, dont beaucoup sont libérées par les cellules gliales (astrocytes et microglies). Les ingrédients de cette « soupe douloureuse » incluent des prostaglandines (formées localement par les cyclooxygénases, COX), des cytokines telles que l'interleukine (IL) 1 et IL 6 et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF), l'oxyde nitrique (NO) et l'adénosine triphosphate (ATP). Ensemble, tout cela aboutit à l'amplification des messages douloureux qui sont transmis aux centres cérébraux supérieurs. Les récepteurs de ces molécules médiateurs sur les neurones pré et post-synaptiques ne sont pas indiqués sur la figure.

Il n'est pas complètement connu, mais probablement, que les mêmes récepteurs qui régulent la fonction dans les terminaisons nerveuses périphériques sont également fonctionnels dans les terminaisons centrales des afférents primaires. Par exemple, les récepteurs de la prostaglandine, la bradykinine et l'ATP, ainsi que les canaux TRPA1 et calcium, agissent pour augmenter la libération du transmetteur (par exemple le glutamate) et donc la douleur. En outre, il existe des opioïdes présynaptiques, le GABA, la glycine et les récepteurs cannabinoïdes, ce qui réduit la libération du transmetteur à partir des terminaisons nerveuses nociceptives centrales, et par conséquent, réduire la douleur (Woolf et Ma, 2007). Les peptides opioïdes et le GABA, libérés des interneurons locaux, sont probablement importants pour le mécanisme de « gate control », grâce auquel une entrée non douloureuse est capable de supprimer le signal de douleur au cours des premières synapses, même si la régulation s'est avérée plus complexe que ce qui avait été prévu à l'origine (Price et al., 2009).

3. Signalisation supraspinale et modulation de la douleur

Par rapport aux synapses de premier ordre dans les voies nociceptives afférentes, on en sait moins sur les substances messagères et les récepteurs impliqués dans la transmission continue des signaux de douleur jusqu'au cortex cérébral (et dans celui-ci), mais le glutamate et plusieurs autres neuromessagers sont susceptibles d'être impliqués.

Pour le processus ultérieur des informations nociceptives dans la matrice de la douleur, les peptides opioïdes et le transmetteur de monoamine dopamine ont une importance évidente. L'ACC est l'une des régions du cerveau les plus riches en peptides opioïdes, et les récepteurs opioïdes de l'ACC (ainsi que dans plusieurs autres régions) sont activés au cours de l'analgésie placebo. L'idée selon laquelle l'analgésie placebo est bien due à un mécanisme neuronal actif est illustrée par la découverte, il y a près de 40 ans ([Levine et al., 1978](#)) (et confirmée par la suite, voir [Benedetti, 2013](#)), que l'effet analgésique du traitement par placebo après par ex. extraction dentaire, peut être contrecarré par un prétraitement avec la naloxone, un antagoniste des opioïdes. Les mécanismes placebo impliquent également l'activation de projections dopaminergiques de la VTA vers le NAc, l'ACC et le PFC ([Benedetti, 2013](#)). Ces projections de dopamine ont une importance bien établie et cruciale pour un comportement de motivation en récompense dans diverses activités telles que le jeu, la course à pied, le tabagisme, l'alcoolisme et la toxicomanie ([Leknes et Tracey, 2008](#); [Narita et al., 2010](#)).

4. Modulation descendante de la douleur

Une autre « voie de sortie » importante pour la matrice de la douleur est le système de modulation de la douleur descendant, avec des projections contenant de la 5-HT et de la NE à partir des noyaux de raphé et du LC, respectivement (**Fig. 4**). Dans des conditions normales, les activations de ces voies inhibent la signalisation de la douleur dès les synapses du premier ordre, soit par effet direct, soit par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs (par exemple, opioïde) dans la corne dorsale et le noyau trijumeau spinal. Cependant, comme mentionné ci-dessus, il existe de plus en plus de preuves que, chez les patients souffrant de douleur chronique, l'équilibre dans la matrice de la douleur et dans les voies descendantes peut être faussé, éventuellement par la douleur elle-même ou par divers facteurs précipitant ([Ossipov et al., 2014](#)). Dans ces conditions, il peut également y avoir un changement de sous-types de récepteurs, ce qui rend la 5-HT et les opioïdes pour agir en tant que substances pro-algésiques.

V. Augmentation de la sensibilité à la douleur et chronicité de la douleur

1. Problème clinique particulier de la douleur chronique

Les mécanismes de sensibilisation périphériques et centraux sont une caractéristique majeure lorsque la douleur et l'hypersensibilité à la douleur persistent, même si la guérison périphérique est complète après un traumatisme ou une intervention chirurgicale. Dans la plupart des cas, la douleur diminue successivement et le seuil de la douleur revient à des niveaux d'avant la lésion. Cependant, chez une petite fraction de patients, la douleur peut persister et la douleur aiguë se transformer en douleur chronique. La douleur chronique pose généralement un problème clinique particulier car la douleur ne correspond à aucune pathologie périphérique et est souvent difficile à soulager. Il convient de souligner que les mécanismes peuvent différer entre la sensibilisation aiguë et le développement d'une douleur chronique, ainsi qu'entre différentes conditions de douleur chronique.

2. Sensibilisation périphérique et la 'soupe inflammatoire'

La sensibilisation périphérique est le processus par lequel le nocicepteur réduit son seuil d'activation et augmente sa réactivité suite à une modification du milieu chimique. Ceci entraîne une sensibilité accrue à la douleur (hyperalgésie). Au cours d'un traumatisme tissulaire, des médiateurs inflammatoires sont libérés en raison de la perturbation des cellules, mais également par la dégranulation des mastocytes et l'activation des plaquettes, des macrophages et des cellules immunitaires, formant ainsi la « soupe inflammatoire » (**Fig. 5**). En se liant à leurs récepteurs respectifs, une cascade d'événements est initiée. Les premières étapes de ce processus comprennent l'activation de multiples voies de transduction du signal intracellulaire dans les neurones afférents primaires. Celles-ci comprennent les protéines kinases A (PKA) et C (PKC) et les protéines kinases activées par un mitogène (MAPK) ERK et p38. L'activation de ces voies conduit à diverses régulations géniques dans le noyau des neurones afférents des ganglions trijumeaux et de la corne dorsale, incluant une transcription élevée (production de « copies d'ARN ») des gènes codant pour les TRP (par exemple, TRPV1) et des canaux sodiques voltages dépendants (VGSC), tels que Nav1.7, Nav1.8 et Nav1.9, et une augmentation de la synthèse des canaux par traduction (synthèse de protéines en utilisant l'ARN comme matrice), qui sont ensuite transportés vers la membrane cellulaire des afférents primaires (trafic de protéines) où ils sont phosphorylés, entraînant une

diminution du seuil d'activation des canaux et une sensibilisation du nocicepteur (hyperalgésie primaire) ([Basbaum et al., 2009](#)).

L'activation des neurones nociceptifs peut également conduire à la libération de neuropeptides tels que SP et CGRP à partir de leurs terminaisons nerveuses périphériques. Ces deux médiateurs sont des vasodilatateurs puissants et provoquent une extravasation plasmatique et peuvent provoquer une libération supplémentaire de médiateurs inflammatoires à partir de plaquettes activées, de mastocytes et de cellules immunitaires. Cette inflammation neurogénique améliore la sensibilisation et aggrave la douleur ([Basbaum et al., 2009](#); [Fig. 5](#)).

3. Sensibilisation centrale - sensibilisation des synapses du premier ordre

Si un stimulus périphérique est particulièrement intense, maintenu pendant une période prolongée et que l'afférent sensoriel périphérique est sensibilisé, le neurone de second ordre, avec son corps cellulaire dans la corne dorsale / noyau trijumeau caudal, pourrait être sensibilisé. Même si la sensibilisation centrale dans plusieurs cas est comparable à la sensibilisation périphérique, elle diffère mécaniquement. Premièrement, les neurones du premier ordre peuvent recevoir une entrée convergente non seulement des fibres nociceptives A et C, mais également des fibres A. Par conséquent, l'entrée de fibres A, telles que le toucher, sera perçue comme douloureuse (allodynie) lors de la sensibilisation centrale. Deuxièmement, en raison de la convergence de nombreuses fibres, une hyperalgésie apparaîtra également dans les zones adjacentes au site lésé (hyperalgésie secondaire). La convergence d'entrées afférentes superficielles et profondes, des structures orofaciales aux neurones du second ordre dans le complexe trijéminal, peut expliquer notre faible capacité à localiser des douleurs sourdes persistantes et douloureuses provenant de structures profondes de la tête et du cou ([Sessle, 2011](#)).

Étant donné que la sensibilisation centrale entraîne des modifications du système nerveux central et qu'elle n'est donc pas associée à la présence, à l'intensité ou à la durée de l'entrée périphérique, elle peut également augmenter la sensibilité de la douleur pendant une période prolongée après la disparition de la pathologie périphérique. Ainsi, la sensibilisation centrale représente une amplification accrue du signal d'entrée provenant des neurones afférents primaires ([Latremoliere et Woolf, 2009](#)). Dans la

plupart des cas, la sensibilisation centrale s'atténue successivement lorsque la pathologie périphérique est résolue.

La sensibilisation cliniquement centrale peut être distinguée de la sensibilisation périphérique sur la base des observations suivantes: 1) douleur provoquée par des stimuli non douloureux (allodynie), 2) hypersensibilité de la douleur dans les zones sans pathologie démontrable, 3) douleur qui dure plus longtemps que le stimulus (après les sensations) 4) augmentation de la sommation temporelle, et 5) maintien de la douleur par des stimuli de basse fréquence qui, normalement, n'évoquent aucune douleur persistante (Woolf, 2011).

4. Une autre « soupe » autour des terminaisons nerveuses centrales

Au niveau moléculaire, l'activation répétée des afférences périphériques augmente la libération des transmetteurs tels que le glutamate et la SP au niveau de leurs terminaux centraux, avec activation ultérieure de leurs récepteurs postsynaptiques respectifs (Fig. 6). L'activation des récepteurs NMDA est d'une importance particulière pour l'augmentation de l'excitabilité neuronale. Dans des circonstances normales, les récepteurs NMDA sont inactivés par un ion magnésium bloquant le canal, mais une libération prolongée de glutamate peut éliminer ce blocage en magnésium et activer ainsi plusieurs voies intracellulaires qui contribuent au développement et au maintien de la sensibilisation centrale (Latremoliere et Woolf, 2009). Outre le rôle critique des récepteurs NMDA pour la sensibilisation centrale, d'autres récepteurs et canaux ioniques sont impliqués. Ceux-ci peuvent, séparément ou ensemble, initier l'activation de plusieurs voies de signalisation intracellulaires, y compris PKA et PKC, ainsi que ERK et p38 MAPK (également impliquées dans les mécanismes de sensibilisation dans les neurones afférents primaires, voir ci-dessus), ce qui conduit à l'établissement d'une sensibilité accrue dans la corne dorsale et les neurones du noyau trijumeau caudal (Latremoliere et Woolf, 2009; Sessle, 2011; Mifflin et Kerr, 2014). De plus, des études chez l'animal indiquent une réduction dans les niveaux spinaux de l'inhibition GABAergique et glycinergique dans les douleurs neuropathiques, ce qui suggère que le « *gate control* » normal des impulsions afférentes est hors fonction (Castro-Lopes et al., 1993).

5. Importance de la matrice de la douleur pour la chronicité de la douleur et le chevauchement entre les régions du cerveau traitant la douleur physique et émotionnelle

Au cours de ces dernières années, il est devenu de plus en plus évident, notamment à partir des études avec la technique d'imagerie cérébrale (par exemple l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, IRMf), que la matrice de la douleur est non seulement le traitement des douleurs physiques, mais aussi la douleur émotionnelle, comme par exemple dans le cadre de l'exclusion sociale ([Eisenberger, 2012](#)). De plus en plus de preuves indiquent qu'une douleur physique et sociale intense peut altérer le fonctionnement du cerveau ([Saab, 2012](#); [van Harmelen et al., 2014](#)) et que de tels changements peuvent contribuer à la transition d'une douleur aiguë à une douleur chronique ([Apkarian et al., 2013](#)) et à la comorbidité entre douleur chronique, dépression et troubles anxieux ([Navratilova et Porreca, 2014](#)). Les études de l'IRMf sur des patients souffrant de douleur inadaptée chronique, par ex. la fibromyalgie, montre un déséquilibre entre les différents composants de la matrice de la douleur, y compris le contrôle descendant de la douleur par la PAG et la RVM, permettant ainsi à une plus grande activité nerveuse de la matrice de la douleur ([Ossipov et al., 2014](#)). Des études récentes de l'imagerie cérébrale indiquent également que les patients souffrant de douleur neuropathique ou de troubles de l'articulation temporo-mandibulaire présentent des modifications fonctionnelles dans plusieurs régions du cerveau, suggérant un rôle de la modulation émotionnelle et cognitive, ainsi que du traitement de la récompense dans la douleur orofaciale ([Lin, 2014](#)).

Ces découvertes ajoutent non seulement la complexité des mécanismes amplificateurs de douleur décrits précédemment au niveau des nocicepteurs dans la périphérie et dans la corne dorsale de la moelle épinière/complexe sensoriel du tronc cérébral, mais peuvent également ouvrir de nouvelles perspectives pour le traitement de la douleur chronique ([Saab, 2012](#)). Il souligne également l'importance de l'attitude et des compétences des cliniciens lorsque la douleur est présente ou prévisible. Ainsi, les mécanismes fondamentaux de la douleur sont influencés par des facteurs tels que la peur, les attentes, la manipulation clinique et l'atmosphère ([Benedetti, 2013](#)).

Chapitre I:

Mise en place d'un modèle murin de l'ADHD

I. Introduction

L'ADHD est un trouble psychiatrique neurodéveloppemental qui touche 5 à 8% des enfants et peut persister à l'âge adulte dans 50% des cas (Faraone et al., 2006; Caye et al., 2016). Trois principaux symptômes cliniques définissent l'ADHD: l'hyperactivité, l'inattention et l'impulsivité (American Psychiatric Association, 2013). Les patients ADHD présentent souvent des déficiences tels que des résultats scolaires médiocres, des handicaps sociaux et des déficits émotionnels (Barkley, 2002; Fried et al., 2016).

Des études neuropsychologiques démontrent des dysfonctionnements systématiques des réseaux neuronaux impliqués dans le contrôle et la régulation de l'attention et/ou de l'impulsivité (Castellanos et al., 2006) chez les patients ADHD. Ces dysfonctionnements sont corrélés à une réduction de la taille du PFC, du débit sanguin et du métabolisme du glucose (Rubia et al., 2009). De plus, les patients ADHD ont une altération de la transmission de la DA et de la NE qui affecte la fonction du PFC (Sagvolden et al., 2005). Par conséquent, les médicaments primaires utilisés pour traiter l'ADHD interfèrent avec la recapture des catécholamines, ce qui améliore la transmission de la DA et la NE. Les psychostimulants (par exemple le MPH, l'AMP et la pémoline) sont les traitements pharmacologiques les plus couramment utilisés et ciblent le système dopaminergique. Les traitements de l'ADHD restent cependant peu efficaces et présentent des effets secondaires (Jonkman et al., 1999). Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes neurochimiques qui sous-tendent l'ADHD est la clé pour améliorer les traitements et des modèles animaux valides sont nécessaires à cette fin.

Idéalement, un modèle animal fiable doit présenter tous les symptômes présents chez les patients ADHD, et répondre de la même manière aux mêmes interventions pharmacologiques (Davids et al., 2003). Plusieurs modèles animaux de l'ADHD existent actuellement, mais aucun n'a été développé pour modéliser spécifiquement les altérations neurodéveloppementales qui se produisent pendant l'apparition et la progression de la maladie, ou les aspects fonctionnels comportementaux et exécutifs des symptômes. Le modèle animal de l'ADHD le plus largement utilisé est le rat SHR. En outre, le modèle neurodéveloppemental le plus classique de l'ADHD créé par la lésion néonatale des systèmes cérébraux est obtenu par l'injection de la 6-OHDA. Dans ce modèle, les

études se sont principalement concentrées sur les symptômes de l'hyperactivité (Zhang et al., 2002; Davids et al., 2003; Avale et al., 2004). Cependant, les données concernant le comportement impulsif ou les déficits d'attention demeurent indisponibles ou contradictoires (Sontag et al., 2010).

A l'aide d'une batterie de tests comportementaux et cognitifs, la présente étude visait à évaluer le répertoire des symptômes majeurs et comorbides de l'ADHD chez des souris lésées par la 6-OHDA. Nous avons évalué la "face validity" en évaluant l'activité spontanée au cours de la périadolescence et la persistance des symptômes phénotypiques de l'ADHD à l'âge adulte. L'efficacité du MPH, le psychostimulant classique agissant en tant qu'inhibiteur du transporteur des catécholamines utilisé dans le traitement de l'ADHD, est également évalué pour confirmer la "predictive validity" du modèle. Nous avons également analysé les caractéristiques morphologiques spécifiques de l'ADHD dans notre modèle animal (construct validity), en nous concentrant sur le PFC et en particulier sur les neurones de l'ACC. Enfin, nous avons réalisé une analyse en composantes principales du profil de comportement démontre l'importance des symptômes individuels dans la pathologie.

II. Matériel et Méthodes

1. Animaux

Les animaux utilisés pour l'expérimentation dans cette partie sont des souris de race Swiss issues de l'élevage de l'animalerie de la Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc). Après accouplement, les femelles gestantes ont été isolées dans des cages individuelles, et maintenues dans des conditions de température constante ($22^{\circ}\text{C} \pm 2$), en utilisant un cycle de 12h lumière / 12h obscurité (lumières allumées à 7h), avec un accès à la nourriture *ad libitum* et à l'eau.

Après la mise bas des femelles, les souriceaux mâles restent dans les mêmes conditions de lumière et de température jusqu'au jour postnatal 5 (P5) où ils vont subir une lésion néonatale dopaminergique qui consiste en une injection intra-ventriculaire de la 6-OHDA.

L'étude a reçu l'approbation du Conseil des laboratoires de recherche de la Faculté des sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad. Toutes les procédures ont été menées conformément aux protocoles institutionnels approuvés et aux dispositions relatives aux soins et à l'utilisation des animaux prescrits dans les procédures scientifiques sur les animaux vivants, Directive du Conseil européen (EU2010 / 63). Tous les efforts ont été faits pour minimiser toute souffrance animale.

2. Chirurgie (Lésion néonatale 6-OHDA)

Chez les rongeurs, l'activité des neurones nigrostriataux au cours des deux premières semaines du développement postnatal est critique pour la maturation finale des synapses excitatrices corticostriatales, en diminuant la libération du glutamate (**Choi et Lovinger, 1997**).

Le premier objectif expérimental était de mettre au point les paramètres stéréotaxiques du ventricule latéral à un âge postnatal précoce (P5). Le jour de la mise-bas est désigné comme jour postnatal P0, et les coordonnées stéréotaxiques ont été déterminées par une étude pilote menée à P5 chez plusieurs cohortes d'animaux (n=100; **Fig. 7D**). Pour déterminer l'antéro-postériorité par rapport à lambda, le nombre de coupes entre le niveau de lambda et le centre du ventricule latéral a été multiplié par l'épaisseur des coupes, alors que la latéralité et la profondeur ont été calculées d'une manière métrique. L'extension et le degré de perte neuronale ont été vérifiés à l'âge adulte.

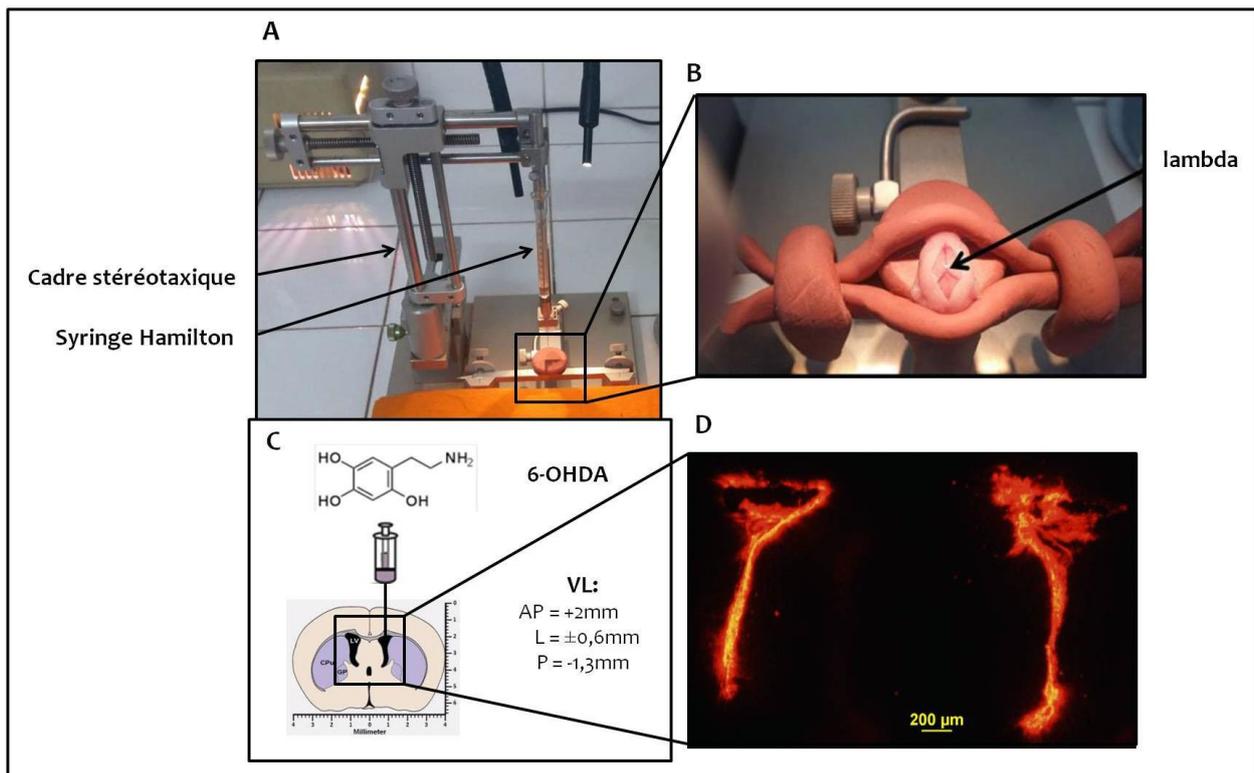


Fig. 7: Plateforme stéréotaxique utilisée pour la réalisation de la lésion néonatale à P5. **A.** La plateforme stéréotaxique type David-Koff. **B.** Le point de repère Lambda et le dispositif de contention permettant de fixer la tête de l'animal. **C.** Schéma représentatif de l'injection intraventriculaire unilatérale de la 6-OHDA utilisé pour la lésion. **D.** Photomicrographie d'une coupe transversale montrant la confirmation du site d'injection au niveau de l'un des ventricules latéraux.

Au jour 5 post-natal (P5), les souriceaux mâles reçoivent en injection intrapéritonéale (i.p) la désipramine hydrochloride (20 mg/kg, s.c., Sigma-Aldrich, MO, États-Unis) pour préserver les neurones noradrénergiques. Après 30 min, les souriceaux sont anesthésiés par hypothermie (placés dans la glace fondante pendant 1 min) et positionnés sur une plateforme adaptée fixée sur un cadre stéréotaxique de David Koff, en respectant les conditions d'asepsie (**Fig. 7A**). Les animaux sont randomisés en deux groupes: groupe 6-OHDA et groupe sham (n=30 par groupe). Le groupe 6-OHDA reçoit 25 µg de la 6-OHDA hydrobromide (Sigma-Aldrich, MO, États-Unis) dissoute dans 3 µl d'acide ascorbique 0.1% dans l'un des ventricules latéraux, à raison de 1.5 µl/min, tandis que les souris sham reçoivent 3 µl du véhicule de la même manière. Les injections sont faites avec une aiguille 30G (Carpule, Bayer, Osaka, Japon) couplée à une seringue Hamilton de 10 µl. Le site d'injection a été déterminé à 0.6 mm latéralement à la suture sagittale médiale, à 2 mm de rostral à lambda et à 1.3 mm de profondeur de la peau (**Fig. 7B, C**). Après l'injection, les souriceaux sont réchauffés à 37°C sur un coussin chauffant jusqu'à récupération, puis

retournés à leurs mères jusqu'au sevrage. Après l'injection, 20% des souris lésées meurent avant le sevrage, alors que 60-80% développent une hyperactivité avec 50 à 70% de déplétion dopaminergique. Les souris qui ne répondaient pas à ces derniers critères ont été exclus de l'analyse de données.

3. Traitement pharmacologique (Méthyphenidate)

Le méthyphenidate (MpH) ou le véhicule est administré par voie intrapéritonéale (i.p. 10 ml/kg dans une solution à 0.9% de NaCl) 45 minutes avant tous les tests comportementaux. Cette durée correspond à un pic de concentration de dopamine 45 minutes après l'application de la MpH (Koda et al., 2010). Trois groupes différents ont été considérés dans notre étude (véhicule, MpH 3.0 ou 5.0 mg/kg).

L'injection a été faite une fois avant chacun des tests du champ ouvert (Open Field), du labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze), de l'interaction sociale (Social Interaction), puis avant la journée d'entraînement (2^{ème} jour) du test de reconnaissance de nouvel objet (Novel Object Recognition) (Fig. 8A). Pendant les semaines du test dans le 5-CSRTT, une solution saline à 0.9% est injectée par voie intrapéritonéale les mardis et les jeudis (conditions de base), alors que les mercredis et les vendredis, une dose de MpH (3.0 mg/kg et 5.0 mg/kg, respectivement) est administrée 45 minutes avant la séance du 5-CSRTT (Fig. 8B). Les souris sont soumises à des sessions standards du 5-CSRTT avec les mêmes paramètres utilisés pour l'évaluation de la réponse de base (baseline). Les souris sont habituées à l'injection i.p. (solution saline à 0.9%) tous les jours 20 minutes avant l'entraînement du 5-CSRTT pendant une semaine. La dose du MpH a été choisie sur la base d'études antérieures (Navarra et al., 2008; Koda et al., 2010; Schneider et al., 2015).

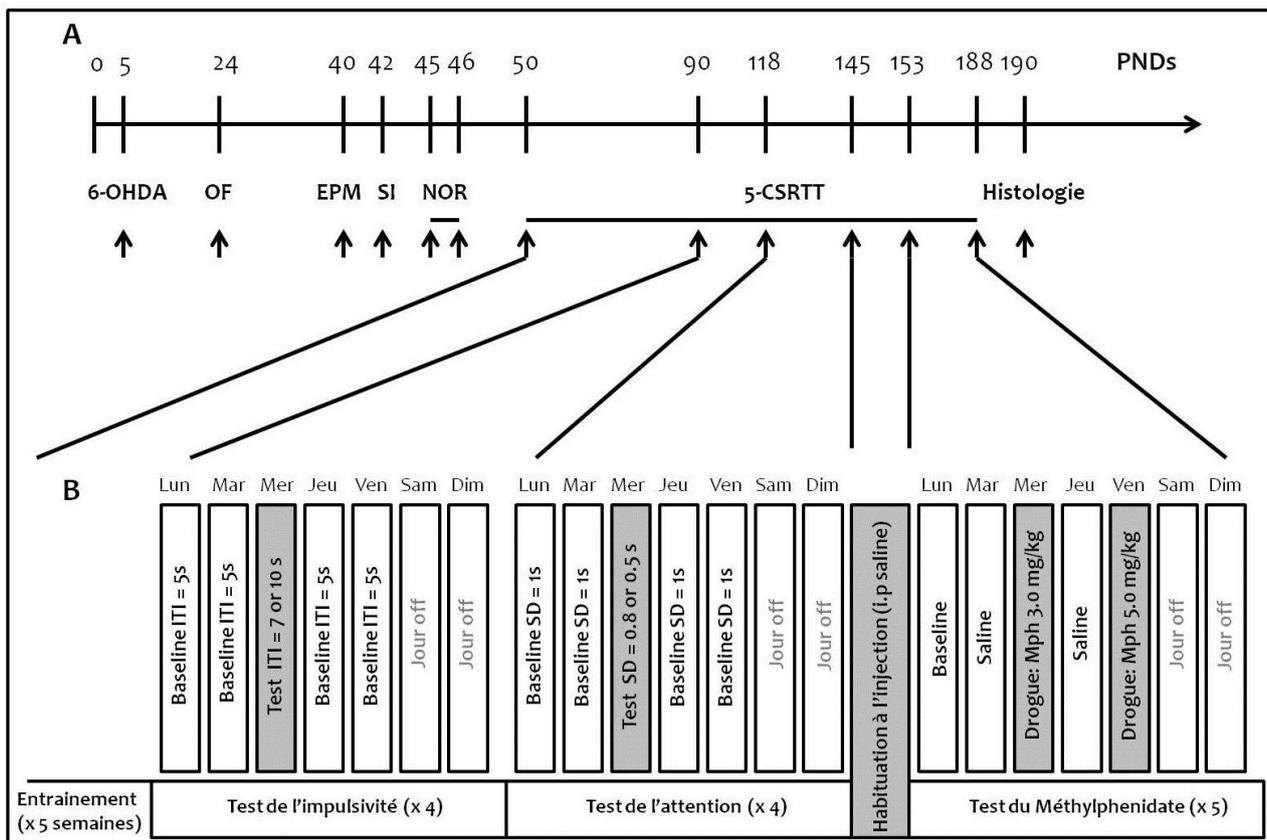


Fig. 8: Diagramme représentant le déroulement de notre étude.

A. Conception de l'expérimentation animale. **B.** Conception expérimentale des défis comportementaux et pharmacologiques dans le 5-CSRTT. À la fin de l'entraînement, une fois que les animaux aient montré une performance stable dans la tâche, l'intervalle entre les essais (ITI) a été augmenté (7–10 s) et la durée du stimulus (SD) a été réduite (0.8–0,5 s) pour tester l'impulsivité et l'attention, respectivement. Après les tests comportementaux, les souris ont été habituées à des injections de solution saline pendant 1 semaine. Au cours du test pharmacologique, le Mph (3.0 et 5.0 mg/kg) a été injectée deux fois par semaine avant la séance du 5-CSRTT.

4. Tests de comportement du phénotype ADHD

4.1. Test du champ ouvert (Open field "OF")

Le test OF est l'un des tests les plus couramment utilisés pour évaluer l'activité locomotrice générale chez les rongeurs placés dans un environnement nouveau (Wilson et al., 1976). Le dispositif consiste en une boîte noire carrée en plexiglas (50 × 50 × 50 cm de hauteur; Fig. 9A), équipée d'un système de suivi vidéo-tracking Ethovision (Noldus Information Technology, Wageningen, Pays-Bas).

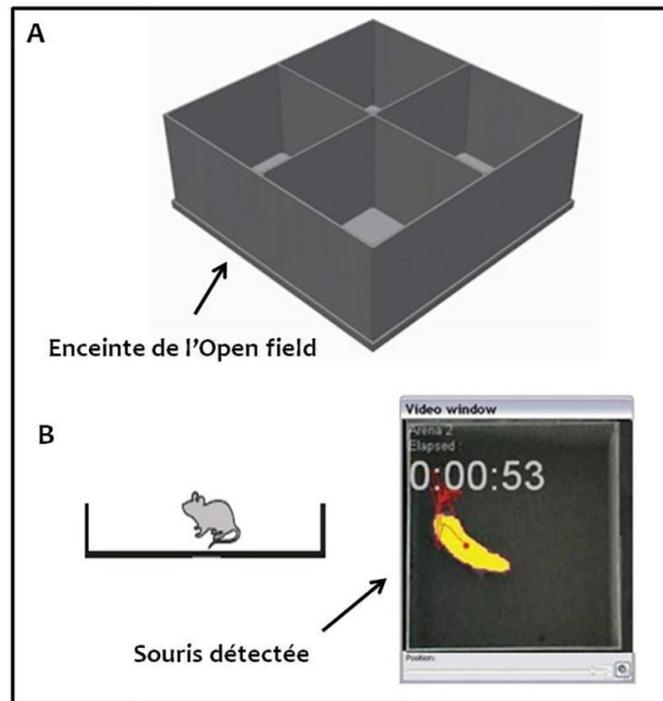


Fig. 9: Test de l'open Field chez la souris.

A. Dispositif de l'open field avec quatre arènes. **B.** Enregistrement et analyse de l'activité locomotrice par le logiciel Noldus de 4 souris en même temps.

Le dispositif est éclairé par une lampe de 75 W placée dans un hublot diffusant la lumière et située à 200 cm de l'appareil, permettant un faible éclairage (non anxiogène) au centre de l'arène (100 lux). Les souris ont été placées individuellement dans l'arène et l'activité locomotrice a été évaluée pendant 10 minutes. Le *tracking* de l'animal par le logiciel se fait par repérage de deux points: un sur la tête et l'autre correspondant au centre de gravité de l'animal (**Fig. 9B**). Les paramètres enregistrés étaient la distance totale parcourue, ainsi que la vitesse de déplacement et le temps de mobilité des animaux. Après le test, l'animal est remis dans sa cage, le dispositif est ensuite nettoyé avec de l'éthanol à 70% pour éliminer toute trace d'odeur.

4.2. Test du labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus Maze "EPM")

Le test EPM est un paradigme largement utilisé pour évaluer le comportement anxieux chez les rongeurs (**Handley et Mithani, 1984; Lapiz-Bluhm et al., 2008**). L'EPM est composé de deux bras ouverts opposés (50 x 10 cm) et de deux bras fermés (50 x 10 x 40 cm), reliés par une zone centrale carrée (10 x 10 cm) pour former un signe plus. Le dispositif est soulevé à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol (**Fig. 10A**). L'appareil EPM a

été éclairé par une lampe de 75 W, située à 200 cm de l'appareil, permettant une luminosité approximative de 200 lux.

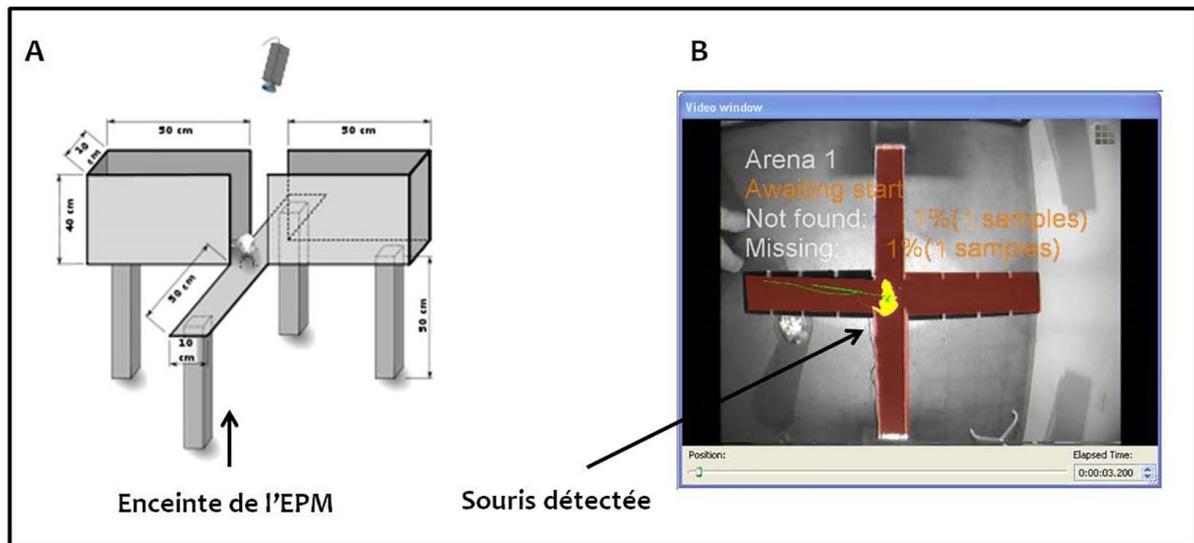


Fig. 10: Test de l'EPM chez la souris.

A. Schéma du dispositif du labyrinthe en croix surélevé. **B.** Procédure du tracking par le logiciel Noldus.

Pour ce test, la souris a été retirée doucement de sa cage d'origine et placée dans l'arène centrale de l'EPM, face à la jonction d'un bras ouvert et fermé afin d'explorer librement le labyrinthe pendant 5 min (**Fig. 10B**) tout en enregistrant son comportement. Le principe de ce test repose sur la confrontation entre la volonté de l'animal à explorer les différents compartiments du labyrinthe et sa peur des espaces élevés et ouverts. Par conséquent, plus un animal est anxieux, moins il passera de temps dans les bras ouverts (**Spooren et al., 2000**). Pour ce test, le temps passé et le nombre d'entrées dans chaque bras ont été analysés automatiquement en utilisant le logiciel EthoVision (Noldus Information Technology). Après chaque test, les souris ont été remises dans leur cage d'hébergement, et le labyrinthe est soigneusement nettoyé avec l'éthanol 70%.

4.3. Test de reconnaissance du nouvel objet (Novel Object Recognition "NOR")

Le test NOR évalue la mémoire à court terme en testant la capacité de la souris à se rappeler d'un objet déjà rencontré (**leger et al., 2013**). Il est basé sur le fait qu'une souris passera plus de temps à explorer un objet nouveau, comparé à un objet rencontré auparavant (objet familier).

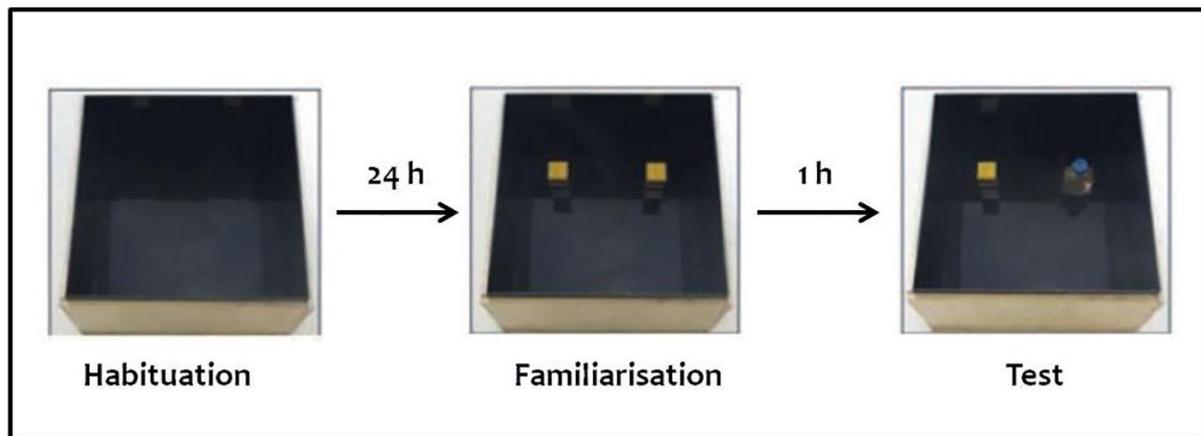


Fig. 11: Test NOR chez la souris.

L'arène de l'Open field décrite ci-dessus a été utilisée pour le test de reconnaissance du nouvel objet (**Fig. 11**). La souris a été habituée à l'arène un jour avant le test afin d'éliminer tout phobie relative à la prospection d'un nouveau environnement. Le jour du test, la souris a été placée dans la boîte pendant la phase d'acquisition avec deux objets identiques et a été autorisée à explorer et se familiariser avec les objets pendant 5 minutes, puis remise dans sa cage d'origine pendant 60 minutes (intervalle inter-essai 'ITI'). Ensuite, la souris a été replacée dans la boîte pour la phase test dans les mêmes conditions que pendant la période d'acquisition, sauf que l'un des deux objets identiques a été remplacé par un nouvel objet. Le temps passé à explorer chaque objet a été enregistré avec une caméra vidéo et évalué automatiquement à l'aide du logiciel EthoVision (Noldus Information Technology). Nous avons mesuré le ratio du temps passé sur chaque objet (familier ou nouveau) comme suit: $[Tr = \text{temps passé près d'un objet} / \text{temps total passé près des deux objets}]$ et le ratio de discrimination: $[Dr = \text{temps d'exploration de l'objet nouveau}) - (\text{temps d'exploration de l'objet familier} / \text{temps total d'exploration de deux objets})]$.

4.4. Test de l'interaction sociale (Social Interaction "SI")

Le test SI est un test simple dans lequel les comportements sont enregistrés et analysés pour évaluer le temps d'interaction actif entre deux souris pendant 10 min: une souris expérimentale (test) et une souris naïve (stimulus) (**Lapiz-Bluhm et al., 2008**). Ce test est réalisé dans un Open field (50 × 50 × 50 cm), dont les conditions d'éclairage sont comparables à celles de l'animalerie. Au début du test, la souris expérimentale et la souris

stimulus sont placées dans des coins opposés de l'arène, en position de face à face. Les animaux sont appariés en respectant leur sexe, leur poids et leur âge. Les deux animaux ont été identifiés par une marque sur le dos ou la queue avec un marqueur indélébile (**Fig. 12**). Le comportement social est surveillé par une caméra CCD connectée à un ordinateur. L'acquisition et l'analyse des données ont été effectuées automatiquement à l'aide du logiciel EthoVision (Noldus Information Technology).

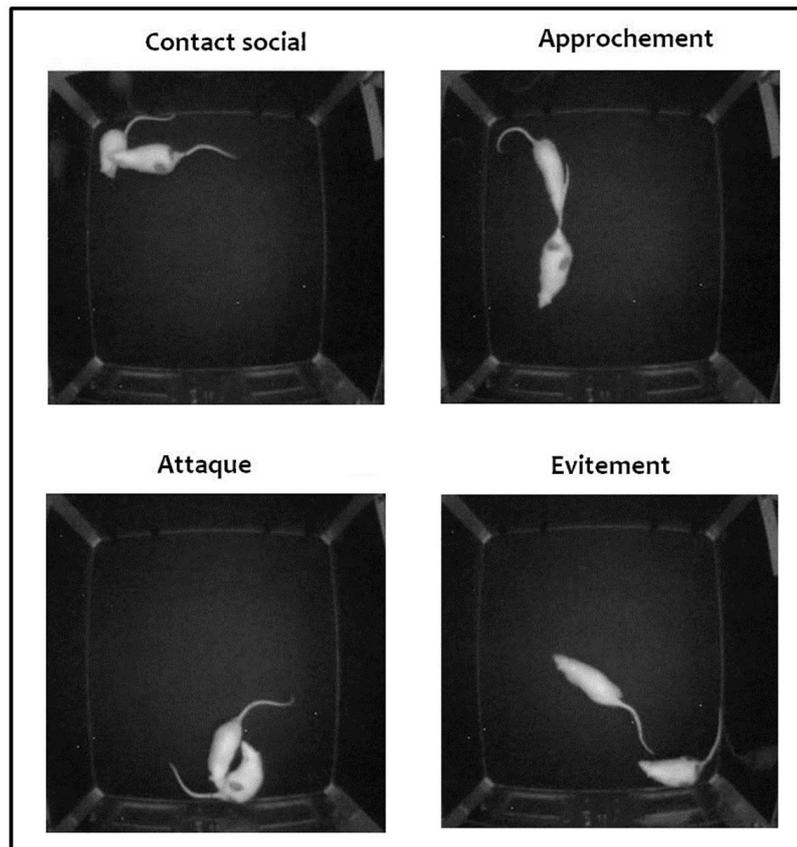


Fig. 12: Test de l'interaction sociale dans un nouvel environnement.

Les interactions sociales ont été mesurées conformément à un protocole précédemment publié (**Lapiz-Bluhm et al., 2008**). Le ratio (R) entre « le mouvement pondéré de » (une mesure objective de l'intensité d'évitement) et « le mouvement pondéré vers » (une mesure objective de l'intensité d'approchement) a été évalué pour les différents groupes (**Fig. 12**). Cette approche prend en considération la distance (en cm) entre le nez de l'animal expérimental et les différents points de référence du corps de l'animal stimulus. La durée totale de contacts, le comportement agonistique délivré défini comme

‘comportement dominant’ (Matsuo et al., 2009) et la latence de la première attaque ont également été mesurés.

4.5. Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task “5-CSRTT”

Le 5-CSRTT est un test permettant l'évaluation de l'attention et l'impulsivité (Robbins et al., 2002; Bari et al., 2008). Au début, tous les animaux avaient un accès limité à la nourriture afin d'ajuster leurs poids corporel à 85% par rapport à leur poids en libre alimentation. Cependant, ces animaux avaient accès libre à l'eau, sauf pendant les séances du test.

4.5.1. Dispositif

Le dispositif consiste en une chambre de conditionnement opérant (20 x 20.5 x 24 cm) à 9 trous (Fig. 13A). La chambre dispose d'une lumière au plafond qui fournit un éclairage ambiant et sur la cloison concave se trouve neuf trous équipés d'émetteurs et de photorécepteurs permettant de détecter les réponses du museau de l'animal. Chaque trou est muni d'un stimulus lumineux (1.7 W) permettant sa localisation par les souris et qui doivent répondre par une introduction du museau dans ce trou illuminé. Quatre des neuf ouvertures ont été bloquées avec une plaque de métal, permettant ainsi cinq ouvertures fonctionnelles espacées de 2.5 cm. À l'opposé de la cloison, un réceptacle est placé derrière une trappe battante permettant de distribuer automatiquement des pastilles sucrées de 25 mg (López Morenas, SL, Espagne). Le dispositif est connecté à un logiciel Packwin software (Panlab S.P., Cornella, Barcelone, Espagne).

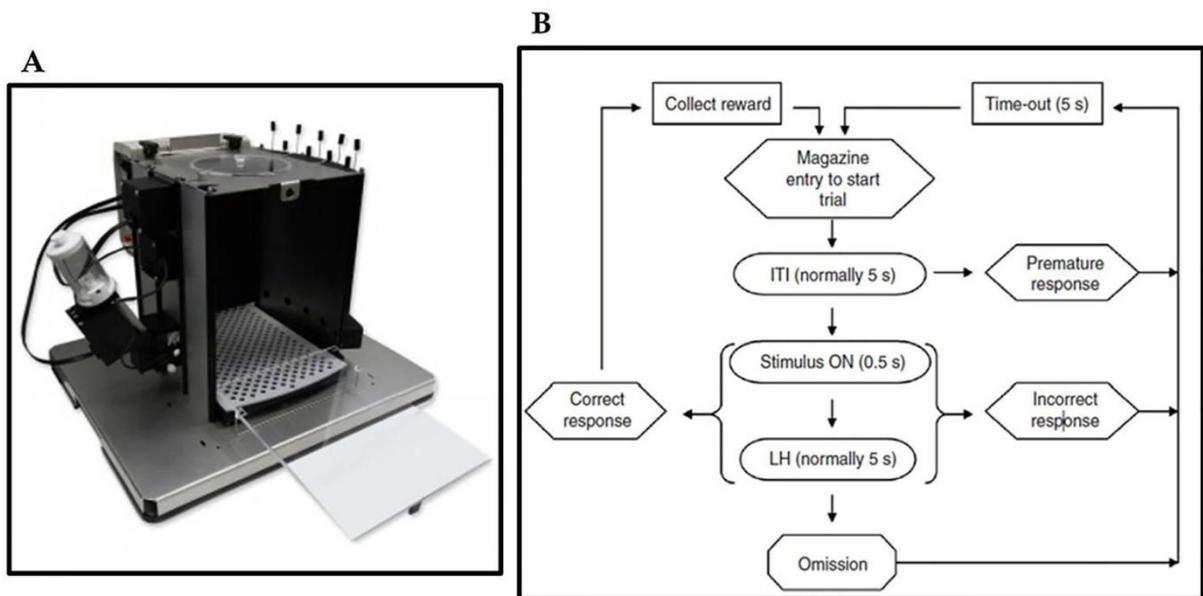


Fig. 13: Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task (5-CSRTT).

A. Dispositif du test pour les souris. **B.** Schéma représentatif de différentes étapes du test 5-CSRTT (Bari et al., 2008).

4.5.2. Protocole de recherche

Habituation: cette phase nécessite un entraînement composé de plusieurs étapes pour habituer l'animal au dispositif et lui permettre de comprendre progressivement la tâche qu'il doit effectuer pour obtenir la récompense. Durant la première étape, les souris sont placées dans le dispositif pendant 15 minutes durant lesquelles toutes les lumières sont éteintes. Pendant la deuxième étape, les souris sont placées 30 minutes dans le dispositif avec la lumière de tous les trous illuminés. Chaque fois que l'animal met son museau dans le trou, une récompense est délivrée. Durant la troisième étape, les souris sont placées dans le dispositif et seul le trou central est illuminé. Si l'animal met son museau dans le trou approprié (illuminé), une récompense est délivrée.

Entraînement (Fig. 13B): après les étapes de l'habituation, les cinq trous sont désormais illuminés de façon aléatoire. La tâche consiste à ce que l'animal réponde au stimulus présenté dans l'un des cinq trous. La séance commence avec la lumière du plafond allumée. Après les 15 s d'exploration, un des cinq trous s'illumine aléatoirement sur une durée de stimulus (SD) de 60 s. Si l'animal répond pendant la présentation du stimulus ou pendant la période déterminée qui suit (*Limited Hold* (LH), c.-à-d. la période après l'extinction du stimulus), une **réponse correcte** est enregistrée et récompensée. Chaque

réponse supplémentaire dans n'importe quel trou, avant que la récompense ne soit récupérée est enregistrée comme une réponse **persévérante**. Une réponse donnée pendant la période de SD et/ou LH dans n'importe quel trou non-allumé est enregistrée comme une réponse **incorrecte**. Une absence de réponse pendant la période de SD et/ou LH est considérée comme une **omission**, et une réponse pendant l'intervalle inter-essais (ITI) est considérée comme une réponse **prémature** (*Time Out, TO*). La séance se termine soit lorsque 35 essais sont effectués, soit au bout de 30 minutes écoulées. Lors des premières séances, la durée du stimulus est de 60 secondes, puis elle est progressivement diminuée à 30, 20, 10, 5, 2, 1.8 et 1 secondes. Pour chaque souris 6-OHDA, la durée de stimulation est réduite lorsque le pourcentage de réponses correctes est supérieur à 70%, le pourcentage d'omissions inférieur à 40% et la souris effectue plus de 35 essais par session. Ensuite, les souris sont entraînées avec une durée de stimulation de 1 s, jusqu'à ce que des performances stables soient atteintes (c'est-à-dire trois sessions consécutives sans différence significative entre les sessions). Pour chaque session, les variables suivantes sont analysées: le nombre d'essais terminés (nombre de réponses correctes + réponses incorrectes), le pourcentage de réponses correctes (nombre de réponses correctes / nombre d'essais terminés × 100), le pourcentage d'omissions (omissions / essais commencés qui n'ont pas été terminés par une réponse prémature × 100), le pourcentage de réponses prématures (réponses prématures / essais commencés × 100), le pourcentage de réponses persévérantes (réponses persévérantes / réponses correctes × 100), la latence pour obtenir des réponses correctes (latence correcte) et la latence pour collecter une pastille alimentaire (latence du magasin).

Test: après trois sessions caractérisées par des performances stables et à une durée de stimulus égale à 1 seconde, les paramètres (SD et ITI) sont modifiés. Tout d'abord, l'intervalle inter-essais est augmenté de 5 à 7-10 s, permettant ainsi d'évaluer l'impulsivité des animaux. Ensuite, les souris sont testées à nouveau en conditions lumineuses standard, mais cette fois-ci la durée du stimulus est diminuée de 1 s à 0.8 – 0.5 s le jour du test pour évaluer l'attention. Ensuite, les animaux sont habitués à une injection quotidienne d'une solution saline pendant une semaine pour évaluer par la suite l'effet de la méthylphénidate (3.0 ou 5.0 mg/kg), qui sera injectée deux fois par semaine (mercredi et vendredi) en alternance avec une solution saline (mardi et jeudi) (**Fig. 8B**). Les souris

ont été soumises à des sessions standard de 5-CSRTT avec les mêmes paramètres utilisés pour l'évaluation de la réponse de base. Les données collectées sont celles de trois sessions consécutives caractérisées par des performances stables, et ce dans chaque condition.

5. Histologie

5.1. Préparation du tissu

À la fin des tests de comportement, les souris sham et 6-OHDA sont profondément anesthésiées par une injection i.p d'uréthane à 40% (1g / kg, de Sigma-Aldrich, France) et perfusées par voie intracardiaque avec du tampon phosphate (100 mM, pH 7.4) suivi de 4% (poids/vol) de paraformaldéhyde glacé. Les cerveaux sont prélevés et post-fixés pendant une nuit dans un tampon phosphate (50 mM, pH 7.4) contenant du paraformaldéhyde à 4%.

5.2. Coloration de Nissl

La coloration de Nissl est préparée comme décrit par **Bittolo** et al. (2016). Les cerveaux (n=9) sont coupés en tranches coronales de 30 µm au niveau de l'ACC (+1.20 mm à +0.10 mm de bregma) avec un Vibratome (Leica VT-1200S; Leica, Solms, Allemagne). Les coupes sont ensuite montées sur des lames gélatinées et séchées. La coloration de Nissl (0.2% de crésyl violet, 0.5% d'acide acétique, 0.01 M d'acétate de sodium dans de l'eau stérile) est effectuée pendant 20 minutes à 37°C. Les coupes sont ensuite déshydratées dans de l'éthanol à 70%, 95%, 100%, du xylène et montées avec de l'Eukitt (Sigma-Aldrich). L'épaisseur totale du cortex ainsi que celle de ses différentes couches sont analysées sur 3 sections adjacentes chez les souris sham et 6-OHDA. Pour quantifier la taille de chaque région cérébrale, leur surface (6 coupes par souris) est mesurées par un logiciel Olympus Plus et les images sont numérisées avec une caméra Olympus D71 à haute résolution et analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

5.3. Coloration de Golgi Cox

En 1873, **Golgi** a découvert la méthode de base de la coloration des neurones dans le système nerveux, appelée initialement 'la réaction noire' (la reazione nera) et qui est

maintenant appelée coloration de Golgi. Après de laborieuses tentatives de coloration des éléments du tissu nerveux, **Golgi** a découvert un processus impliquant le durcissement des tissus nerveux dans le dichromate de potassium et l'imprégnation au nitrate d'argent (**Golgi, 1873**). La méthode originale nécessitait l'immersion du tissu dans le dichromate de potassium pendant plusieurs mois et l'imprégnation subséquente dans le nitrate d'argent pendant plusieurs jours supplémentaires. C'est une méthode capricieuse qui ne marque qu'environ 1 à 10% des neurones dans une région donnée (**Shankaranarayana et Raju, 2004**). Cette coloration capricieuse permet une visualisation panoramique pratiquement de toutes les parties d'un neurone individuel, y compris le soma, l'axone, les dendrites et les épines dendritiques.

5.3.1. Procédure

La solution de fixation rapide de Golgi est préparée comme décrit par **Patro et al. (2009)** (5 g de dichromate de potassium, 5 g d'hydrate de chloral, 8 ml de glutaraldéhyde, 6 ml de formaldéhyde, 10 gouttes de diméthylsulfoxyde) dans un volume final à 100 ml avec de l'eau distillée. Les cerveaux (n=4 souris/groupe) sont directement imprégnés dans la solution de fixation de Golgi et conservés dans des flacons ambrés pendant 2 jours, suivi d'un second changement du fixateur pendant 2 jours suivants. Le 5^{ème} jour, les tissus sont rincés brièvement (2-3 fois) avec une solution aqueuse à 0.75% de nitrate d'argent et maintenus incubés à l'obscurité dans la même solution pendant 2 jours. Les tissus sont ensuite rincés avec la même solution de nitrate d'argent à 0.75% (2-3 fois) et conservés dans la même solution pendant 3 jours à l'obscurité. Ensuite, les cerveaux sont soigneusement rincés dans de l'alcool à 70% pour éliminer les précipités d'argent, puis débités en coupes coronales sériées de 100 µm d'épaisseur par un vibratome (Leica VT-1200S). Les coupes correspondant au cortex cingulaire antérieur dorsal (ACd) sont récupérées, montées sur des lames gélatinées, puis déshydratées dans des bains d'alcool à concentrations croissantes (50, 70, 95 et 95%) et dégraissées dans un bain de xylène. Les coupes sont ensuite recouvertes de lamelles dans une résine de montage transparente (Eukitt, Sigma-Aldrich). Les coupes sont visualisées avec le logiciel Olympus Plus et les images sont numérisées avec une caméra haute résolution Olympus D71.

5.3.2. Quantification des composantes neuronales

La densité des épines et la longueur dendritique des neurones pyramidaux de la couche II/III de l'ACd ont été mesurées. L'ACd est défini selon la description d'Uylings et al. (2003) et la nomenclature utilisée est celle de Krettek et Price (1977). Cette zone correspond à la Cg1 de Paxinos et Franklin (2001). Les neurones à analyser doivent satisfaire les critères suivants: (i) emplacement du soma dans la couche II/III et dans les limites de l'ACd, (ii) coloration complète des arborisations dendritiques apicales et basales dans une section de 150 μm , (iii) les dendrites apicales primaires doivent se ramifier régulièrement dans une série de branches bifurcantes. Les neurones ayant des dendrites apicales primaires plus longues possédant des dendrites obliques, qui se trouvent généralement plus profondément dans la couche III, n'ont pas été inclus dans cette étude (Fig. 14C).

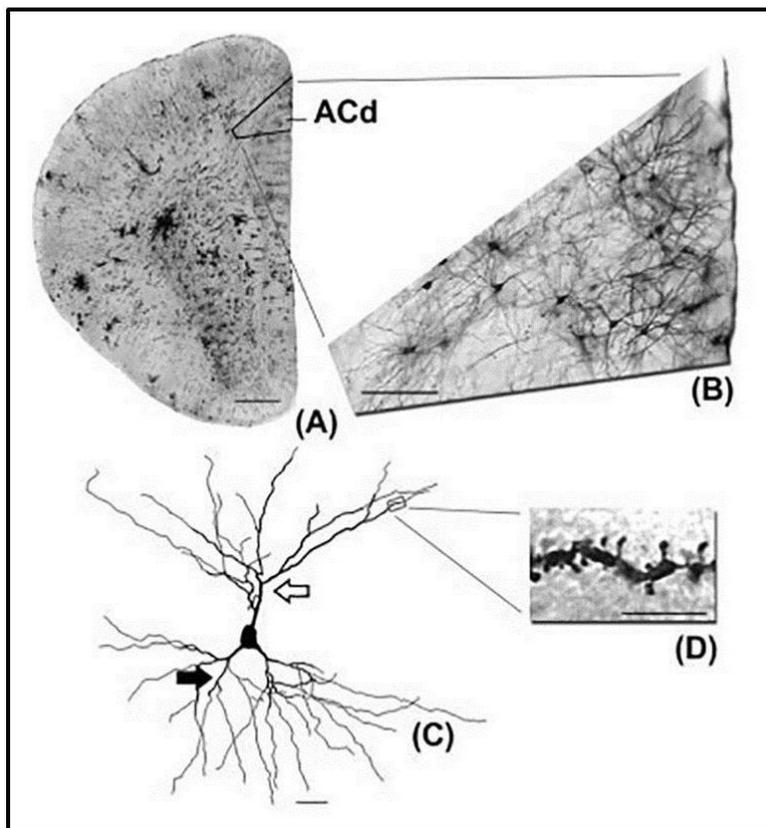


Fig. 14: Illustration des régions du cerveau et des types de neurones qui ont été analysés: cortex cingulaire antérieur dorsal (ACd) d'un dègue mâle préadolescent (Zehle et al., 2007).

A. Microphotographie d'une section frontale colorée au Golgi-Cox du cerveau de dègue. **B.** ACd coloré Golgi-Cox, à fort grossissement.

C. Reconstruction d'un neurone coloré au Golgi dans la couche II-III de l'ACd (les flèches blanches indiquent les dendrites apicales, les flèches noires indiquent les dendrites basales).

D. Micrographie d'un segment dendritique d'une branche apicale. Barres d'échelle: A. 1000 μm . B. 100 μm . C. 20 μm . D. 5 μm .

5.3.3. Diamètre dendritique et complexité

Une série A-Z d'images de 10 neurones (chaque souris) a été collectée toutes les 1 μm à un grossissement de 60x et analysée en utilisant le logiciel ImageJ. Le diamètre de la

dendrite apicale a été mesuré à 10 ou 100 microns du soma. Pour chaque neurone, le nombre des épines minces (*thin*), tronquées (*stubby*) et de champignon (*mushroom*) (**Harris et al., 1992**) a été évalué dans 2 segments de 50 μm de dendrites basales secondaires ou de dendrites apicales primaires et secondaires.

5.3.4. Densité des épines

Toutes les protubérances, minces ou tronquées, avec ou sans expansion terminale bulbeuse, ont été comptées comme des épines si elles étaient en continuité directe avec l'arborisation dendritique. La densité moyenne des épines [nombre des épines visibles par μm de la longueur dendritique, (**Fig. 14D**)] a été calculée pour la dendrite complète en divisant le nombre des épines par la longueur dendritique. Les résultats ont été exprimés en fréquences médianes par hémisphère (HEM). Toutes les mesures ont été faites par un expérimentateur non informé des conditions expérimentales des animaux.

5.4. Immunohistochimie: Tyrosine Hydroxylase (TH)

Les cerveaux ont été cryoprotégés pendant une nuit dans 30% de saccharose. Ils sont ensuite coupés par un microtome à congélation (Leica Microsystems, Allemagne) en sections frontales de 30 μm contenant le striatum et la substance noire compacte (SNc). Ces régions d'intérêt ont été déterminées selon l'atlas stéréotaxique de **Paxinos et Franklin (2001)**.

L'immunohistochimie de la Tyrosine Hydroxylase (TH) a été préparée comme décrit par **Gelman et al. (2003)**.

- Les sections contenant les régions d'intérêts sont prétraitées avec de l'eau oxygénée à 1% pendant 30 minutes pour bloquer l'activité de la peroxydase endogène et lavées dans une solution de PBS (5x 10 minutes).
- Les coupes sont incubés pendant 60 à 90 min dans une solution de PBS contenant de la sérum-albumine bovine (BSA; SERVA ELECTROPHORESIS GmbH, Allemagne) et 1% de Triton X-100 (ACROS ORGANICS, USA) à 0.3% (PBS-T-BSA), sous agitation à température ambiante.

- Les coupes sont ensuite incubées avec l'anticorps primaire polyclonal anti-tyrosine hydroxylase (TH) produit chez le lapin (Sigma Aldrich GmbH, Allemagne) dilué à 1:1000 dans du PBS-T-BSA pendant une nuit, sous agitation à 4°C.
- Les sections sont lavées dans du PBS (5x 10 minutes), puis incubées avec un anticorps secondaire biotinylé de lapin dilué à 1:400 dans du PBS-T sous agitation pendant une nuit à 4°C et puis rincées dans du PBS (5x 10 minutes).
- Les sections sont ensuite incubées pendant 1 h 30 à température ambiante dans le complexe avidine-biotine-peroxydase (Vectastain Elite ABC kit, Sigma), dilué à 1:200 dans du PBS. Cette solution est préparée 30 min avant, pour permettre aux deux molécules de se complexer.
- La révélation se fait après rinçage (4x 10 min par du PBS), en plaçant les coupes dans une solution contenant 0.006 g de 3-3'diaminobenzidine dans du Trizma- pre-set 0.05 M et 30 µl d'H₂O₂ (1%) à l'obscurité. L'évolution de la réaction est contrôlée par observation au microscope et est arrêtée par rinçage des coupes dans du PBS (2x cinq minutes).
- Les coupes sont montées sur des lames gélatinées, puis déshydratées dans des bains d'alcool à concentrations croissantes (50, 70, 95 et 95%) et dégraissées dans un bain de xylène. Les coupes sont ensuite recouvertes de lamelles dans une résine de montage transparente (Eukitt, Sigma-Aldrich).

Les images des coupes de cerveau sont acquises à fort grossissement (40x et 60x) sur un microscope Olympus BH-2 équipé d'une caméra Olympus DP71. La reconstruction complète de photomicrographies de différents plans est réalisée à l'aide du logiciel de traitement d'image Adobe Photoshop®. Pour chaque région du cerveau, quatre sections représentatives de l'antérieur au postérieur sont choisies et comptées pour minimiser la variabilité.

6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SigmaPlot 11.0 (SigmaStat, Systat Software Inc, San Jose, CA, USA). Les résultats sont exprimés sous

forme de moyenne \pm SEM, avec considération du $p < 0.05$ comme seuil de signification statistique. Le test de *t-Student* a été utilisé pour les comparaisons simples à deux échantillons. Pour les comparaisons multiples, une analyse ANOVA Two way a été effectuée, suivie par le test *post-hoc* de Student Newman-Keuls pour les analyses comportementales. Une analyse factorielle de variance ANOVA à deux facteurs, suivie d'une comparaison multiple par le test *post-hoc* selon la méthode de Holm-Sidak a été utilisée pour analyser les performances du 5-CSRTT pendant les manipulations de base, ITI et SD. Pour les défis pharmacologiques, la moyenne de toutes les séances de chaque paramètre du 5-CSRTT prises en deux séances différentes (véhicule et dose de médicament) a été utilisée comme facteur intra-sujet et la lésion comme facteur inter-sujets. Un *post-test* par la méthode Holm-sidak a été utilisé pour suivre les principaux effets et les interactions importants.

7. Analyse en composantes principales (PCA)

L'analyse en composantes principales a été réalisée à l'aide du logiciel R (Ade4 package) basé sur les 20 variables comportementales mesurées dans cette étude (voir [Fossat et al., 2014](#)). En bref, la contribution de chaque variable à la variance dans les premières et secondes composantes de la PCA a été calculée. Dans un deuxième temps, l'emplacement de chaque groupe d'animaux a été représenté graphiquement sur le plan défini par les premières et secondes composantes de la PCA. La séparation entre les paires de groupes a été évaluée en calculant l'inertie, définie comme le rapport entre la variance intergroupe et la variance globale. La signification statistique de l'inertie pour la séparation des groupes a été estimée à l'aide d'un test de permutation Monte Carlo (1000 essais). Dans chaque essai, l'inertie simulée a été calculée. La distribution des valeurs d'inertie simulées a été ensuite comparée à l'inertie réelle. Une valeur de p a été ensuite calculée comme le rapport entre le nombre de simulations dans lesquelles l'inertie simulée était supérieure à l'inertie réelle et le nombre total d'essais et fixée à $p < 0.01$.

III. Résultats

1. Les souris 6-OHDA juvéniles présentent une hyperactivité.

Afin de caractériser les symptômes ADHD, nous avons d'abord évalué l'activité locomotrice spontanée des souris 6-OHDA et sham à P24.

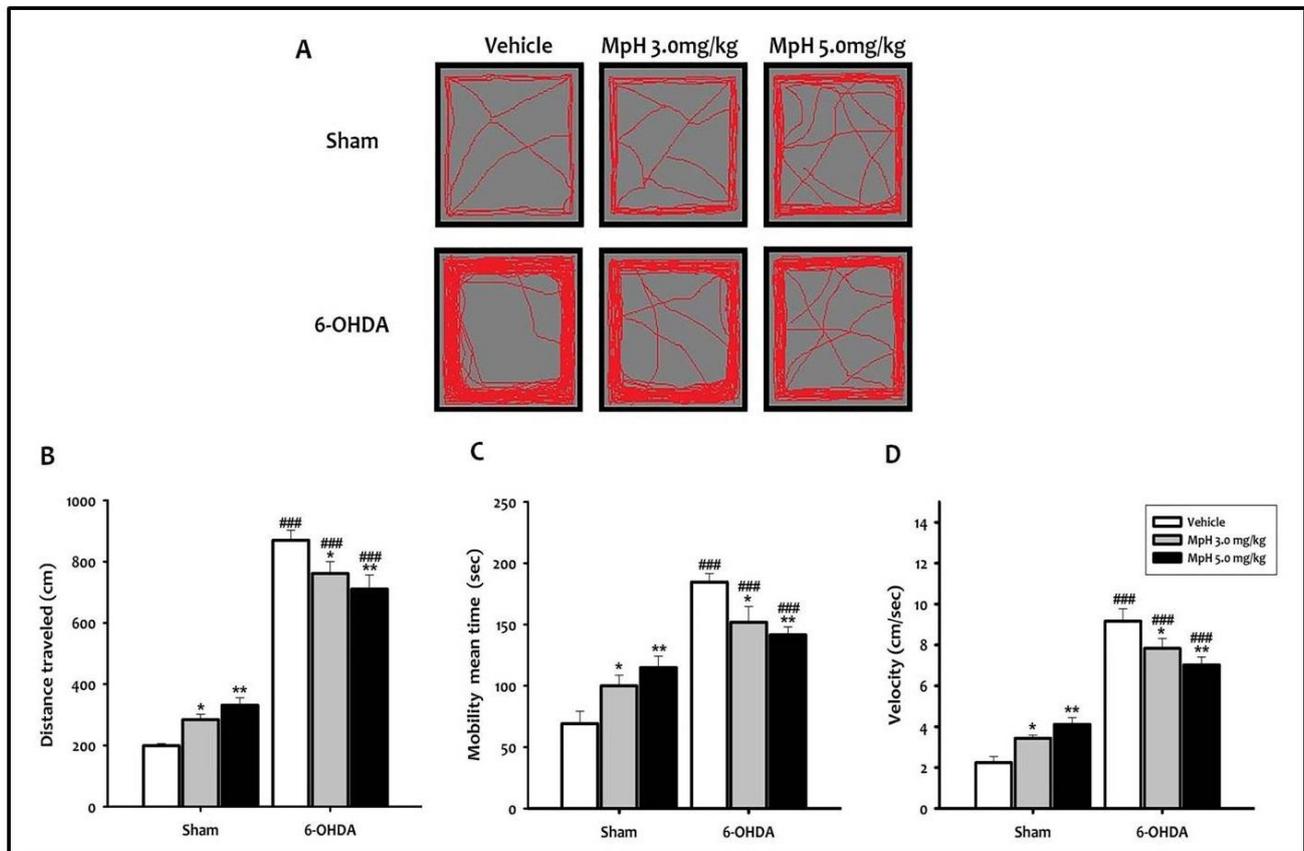


Fig. 15: Activité locomotrice spontanée à P24.

A. Vidéo-tracking représentatives de l'activité dans le champ ouvert. Les souris 6-OHDA présentent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux sham. **B.** Distance parcourue pendant 10 min (cm). **C.** Temps moyen de mobilité (s). **D.** Vitesse moyenne de déplacement (cm/s). Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, * $p<0.05$ et ** $p<0.01$ par rapport au véhicule; ### $p<0.001$ vs sham.

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (Two way ANOVA) a été réalisée en considérant la lésion (6-OHDA) et le traitement méthylphenidate (Mph) comme deux facteurs principaux. Les résultats montrent un effet significatif de la lésion ($F_{(1,54)} = 411.40$; $F_{(1,54)} = 71.95$ et $F_{(1,54)} = 205.57$, $p<0.001$), du traitement ($F_{(2,54)} = 40.11$; $F_{(2,54)} = 32.66$ et $F_{(2,54)} = 57.59$, $p<0.05$) et l'interaction lésion x traitement ($F_{(2,54)} = 11.67$; $F_{(2,54)} = 11.67$ et $F_{(2,54)} = 12.57$, $p<0.001$) sur la distance parcourue, le temps moyen de mobilité et la vitesse de déplacement des animaux respectivement. À P24, l'analyse post-hoc de Student-Newman-Keuls montre que les souris 6-OHDA présentent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux sham (**Fig. 15A**) avec une distance parcourue significativement plus

longue ($q=21.83$, $p<0.001$; **Fig. 15B**), un temps de mobilité plus élevé ($q=12.37$, $p<0.001$; **Fig. 15C**) et une vitesse de déplacement supérieure ($q=17.10$, $p<0.001$; **Fig. 15D**). Ainsi, ces observations indiquent que les souris 6-OHDA présentent une hyperactivité à P24.

Ensuite, nous avons évalué la capacité du MpH à réduire l'hyperactivité. L'injection de 3.0 ou 5.0 mg/kg du MpH diminue de manière dose-dépendante la distance moyenne parcourue ($q=3.53$, $p<0.05$; $q=5.18$, $p<0.01$; respectivement; **Fig. 15A-B**), le temps moyen de mobilité ($q=3.51$, $p<0.05$; $q=4.61$, $p<0.01$; respectivement; **Fig. 15C**) et la vitesse de déplacement ($q=3.29$, $p<0.05$; $p<0.01$; respectivement; **Fig. 15D**) par rapport aux souris 6-OHDA injectées avec le véhicule. En revanche, l'effet inverse du MpH est observé chez les souris sham.

Après avoir démontré que l'hyperactivité, l'un des principaux symptômes, est phénotypée dans le modèle de souris 6-OHDA, nous nous sommes concentrés sur les comorbidités du syndrome, à savoir l'anxiété, le comportement antisocial et les troubles cognitifs chez les souris adolescentes (voir **Fig. 16-18**).

2. Les souris 6-OHDA adolescentes montrent un comportement anxieux.

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs confirme l'effet principal de la lésion sur tous les paramètres d'anxiété (le temps passé et le nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés) ($F_{(1,54)} = 20.40$; $F_{(1,54)} = 33.55$; $F_{(1,54)} = 67.24$; $F_{(1,54)} = 132.23$, $p<0.001$; respectivement); alors que le traitement au MpH ($F_{(2,54)} = 1.73$; $F_{(2,54)} = 0.52$; $F_{(2,54)} = 0.40$; $F_{(2,54)} = 0.61$, $p>0.05$; respectivement) et l'interaction lésion x traitement ($F_{(2,54)} = 0.021$; $F_{(2,54)} = 0.014$; $F_{(2,54)} = 0.03$; $F_{(2,54)} = 0.007$, $p>0.05$; respectivement) n'ont pas d'effet.

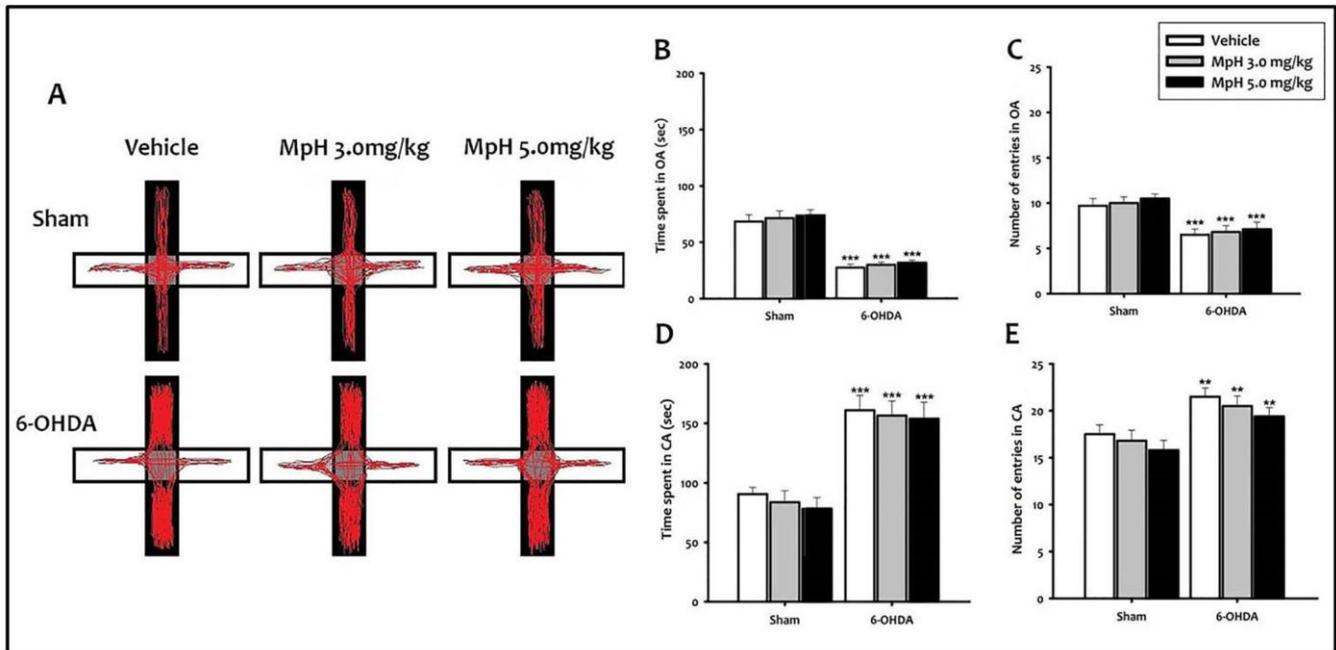


Fig. 16: Comportement anxieux chez les souris 6-OHDA.

A. Vidéo-tracking représentatives illustrant la réticence d'une souris 6-OHDA à explorer les bras ouverts de l'EPM par rapport au sham. **B.** Temps passé dans les bras ouverts. **C.** Nombre d'entrées dans les bras ouverts. **D.** Temps passé dans les bras fermés. **E.** Nombre d'entrées dans les bras fermés EPM. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, ** $p<0.01$ et *** $p<0.001$ vs véhicule; ## $p<0.01$ et ### $p<0.001$ vs sham.

Dans le test de l'EPM, le temps passé ($q=9.26$, $p<0.001$) et le nombre d'entrées ($q=4.63$, $p<0.001$) dans les bras ouverts sont inférieurs chez le groupe 6-OHDA par rapport au groupe sham (**Fig. 16A, B** et **C**). Cependant, les souris 6-OHDA sont rentrées plus fréquemment dans les bras fermés du labyrinthe ($q=3.91$, $p<0.01$; **Fig. 16A, E**), où elles passent beaucoup plus de temps que les souris sham ($q=6.46$, $p<0.001$; **Fig. 16D**). Aucune des doses de 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg du MpH n'influence le temps passé par les souris 6-OHDA dans les bras ouverts ($q=0.54$ et $q=1.00$, $p>0.05$; respectivement; **Fig. 16A, B**) ou les bras fermés ($q=0.42$ et $q=0.66$, $p>0.05$; respectivement; **Fig. 16A, D**). Les mêmes observations de l'absence d'effet de 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg de MpH sont faites chez les souris sham, que ce soit dans les bras ouverts ($q=0.70$ et $q=1.22$, $p>0.05$; respectivement; **Fig. 16B**) ou fermés ($q=0.62$ et $q=1.14$, $p>0.05$; respectivement; **Fig. 16D**).

3. Les souris 6-OHDA adolescentes présentent un comportement antisocial.

Le test de l'interaction sociale mesure les niveaux de l'anxiété sociale dans l'open field (champ ouvert) basé sur les interactions des animaux. L'analyse des données par le test

ANOVA à deux facteurs (lésion et traitement au Mph), révèle que le comportement antisocial (intensité d'évitement et durée totale du contact) est significativement affecté par la lésion ($F_{(1,54)} = 915.87$; $F_{(1,54)} = 644.06$, $p < 0.001$; respectivement), traitement ($F_{(2,54)} = 12.71$; $F_{(2,54)} = 30.58$, $p < 0.05$; respectivement) et l'interaction traitement x lésion ($F_{(2,54)} = 14.22$; $F_{(2,54)} = 11.67$, $p < 0.001$; respectivement). L'analyse post-hoc montre que les animaux sham approchent les animaux test, tandis que les animaux 6-OHDA les évitent ($q = 30.31$, $p < 0.001$, **Fig. 17B**). Les doses de 3.0 mg/kg et 5.0 mg/kg du Mph augmentent le comportement d'approche des souris 6-OHDA aux souris test ($q = 3.28$, $p < 0.05$; $q = 5.01$, $p < 0.01$), tandis que les mêmes doses augmentent le comportement d'évitement chez les souris sham ($q = 2.89$, $p < 0.05$; $q = 5.59$, $p < 0.001$; respectivement, **Fig. 17B**). De plus, au cours du test de l'interaction sociale dans un nouvel environnement, la durée totale de contacts des souris 6-OHDA est significativement plus basse que celle des souris sham ($q = 26.00$, $p < 0.001$; **Fig. 17A**). En revanche, le traitement par le Mph augmente ce paramètre chez les souris 6-OHDA (3.0mg/kg: $q = 2.89$, $p < 0.05$; 5.0mg/kg: $q = 3.99$, $p < 0.01$) par rapport aux souris 6-OHDA injectées véhicule, tandis que le contraire est observé chez les souris shams (3.0mg/kg: $q = 3.44$, $p < 0.05$; 5.0mg/kg: $q = 5.50$, $p < 0.001$; respectivement; **Fig. 17A**).

Fait intéressant, nous avons également constaté que les souris 6-OHDA présentent non seulement un comportement antisocial, mais même agressif. En effet, l'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et traitement) révèle qu'à la fois le comportement agonistique et la latence de la première attaque sont significativement affectés par la lésion ($F_{(1,54)} = 2209.82$; $F_{(1,54)} = 1726.65$, $p < 0.001$; respectivement), le traitement ($F_{(2,54)} = 91.50$; $F_{(2,54)} = 88.51$; $p < 0.05$; respectivement) et l'interaction traitement x lésion ($F_{(2,54)} = 12.25$; $F_{(2,54)} = 14.53$, $p < 0.001$; respectivement). Les souris 6-OHDA présentent une augmentation significative du comportement agonistique (nombre d'attaques mordantes) contre les souris test par rapport aux souris sham ($q = 43.86$, $p < 0.001$; **Fig. 17C**). De plus, la latence de la première attaque est plus faible chez les souris 6-OHDA que les souris sham ($q = 39.74$, $p < 0.001$; **Fig. 17D**). Les deux doses du Mph (3.0 et 5.0 mg/kg) diminuent significativement ces paramètres chez les souris 6-OHDA (3.0 mg/kg: $q = 3.87$, $p < 0.05$; $q = 3.60$, $p < 0.05$ et 5.0 mg/kg: $q = 3.76$, $p < 0.01$; $q = 4.69$, $p < 0.01$; respectivement). Par contre, les mêmes doses ont un effet opposé chez les souris sham

(3.0 mg/kg: $q=3.03$, $p<0.05$; $q=3.18$, $p<0.05$ et 5.0 mg/kg: $q=5.75$, $p<0.001$; $q=5.95$, $p<0.001$; respectivement; **Fig. 17C, D**).

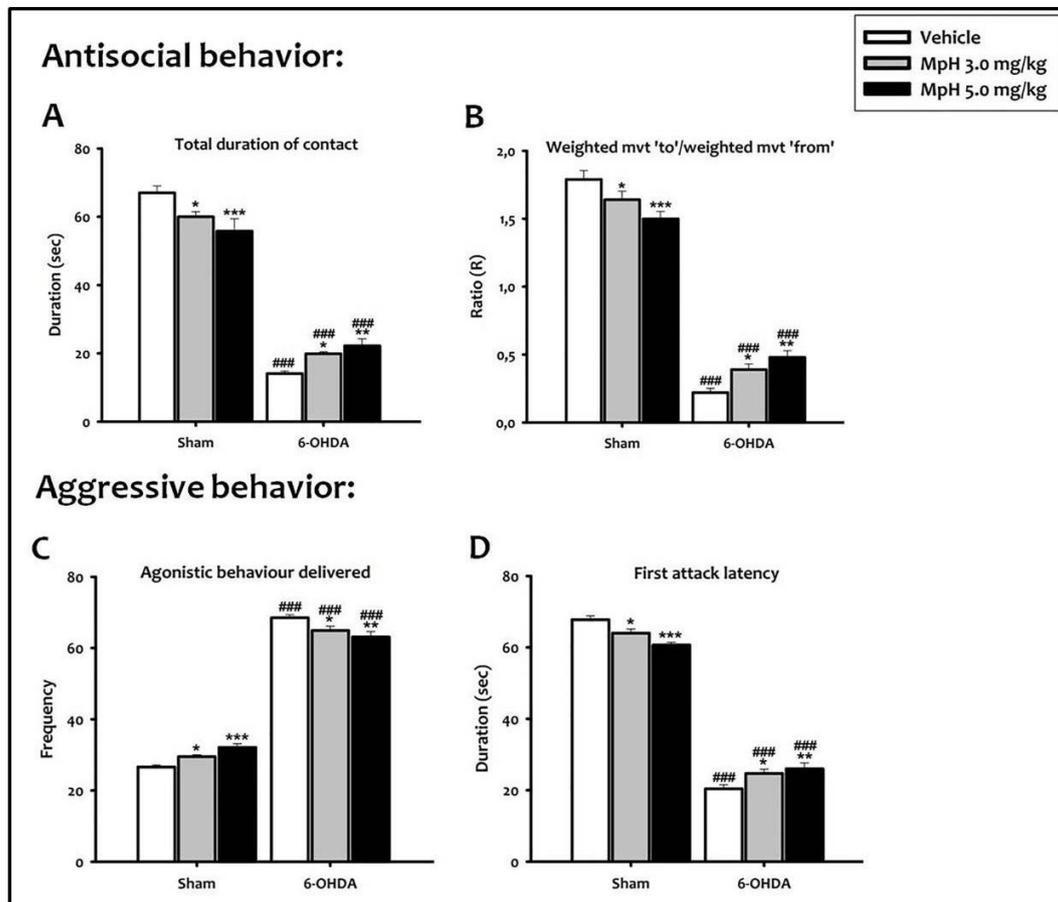


Fig. 17: Interaction antisociale (**A, B**) et agressivité (**C, D**) chez les souris 6-OHDA. **A.** Durée totale de contacts. **B.** Rapport entre le mouvement pondéré et le mouvement pondéré de la souris appariée. **C.** Comportement agoniste délivré. **D.** Latence de la première attaque. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, ** $p<0.01$ et *** $p<0.001$ vs véhicule; # $p<0.01$ et ### $p<0.001$ vs sham.

4. Les souris adolescentes 6-OHDA montrent un déficit de la mémoire à court terme.

Dans la présente étude, nous avons évalué également les fonctions cognitives par la mémoire et l'apprentissage. La reconnaissance d'objet est déterminée par une interaction plus longue avec le nouvel objet qu'avec le familier (évalué par le ratio du temps passé T_r) et le rapport de discrimination (D_r) supérieur à 0.5 (**Fig. 18A, B**).

L'analyse ANOVA à deux facteurs (lésion et traitement) montrent que la lésion affecte significativement le T_r et le D_r ($F_{(1,54)} = 200.74$ et $F_{(1,54)} = 131.70$, $p<0.001$), le traitement ($F_{(2,54)} = 25.21$ et $F_{(2,54)} = 19.20$, $p<0.05$) et l'interaction traitement x lésion ($F_{(2,54)} = 14.53$ et

$F_{(2,54)} = 28.11; p < 0.001$). Dans le test de reconnaissance d'objet, le temps d'exploration du nouvel objet est significativement réduit chez les souris 6-OHDA ($q=18.03, p < 0.001$; **Fig. 18A**) par rapport aux souris sham. En outre, le Dr est significativement plus faible dans le groupe 6-OHDA par rapport au groupe sham ($q=18.02, p < 0.001$; **Fig. 18B**), suggérant que les capacités cognitives et la mémoire de reconnaissance seraient être également altérées chez les souris 6-OHDA. MPH à 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg augmente le temps d'exploration du nouvel objet chez les souris 6-OHDA ($q=7.85, p < 0.001$ et $q=8.61, p < 0.001$; respectivement), tandis que l'inverse est observé chez les souris sham ($q=3.78, p < 0.01$ et $q=5.72, p < 0.001$; respectivement, **Fig. 18A**). De plus, MPH améliore le Dr chez les souris 6-OHDA ($q=7.85, p < 0.001$ et $q=8.61, p < 0.001$; respectivement), tandis que le contraire est observé chez les souris sham ($q=3.78, p < 0.001$ et $q=5.72, p < 0.001$; respectivement; **Fig. 18B**).

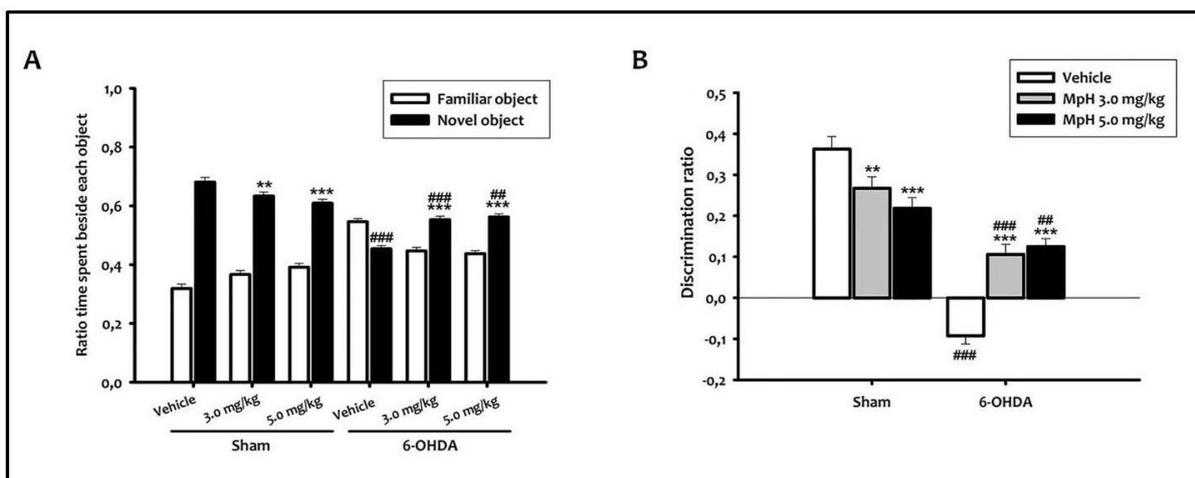


Fig. 18: Altération de la mémoire à court terme chez les souris 6-OHDA.

A. Rapport du temps (Tr) passé sur chaque objet. **B.** Rapport de discrimination (Dr). Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, $**p < 0.01$ et $***p < 0.001$ vs véhicule; $\#p < 0.01$ et $\###p < 0.001$ vs sham.

Nous avons alors constaté que les souris 6-OHDA adolescentes montrent une augmentation de l'anxiété, des comportements antisociaux et agressifs, et des déficits d'apprentissage et de mémoire, qui sont les symptômes discrets de l'ADHD. En outre, MPH améliore les dysfonctionnements cognitifs et les interactions sociales, mais n'a aucun effet sur le comportement anxieux.

5. Les souris 6-OHDA adultes présentent un déficit d'attention et une impulsivité.

Nous avons ensuite analysé les deux autres principaux symptômes de l'ADHD, l'inattention et l'impulsivité par le test 5-CSRTT.

5.1. Test de la performance initiale de base du 5-CSRTT.

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et session d'entraînement) en mesures répétées (Two way ANOVA-repeated mesures), indique que les pourcentages des réponses correctes, d'omissions, des réponses prématures et persévérantes sont significativement affectés par la lésion ($F_{(1,27)} = 156.62$; $F_{(1,27)} = 360.00$; $F_{(1,27)} = 228.60$; $F_{(1,27)} = 305.01$, $p < 0.001$; respectivement) dans la performance initiale au 5-CSRTT; alors que la session ($F_{(3,27)} = 0.034$; $F_{(3,27)} = 0.11$; $F_{(3,27)} = 1.21$; $F_{(3,27)} = 4.42$, $p > 0.05$; respectivement) et l'interaction lésion x session ($F_{(3,27)} = 0.017$; $F_{(3,27)} = 0.017$; $F_{(3,27)} = 2.39$; $F_{(3,27)} = 6.94$, $p > 0.05$; respectivement) n'ont aucun effet. Pendant les phases d'acquisition des 4 dernières séances d'entraînement au 5-CSRTT avec une durée du stimulus d'une seconde ($SD = 1$ s), les souris 6-OHDA sont moins précises que les souris sham ($t=6.22$, $p < 0.001$; **Fig. 19A**), faisant plus d'erreurs d'omissions ($t=8.00$, $p < 0.001$; **Fig. 19B**) et plus de réponses prématures ($t=5,10$, $p < 0.001$; **Fig. 19C**) et persévérantes ($t=6.19$, $p < 0.001$; **Fig. 19D**). Ainsi, nos données suggèrent que les souris 6-OHDA présentent à la fois un déficit de l'attention et une impulsivité.

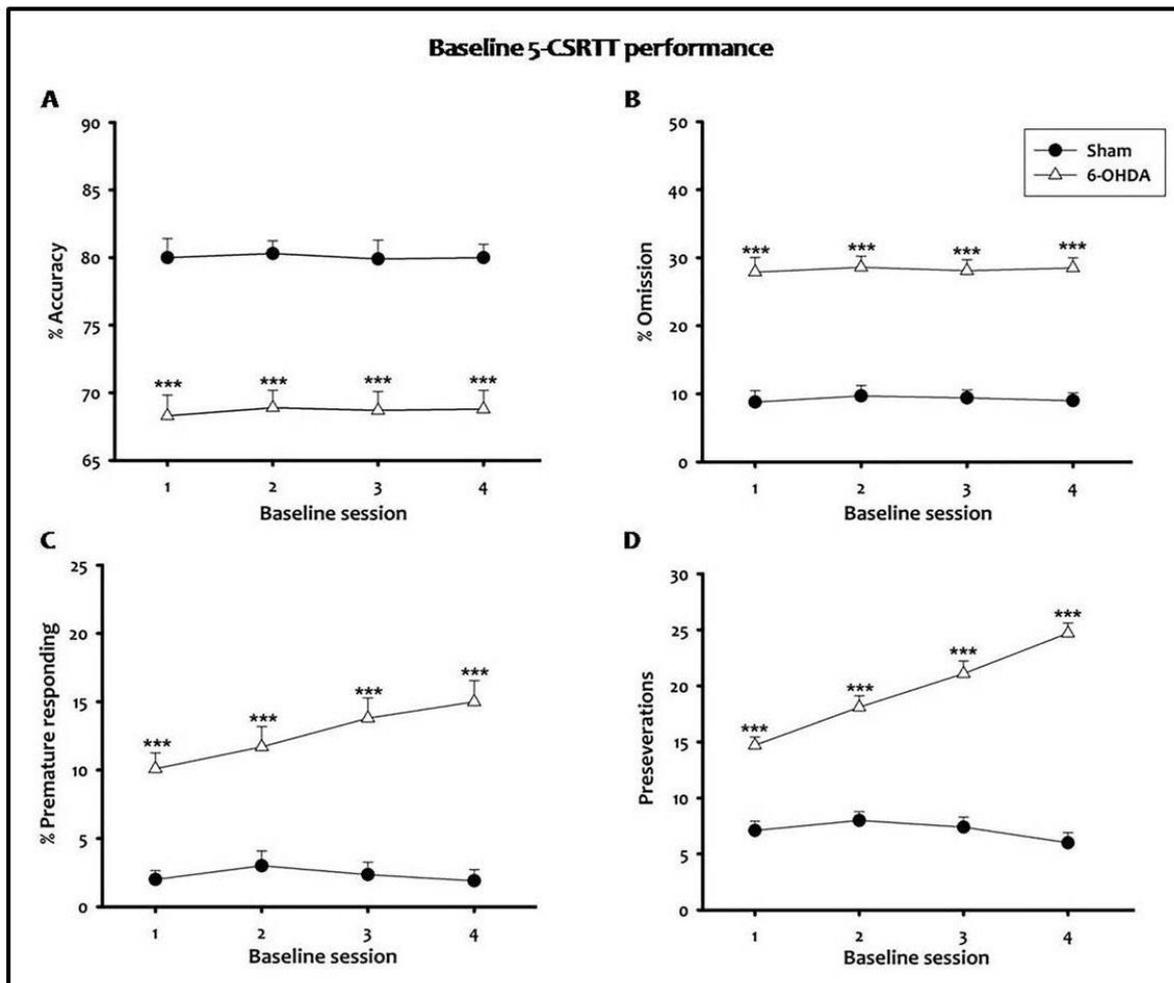


Fig. 19: Performance de base (ITI = 5 s; SD = 1 s) des souris sham et 6-OHDA dans le 5-CSRTT pour les quatre derniers jours successifs (axe X) de l'entraînement. **A.** Pourcentage de précision ou de réponses correctes. **B.** Pourcentage d'omissions. **C.** Pourcentage de réponses prématures. **D.** Pourcentage de réponses persévérantes. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM à partir de 10 souris par groupe, *** $p < 0,001$.

Pour confirmer cette possibilité, nous avons manipulé l'intervalle entre les essais (ITI) et la durée du stimulus (SD) pour évaluer respectivement l'impulsivité et l'attention lorsque les performances de la souris sont stables.

5.2. Test de l'impulsivité.

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et ITI) en mesures répétées (Two way ANOVA-repeated measures), montre un effet significatif de la lésion sur les réponses correctes ($F_{(1,18)} = 45.64, p < 0.001$), tandis que l'ITI et l'interaction lésion x ITI n'ont aucun effet ($F_{(2,18)} = 0.015, p > 0.05$; $F_{(2,18)} = 3.51, p > 0.05$; respectivement). En outre, l'analyse statistique montre un effet significatif de la lésion ($F_{(1,18)} = 183.84$; $F_{(1,18)} = 85.65$ et

$F_{(1,18)} = 205.96, p < 0.001$) et de ITI ($F_{(2,18)} = 5.13, p < 0.01$; $F_{(2,18)} = 5.28, p < 0.01$; $F_{(2,18)} = 4.34, p < 0.05$), sur les erreurs d'omission, les réponses prématures et persévérantes; respectivement. En revanche, l'interaction lésion x ITI n'a aucun effet sur ces paramètres ($F_{(2,18)} = 1.27$; $F_{(2,18)} = 1.42$; $F_{(2,18)} = 1.39, p > 0.05$; respectivement). Lorsque l'ITI est allongé de 5 à 7 ou 10 secondes, une augmentation significative de réponses prématures ($t=2.40, p < 0.05$; $t=3.38, p < 0.01$; respectivement), persévérantes ($t=2.03, p < 0.05$; $t=3.30, p < 0.01$; respectivement) et d'omissions ($t=2.30, p < 0.05$; $t=3.46, p < 0.01$; respectivement) est observée chez les souris 6-OHDA (**Fig. 20A**). Ceci confirme que les souris 6-OHDA présentent un comportement impulsif. Pendant ce temps, nous n'avons pas observé de différence dans le pourcentage de réponses correctes chez les souris 6-OHDA lorsque l'ITI est augmenté ($t=0.07$ ou $t=0.14, p > 0.05$; **Fig. 20A**). Aucun changement dans ces paramètres n'a été observé dans le groupe sham.

5.3. Test de l'attention.

Les mesures répétées de l'ANOVA à deux facteurs (lésion et SD) indiquent des effets significatifs de la lésion sur tous les paramètres du 5-CSRTT (réponses correctes: $F_{(1,18)} = 185.52$; omissions: $F_{(1,18)} = 172.02$; réponses prématures: $F_{(1,18)} = 743.99$ et persévérantes: $F_{(1,18)} = 37.62, p < 0.001$) et de la SD ($F_{(2,18)} = 3.11$; $F_{(2,18)} = 3.46$; $F_{(2,18)} = 6.82$ et $F_{(2,18)} = 4.74, p < 0.05$; respectivement); tandis que l'interaction lésion x SD n'a aucun effet ($F_{(2,18)} = 1.51$; $F_{(2,18)} = 2.00$; $F_{(2,18)} = 1.03$ et $F_{(2,18)} = 1.23, p > 0.05$; respectivement). En fait, lorsque la SD diminue de 1 à 0.8 ou 0.5 s, l'analyse *post-hoc* indique une diminution significative de réponses correctes ($t=2.04, p < 0.05$ et $t=2.92, p < 0.01$) et une augmentation des omissions ($t=2.46, p < 0.05$ et $t=3.12, p < 0.01$) chez les souris 6-OHDA (**Fig. 20B**). Nous avons également observé un effet significatif sur les réponses prématures ($t=2.45, p < 0.05$ et $t=3.29, p < 0.01$) et persévérantes ($t=2.65, p < 0.05$ et $t=2.95, p < 0.01$) (**Fig. 20B**). Par contre, aucun effet n'a été observé chez le groupe sham.

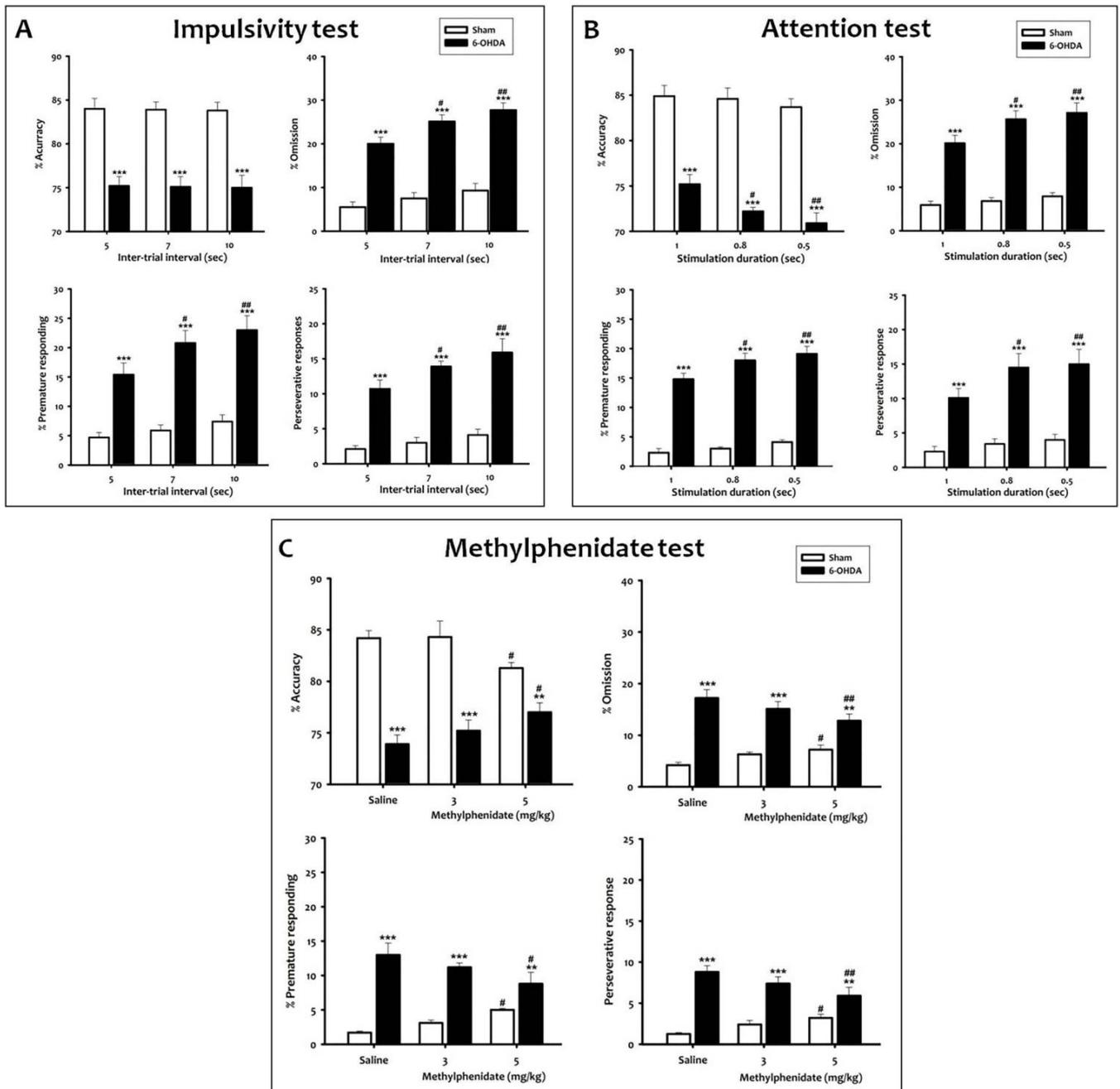


Fig. 20: Impulsivité et inattention des souris 6-OHDA dans le 5-CSRTT.

A. Test de l'impulsivité (défi de l'intervalle entre essais « ITI ») dans le 5-CSRTT. **B.** Test de l'attention (défi de la durée de stimulation « SD ») dans le 5-CSRTT. **C.** Test du Mph dans le 5-CSRTT. Les données représentent le pourcentage de précision ou de réponses correctes, omissions, réponses prématurées et persévérantes. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, $^{**}p<0.01$ et $^{***}p<0.001$ vs sham; $^{\#}p<0.05$ et $^{\#\#}p<0.01$ vs véhicule.

5.4. Test du méthylphénidate.

Les souris sont soumises à des sessions standard (ITI = 5 s et SD = 1 s) du 5-CSRTT pour l'évaluation de la réponse de base. Pour tous les paramètres utilisés (réponses correctes,

omissions, réponses prématures et persévérantes), il y a un effet significatif de la lésion ($F_{(1,18)} = 116.99$; $F_{(1,18)} = 50.04$; $F_{(1,18)} = 126.28$; $F_{(1,18)} = 58.36$; $p < 0.001$, respectivement), du traitement ($F_{(2,18)} = 23.15$; $F_{(2,18)} = 35.40$; $F_{(2,18)} = 50.25$; $F_{(2,18)} = 74.25$; $p < 0.01$, respectivement) et l'interaction traitement x lésion ($F_{(2,18)} = 6.95$, $p < 0.01$; $F_{(2,18)} = 6.97$, $p < 0.01$; $F_{(2,18)} = 5.46$, $p < 0.05$, $F_{(2,18)} = 6.76$, $p < 0.01$, respectivement). Chez les souris 6-OHDA, le MPH à 5.0 mg/kg produit une augmentation significative de réponses correctes ($t=2.21$; $p < 0.05$), et une diminution des omissions ($t=3.16$, $p < 0.01$), de réponses prématures ($t=2.58$, $p < 0.05$) et persévérantes ($t=3.02$, $p < 0.01$) par rapport aux souris 6-OHDA injectées au véhicule (**Fig. 20C**). En revanche chez les souris sham, le MPH à la même dose induit une diminution significative de réponses correctes ($t=2.14$, $p < 0.05$), et une augmentation des omissions ($t=2.15$, $p < 0.05$), de réponses prématures ($t=2.03$, $p < 0.05$) et persévérantes ($t=2.04$, $p < 0.05$) par rapport aux souris sham injectées au véhicule (**Fig. 20C**). Pendant ce temps, le MPH à 3.0 mg/kg n'a aucun effet significatif dans les groupes 6-OHDA ou sham.

6. Analyse PCA du modèle ADHD induit par la 6-OHDA chez la souris.

Pour comparer tous les groupes expérimentaux, nous avons effectué une analyse en composantes principales (PCA) basée sur les 20 variables mesurées dans les différents tests comportementaux (voir méthodes).

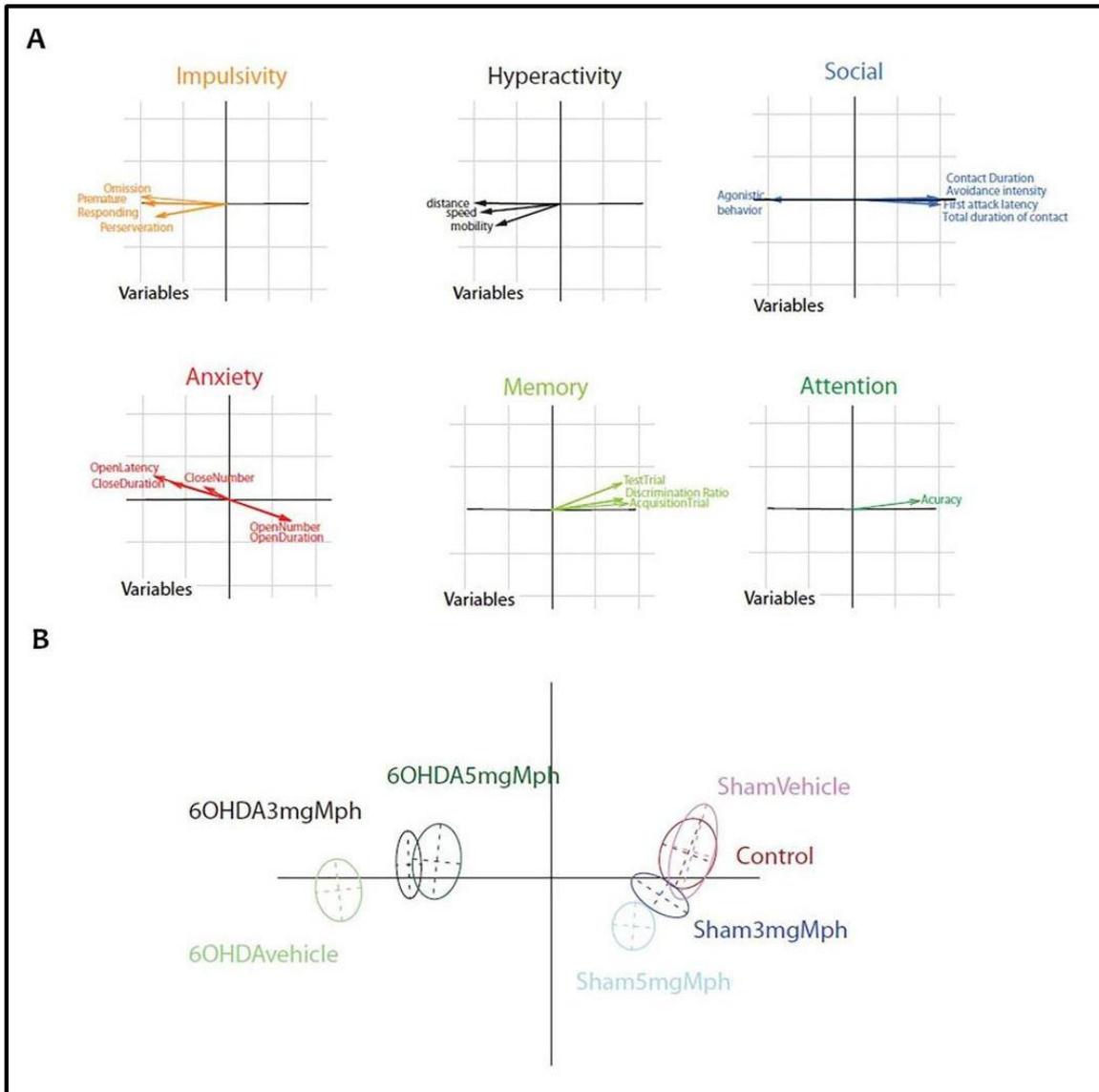


Fig. 21: Analyse en composantes principales (PCA) des 20 variables comportementales mesurées dans les groupes expérimentaux.

La PCA permet la représentation des variables (**Fig. 21A**) et les groupes expérimentaux (**Fig. 21B**) sur deux axes orthogonaux. La première composante (axe des abscisses) est composée de presque toutes les variables comportementales avec une action majeure de celles associées à l'agressivité, l'impulsivité et à l'hyperactivité, trois symptômes de l'ADHD chez les individus (voir **tableau. 1** et **Fig. 21A**, Comp 1 en gras). Les groupes contrôles et sham ne sont pas différents (**Fig. 21B** et **Fig. 22A1** et **A2**, $p=1$, Monte-Carlo) mais sont nettement séparés du groupe 6-OHDA le long de l'axe des abscisses (**Fig. 21B** et **Fig. 22A1** et **A2**, $p=0.001$, Monte-Carlo).

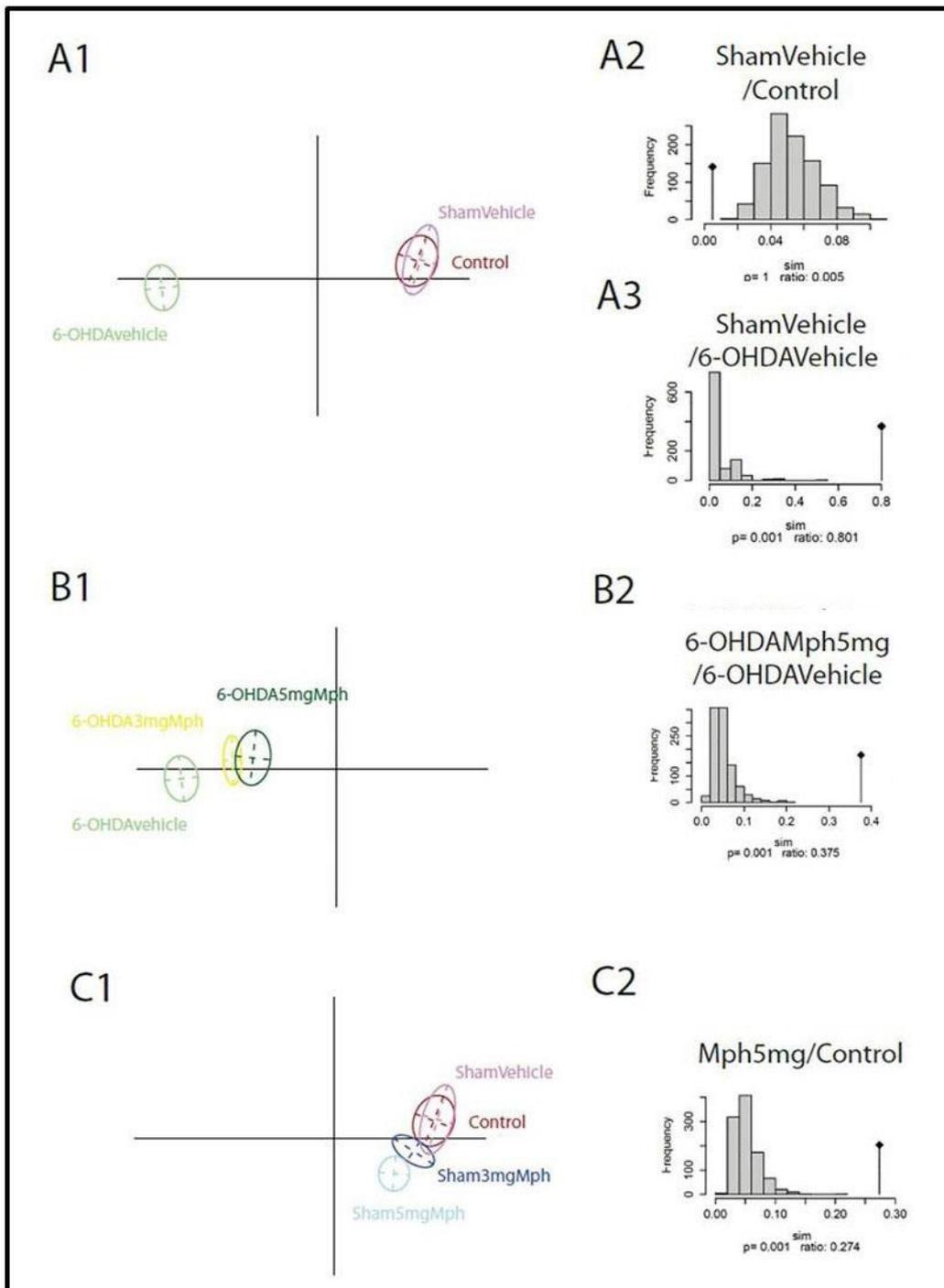


Fig. 22: Les enveloppes des groupes sélectionnés du même PCA sont présentées séparément afin de faciliter les comparaisons.

A. Groupes contrôle, sham et 6-OHDA. **A1.** Les groupes contrôles et sham sont statistiquement équivalents. **A2.** Le groupe 6-OHDA est très différent du groupe sham. **B.** Traitement au Mph chez les souris 6-OHDA. **B1.** Mph a déplacé les groupes vers la gauche le long de l'axe des x, montrant une récupération partielle des symptômes de l'ADHD. **B2.** Le groupe 6-OHDA-Mph (5.0 mg/kg) est significativement différent du groupe 6-OHDA. **C.** Traitement par le Mph sur le groupe sham. **C1.** Les groupes sont déplacés vers la gauche sur l'axe des x et vers le bas sur l'axe des y, révélant que le Mph aggrave les symptômes de l'ADHD dans les groupes sham. **C2.** Les groupes shams qui reçoivent Mph 5.0 mg/kg sont statistiquement différents des groupes contrôles.

La seconde composante, l'axe des ordonnées, est composée de variables liées à l'anxiété et aux troubles de la mémoire qui sont les symptômes discrets de l'ADHD (voir le **tableau 1** et **Fig. 21A**, Comp 2 en gras). Les groupes contrôle, sham et 6-OHDA ne sont pas clairement séparés le long de cet axe (**Fig. 21B**). Cela indique que le modèle de souris 6-OHDA est un bon modèle pour analyser les symptômes de l'ADHD liés aux variables qui composent l'axe des abscisses, à savoir l'agressivité, l'hyperactivité et l'impulsivité (**Fig. 21B**). Le M_{pH} réduit significativement les symptômes le long de l'axe des abscisses, mais pas l'axe des ordonnées (**Fig. 21B** et **Fig. 22B1** et **B2**). Enfin, chez les groupes témoins, le M_{pH} a un effet opposé, modifiant significativement les valeurs des groupes le long de l'axe des ordonnées (**Fig. 22C1** et **C2**, $p < 0.001$, Monte-Carlo). Par conséquent, le M_{pH} pourrait favoriser l'anxiété et les troubles de la mémoire chez les contrôles.

	Variables	Comp 1	Comp 2
Hyperactivité	Distance parcourue	644	0
	Temps moyen de mobilité	374	1296
	Vitesse moyenne de déplacement	574	188
Anxiété	Temps passé dans l'OA	331	1148
	Nombre d'entrées dans l'OA	323	1227
	Temps passé dans le CA	299	1533
	Nombre d'entrées dans le CA	54	423
Comportement antisocial	Durée totale de contact	647	1
	Ratio	654	10
	Latence de la 1 ^{ère} attaque	668	76
	Comportement agonistique	663	3
Mémoire à court-terme	Essai d'acquisition	542	120
	Essai du test	456	2049
	Ratio de discrimination	470	329
Attention	Réponses correctes	423	203
	Omissions	671	151
Impulsivité	Réponses prématures	609	1
	Persévérantes	448	439

Tableau 1: La force de chaque variable analysée dans la PCA en ce qui concerne les 2 composants.

7. L'injection de la 6-OHDA à P5 diminue l'immunoréactivité de la dopamine.

Pour examiner si les souris 6-OHDA présentent des caractéristiques morphologiques de l'ADHD et en particulier la déplétion en dopamine, nous avons examiné l'immunoréactivité à la tyrosine hydroxylase (TH-IR) au niveau du striatum et du mésencéphale chez les souris adultes. Nous avons trouvé une forte densité de fibres TH-IR dans le striatum des souris sham (**Fig. 23A**). En revanche, la teneur en TH a été significativement réduite dans le striatum des souris 6-OHDA (**Fig. 23A**). De même, une TH-IR dense a été observée dans la substance noire (SN) et la zone tegmentale ventrale (VTA) des souris sham (**Fig. 23B**), tandis que la 6-OHDA entraîne une perte bilatérale sévère de TH-IR dans SN et VTA (**Fig. 23B**).

En revanche, le prétraitement au désipramine hydrochloride protégeait les neurones noradrénergiques du locus coeruleus (LC) des effets neurotoxiques de la 6-OHDA injectée. Ainsi, aucune différence dans l'immunoréactivité TH entre les deux groupes n'a été observée dans LC (**Fig. 23C**).

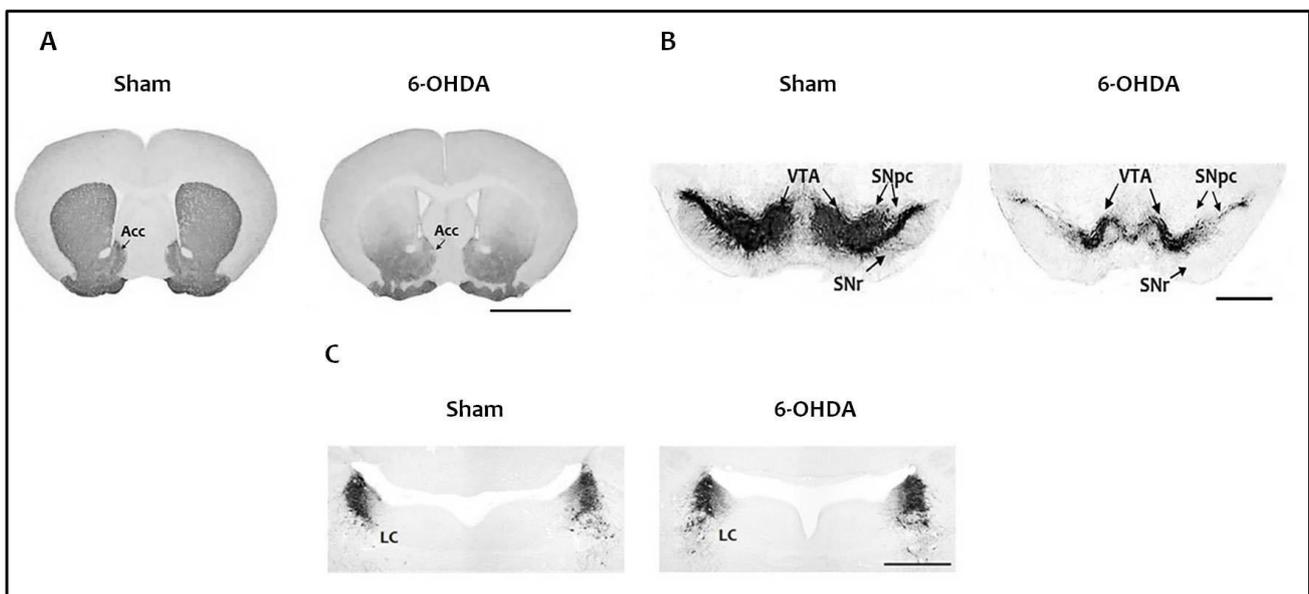


Fig. 23: Déplétion dopaminergique chez les souris 6-OHDA.

Immunohistochimie TH dans le striatum (**A**), le mésencéphale ventral (**B**) et le locus coeruleus (**C**) des souris adultes. Barre = 1000 μ m. Acc, noyau accumbens; SN, substance noire; SNpc, SN pars compacta; SNr, SN réticulé; VTA, aire tegmentale ventrale; LC, locus coeruleus.

8. L'injection de la 6-OHDA induit une altération corticale.

Il a été rapporté que la taille totale du cerveau des patients adultes ADHD est plus petite que celle des sujets qui ne souffrent pas de l'ADHD. Nous avons évalué le poids corporel et cérébral chez les souris 6-OHDA adultes. Aucune différence significative n'a été observée en terme de poids corporel entre les deux groupes (**Fig. 24A**). Cependant, par rapport aux souris sham ($0.48 \text{ g} \pm 0.01$; $n=10$), les souris 6-OHDA ($0.32 \text{ g} \pm 0.02$; $n=9$) montrent une réduction de 25% du poids du cerveau ($p<0.001$; **Fig. 24B-C**).

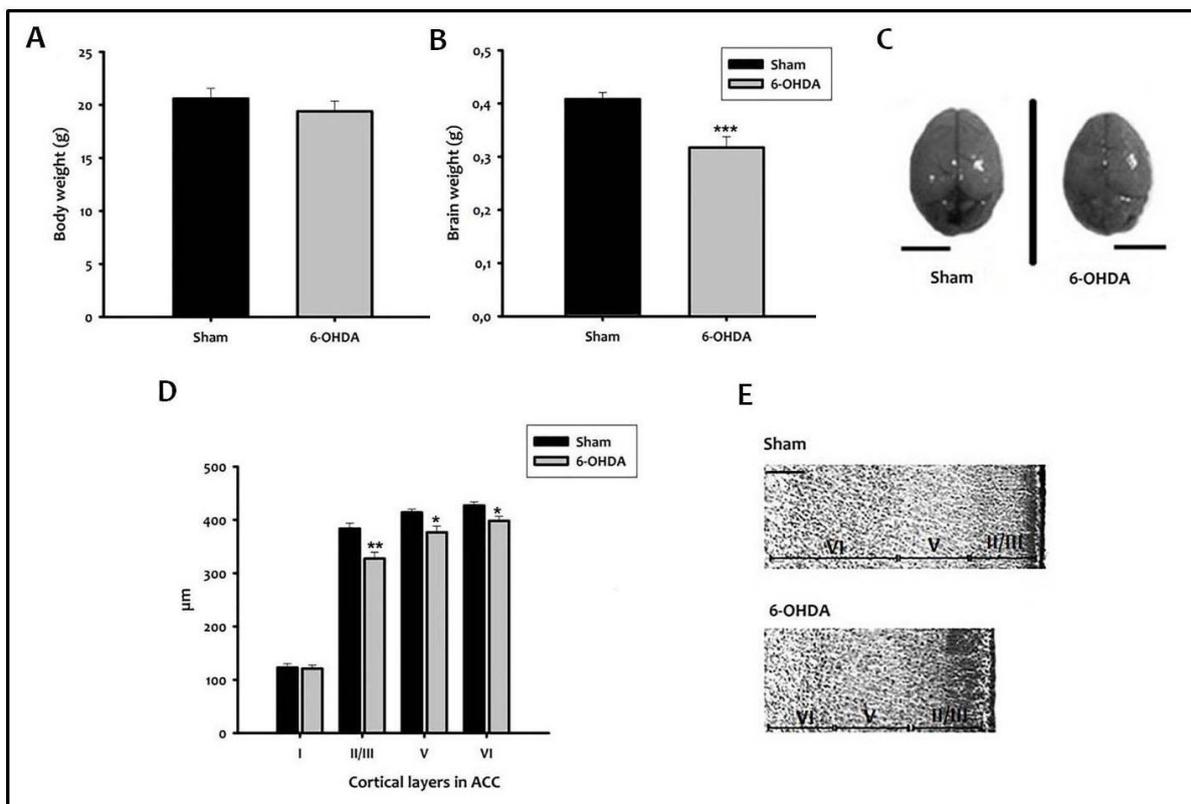


Fig. 24: Rétrécissement corticale chez les souris 6-OHDA.

A. Poids corporel (g). **B.** Poids cérébral (g). **C.** Photographies représentatifs de cerveaux. Barre d'échelle = 5 mm. **D.** Épaisseur des couches corticales de I à VI (μm). **E.** Coloration Nissl de l'ACC. Barre = $400 \mu\text{m}$. Les valeurs sont représentées en moyenne \pm SEM (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; $n = 7$). ACC, cortex cingulaire antérieur.

La plupart des études d'imagerie par résonance magnétique (IRM) ont montré une diminution anormale de l'épaisseur corticale de l'ACC des patients ADHD. La coloration de Nissl des coupes cérébrales révèle aussi une réduction significative des couches corticales II-III, V et VI des souris 6-OHDA par rapport aux sham (**Fig. 24D-E**; couche II-III, $p<0.01$; couche V, $p<0.05$; et couche VI, $p<0.05$).

Puisque l'ACd est l'une des principales cibles impliquées dans la modulation de l'attention et les fonctions exécutives, nous avons étudié la morphologie des neurones pyramidaux de la couche II-III de l'ACd chez les souris 6-OHDA et sham (**Fig. 25A**).

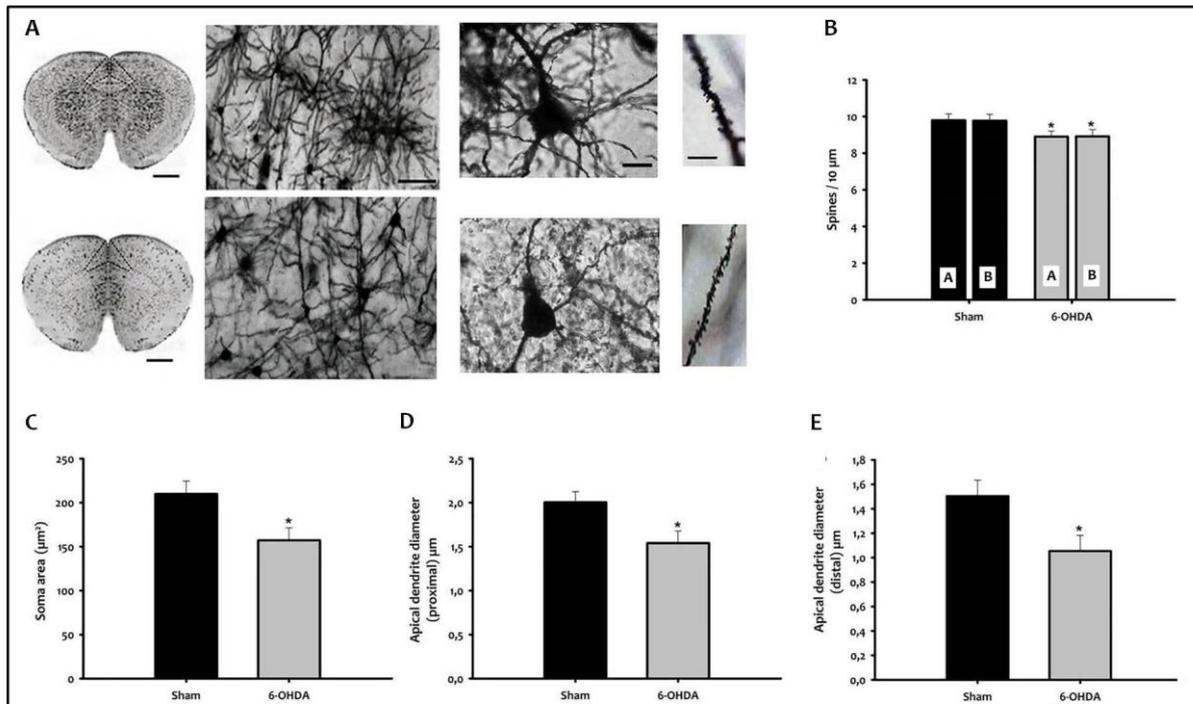


Fig. 25: Anomalies morphologiques des neurones de l'ACd chez les souris 6-OHDA.

A. (À gauche) Microphotographies représentatives de l'ACd coloré au Golgi Cox. Barre = 1000 μm. (Gauche centre) et Images à fort grossissement des sections cérébrales colorées au Golgi-Cox de souris sham (en haut) et 6-OHDA (en bas). Barre = 100 μm. (Droit centre) Coloration de Golgi des neurones pyramidaux de couche II-III (ACd) chez les souris sham (en haut) et 6-OHDA (en bas). Barre = 15 μm. (À Droite) Microphotographies de neurones colorés au Golgi montrant les dendrites chez les sham (en haut) et 6-OHDA (en bas). Barre = 25 μm. **B.** Densité des épines de dendrites apicales et basales de neurones ACd des groupes expérimentaux étudiés. A / B, dendrites apicales / basales. **C.** Taille du soma (μm²). **D.** Diamètre de la dendrite apicale (proximale) à 10 μm du soma. **E.** Diamètre de la dendrite apicale (distale) à 100 μm du soma. Les barres représentent la moyenne ± SEM (**p*<0.05). ACd, cortex cingulaire antérieur dorsal.

Des anomalies qualitatives de la ramification dendritique ont été notées lors de la visualisation initiale de diverses régions du tissu cortical (coloration Golgi-Cox) des souris 6-OHDA. Bien que non quantifiées, les observations à fort grossissement indiquent une très faible complexité dans la ramification des neurones ACd et une diminution de la taille des épines dendritiques (**Fig. 25A**). La densité moyenne des épines sur les dendrites apicales (A) et basales (B) de neurones pyramidaux de la couche III de l'ACd est significativement inférieure chez les animaux 6-OHDA par rapport aux animaux sham (**Fig.**

25B; n=10 neurones/animal, n=3 souris/groupe, au total n=30 neurones/groupe, $p<0.05$). Chez les souris 6-OHDA, la taille du soma de neurones pyramidaux est plus petite que les souris sham (**Fig. 25C**, $p<0.05$). De plus, le diamètre des dendrites apicales des neurones pyramidaux de la couche II-III à 10 μm (proximal) et 100 μm (distal) du soma montre une réduction significative chez les souris 6-OHDA en comparaison avec les souris sham (**Fig. 25D-E**; $p<0.05$).

Pour la première fois, nous avons démontré que le modèle 6-OHDA présente des caractéristiques anatomiques cohérentes avec les observations cliniques des patients ADHD: réduction de la taille du cerveau, rétrécissement du cortex, anomalies morphologiques des neurones de l'ACC.

IV. Discussion

Le diagnostic de l'ADHD, comme de nombreux autres troubles psychiatriques, repose sur l'évaluation comportementale. Les modèles animaux de l'ADHD doivent imiter la symptomatologie clinique, en particulier, les trois principaux symptômes de l'hyperactivité, l'impulsivité et le déficit de l'attention soutenue ([Sagvolden et al., 2005](#); [Arime et al., 2011](#)), mais également d'autres atteintes concomitantes.

Nous montrons ici que le modèle 6-OHDA chez la souris présente les symptômes majeurs de la pathologie humaine, à savoir l'hyperactivité dans un nouvel environnement au stade juvénile, l'inattention et l'impulsivité à l'âge adulte. De plus, nous avons constaté que la souris 6-OHDA adolescente présente des symptômes comorbides, notamment une augmentation de l'anxiété, des comportements antisociaux et agressifs et des déficits d'apprentissage et de mémoire. Dans ce qui suit, nous discutons également des mécanismes qui sous-tendent la physiopathologie induite par la déplétion de la dopamine et nous soulignerons l'intérêt du modèle 6-OHDA pour mimer les effets des traitements connus.

Le modèle de souris 6-OHDA présente des symptômes connus de la pathologie humaine.

La perturbation des systèmes cérébraux par la lésion néonatale 6-OHDA est un modèle neurodéveloppemental classique de l'ADHD chez le rat ([Davids et al., 2002](#); [Zhang et al.,](#)

2002). Cette déplétion sélective des projections dopaminergiques du prosencéphale chez les rats nouveau-nés conduit à une hyperactivité motrice spontanée limitée (Heffner et Seiden, 1982; Luthman et al., 1989; 1997) à un âge correspondant à la périadolescence humaine (Erinoff et al., 1979; Zhang et al., 2002). Une seule étude a utilisé un tel modèle chez la souris et a reproduit des troubles locomoteurs (Avale et al., 2004). Cependant, les données concernant le comportement impulsif ou les déficits d'attention restent indisponibles chez la souris (Sontag et al., 2010), ou contradictoires chez le rat (Davids et al., 2002; 2003; Russell et al., 2005). De plus, les études existantes ne décrivent pas les symptômes comorbides discrets.

Pourtant, les patients ADHD montrent un déficit d'attention et une impulsivité élevée (Winstanley et al., 2006). Les déficits du contrôle de l'attention et de l'impulsivité peuvent être illustrés dans le cadre de la tâche de performance continue des patients ADHD (Beck et al., 1956; Wilkinson, 1963). Les sujets ADHD ont des temps de réaction lents et variables, et font plus d'erreurs d'omission indiquant une capacité réduite de l'attention (Winstanley et al., 2006). De plus, ils commettent plus d'erreurs de commission, démontrant une diminution de l'inhibition comportementale et l'impulsivité.

Dans notre étude, l'hyperactivité est déterminée chez les souris 6-OHDA par le test de l'Open Field. L'une de nos principales conclusions est que les souris 6-OHDA présentent des déficits de contrôle inhibiteur dans le 5-CSRTT, une tâche utilisée chez les rongeurs nécessitant une inhibition comportementale (Carli et al., 1983). Les souris 6-OHDA présentent une augmentation de réponses prématures lorsque l'intervalle de temps entre les essais (ITI) est réduit. Nous avons également observé une augmentation de réponses persévérantes dans les conditions de base. De même, la précision des réponses diminue chez les souris 6-OHDA lorsque l'attention est sollicitée. Fait intéressant, cet effet est présent tout au long des sessions, ce qui indique un déficit de l'attention sélective et une difficulté à maintenir l'attention soutenue. L'ensemble de ces données démontre que les souris 6-OHDA présentent un déficit de l'attention et de l'impulsivité.

Outre les symptômes majeurs, les patients ADHD présentent des troubles cognitifs et des déficits de la mémoire à court terme (Biederman, 2005; Arnsten, 2009; Fried et al., 2016). Dans les modèles animaux, le test de reconnaissance d'objet (la recherche de la

nouveauté) repose sur la tendance des rongeurs à interagir davantage avec un objet nouvel qu'un familier. Le temps d'exploration du nouvel objet pendant l'essai est moins important chez les souris 6-OHDA, suggérant que les capacités cognitives (par exemple l'apprentissage) et/ou la mémoire de reconnaissance sont altérées chez les souris 6-OHDA. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures montrant des déficiences cognitives dans la tâche de discrimination spatiale chez le rat (Davids et al., 2003) et chez la souris (Avale et al., 2004). Le trouble anxieux est également une comorbidité fréquente de l'ADHD (Kessler et al., 2006) que nous avons explorée par le test d'EPM. Les souris 6-OHDA présentent un comportement anxieux en accord avec les résultats précédents (Avale et al., 2004).

Par ailleurs, nous avons constaté que le modèle de souris 6-OHDA présente un comportement antisocial, en particulier une interaction sociale réduite et une conduite agressive. Ce comportement appartenant aux symptômes discrets de l'ADHD se caractérise par l'agressivité rapportée par plusieurs auteurs (Fischer et al., 2007; Nijmeijer et al., 2008; Biederman et al., 2010).

Différences avec d'autres modèles animaux existants de l'ADHD.

Très peu de modèles animaux de l'ADHD sont capables de mimer plusieurs déficits en même temps. Au début des années 1960, le rat spontanément hypertendu (SHR) a été développé par croisement consanguin de rats Wistar-Kyoto (WKY) (Okamoto et Aoki, 1963). Le modèle SHR montre plusieurs symptômes majeurs similaires à l'ADHD tels que l'hyperactivité (Sagvolden et al., 1992), l'impulsivité et le déficit de l'attention soutenue (Fox et al., 2008). Cependant, les rats SHR présentent également une hypertension qui n'est pas signalée chez les patients ADHD (Arime et al., 2011), rendant ainsi difficile la dissociation des effets des deux troubles. En effet, l'hypertension est un facteur de confusion potentiel pour les rats SHR en tant que modèle de l'ADHD. Ceci suggère que l'altération de la transmission de la NE (Russell et Wiggins, 2000; Russell, 2000) pourrait contribuer à l'hypertension plutôt qu'à l'hyperactivité (Davids et al., 2003). De plus, le contrôle WKY montre souvent des niveaux faibles d'activité et a même été considéré comme un modèle possible de dépression (Rittenhouse et al., 2002; van den Bergh et al., 2006; Ferguson et al., 2007).

Un autre modèle génétique est la souris dépourvue du transporteur de la dopamine (DAT-KO) (Sora et al., 1998). Les souris DAT-KO montrent une hyperlocomotion dans un nouvel environnement (Sora et al., 1998) et une altération de l'apprentissage et de la mémoire (Li et al., 2010). Cependant, les souris DAT-KO présentent des taux de dopamine extrêmement élevés dans le striatum et le noyau accumbens (Shen et al., 2004), contrairement aux patients ADHD (Volkow et al., 2007; Heese et al., 2009). En outre, il est impossible de tester la validité prédictive de ce modèle avec les psychostimulants en raison de l'absence de la protéine DAT, la cible principale de ces médicaments (Thapar et al., 2005). D'autres modèles génétiques de souris ont été proposés mais manquent de *face* et/ou *predictive validity*, par ex. la souris mutante Coloboma (*Coloboma Mutant Mouse*) (Searle, 1966).

Mécanismes de la pathologie induite par la déplétion de la dopamine.

Dans notre étude, l'injection de la 6-OHDA est réalisée dans le ventricule latéral, ne provoquant pas de lésion physique directe du prosencéphale, bien que changeant son contenu neurochimique. Notre objectif est de mimer la transmission réduite des catécholamines dans les zones cérébrales liées à l'ADHD chez l'homme. Une transmission réduite des catécholamines peut être due à une perte d'innervation, de libération du transmetteur et/ou de transduction du récepteur.

Une réduction du métabolisme de la dopamine a été rapportée dans le cortex préfrontal des patients adultes ADHD par rapport aux sujets sains (Ernst et al., 1998). D'autres travaux ont associé l'ADHD à la diminution du métabolisme dopaminergique dans les régions sous-corticales, en particulier le mésencéphale et le striatum (de même que nos résultats), en mesurant l'activité de la 3,4-dihydroxyphénylalanine décarboxylase, un indicateur de la synthèse dopaminergique (Ludolph et al., 2008; Forssberg et al., 2006). En outre, une faible densité de récepteurs D2/D3 a été trouvée dans le cortex préfrontal humain, ce qui pourrait contribuer à la diminution de la transmission dopaminergique (Arnsten et Li, 2005).

La manifestation du syndrome de l'ADHD chez le modèle de souris n'est observée que lorsque les niveaux de dopamine striatale chutent de 80 à 90% par rapport aux valeurs contrôle. Les déplétions dopaminergiques modérées sont surmontées par des

mécanismes compensatoires, tandis que la dénervation sévère entraîne un état d'akinésie et d'aphagie à doses élevées (50 - 60 mg de 6-OHDA) dans des études pilotes initiales visant à trouver la dose appropriée (**Avale et al., 2004**). L'hyperactivité chez les sujets humains ADHD est associée à une diminution de la DA dans le striatum, le PFC, l'amygdale et le mésencéphale (**Jucaite et al., 2005; Volkow et al., 2007; Duzel et al., 2009**). En outre, plusieurs études soutiennent l'idée que les altérations neuroanatomiques existent chez les patients ADHD. Un grand nombre de travaux rapportent une diminution du volume cérébral des sujets ADHD, une maturation lente et une connectivité réduite dans le PFC, l'ACC, les ganglions de la base et le cervelet (**Sontag et al., 2010**).

Des études de neuroimagerie ont montré à plusieurs reprises des anomalies morphologiques et fonctionnelles cérébrales dans le prosencéphale des patients ADHD (**Seidman et al., 2005**). L'idée prédominante est que les zones corticales hypofonctionnelles ne régulent pas correctement les structures sous-corticales, provoquant un dérèglement des fonctions comportementales et cognitives (**Fineberg et al., 2009**). On pense que les réseaux fronto-striataux sont dysfonctionnels dans l'ADHD, probablement en conséquence d'une altération de la transmission monoaminergique. En particulier, l'ACd, qui joue un rôle clé dans la modulation de l'attention et les fonctions exécutives (**Devinsky et al., 1995**) semble être dysfonctionnel chez les patients ADHD (**Barkley, 2002**). En effet, il a été rapporté que le développement du PFC latéral est retardé de plusieurs années chez les enfants ADHD (**Shaw et al., 2007**), et l'ACC est plus mince chez les adultes ADHD (**Makris et al., 2008**). Plusieurs études utilisant l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez les enfants ADHD montrent également que les zones cibles de la DA sont de petites tailles, en particulier le PFC et le striatum. Les mêmes approches soulignent aussi des anomalies dans les ganglions de la base (**Teicher et al., 2000**). Nos données démontrent que le modèle ADHD de souris 6-OHDA présentent également de telles caractéristiques anatomiques, y compris une diminution du poids et du volume cérébral, une taille réduite de zones cibles de l'innervation dopaminergique, un rétrécissement de l'épaisseur corticale et des anomalies dans les neurones de l'ACd.

Ces structures sont modulées par la DA et la NE, impliquées dans la physiopathologie de l'ADHD (**Faraone et Biederman, 1998**). Ainsi, interférer avec les structures et les systèmes de neurotransmetteurs qui sont modifiés chez les personnes ADHD est un outil puissant

pour tester les conséquences comportementales de troubles tels que l'ADHD. Une perte de DA peut induire des déficits dans le système cérébral antérieur et altérer les fonctions exécutives. L'injection de 6-OHDA mime cette perte de DA et reproduit fidèlement les altérations des processus cognitifs identifiés chez les patients humains.

"Predictive validity" du modèle ADHD de souris 6-OHDA.

Les modèles animaux de l'ADHD doivent être capables de prédire les effets thérapeutiques chez les patients. Des études chez l'homme ont montré que le Mph augmente le contrôle de l'impulsivité (Aron et al., 2003), l'attention (Overtom et al., 2003) et la mémoire de travail (Mehta et al., 2004) chez les patients ADHD. Des résultats comparables sont obtenus chez le rat (Eagle et al., 2007). Nous montrons ici que les doses thérapeutiques équivalentes du Mph atténuent efficacement les symptômes ADHD chez le modèle de souris 6-OHDA.

Les doses de Mph utilisées dans notre étude sont calculées selon les directives du **Département américain de la santé et les services humains, Centre d'évaluation et de recherche sur les médicaments (CDER): Guide à l'industrie pour estimer la dose maximale de sécurité lors des essais cliniques initiaux pour les thérapeutes dans des volontaires sains adultes (2005; p 19)**

Ainsi, 3.0 mg/kg et 5.0 mg/kg chez la souris sont respectivement équivalents à 0.24 mg/kg et 0.40 mg/kg chez l'homme. Selon les études précédentes, cette dose correspond à la dose quotidienne la plus faible administrée chez l'homme (Schweitzer et al., 2004).

Le Mph réduit l'hyperactivité des souris 6-OHDA. De plus, le prétraitement de Mph 30 minutes avant de tester les souris 6-OHDA dans le 5-CSRTT produit une augmentation de l'attention. La PCA confirme également que le Mph est efficace sur les symptômes majeurs et discrets. En revanche, une stimulation excessive de la DA pourrait provoquer un dysfonctionnement du PFC entraînant une altération de l'inhibition du comportement indésirable et un déficit du maintien de l'attention (Arnsten, 2011). Ceci peut expliquer les effets opposés observés du Mph ici dans le groupe sham.

Des études de petite échelle avec une dose unique suggèrent que des doses thérapeutiques de MpH améliorent les fonctions fronto-exécutives chez les enfants et les adultes ADHD (Mehta et al., 2004; Turner et al., 2005; Chamberlain et al., 2010). De plus, des études suggèrent que seuls les processus neurocognitifs spécifiques dans des domaines tels que le contrôle des impulsions, la mémoire de travail et l'attention sont influencés par le MpH (Naylor et al., 1985; Clatworthy et al., 2009; Chamberlain et al., 2010). De nombreuses études chez les enfants et les adolescents ADHD démontrent que le traitement par des psychostimulants améliore considérablement ces fonctions, et en particulier la mémoire de travail (Bedard et al., 2004; Mehta et al., 2004; Rhodes et al., 2005; Vance et al., 2003). En outre, une revue récente examinant l'impact du MpH sur différents aspects de la cognition chez des individus sains a révélé que des doses uniques du MpH améliorent certains aspects du fonctionnement de la mémoire (Linssen et al., 2013). Cependant, il existe peu d'études montrant les effets du MpH sur la mémoire chez les adultes ADHD. Par exemple, il n'y a que deux études montrant que le MpH améliore significativement le rappel des informations apprises chez les adultes ADHD (Riordan et al., 1999; Verster et al., 2010).

Limites du modèle.

Les études de lésions neurochimiques sont capables de déterminer le rôle de zones cérébrales définies, de circuits et de systèmes de neurotransmetteurs sur le comportement. Ces mêmes études reflètent les effets des pertes de fonction de régions cérébrales atteintes chez le patient ADHD (Stanford et Tannock, 2012). Bien que les symptômes ADHD soient le résultat de pertes de fonction dans plusieurs locus en interaction, la lésion pharmacologique d'une seule aire cérébrale s'avère capable de produire des effets comparables aux symptômes étudiés. De telles approches par lésion ont donc des implications importantes pour la recherche, et sur la compréhension des mécanismes à l'origine de la pathologie (Stanford et Tannock, 2012). Le fait que plusieurs des symptômes ADHD puissent être simulés, met en évidence la possibilité que le syndrome pourrait avoir plusieurs étiologies, ce qui peut néanmoins affecter des systèmes neuronaux communs. Ces systèmes répondent à un traitement pharmacologique commun, par ex. les stimulants psychomoteurs. Par conséquent, il est possible que le modèle de souris 6-OHDA reproduise les symptômes de la maladie

humaine à travers le dysfonctionnement de ce système commun, cible du traitement pharmacologique.

Depuis des décennies, les psychostimulants, qui augmentent la neurotransmission des catécholamines, constituent le principal traitement contre l'ADHD. Les cliniciens et les chercheurs considèrent qu'une perte de la transmission dopaminergique est le mécanisme neurobiologique sous-jacent de l'ADHD. Cependant, une caractéristique du modèle d'ADHD chez le rat 6-OHDA est l'hyperactivité du système dopaminergique restant, même si l'effet global reste une diminution de la transmission dopaminergique ([Castaneda et al., 1990](#); [Herrera-Marschitz et al., 1994](#); [Loupe et al., 2002](#); [Nowak et al., 2007](#)). Les mêmes travaux soulignent les modifications d'expression et de fonction des récepteurs dopaminergiques. Ceci révèle une compensation profonde et des tentatives pour maintenir une homéostasie de la transmission dans les terminaisons dopaminergiques résiduelles à l'âge adulte.

Alors que la DA et la NE sont toutes deux connues pour réguler l'activité motrice, l'attention, l'apprentissage et la cognition, la recherche sur l'ADHD est axée sur la DA. Dans le modèle de rat 6-OHDA, la déplétion sélective de la DA est obtenue par le prétraitement avec la désipramine, qui protège les nerfs NE. Ce modèle illustre que la déplétion en DA seule est suffisante pour produire des comportements similaires à l'ADHD ([Stachowiak et al., 1984](#)). Des études comportementales utilisant des médicaments noradrénergiques sur des modèles animaux indiquent que la transmission NE module effectivement les symptômes de l'ADHD, mais les résultats sont variables. L'amélioration de la transmission NE, en bloquant le transporteur de la recapture de la NE (NET), améliore l'hyperactivité chez les rats 6-OHDA-néonataux lésés ([Davids et al., 2002](#)). De ces études, on ne peut déduire une relation de cause à effet entre l'augmentation/diminution de la neurotransmission NE et la gravité des symptômes ADHD. Au lieu de cela, ces études suggèrent que la NE a un double effet sur les comportements ADHD ([Stanford et Tannock, 2012](#)).

Actuellement, aucun médicament 5-HT n'est prescrit dans le traitement de l'ADHD. La plupart des études utilisant des modèles animaux ADHD suggèrent que la 5-HT agit pour compenser la signalisation aberrante de la DA et/ou de la NE. Les rats lésés par la 6-OHDA

présentent une hyper-innervation 5-HT et son élimination par l'administration de la toxine 5,7-DHT, sélective du système 5-HT, potentialise fortement l'hyperactivité (**Kostrzewa et al., 1994**). À l'inverse, une augmentation de la transmission 5-HT par l'intermédiaire de l'agoniste m-CPP ou le bloqueur du SERT, la fluoxétine, réduit considérablement l'hyperactivité (**Kostrzewa et al., 1994; Brus et al., 2004**).

V. Conclusion

Bien que les modèles animaux créés par l'utilisation de neurotoxines ne renseignent pas sur les causes de l'ADHD, ils constituent des outils utiles pour étudier les mécanismes mis en jeu, et en particulier la contribution de zones ou de circuits cérébraux spécifiques aux processus cognitifs affectés par cette pathologie (**Bari et Robbins, 2011**). L'utilisation de modèles animaux 6-OHDA aide à mieux comprendre ce trouble en décortiquant le syndrome ADHD en isolant un ensemble d'altérations comorbides. Nous avons démontré dans la présente étude que le modèle ADHD de souris néonatales injectées par la 6-OHDA est un modèle valide et fiable pour les études précliniques de ce trouble neurodéveloppemental.

Chapitre II:

**Autres anomalies comportementales
associées à l'ADHD chez le modèle de
souris 6-OHDA**

I. Introduction

L'ADHD est un trouble de l'inattention, de l'impulsivité et de l'hyperactivité chez les adolescents ([American Psychiatric Association, 2013](#)). Deux études distinctes ont démontré une altération de l'inhibition latente chez les enfants ADHD ([Lubow et Josman, 1993](#); [Lubow et al., 2005](#)). L'inhibition latente reflète la capacité de filtrer les stimuli historiquement non pertinents (CS), nuisant ainsi à l'acquisition d'une association CS – US ultérieure ([Bruno et al., 2007](#)). On pense qu'en réduisant la saillance du CS au cours de la préexposition, l'attention directe du sujet normal ignore ou consacre moins d'attention au CS ([Mackintosh, 1975](#); [Lubow et al, 1976](#); [Lubow, 2005](#)). Une perturbation de l'inhibition latente, par conséquent, suggère un défaut de l'attention sélective. Le traitement optimal de l'information, tant chez l'homme que chez l'animal, nécessite généralement un mélange de l'attention soutenue (*sustained attention*), divisée (*divided attention*) et sélective (*selective attention*). L'attention soutenue (la vigilance) se caractérise par l'attribution continue de ressources de traitement pour la détection des événements rares sur une période prolongée ([Parasuraman et al., 1998](#)). L'impulsivité a été définie au sens large comme un défaut de l'inhibition comportementale, en particulier des actions prématures, erronées et/ou difficiles à supprimer ou à contrôler ([Dalley et al., 2008](#); [Eagle et Baunez, 2010](#)).

Alors que les travaux chez l'homme ont permis de faire des progrès sur la physiopathologie des déficits de l'inhibition comportementale, les modèles de souris peuvent aider à comprendre les mécanismes cérébraux qui interviennent dans différentes modalités de l'inhibition comportementale. Plusieurs tâches opérantes ont été développées chez l'animal pour étudier et mieux comprendre les déficits observés chez les enfants ADHD au niveau préclinique.

La réaction de l'évitement de chute (*Cliff Avoidance Reaction* 'CAR') fait référence à la tendance naturelle des animaux à éviter une chute potentielle lorsqu'ils sont placés en hauteur. Dans des conditions expérimentales, une table de test d'une hauteur supérieure à deux fois la longueur de l'animal est souvent utilisée. On pense que la déficience du comportement de CAR représente un aspect des comportements impulsifs inadaptés chez les rongeurs matures ([Matsuoka et al., 2005](#); [Kumakura et al., 2010](#); [Kuroda et al.,](#)

2011), résultant probablement d'une inhibition comportementale déficiente. Parmi les paradigmes comportementaux utilisés pour étudier différentes formes de comportement impulsif chez les rongeurs (**Humby et Wilkinson, 2011; Winstanley, 2011**), la CAR peut donner un aperçu de la neurobiologie sous-jacente de l'inhibition comportementale.

De plus, le test du 5-CSRTT a été largement utilisé pour évaluer à la fois l'attention et l'impulsivité chez les rongeurs adultes (**Robbins, 2002**). Ce paradigme exige des animaux qu'ils affectent leurs ressources attentionnelles limitées sur les différents canaux sensoriels et emplacements spatiaux (attention divisée dans l'espace) afin d'atteindre un niveau de performance optimal. En outre, l'une des nombreuses modifications de la structure de la tâche de base permet de tester également une attention sélective (ciblée) par interpolation des stimuli non pertinents et distrayant (le plus souvent dans la modalité auditive) pendant l'intervalle entre les essais (ITI), alors que l'animal doit se concentrer sur l'apparition des stimuli visuels cibles. De plus, le test du 5-CSRTT évalue également la capacité de l'animal à attendre l'apparition du stimulus visuel et donc à retenir une réponse impulsive vers l'un ou l'autre des trous. La flexibilité de la tâche permet à l'expérimentateur de manipuler le moment exact de l'apparition des stimuli afin de rendre la période d'attente courte, longue ou imprévisible (**Christakou et al., 2004**). Cependant, ces résultats ne peuvent être simplement extrapolés aux adolescents pour de nombreuses raisons. Premièrement, l'accomplissement de ces tâches prend généralement des mois alors que l'adolescence ne dure que quelques semaines chez les rongeurs (**Losier et al., 1996; Barr et al., 2008**), limitant l'applicabilité de cette tâche opérante à des sujets adultes. Deuxièmement, des preuves neurophysiologiques suggèrent que le cortex préfrontal, qui joue un rôle central dans les fonctions exécutives, ne se développe pas complètement avant l'âge adulte (par exemple, l'âge de 25 ans chez l'homme) (**Paus, 2005**). Troisièmement, la procédure habituelle de la restriction alimentaire dans le 5-CSRTT pourrait perturber la croissance normale des souris pendant la période de l'adolescence. Plus important encore, la privation de nourriture, qui est appliquée pour motiver les animaux à accomplir la tâche, peut affecter le comportement impulsif (**Robbins, 2002**).

La lésion néonatale 6-OHDA est le modèle neurodéveloppemental le plus classique du syndrome ADHD. Bien que l'hyperactivité, l'apprentissage spatial et la mémoire aient été

largement évalués, d'autres fonctions exécutives telles que l'inhibition latente, l'attention visuospatiale et l'impulsivité n'ont pas été systématiquement étudiées chez les souris adolescentes 6-OHDA. Le but de la présente étude est de caractériser les différences de l'attention et du contrôle inhibiteur chez les souris adolescentes 6-OHDA. Nous avons démontré d'abord une perturbation de l'inhibition latente et un comportement CAR impulsif. Ensuite, nous avons adapté le protocole 5-CSRTT qui peut mesurer l'attention et l'impulsivité pendant la période de l'adolescence chez les rongeurs. Premièrement, nous avons optimisé le degré de restriction alimentaire pour les souris jeunes, leur permettant de se développer normalement et d'être suffisamment motivées pour effectuer les tâches. Deuxièmement, nous avons réduit le nombre de sessions nécessaires pour accomplir l'entraînement. Troisièmement, nous avons introduit des séances d'entraînement sans punition (c'est-à-dire sans période de repos), avec de nombreuses chances de détecter un bref stimulus lumineux pendant la procédure de l'entraînement habituelle. Les souris 6-OHDA présentent un déficit du contrôle inhibiteur et présentent une grande perte de précision dans le test du 5-CSRTT, ce qui suggère que les souris adolescentes 6-OHDA présentent des anomalies comportementales correspondant aux symptômes connus de l'ADHD.

II. Matériel et Méthodes

1. Animaux

Nous avons utilisé 40 souris mâles Swiss, élevées dans l'animalerie centrale de l'Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc. Après la naissance, les souriceaux mâles restent avec leurs mères dans des conditions de température constante ($22^{\circ}\text{C} \pm 2$), en utilisant un cycle de 12h lumière / 12h obscurité (lumières allumées à 7h), avec un accès à la nourriture ad libitum et à l'eau jusqu'au jour postnatal 5 (P5) où ils vont subir une lésion néonatale dopaminergique qui consiste en une injection intra-ventriculaire de la 6-OHDA.

2. Lésion néonatale 6-OHDA à P5

Les animaux utilisés ici sont des animaux ayant subi l'injection intracérébroventriculaire de la 6-OHDA à P5 (Voir la section chirurgie; Chap. I) selon le protocole publié ([Bouchatta et al., 2018](#)). Les animaux sont randomisés en deux groupes: groupe 6-OHDA et groupe

sham (n=20 par groupe). Brièvement, le groupe 6-OHDA reçoit 25 µg de la 6-OHDA hydrobromide (Sigma-Aldrich, MO, États-Unis) dissoute dans 3 µl d'acide ascorbique 0.1% dans l'un des ventricules latéraux, à raison de 1.5 µl/min, tandis que les souris sham reçoivent 3 µl du véhicule de la même manière. Après l'injection, les souriceaux sont réchauffés à 37°C sur un coussin chauffant jusqu'à récupération, puis retournés à leurs mères jusqu'au sevrage.

3. Tests de comportement

3.1. Conception de l'étude

Tous les tests comportementaux ont été effectués pour tous les animaux (sham = 20; 6-OHDA = 20) entre 8:00 et 12:00 h pour éviter toute fluctuation liée au rythme circadien sur la performance des animaux. Les tests comportementaux ont été réalisés comme suit: inhibition latente (PND 21 et 22), CAR (PND 24) et 5-CSRTT (de PND 26 à 70) (**Fig. 26**). Avant d'introduire chaque souris dans tous les tests comportementaux, le dispositif est nettoyé avec une solution de l'éthanol à 70% pour éliminer toute trace d'odeur.

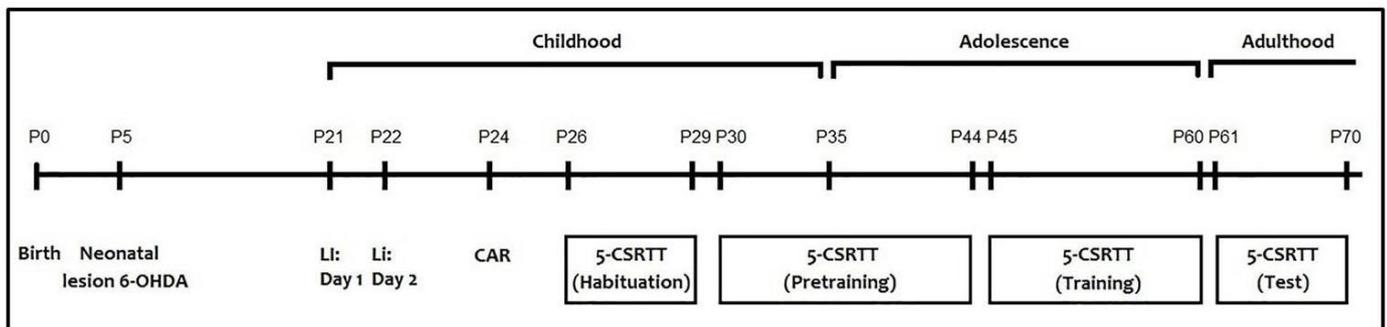


Fig. 26: Représentation schématique du plan expérimental de notre étude.

3.2. Test de l'inhibition latente (LI)

Le protocole a été défini comme décrit précédemment ([Matsuo et al., 2009](#)). Le premier jour, chaque souris est placée dans une chambre de conditionnement. Les souris de chaque groupe (sham et 6-OHDA) ont été divisées en deux sous-groupes: groupe pré-exposé (P) et groupe non pré-exposé (NP). Le groupe P a reçu 40 tonalités sonores (55 dB, durée de 5 s, intervalle inter-stimulus de 25 s), tandis que le groupe NP n'a reçu aucun stimulus pendant la même période. Immédiatement après la préexposition à la tonalité

ou à l'exposition à la chambre de conditionnement, des paires de son/choc consistant en une tonalité sonore de 5 s suivi d'un choc électrique de 2 s à 0,25 mA ont été administrées aux deux groupes avec un intervalle inter-stimulus de 25 s (**Fig. 27**). Les souris sont maintenues dans la chambre pendant 25 s avant d'être renvoyées à leurs cages d'origine. Le jour 2, les souris sont remises dans la chambre de conditionnement pendant 5 min pour mesurer le *freezing* (le temps d'immobilité de l'animal) du contexte. Le même jour, les souris sont replacées dans une autre boîte (35 cm × 35 cm × 40 cm) en plexiglas blanc opaque, située dans une pièce différente et après 180 s, une tonalité sonore de 180 s est délivrée pour calculer le comportement de *freezing*.

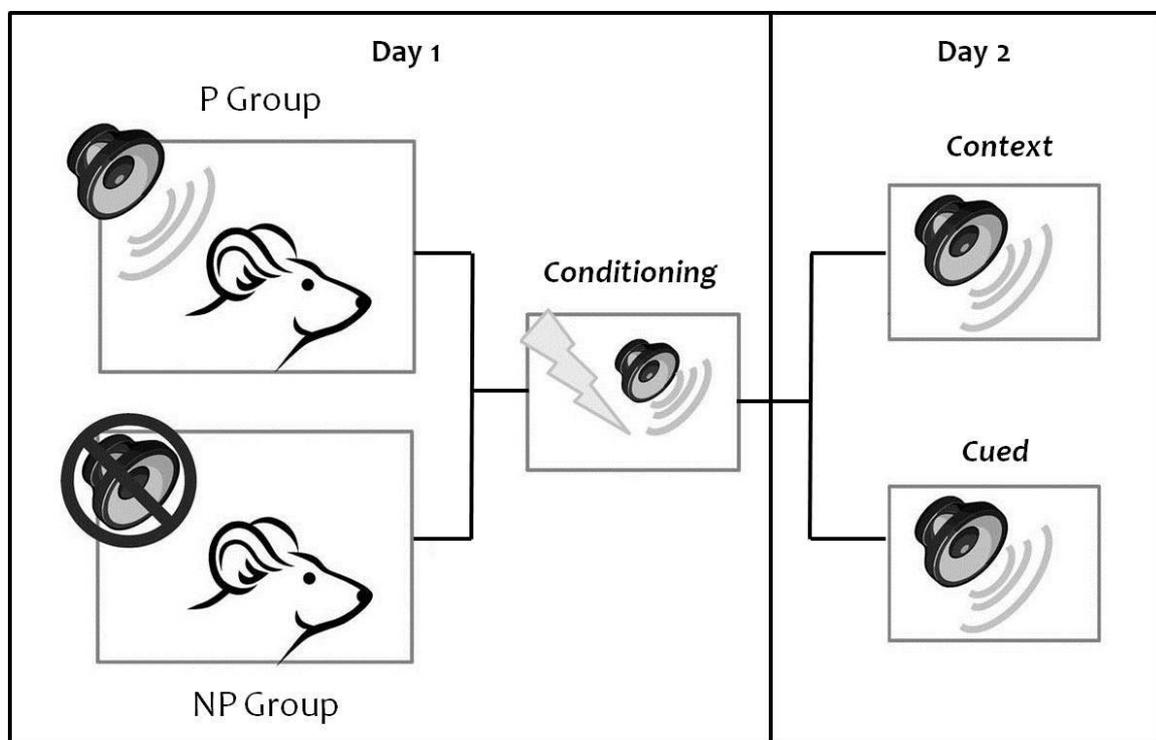


Fig. 27: Design expérimental de l'inhibition latente chez les deux groupes expérimentaux (sham et 6-OHDA).

3.3. Test de la réaction de l'évitement de chute (Cliff Avoidance Reaction)

Le test CAR a été évalué à l'aide d'une plateforme en bois ronde (diamètre 20 cm; épaisseur 2 cm), soutenue par une barre de fer (hauteur 50 cm) similaire à un tabouret de bar (Yoshida et al., 1998; Yamashita et al., 2013). La plateforme était sécurisée pour que le mouvement de l'animal ne l'affecte pas (**Fig. 28**). Le sol sous la plateforme était recouvert de moquette pour éviter les blessures si l'animal tombait. Le test a été initié en plaçant

doucement l'animal sur la plateforme de telle sorte que les membres antérieurs soient proches du bord. L'ensemble du test pour chaque animal dure 60 minutes. Si l'animal tombe de la plateforme, il est remis immédiatement doucement sur la plateforme et le test se poursuit. La latence du déplacement initial sur la plate-forme jusqu'à la chute est enregistrée. L'incidence de la déficience en CAR a été calculée en tant qu'indice de pourcentage pour chaque groupe: $\% (CAR) = \{ \text{nombre de souris CAR intactes (qui ne sont pas tombées de la plateforme)} / \text{nombre total de souris testées} \} \times 100$.

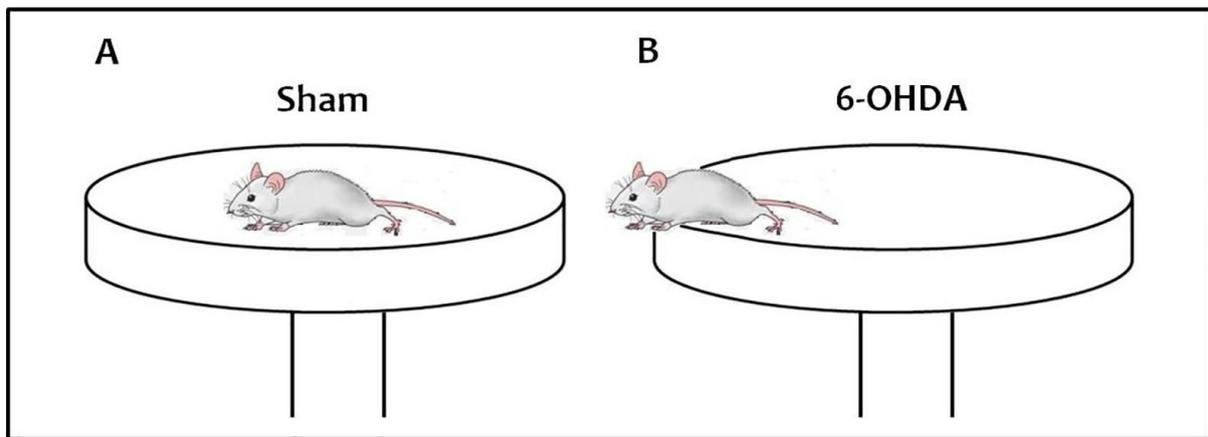


Fig. 28: Représentation illustrative d'une souris sham et 6-OHDA sur la plateforme du test CAR.

A. CAR normale de la souris sham. **B.** Hyperlocomotion persévérative et comportement de 'peering-down' répétitif de la souris 6-OHDA.

3.4. Test du Five-Choice Serial Reaction Time Task (5-CSRTT)

3.4.1. Dispositif

Le même dispositif que nous avons utilisé pour les souris adultes (Voir la section tests de comportement, Chap. 1).

3.4.2. L'habituation et la mise en place de la manipulation initiale du 5 CSRTT

Les souris sont hébergées individuellement avec de la nourriture (habituellement disponible), de l'eau et 5 g de pastilles de récompense. La salle de conditionnement est maintenue dans des conditions de lumière et température standard et constantes. Les souris ont subi 1 minute de *handling* aux jours PND26, 27, 28 et 29 (**Fig. 26**) jusqu'à ce qu'elles soient complètement habituées à la manipulation. Vingt-quatre heures avant la

première séance de l'entraînement (à PND30), les pastilles disponibles étaient limitées à 1.0 g. Au cours de la période de l'entraînement au 5-CSRTT, les souris sont soumises un contrôle du régime alimentaire comme suit: 2.0 g de pastilles alimentaires (les souris âgées de 3 semaines), 2.5 g (4 semaines), 2.8 g (5 à 7 semaines) et 2.4 g (8 à 9 semaines). Huit heures avant la séance de l'entraînement, tout aliment restant est retiré.

3.4.3. Approche méthodologique

Les souris ont d'abord eu accès aux pastilles de nourriture dans leurs cages d'origine (10 pastilles granulés par jour pendant 5 jours consécutifs) pour les familiariser avec la récompense. Chaque souris a été toujours placée dans la même chambre tout au long de l'expérience. Dans la première phase de l'entraînement (une session), les souris sont placées dans le dispositif pendant 15 minutes avec la lumière du dispositif éteinte et la trappe battante de la boîte de récompense bloquée afin de la maintenir ouverte. Cette boîte a été remplie avec 15 pastilles de nourriture pour familiariser les souris à manger le renforcement dans la boîte de récompense. Dans un deuxième temps, les animaux reçoivent deux sessions d'entraînement (20 min par session) dans lesquelles 20 pastilles alimentaires sont livrées dans la boîte de récompense selon un temps variable (moyenne = 60 s). La lumière du dispositif est activée pendant cette phase. Lors de la première séance, la trappe battante est bloquée afin de maintenir la boîte de récompense ouverte. Pour toutes les autres séances, les souris doivent repousser la trappe battante devant la boîte de récompense pour récupérer une pastille de nourriture. Durant ces deux phases, chaque trou est bloqué par une plaque métallique. Dans la troisième phase, le trou central (trou 5) devient accessible et illuminé pendant toute la durée d'une séance (30 minutes). Chaque fois qu'une souris introduise son museau dans le trou éclairé, une pastille de nourriture est livrée dans la boîte de récompense. Cet entraînement est poursuivi jusqu'à ce que les souris fassent au moins 50 réponses (*nose-poke response*) pendant la séance.

Ensuite, les souris ont été entraînées à répondre à un bref stimulus visuel présenté aléatoirement dans l'un des cinq emplacements spatiaux (trous 1, 3, 5, 7, 9), comme décrit précédemment ([Barbelivien et al., 2001](#); [Harati et al., 2011](#)). Ceci déclenche l'intervalle entre les essais (ITI; conditions standards de 5 secondes) au cours duquel la souris analyse

visuellement les cinq trous en attendant la présentation du stimulus. Le renforcement de la nourriture est délivré lorsque la souris répond correctement dans les 5 secondes suivant l'extinction de la lumière du stimulus. L'essai suivant est initié à la sortie de la boîte de récompense alimentaire. Les réponses aux trous non éclairés n'entraînent aucune conséquence (aucune punition). Si la souris répond de manière incorrecte ou ne parvient pas à répondre dans la période de retenue « limited hold ; LH » (après l'extinction du stimulus) de 5 secondes (définie comme une omission), la lumière du dispositif s'allume. De plus, si la souris répond pendant la période ITI, cette réponse est considérée comme une réponse prémature et la lumière du dispositif s'allume. Après cela, la souris doit pousser la trappe battante de la boîte de récompense pour lancer une nouvelle session. Une fois les performances de base sont stables, le comportement peut être modifié en utilisant diverses manipulations de tâches.

La lumière du stimulus étant présentée de manière pseudo-aléatoire, de sorte qu'un nombre égal de présentations à chaque emplacement de stimulus est effectué au cours de la session de 25 minutes (jusqu'à un maximum de 100 présentations). Initialement, la durée du stimulus (SD) est définie sur une longue durée pour faciliter l'apprentissage (par exemple, 32 secondes). Au cours des séances suivantes, la durée du stimulus est progressivement réduite (32, 16, 8, 4, 2, 1.8, 1.6, 1.4, 1.2, 1.0 sec) jusqu'à ce que la valeur de base (0.8 sec) soit atteinte. Les souris passent au niveau suivant de l'entraînement lorsqu'elles satisfont aux critères de performance (c.-à-d. Précision > 80% et omissions < 20%, latences de réponse équivalentes ou inférieures à la durée du stimulus (ce qui est important pour que la tâche dépende de l'attention plutôt que le processus de mémoire), et > 70 essais, voir **Fig. 32**) sur deux sessions consécutives. La durée de l'ITI et la durée de LH restent inchangées pendant l'entraînement (toutes les 5 secondes).

Les manipulations des paramètres de base du 5-CSRTT peuvent être faites lorsque la performance de base est stable. Alors que la plupart des manipulations standards visent à influencer le fonctionnement attentionnel, certaines peuvent être utilisées pour évaluer certains aspects de la motivation et de l'impulsivité. Chaque session de manipulation devrait être donnée après trois jours consécutifs de performance de base stable en faisant correspondre les critères énoncés précédemment.

La durée de l'ITI change. Ceci est proposé d'augmenter la charge attentionnelle en perturbant la prévisibilité temporelle du début du stimulus. Les ITI courts sont de 2, 3, 4 ou 5 secondes, tandis que les ITI longs sont de 5, 6, 7 ou 8 secondes. La manipulation de l'ITI est également utile pour étudier les aspects du contrôle de la réponse. En augmentant la durée de l'ITI, les souris montrent des niveaux croissants de réponses prématures indépendants des effets sur la précision discriminante. Par contre, la manipulation de la SD est utile pour moduler la charge attentionnelle. L'ensemble de stimulus décroissant est de 0.8, 0.6, 0.4 ou 0.2 s; l'ensemble croissant est de 0.8, 1.2, 1.6 ou 2.0 secondes (cette dernière manipulation est utile pour «sauver» les déficits observés au départ).

Les mesures critiques de performance sont:

- Le nombre de sessions prises à chaque niveau d'entraînement, défini par les niveaux de durée du stimulus.
- Le nombre total de sessions prises pour atteindre la ligne de base avec une durée de stimulus de 0.8 seconde.
- Précision de répondre, définie comme suit: nombre de commissions correctes (réponses correctes / correctes et des réponses incorrectes).
- Pourcentage d'essais corrects, incorrects et omis.
- Des temps de réaction corrects et incorrects (définis comme la latence à répondre dans un trou après l'éclairage du stimulus).
- Nombre de réponses prématures (nombre si réponses faites pendant l'ITI).

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SigmaPlot 11.0 (SigmaStat, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Le test *t-Student* a été utilisé pour des comparaisons simples à deux échantillons. Pour des comparaisons d'échantillons multiples, on a effectué une ANOVA à deux facteurs en mesures répétées. Les résultats

ont été présentés sous forme de moyenne \pm SEM et la signification a été rapportée à $p < 0.05$.

III. Résultats

1. Déficit de l'inhibition latente chez les souris 6-OHDA

Les souris sham pré-exposées (P) ont montré moins de *freezing* que les non pré-exposées (NP) pendant le conditionnement (**Fig. 29A**; $F_{(1,9)} = 447.8$; $p < 0.001$), ainsi que pendant le test du contexte (**Fig. 29B**; $F_{(1,9)} = 78.70$; $p < 0.001$) et *cued* (**Fig. 29C**; $F_{(1,9)} = 14.99$; $p < 0.01$), indiquant une inhibition latente significative chez les souris sham. Par contre, le pourcentage du *freezing* des souris 6-OHDA pré-exposées n'était pas différent de celui des non-exposées durant le conditionnement (**Fig. 29D**; $F_{(1,9)} = 0.91$; $p > 0.05$), le test du contexte (**Fig. 29E**; $F_{(1,9)} = 2.59$; $p > 0.05$) et *cued* (**Fig. 29F**; $F_{(1,9)} = 4.37$; $p > 0.05$), suggérant un déficit de l'inhibition latente et de l'attention soutenue chez les souris 6-OHDA.

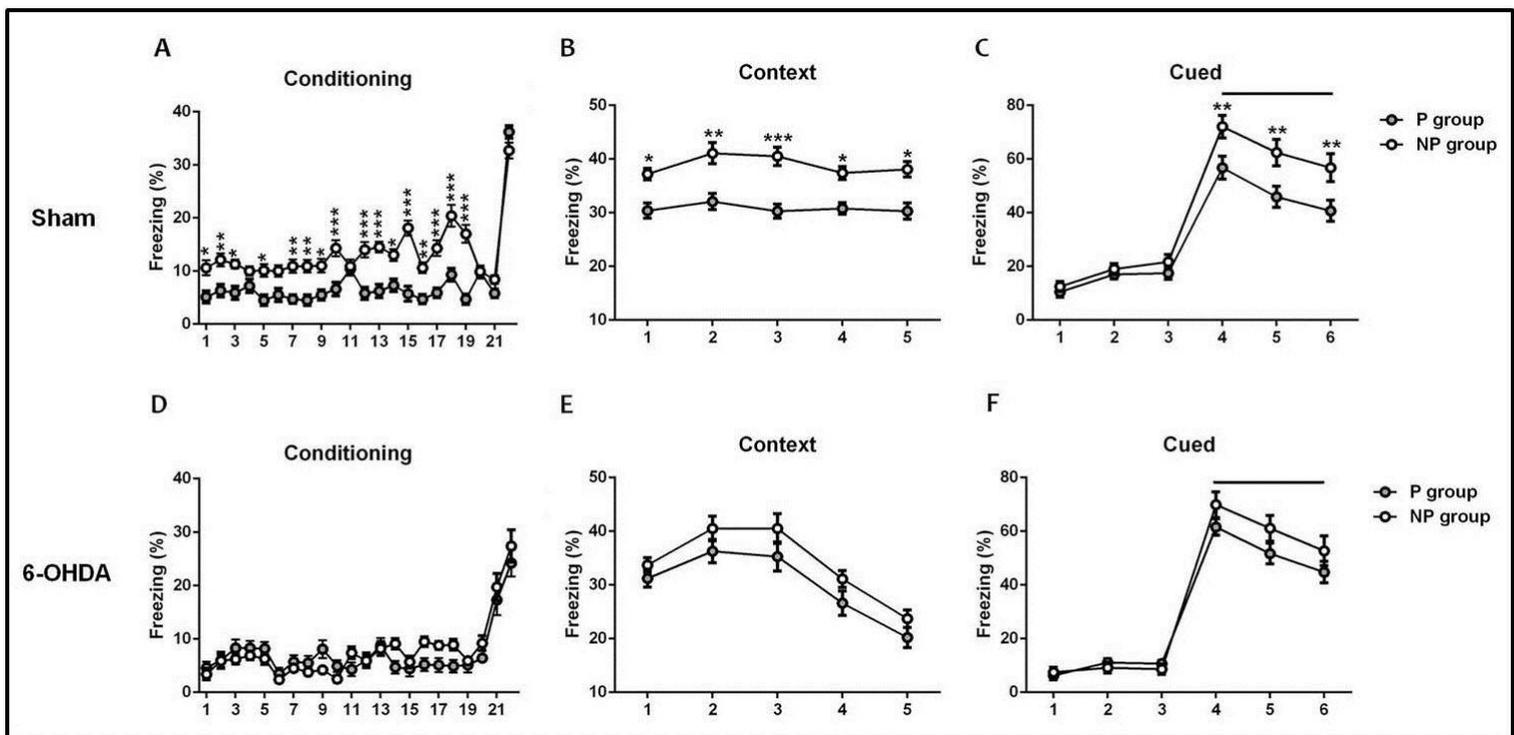


Fig. 29: Inhibition latente chez les souris sham et 6-OHDA.

A, D. Pourcentage du *freezing* pendant le conditionnement. **B, E.** Pourcentage du *freezing* lors du test de contexte. **C, F.** Pourcentage du *freezing* au cours du test *cued*. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM, $n = 10$ souris par groupe. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ par rapport au groupe non pré-exposé.

2. Déficit du comportement de l'évitement de chute chez les souris 6-OHDA

Les souris sham avaient tendance à explorer la plateforme pendant plusieurs minutes, sans approcher leur corps du bord, puis elles restaient immobiles jusqu'à la fin du test. En revanche, les souris 6-OHDA ont montré un comportement de chute 'peering-down' répétitif au bord de la plateforme. Elles ont souvent placé des parties de leurs têtes et de leurs torses sur le bord, essayant même de s'agripper sous la plateforme. Ce comportement était fréquent, de sorte que ces animaux tombaient de la plateforme. Environ 60% des souris 6-OHDA testées présentaient une CAR altérée au cours des 60 minutes d'observation, tandis qu'aucune souris sham ne la montrait (**Fig. 30A**; $t=26.00$; $p<0.05$). De plus, les souris 6-OHDA sont tombées de la plateforme dans la période d'essai de 20 min, alors qu'une seule souris est tombée juste avant la fin du test (**Fig. 30B**; $t=155.00$; $p<0.001$).

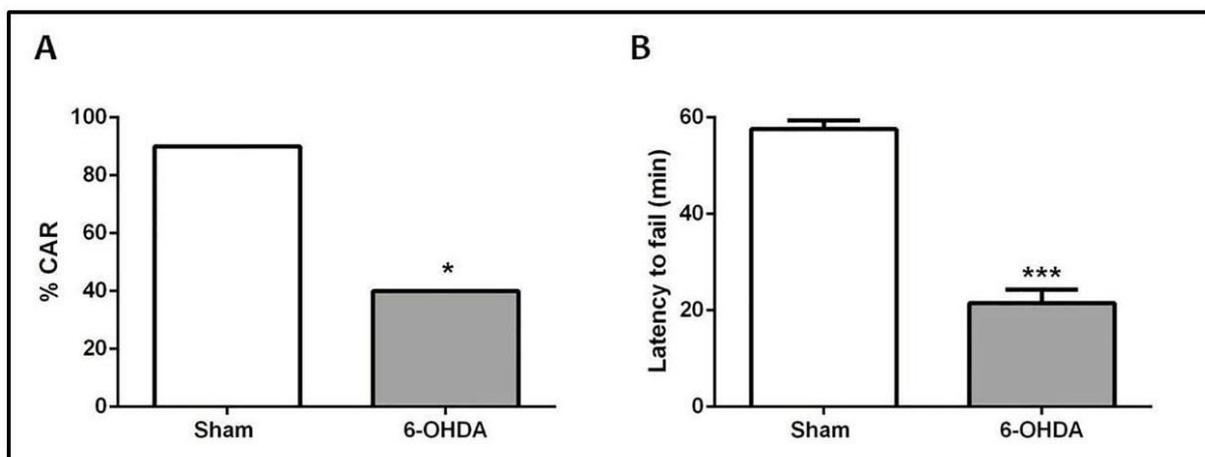


Fig. 30: Réaction de l'évitement de chute (CAR) chez les souris sham et 6-OHDA. **A.** Les valeurs représentent % CAR, * $p<0.05$ vs souris sham. **B.** Latence du premier déplacement sur la plateforme jusqu'à la chute. La latence de chute est représentée par la moyenne \pm SEM. * $p<0.001$ vs souris sham.

3. Déficit de l'attention et l'impulsivité chez les souris 6-OHDA

3.1. Croissance du poids corporel durant l'entraînement 5-CSRTT

Nos données indiquent qu'il n'y a pas de changement significatif du poids corporel entre les groupes expérimentaux (sham et 6-OHDA) et témoins (nourris librement) du même âge (**Fig. 31**; $F_{(2,18)} = 0.017$, $p>0.05$).

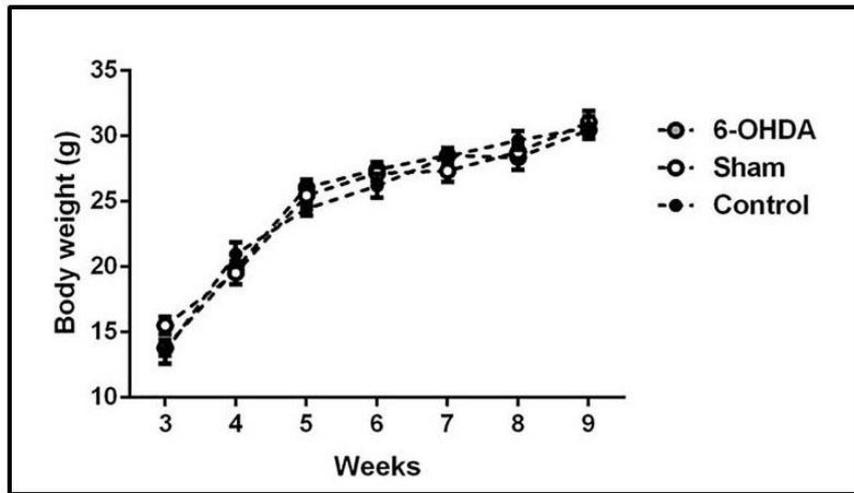


Fig. 31: Poids corporel des souris nourries librement et des souris à restriction alimentaire ayant subi l'entraînement au 5-CSRTT.

Les données ont représentés par la moyenne \pm SEM.

Nous présentons ci-dessous les modèles de résultats obtenus pour chacune des manipulations de tâches couramment utilisées et des exemples de données provenant de souris adolescentes sham / 6-OHDA (**Fig. 32-34**).

3.2. Mise en forme et acquisition au 5-CSRTT

Nous avons testé ici les différents paramètres de l'acquisition du 5-CSRTT chez la souris. La durée du stimulus (c'est-à-dire le niveau d'entraînement) est progressivement raccourcie tandis que les paramètres suivants sont évalués: nombre de séances pour maintenir une performance stable (**Fig. 32A**), pourcentage de réponses correctes lorsque la performance est stable (**Fig. 32B**), temps nécessaire pour une réaction correcte lorsque la performance est stable (**Fig. 32C**) et pourcentage d'omissions lorsque la performance est stable (**Fig. 32D**). L'analyse en mesures répétées d'ANOVA à deux facteurs a été réalisée avec la lésion et le niveau d'entraînement comme facteurs principaux.

Au cours de l'entraînement, les résultats ont montré que le nombre de séances, le pourcentage de réponses correctes, le temps de réaction correcte et les omissions étaient significativement affectés par la lésion ($F_{(1,9)} = 192.70$; $F_{(1,9)} = 404.30$; $F_{(1,9)} = 450.10$ et $F_{(1,9)} = 354.20$; $p < 0.001$; respectivement) et le niveau d'entraînement ($F_{(9,81)} = 11.18$; $F_{(10,90)} = 6.01$; $F_{(10,90)} = 12.98$ et $F_{(10,90)} = 14.34$, $p < 0.001$, respectivement); alors qu'aucun effet de l'interaction entre les deux facteurs n'est observé ($F_{(9,81)} = 1.67$; $F_{(10,90)} = 0.09$;

$F_{(10,90)} = 0.02$ et $F_{(10,90)} = 0.34$; $p > 0.05$; respectivement). En fait, l'analyse *post-hoc* a montré une augmentation significative du nombre de sessions dans le groupe 6-OHDA ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$; **Fig. 32A**) par rapport au groupe sham dans tous les niveaux d'entraînement. En revanche, le pourcentage de réponses correctes était significativement inférieur chez le groupe 6-OHDA ($p < 0.05$, $p < 0.001$; **Fig. 32B**) par rapport au groupe sham. De plus, le temps de réaction correcte ($p < 0.05$, $p < 0.001$; **Fig. 32C**) et les omissions ($p < 0.001$; **Fig. 32D**) ont été significativement supérieurs chez les souris 6-OHDA par rapport aux souris sham. Comparativement au niveau SD = 32 s de l'entraînement, les résultats ont révélé que les souris sham et 6-OHDA ($p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$) avaient besoin significativement de plus de sessions au niveau SD = 4 s jusqu'au niveau SD = 1 s. En outre, le pourcentage des réponses correctes était significativement élevé chez les souris sham ($p < 0.05$, $p < 0.01$) et réduit chez les souris 6-OHDA ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) du niveau SD = 32 s et a été maintenue jusqu'au dernier niveau (SD = 1 s) par rapport au premier niveau (first; SD = 60 s). Du niveau SD = 16 s au niveau SD = 1 s, le temps de réaction correcte était significativement élevé chez les 6-OHDA ($p < 0.05$, $p < 0.001$) et réduit chez les sham ($p < 0.05$, $p < 0.001$) par rapport au niveau SD = 1 s. Cependant, les omissions étaient significativement supérieurs chez les deux groupes ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) à SD = 4 s et ont été maintenues jusqu'au niveau SD = 1 s par rapport au *first*.

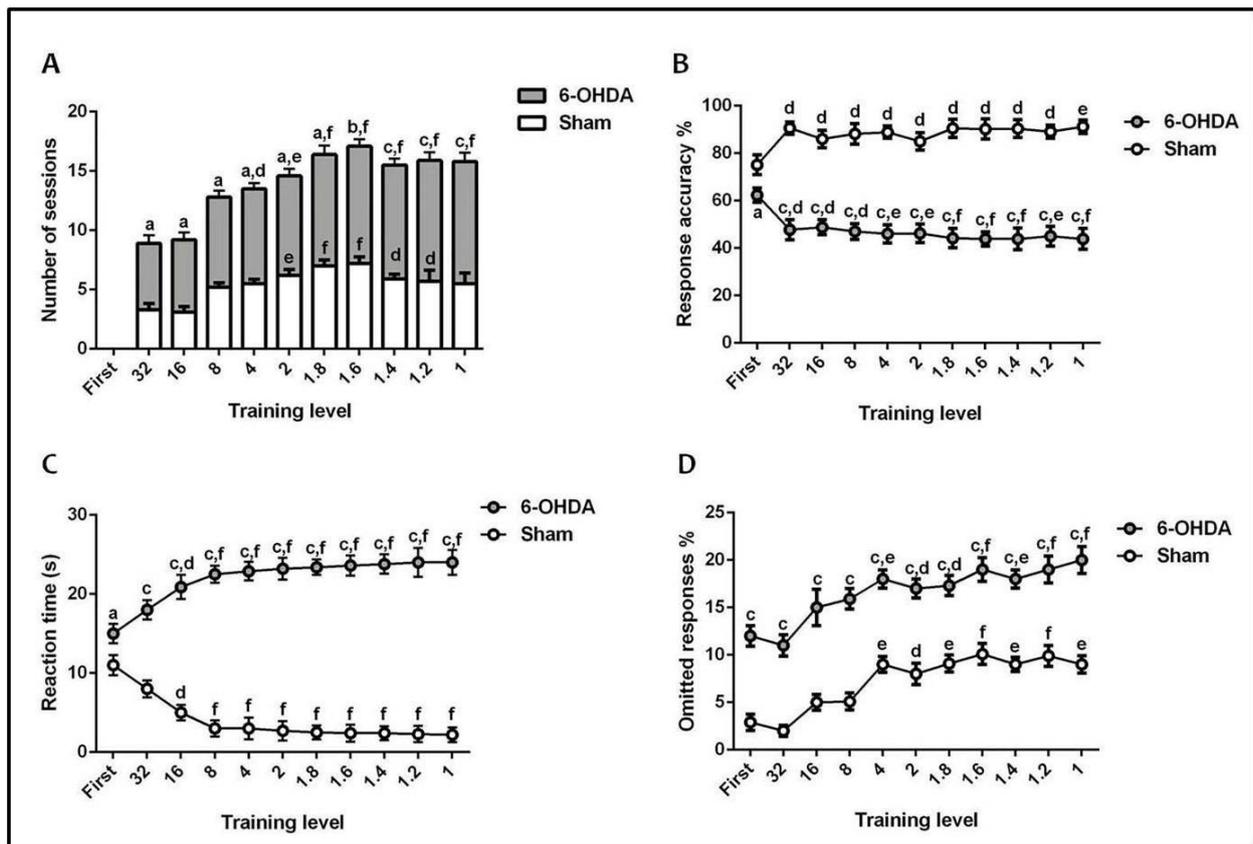


Fig. 32: Mise en forme et acquisition à 5 choix.

A. Nombre de sessions. **B.** Pourcentage de réponses correctes. **C.** Temps de réaction correcte. **D.** Pourcentage d'omissions à chaque niveau d'entraînement au 5-CSRTT. L'axe des abscisses (training level) correspondent à la durée du stimulus en secondes, et first au SD = 60s. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM, $n = 10$ souris par groupe. ^a $p < 0.05$ ^b $p < 0.01$ et ^c $p < 0.001$ vs sham. ^d $p < 0.05$ ^e $p < 0.01$ et ^f $p < 0.001$ vs 32.

3.3. ITI long

Les performances au 5-CSRTT ont été évaluées en fonction de l'augmentation de l'ITI. Dans tous les paramètres étudiés: pourcentage de réponses correctes (**Fig. 33A**), temps de réaction correcte (**Fig. 33B**), omissions (**Fig. 33C**) et réponses prématures (**Fig. 33D**), l'analyse en mesures répétées de l'ANOVA à deux facteurs (lésion et durée de l'ITI) a montré un effet significatif de la lésion ($F_{(1,9)} = 62.80$; $F_{(1,9)} = 77.96$; $F_{(1,9)} = 36.24$ et $F_{(1,9)} = 105.9$; $p < 0.001$; respectivement) et la durée de l'ITI ($F_{(3,27)} = 7.43$; $F_{(3,27)} = 4.23$, $p < 0.05$; $F_{(3,27)} = 9.20$ et $F_{(3,27)} = 33.14$, $p < 0.001$; respectivement) pour la plus longue durée de l'ITI, cependant, sans aucun effet de l'interaction de la lésion x durée de l'ITI ($F_{(3,27)} = 7.43$; $F_{(3,27)} = 0.08$; $F_{(3,27)} = 0.78$ et $F_{(3,27)} = 0.47$, $p > 0.05$; respectivement). Lorsque l'ITI a été allongé de 5 à 8 secondes, une augmentation significative du temps de réaction correcte ($p < 0.05$),

omissions ($p < 0.01$, $p < 0.001$) et des réponses prématures ($p < 0.001$) a été observée chez les souris 6-OHDA (Fig. 33B-D). Pendant ce temps, les animaux 6-OHDA étaient significativement moins précis ($p < 0.05$, $p < 0.01$) que les animaux sham (Fig. 33A).

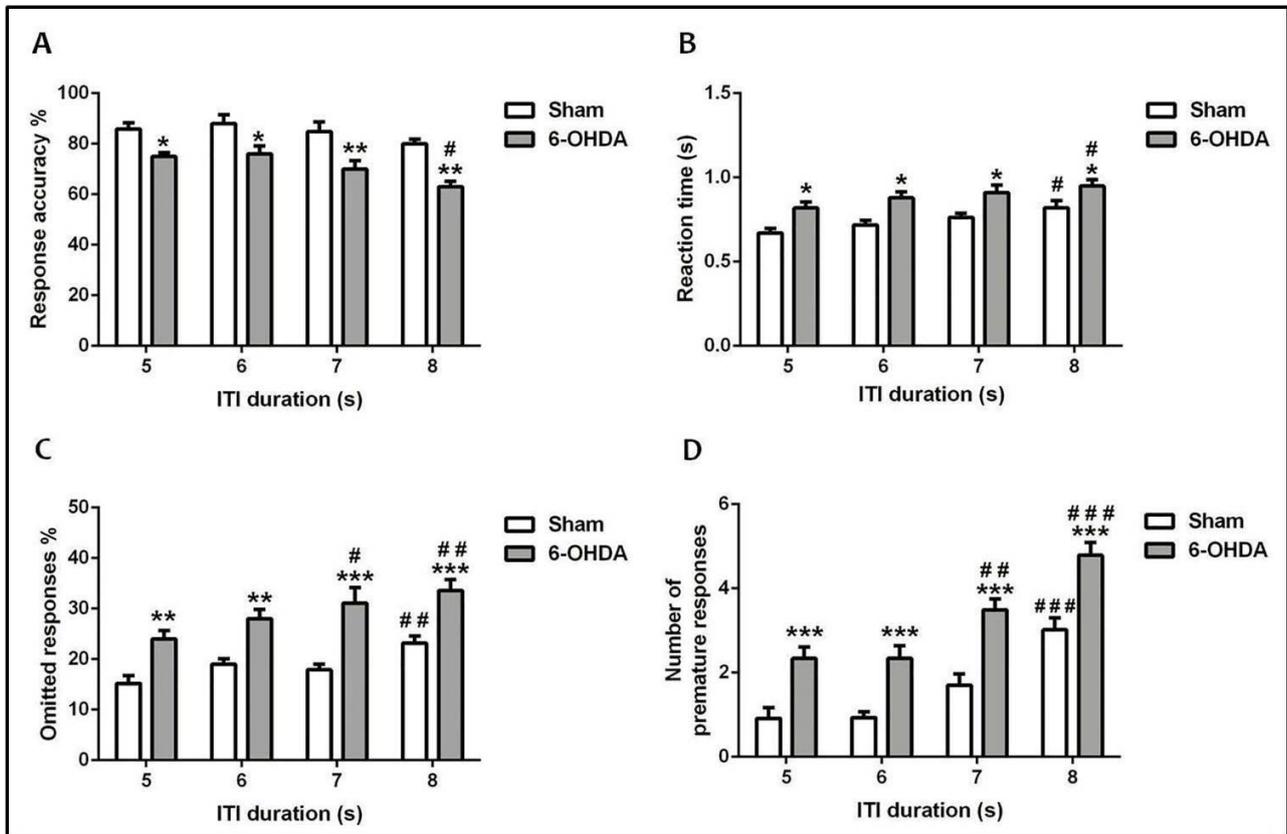


Fig. 33: Effets de l'augmentation de l'ITI sur les performances du 5-CSRTT.

A. Pourcentage de réponses correctes. **B.** Temps de réaction correcte. **C.** Omissions. **D.** Réponses prématures. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM, $n = 10$ souris par groupe. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ vs sham; # $p < 0.05$ ## $p < 0.01$ et ### $p < 0.001$ vs ITI 5 s.

En outre, nous n'avons pas observé de différence significative dans le pourcentage de réponses correctes chez les souris sham lorsque l'ITI a augmenté ($p > 0.05$); alors qu'à 8 secondes, le pourcentage de réponses correctes est significativement réduit ($p < 0.05$) chez les souris 6-OHDA par rapport à celui observé à 5 secondes. Le temps de réaction correcte des souris sham et des souris 6-OHDA est significativement augmenté ($p < 0.05$) à 8 secondes. En effet, les omissions et les réponses prématures du groupe 6-OHDA ont augmenté significativement à 7 ($p < 0.05$ et $p < 0.01$; respectivement) et à 8 secondes ($p < 0.01$ et $p < 0.001$; respectivement). Cependant, ces paramètres ont augmenté de manière significative seulement à 8 secondes ($p < 0.01$ et $p < 0.001$; respectivement) chez les souris sham.

3.4. ITI réduit

Nous avons mesuré l'influence de la diminution de l'ITI sur les performances au 5-CSRTT, notamment, le pourcentage de réponses correctes (**Fig. 34A**), le temps de réaction correcte (**Fig. 34B**) et le pourcentage d'omissions (**Fig. 34C**). L'analyse ANOVA à deux facteurs à mesures répétées a révélé que le pourcentage de réponses correctes, le temps de réaction correcte et les omissions sont significativement différents entre les groupes ($F_{(1,9)} = 285.80$, $F_{(1,9)} = 69.00$ et $F_{(1,9)} = 146.9$, $p < 0.001$; respectivement) et varient significativement avec la durée de l'ITI ($F_{(3,27)} = 1.80$, $p < 0.05$; $F_{(3,27)} = 12.42$ et $F_{(3,27)} = 9.47$, $p < 0.001$; respectivement); alors que l'interaction du groupe et de la durée de l'ITI ($F_{(3,27)} = 0.51$; $F_{(3,27)} = 0.73$ et $F_{(3,27)} = 2.72$, $p > 0.05$; respectivement) n'a aucun effet. L'analyse *post-hoc* a montré une réduction significative du pourcentage de réponse correcte chez le groupe 6-OHDA ($p < 0.01$ et $p < 0.001$) à toutes les durées ITI (5 - 2 s) par rapport au groupe sham. Cependant, de 5 à 2 s ITI, le temps de réaction correcte ($p < 0.05$ et $p < 0.01$) et les omissions du groupe 6-OHDA étaient significativement plus élevés que ceux du groupe sham ($p < 0.05$ et $p < 0.001$). En ce qui concerne la durée de l'ITI, les souris 6-OHDA à ITI = 2 s sont moins précises ($p < 0.05$), réagissaient lentement ($p < 0.01$) et présentaient beaucoup d'omissions ($p < 0.001$) par rapport à ITI = 5 s. En revanche, seul le temps de réaction correcte à ITI = 2 s est significativement augmenté ($p < 0.01$) chez les souris sham; alors que le pourcentage de réponses correctes et les omissions à n'importe quelle durée d'ITI n'est pas différent par rapport à ITI = 5 s.

3.5. SD réduite

L'effet de raccourcissement de la durée du stimulus a été évalué sur les mêmes paramètres: pourcentage de réponses correctes (**Fig. 34D**), temps de réaction correcte (**Fig. 34E**) et omissions (**Fig. 34F**). Pour tous les paramètres utilisés, il y a un effet significatif de la lésion ($F_{(1,9)} = 75.36$; $F_{(1,9)} = 67.06$; $F_{(1,9)} = 63.40$, $p < 0.001$; respectivement) et la durée SD ($F_{(3,27)} = 14.21$; $F_{(3,27)} = 9.28$; $F_{(3,27)} = 9.33$, $p < 0.001$; respectivement); alors que l'interaction de ces deux facteurs n'a pas d'effet ($F_{(3,27)} = 0.09$; $F_{(3,27)} = 0.02$; $F_{(3,27)} = 0.31$, $p > 0.05$; respectivement). L'analyse a montré que le pourcentage de réponse correcte est significativement réduit à 0.2 s de SD par rapport à 0.8 s chez les deux groupes ($p < 0,01$; **Fig. 34D**). En outre, le temps de réaction correcte a augmenté de manière significative à la

plus courte SD (0.2 s) par rapport à 0.8 s chez les souris sham et 6-OHDA ($p < 0,05$; **Fig. 34E**). Les omissions ont augmenté lorsque le SD à 0.2 s est comparé à 0.8 s chez les deux groupes ($p < 0,01$; **Fig. 34F**).

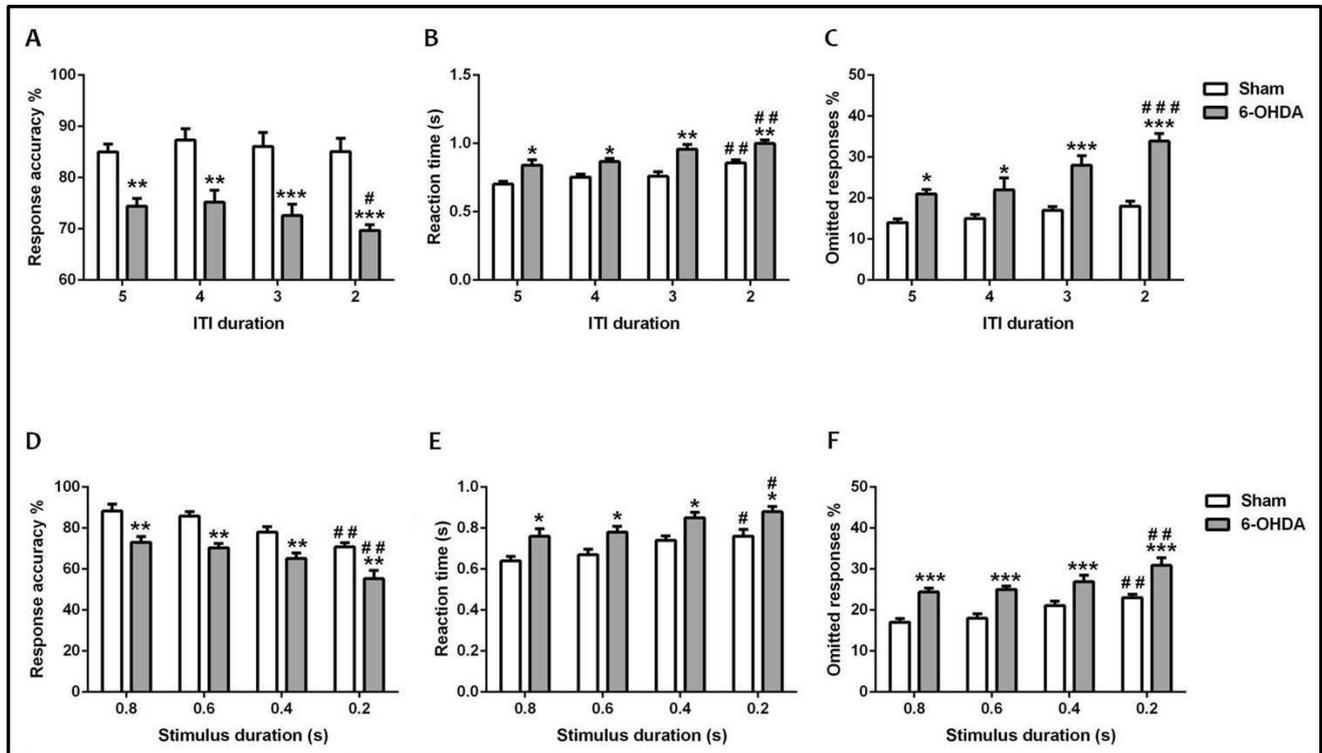


Fig. 34: Effets de la diminution de l'ITI (A-C) et de la SD (D-F) sur les performances du 5-CSRTT.

A, C. Pourcentage de réponses correctes. **B, D.** Temps de réaction correcte. **C, F.** omissions. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM, $n = 10$ souris par groupe. $p < 0,05$, $** p < 0,01$, $*** p < 0,001$ vs sham; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ et ### $p < 0,001$ vs ITI = 5 s ou SD = 0.8 s.

IV. Discussion

Le modèle neurodéveloppemental le plus utilisé du syndrome ADHD créé par la lésion des systèmes cérébraux est le rat 6-OHDA. **Shaywitz** et ses collaborateurs (1976a, b) ont montré pour la première fois que les rats lésés 5 jours après la naissance (PND 5) par une injection intracérébroventriculaire de la 6-OHDA présentent une hyperactivité et d'autres déficits cognitifs qui sont atténués par l'administration aiguë d'AMP. D'autres études ont démontré que le phénotype comportemental s'améliore également après l'administration du MPH (**Dauids et al., 2003**). Par ailleurs, ces animaux présentent une faible densité de DAT dans le striatum, une augmentation de l'expression DRD4 et des altérations du système 5-HT similaires à ce qui est connu chez l'Homme (**Dougherty et al.,**

1999; Hanna et al., 1996; Kostrzewa et al., 2008; LaHoste et al., 1996; Zhang et al., 2001). Ces rats présentent des profils d'hyperactivité similaires à l'ADHD chez l'enfant (Archer et al., 1988a), mais ne sont pas impulsifs. Les souris adolescentes 6-OHDA présentent de l'hyperactivité, un déficit de l'attention et de l'impulsivité à l'âge adulte (voir partie 1 du présent travail), mais d'autres caractéristiques comportementales de la maladie n'ont pas été explorées chez ces souris pendant l'adolescence.

Dans notre étude, nous avons démontré une perturbation de l'inhibition latente et de l'attention soutenue, suggérant que les souris adolescentes 6-OHDA présentent des anomalies comportementales compatibles avec l'ADHD. L'attention est la capacité de se concentrer sur des informations sensorielles particulières (importantes) et d'en ignorer d'autres (moins importantes). L'attention peut être divisée en sous-domaines comprenant l'alerte, l'orientation et l'attention exécutive; et les données de la neuroimagerie chez l'homme suggèrent l'existence de grands circuits de l'attention (Petersen et Posner, 2012). Les souris sham ont montré une inhibition latente normale, alors que les souris 6-OHDA en sont dépourvues. Une perturbation de l'inhibition latente suggère un défaut de l'attention sélective. L'inhibition latente peut également être expliquée par des processus associatifs dans lesquels, pendant la pré-exposition, les sujets normaux apprennent à associer le CS à un manque d'US. L'association « CS - pas US » doit être désapprise et remplacée par une association CS-US lors du conditionnement, ce qui explique le ralentissement de l'acquisition CS-US (Weiner, 1990; Hemsley, 1993). Dans ce cas, la perturbation de l'inhibition latente reflète une propension pathologiquement forte à substituer ou à changer l'association non-contingente précédemment apprise avec la réponse appropriée du CS-US. Bien qu'aucune des deux théories ne rende complètement compte du phénomène observé (Escobar et al., 2002), avec l'une ou l'autre interprétation, une perturbation de l'inhibition latente est cohérente avec la caractéristique de l'inattention / impulsivité de l'ADHD. Bien que l'inhibition latente soit apparemment un phénomène universel chez les espèces, l'expression de l'inhibition latente est influencée par des facteurs environnementaux (Gould et Wehner, 1999), qui confirment l'utilité de ce test pour les souris neuro-chimiquement lésées. De plus, d'après leurs travaux sur la souris, Gould et Wehner (1999) suggèrent que l'inhibition latente pourrait être un marqueur utile pour le dépistage de l'ADHD. En effet,

dans deux études distinctes, **Lubow et Josman (1993)** et **Lubow et al. (2005)** ont démontré une altération de l'inhibition latente chez les enfants ADHD. De plus, les souris 6-OHDA étaient clairement capables de former l'association CS-US, comme le démontraient le groupe non-préexposé, ce qui suggère que l'échec de l'inhibition latente n'est probablement pas attribuable aux déficits de l'apprentissage associatif.

De plus, nous avons montré que les souris adolescentes 6-OHDA présentent un comportement impulsif dans le test CAR. Le contrôle inhibiteur est nécessaire pour optimiser les actions des animaux et est divisé en domaines sous-cognitifs impliquant potentiellement des circuits neuronaux distincts et une neurochimie spécifique (**Fineberg et al., 2010; Whelan et al., 2012**). Les souris adolescentes 6-OHDA explorent de façon répétitive les bords de la plateforme où elles risquent de tomber. Les comportements exploratoires répétitifs chez les souris adolescentes 6-OHDA peuvent contribuer aux déficiences observées dans la CAR. On pense que ces patterns de comportements reflètent une incapacité à refuser l'initiation du comportement (ou stopper l'impulsion) et reflètent ainsi une forme de l'impulsivité caractérisée par un manque de contrôle inhibiteur (**Evenden, 1999; Robbins, 2002**). Ces comportements répétitifs peuvent être expliqués donc par une augmentation de l'impulsivité.

Les déficits de l'attention et du contrôle inhibiteur observés chez les patients ADHD sont attestés par leur faible réussite dans les tâches de performance continue (CPT). Les sujets ADHD ont des temps de réaction plus lents et plus variables, et font plus d'erreurs omissions indiquant une faible capacité d'attention (**Epstein et al., 2003; Winstanley et al., 2006**). De plus, les personnes ADHD font plus d'erreurs de commissions, ce qui démontre une inhibition comportementale faible. En effet, les patients ADHD présentent des niveaux élevés de l'impulsivité mesurés par diverses tâches (**Solanto, 1998; Winstanley et al., 2006**). En se concentrant sur la tâche de temps de réaction d'arrêt (SSRT), les enfants ADHD sont plus lents à inhiber leurs réponses que les enfants normaux, comme l'indique l'augmentation de leur SSRT, et échouent de la même façon à annuler leur réponse aux essais (*no-go*) dans les tâches (*go/no-go*) (**Schachar et Logan, 1990; Schachar et al., 1995; Nigg, 1999; Purvis et Tannock, 2000; Winstanley et al., 2006**). De nombreuses tâches comportementales invoquent des processus inhibiteurs à un certain stade et peuvent être utiles pour mesurer les aspects de l'impulsivité et de

l'attention. Un exemple de tâche utilisée chez le rat et la souris qui n'a pas été conçue dans le seul but de mesurer le comportement impulsif mais qui nécessite un aspect de l'inhibition comportementale est la tâche du 5-CSRTT ([Carli et al., 1983](#)). Cette tâche a été développée pour évaluer l'attention soutenue et divisée des rats et des souris sur la base de la tâche de performance continue (CPT) utilisée pour manipuler la fonction attentionnelle chez l'homme ([Rosvold et al., 1956](#); [Wilkinson, 1963](#)). Le 5-CSRTT est une tâche largement utilisée pour évaluer l'attention et le contrôle inhibiteur chez les rongeurs.

L'impulsivité est le plus souvent mesurée dans le 5-CSRTT en évaluant les réponses prématures. Les réponses prématures sont les réponses qui surviennent pendant l'ITI, avant la présentation du stimulus. On pense que les réponses prématures sont similaires aux réponses impulsives faites lors d'autres tâches de l'impulsivité motrice, telles que les tâches *go/no-go* ([Robbins, 2002](#); [Dalley et al., 2008](#)). Généralement, la précision de la discrimination des stimuli fournit un indice de la capacité attentionnelle, tandis que les réponses prématures sont considérées comme une forme de comportement impulsif et donc un échec du contrôle inhibiteur ([Robbins, 2002](#); [Bari et al., 2008](#)). Comme illustré sur la **Fig. 33**, l'inhibition de la réponse peut être systématiquement compensée dans le 5-CSRTT en augmentant la durée de l'ITI. Pour la première fois, nous avons démontré que les souris adolescentes 6-OHDA présentaient un déficit du contrôle inhibiteur dans le 5-CSRTT, comme en témoigne l'augmentation de la réponse prémature pendant l'intervalle entre les essais (**Fig. 33D**). Les souris sham présentent une grande précision et produisent moins de réponses prématures que les 6-OHDA. Une interprétation de ces résultats, qui reste toutefois spéculative, est que les différences de précision peuvent être secondaires à celles des réponses prématures, et que les souris 6-OHDA sont plus impulsives.

L'attention est le plus souvent évaluée par la précision de la réponse ([Robbins, 2002](#); [Bari et al., 2008](#); [Amitai et Markou, 2011](#)). Étant donné que la précision de la réponse ne comprend pas les omissions et que les réponses correctes et incorrectes exigent la même réponse (par ex. mettre le museau dans une ouverture), la capacité locomotrice, la motivation ou la sédation n'influence pas la précision ([Asinof et Paine, 2014](#)). Le pourcentage d'omissions peut également servir à mesurer l'attention, car les rongeurs bien entraînés refusent souvent de répondre plutôt que de «deviner» s'ils ne savent pas

quel trou a été éclairé lors d'un essai particulier (Robbins, 2002; Amitai et Markou, 2011). Nos principales conclusions ont montré que les souris adolescentes sham et 6-OHDA présentent des performances nettement différentes dans le 5-CSRTT, et cela devient particulièrement évident lorsque les demandes de l'attention sont élevées. Il est intéressant de noter que cet effet était présent pendant toute la session, indiquant un déficit de l'attention sélective et une difficulté à maintenir une attention soutenue, qui sont déjà présents chez l'Homme. Pour augmenter les exigences de l'attention du 5-CSRTT, une approche consiste à tester les performances en raccourcissant l'ITI. La diminution de l'ITI diminue le pourcentage de précision et augmente le pourcentage d'omissions. Une autre approche pour faire varier les exigences de l'attention de la tâche consiste à modifier la durée du stimulus. Au fur et à mesure que la durée du stimulus diminue, le pourcentage de précision diminue et le pourcentage d'omissions augmente. Ainsi, les durées de stimulus plus courtes augmentent les exigences de l'attention à la tâche alors que les plus longues les diminuent. L'ensemble de nos données montrent que les souris adolescentes 6-OHDA perdent en précision lorsque l'attention est sollicitée.

L'utilisation du 5-CSRTT pour mesurer l'attention et le contrôle inhibiteur chez les rongeurs présente plusieurs avantages. Premièrement, le 5-CSRTT permet une étude simultanée de plusieurs fonctions cognitives. Deuxièmement, les souris peuvent être maintenues à des niveaux de performance stables pendant plusieurs semaines à plusieurs mois et peuvent être facilement ré-entraînées après une période de repos. Comme les performances de base sont stables, il est possible d'utiliser des mesures intra-sujet ou de tester les effets de manipulations chroniques sur les réponses à une tâche. Troisièmement, la polyvalence de la tâche est augmentée par la variété des défis de la journée du test qui peut être mis en œuvre (Asinof et Paine, 2014). Les défis facilitent la caractérisation des déficits de performance (ou des améliorations) observés sur la tâche standard, ou peuvent révéler des changements de performance qui ne sont pas observés lorsque les souris sont testées sur la tâche standard (Lambe et al., 2005). Quatrièmement, les multiples mesures comportementales étant collectées en même temps, les chercheurs sont en mesure d'évaluer l'influence d'autres facteurs potentiellement perturbateurs sur l'exécution des tâches. Enfin, parce que les chambres sont contrôlées par un ordinateur externe, le contrôle de la présentation du stimulus, la synchronisation

précise des événements et la collecte de données non biaisée sont facilités (**Bari et al., 2008**).

Le 5-CSRTT n'est pas sans inconvénient malgré ses avantages. La principale lacune du 5-CSRTT est qu'il faut des mois pour terminer l'entraînement et atteindre des niveaux de performance stables. De plus, le temps d'entraînement prolongé peut rendre les performances « automatiques » ou habituelles (**Amitai et Markou, 2011**). Cela peut rendre la performance sur la tâche standard insensible aux manipulations particulières. L'influence de la réponse automatique sur les performances peut être minimisée en proposant des difficultés supplémentaires le jour du test, de manière à augmenter les exigences de tâches ou modifier les imprévus de réponse. L'entraînement prolongé se traduit toutefois par des performances relativement stables dans le temps, permettant aux sujets d'être testés de manière répétée et d'être utilisés comme leur propre contrôle. Ainsi, le temps requis pour former un sujet individuel est compensé par la quantité de données que chaque sujet peut générer. Dans la procédure 5-CSRTT adaptée, les souris ont été entraînées à répondre avec succès à un stimulus de 1 s en environ 6 semaines, ce qui est plus rapide que dans les procédures conventionnelles.

Un autre inconvénient du 5-CSRTT est la nécessité d'utiliser une restriction alimentaire légère pour motiver l'exécution de la tâche (**Asinof et Paine, 2014**). Au fur et à mesure que la session se poursuit, les sujets deviennent rassasiés et la motivation pour répondre peut être impactée. Cela peut entraîner des changements dans la performance des tâches (**Grottick et Higgins, 2002**). La pré-alimentation des sujets avant le test est un moyen de déterminer si la satiété modifie les effets d'une manipulation particulière (**Grottick et Higgins, 2002; Bari et al., 2008; Nemeth et al., 2010**). De plus, on peut craindre que la restriction alimentaire chronique ne cause un stress excessif aux rongeurs. Il y a en fait des preuves de l'effet inverse (**Rowland, 2007**). Peut-être plus problématique, une restriction alimentaire légère peut altérer les nombreuses voies que les chercheurs tentent d'étudier. Cela peut influencer les effets des médicaments sur la performance de la tâche (**Carr, 2007**). Le régime de restriction alimentaire que nous avons choisi pendant le protocole d'entraînement a entraîné une croissance presque normale (**Fig. 21**). Chez nos jeunes souris, la durée de l'entraînement était à peu près la même que celle des études précédentes utilisant des souris adultes (**Bouchatta et al., 2018**). Ces résultats

indiquent que le régime alimentaire a généré une motivation suffisante pour que les jeunes souris apprennent les tâches (**Fig. 22**), sans altération de leur croissance (**Fig. 21**).

Bien que l'acquisition et la performance des tâches soient similaires pour la souris et le rat, des modifications de la stratégie de l'entraînement peuvent être nécessaires. Un autre aspect du protocole qui nécessite une attention particulière est de savoir si la sanction (punition) est utilisée. Dans certaines études, les omissions (échecs de réponse lorsqu'un stimulus est présenté) et les réponses incorrectes sont enregistrées et sanctionnées par un dépassement de temps pendant lequel aucun renforçateur n'est disponible pendant une période donnée. Dans la plupart des études, telles qu'elles ont été initialement établies chez le rat, les réponses prématures sont également punies par un dépassement de délai (**Humby et al., 1999**). L'utilisation du délai d'attente 'Time Out' a pour conséquence de supprimer les comportements inappropriés et de réduire ainsi la séquence des actions nécessaires pour obtenir la récompense (**Bari et al., 2008**). Comme noté par **Amitai et Markou (2010)**, l'absence d'un délai d'attente diminue l'incitation à arrêter la réponse prémature. Cependant, la punition pour une réponse prémature n'est pas toujours nécessaire, et la répression des réponses persévérantes a été signalée comme perturbant l'entraînement (**Bari et al., 2008**). En particulier, pendant la période de l'entraînement ou lorsque seule l'évaluation attentionnelle est pertinente, certaines études (**de Bruin et al., 2006; Lee et al., 2002**) préfèrent utiliser un protocole dans lequel les réponses prématures ne sont pas punies.

Tout d'abord, afin de prendre en compte de leur petite taille, l'appareil 5-CSRTT de souris est plus petit que le 5-CSRTT de rat (**Humby et al., 1999; 2005; Patel et al., 2006; Pattij et al., 2007; Higgins and Breyse, 2008; Romberg et al., 2011; Peña-Oliver et al., 2012; Trueman et al., 2012**). Deuxièmement, les souris peuvent nécessiter une plus grande accoutumance aux chambres opérantes avant de commencer l'entraînement (**Humby et al., 1999; 2005; Higgins et Breyse, 2008**). Troisièmement, il y a un plus grand risque de satiété et une perte de motivation à réagir avec les souris (**Humby et al., 1999; 2005; Higgins et Breyse, 2008**). Afin de tenir compte du risque de satiété, des pastilles alimentaires plus petites (par exemple, 12 mg pour les souris et 45 mg pour les rats) doivent être utilisés (**Higgins et Breyse, 2008**). En parallèle, des renforçateurs liquides ont été également décrits (**Humby et al., 1999; 2005; Trueman et al., 2012**). Enfin, il peut

être essentiel d'exécuter toutes les séances avec la lumière du dispositif éteinte, ce qui augmente les propriétés discriminantes des lumières de stimulation (Humby et al., 2005).

V. Conclusion

La présente étude a démontré une perturbation de l'inhibition latente et de l'attention soutenue, suggérant que les souris 6-OHDA présentent des anomalies comportementales spécifiques de l'ADHD. De plus, les souris 6-OHDA présentent un comportement impulsif dans le test CAR et des troubles de l'attention marqués par des déficits en 5-CSRTT pourraient en partie contribuer à ce déficit comportemental impulsif. Nous avons dépassé les limitations associées au 5-CSRTT, à savoir la perturbation de la croissance induite par la restriction alimentaire et la longue durée de l'entraînement. Notre adaptation de la procédure du 5-CSRTT a permis d'éviter les perturbations de la croissance et de réduire significativement la durée de l'entraînement, ce qui a permis d'étudier l'attention et l'impulsivité chez des souris pendant la période de l'adolescence. Par conséquent, il est maintenant possible d'évaluer les paramètres des troubles neuro-développementaux au cours de l'adolescence dans les modèles de rongeurs de pathologies humaines. Le modèle de souris 6-OHDA sera utile aux côtés d'autres modèles animaux pour comprendre les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent ce trouble complexe hétérogène.

Chapitre III:

Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD de souris 6-OHDA

I. Introduction

L'ADHD est une maladie du développement largement associée à des déficits cognitifs, émotionnels, et comportementaux. Ses principaux symptômes sont l'impulsivité, l'hyperactivité, et l'inattention (**American Psychiatric Association, 2013**). Une caractéristique supplémentaire importante est celle des altérations du traitement sensoriel. Les patients ADHD présentent en effet des déficits dans le traitement sensoriel auditif, visuel, tactile et oral (**Raggio, 1999; Dunn et Bennett, 2002; Yochman et al., 2004**). Des études pharmacologiques et de l'imagerie ont mis en évidence le rôle du dysfonctionnement de la transmission dopaminergique dans la neurobiologie de l'ADHD, à la fois chez l'homme et chez des modèles animaux précliniques (**Swanson et al., 2007; Tripp et Wickens, 2009**). Des changements anatomiques et fonctionnels dans des aires liées à la dopamine, telles que les circuits frontaux-striataux, ont été démontrés (**Lou et al., 1989; Vaidya et al., 1998; Ernst et al., 1999; Schweitzer et al., 2000**). De plus, des études génétiques ont révélé des associations entre l'ADHD et des polymorphismes fonctionnels liés à la dopamine (**Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009; Hawi et al., 2010**).

Par ailleurs, un ensemble de données expérimentales et cliniques suggère que la dopamine est impliquée également dans le traitement de la douleur. Chez les rongeurs, il a été montré que la stimulation de la transmission dopaminergique par les agonistes de la dopamine et les amphétamines induit une analgésie (**Wood, 2008**). Chez l'Homme, une sensibilité accrue à la douleur a été démontrée chez les patients atteints de la maladie de Parkinson par rapport à des contrôles sains (**Lee et al., 2006**). Des conditions cliniques douloureuses telles que le *burning mouth syndrome*, la fibromyalgie, et le syndrome des jambes sans repos, sont potentiellement liées à des anomalies de la transmission dopaminergique (**Jaaskelainen et al., 2001; Cervenka, 2006; Wood et al., 2007**). De plus, quelques rapports cliniques ont montré que la L-DOPA peut réduire la douleur chez les patients présentant des métastases osseuses, des neuropathies diabétiques douloureuses, ou des infections par l'herpes zoster (**Dickey et Minton, 1972; Nixon, 1975; Kernbaum et Hauchecorne, 1981; Ertas et al., 1998**).

La plus grande réactivité sensorielle et les anomalies dopaminergiques mises en évidence chez les sujets ADHD peuvent entraîner des altérations de la perception de la douleur.

Des études récentes soulignent une hypersensibilité à la douleur à la fois chez les patients ADHD adultes ([Tiestler et al., 2013](#)) et chez les adolescents ([Wolff et al., 2016](#)) et suggèrent une comorbidité possible de l'ADHD avec la douleur. Ces différents auteurs ont évalué (1) la sensibilité à la douleur chez les sujets ADHD par rapport aux sujets sains et (2) les effets du méthylphénidate 'Mph' sur la réponse à la douleur chez les sujets ADHD. Ils ont montré que les patients ADHD présentent un seuil de douleur significativement abaissé, mais largement augmenté après traitement au Mph. Les auteurs suggèrent que les sujets ADHD sont plus sensibles à la douleur par rapport aux témoins et que le Mph peut exercer des effets antinociceptifs sur ces sujets. Toutefois d'autres travaux aboutissent à des conclusions contradictoires et soulignent l'absence d'altération de la perception douloureuse ([Egger et al., 1999](#)), ou même une diminution de cette perception ([Scherder et al., 2007](#)). Les effets de l'ADHD sur la perception douloureuse doivent donc encore être précisés, et l'étude des mécanismes et des circuits neuronaux sous-jacents n'a pas encore été abordée.

Ainsi, notre projet propose de développer chez un modèle animal ADHD l'existence de la comorbidité avec la douleur et d'étudier les mécanismes à l'origine des effets croisés entre ces deux pathologies, ainsi que les circuits, communs. L'objectif est d'améliorer la qualité de vie des patients et l'efficacité des traitements en ciblant non seulement la pathologie principale, mais aussi les comorbidités. Précédemment, nous avons généré un modèle de souris à P5 par une lésion néonatale des voies dopaminergiques centrales avec la 6-OHDA et nous avons démontré la validité du modèle pour mimer le syndrome ADHD ([Bouchatta et al., 2018](#); voir Chap. I & II). Les symptômes majeurs de l'ADHD étaient partiellement compensés par l'administration du méthylphénidate avec un effet dose qui confirme la spécificité des effets.

Le premier objectif de cette étude est d'analyser les comportements douloureux dans le modèle de souris 6-OHDA. Nous avons mesuré les réactions nociceptives aux stimuli thermiques et mécaniques en utilisant différents tests comportementaux. Nous avons également examiné si la déplétion en dopamine modifierait la sensibilité à la douleur dans les conditions de douleur persistante, plus précisément dans un modèle de douleur inflammatoire obtenu par injection intraplantaire d'adjuvant complet de Freund (CFA). Nous avons testé par la suite, à l'aide d'enregistrements extracellulaires unitaires, si les

modifications de la sensibilité à la douleur des souris 6-OHDA pouvaient être dues à une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière, et donc à la régulation des voies descendantes qui entraîne une altération de l'intégration sensorielle dans la moelle épinière. Bien évidemment, nous nous sommes demandés si le comportement douloureux et l'activité des neurones nociceptifs spinaux changeraient après l'administration du méthylphénidate aux différentes doses utilisées. Nous avons aussi évalué les symptômes ADHD dans les conditions de douleur persistante, afin de comprendre si la douleur peut influencer les symptômes d'ADHD.

« Est-ce que les dérèglements liés à l'apparition des symptômes d'ADHD provoquent une sensibilisation douloureuse comorbide? »

Enfin, notre dernier objectif est de mettre en évidence les circuits et les mécanismes qui sous-tendent les altérations de la douleur dans le modèle ADHD. Nous avons testé l'hypothèse avancée précédemment que les contrôles descendants sont responsables des altérations de la douleur par la modulation des circuits de la moelle épinière. Nous avons également essayé de préciser les aires cérébrales à l'origine de cette régulation des voies descendantes.

« Est-ce que le changement de l'activité des neurones nociceptifs de la moelle épinière est causée par un dysfonctionnement des contrôles descendants? »

« Si oui, quelles sont les zones du cerveau impliquées dans le dysfonctionnement de ces contrôles descendants? »

On sait que le cortex cingulaire antérieur (ACC) est une région clé dans l'ADHD et la douleur. Il est impliqué dans l'inattention et l'impulsivité (Bledsoe et al., 2013; Bonath et al., 2018) et envoie aussi des projections directes ou indirectes, vers la corne dorsale de la moelle épinière (Ouakil et al., 2011; Bliss et al., 2015). Nous avons donc testé l'hypothèse selon laquelle l'ACC est à l'origine des dysfonctionnements des contrôles descendants qui altèrent l'activité des neurones spinaux. Nous avons enregistré l'activité spontanée de l'ACC et les effets de l'activation / inhibition de l'ACC sur les réponses évoquées par des stimuli mécaniques dans les neurones nociceptifs de la moelle épinière. Dans un second temps, nous avons exploré par une approche optogénétique une région corticale

impliquée à la fois dans l'ADHD et la perception douloureuse, qui reçoit des projections en provenance de l'ACC, et qui pourrait contribuer au contrôle des voies descendantes.

II. Matériel et Méthodes

1. Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD

1.1. Animaux

Nous avons utilisé 120 souris mâles Swiss, élevées dans l'animalerie conventionnelle A1 de l'Université de Bordeaux, Bordeaux, France. Après la naissance, les souriceaux mâles restent avec leurs mères jusqu'au jour postnatal 5 (P5) où ils vont subir une lésion néonatale dopaminergique qui consiste en une injection intra-ventriculaire de la 6-Hydroxydopamine (6-OHDA).

Les protocoles expérimentaux ont été validés par le comité d'éthique local sous le numéro 13126C. Les animaux étaient maintenus en cycle jour-nuit normal (12h-12h), avaient un accès illimité à l'eau et à la nourriture et étaient régulièrement suivis par les animaliers et les personnes en charge des expériences. Aucun signe d'altération de l'état de santé des animaux (apparence du pelage, prostration) n'a été observé durant les expériences.

1.2. Modèle ADHD (Lésion néonatale 6-OHDA)

Les animaux utilisés ici sont des animaux ayant subi l'injection intracérébroventriculaire de la 6-OHDA à P5 (Voir la section chirurgie; Chap. I). Les animaux sont randomisés en deux groupes: groupe 6-OHDA et groupe sham (n=60 par groupe). Pour rappel, le modèle est obtenu par injection de la 6-OHDA (neurotoxine qui détruit spécifiquement les neurones dopaminergiques et induit une plasticité de l'innervation catécholaminergique qui se maintient à l'âge adulte) dans le ventricule latérale en période post natale (P5) chez la souris mâle. Le groupe sham a été injecté avec le véhicule de la 6-OHDA, l'acide ascorbique. Après l'injection, les souriceaux sont réchauffés à 37°C sur un coussin chauffant jusqu'à récupération, puis retournés à leurs mères jusqu'au sevrage.

1.3. Modèle inflammatoire (Injection du CFA)

La sensibilisation centrale à la douleur de type inflammatoire a été réalisée sur des souris à l'âge adolescence (P41 - 44), par injection de 20 µl de CFA (adjuvant de Freund complet) à P40. L'adjuvant de Freund est un mélange lipidique qui entre en jeu dans les techniques d'immunostimulation en provoquant une réaction immunitaire ([Bortalanza et al., 2002](#)). La forme complète (CFA), est composée de mycobactéries inactivées. Les animaux utilisés ici sont des animaux ayant subi la procédure suivante: l'animal est anesthésié par voie gazeuse à l'isoflurane (induction d'une minute avec 3% d'isoflurane), maintien de l'anesthésie au masque à 1% d'isoflurane pendant 1 à 2 min. Cette injection est faite en intraplantaire dans une des pattes postérieures (patte droite; **Fig. 35**). Le groupe contrôle est injecté avec le véhicule (NaCl 0.9%). L'injection dure quelques secondes et le réveil se fait très rapidement. La cage des animaux est maintenue sur une couverture chauffante durant 1 heure avant de retourner en box d'élevage. Le degré de l'hypersensibilité mécanique est évalué 24 heures après l'injection de CFA.

1.4. Tests de comportement douloureux

Tous les animaux sont évalués sur le plan comportemental de sensibilité à la douleur en mesurant leur seuil de retrait de la patte en réponse à une stimulation mécanique (test de Von Frey) ou thermique (test de la plaque chaude/froide). Les tests ont été réalisées de P40 à P44, de façon à avoir les données de sensibilité à la douleur avant et 4 jours après l'injection du CFA.

1.4.1. Test de Von Frey

Le test de Von Frey mesure les réponses de retrait de la patte à une gamme de stimuli mécaniques ([Chaplan et al., 1994](#); [Kwan et al., 2006](#); [Shang et al., 2015](#)). Les souris sont habituées au contexte expérimental (la chambre et le dispositif d'expérimentation) pendant trois jours consécutifs avant le test, durant 15 min/j. Les souris sont placées individuellement dans une cage (12 x 12 x 10 cm) dont le plancher est muni d'un filet métallique maillé (carrés de 5 x 5 mm) (**Fig. 35**).

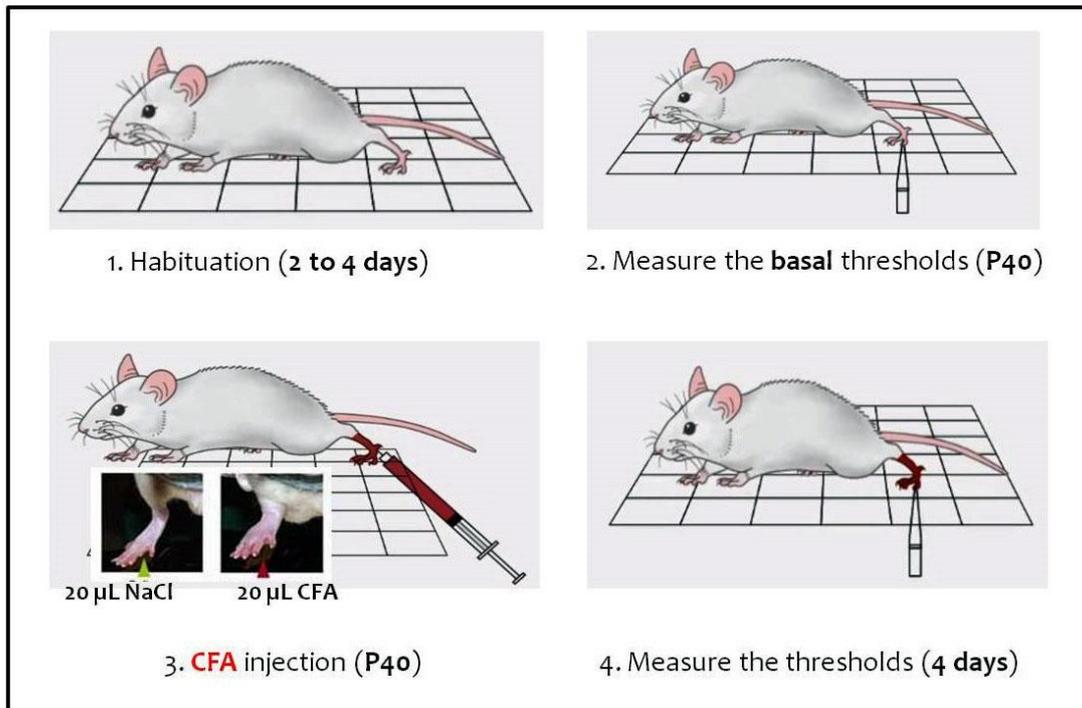


Fig. 35: Modèle de douleur inflammatoire et évaluation de la sensibilité mécanique chez la souris (injection du CFA dans la partie postérieure droite).

Une série de monofilaments de Von Frey, avec des forces de flexion croissantes allant de 0.02 à 8.0 g, a été utilisée pour délivrer une pression mécanique à la patte postérieure droite. Chaque filament est appliqué pendant 2-3 secondes, sept fois de suite. La réponse douloureuse est caractérisée par un retrait vif de la patte. Si l'animal ne réponds pas à au moins 4 stimulations sur 7, le filament de force suivante est testé, et ainsi de suite.

1.4.2. Test de la plaque chaude/froide (Hot/Cold plate)

Ce test consiste à évaluer le degré de la sensibilité thermique (Kwan et al., 2006; Shi et al., 2010). Le dispositif (Bioseb, Model LE 7406) consiste en une plaque métallique chauffante (20 cm de diamètre) surmontée d'un cylindre en polyester transparent (20 cm x 25 cm). Les souris sont placées sur la plaque ajustée à une température constante (froid 5°C ou chaleur 55 ± 1°C) pendant une durée maximale de 30 secondes (pour ne pas endommager la patte) (Fig. 36). La latence au premier retrait de la patte ou le saut a été enregistrée comme un indice de signe de nociception.

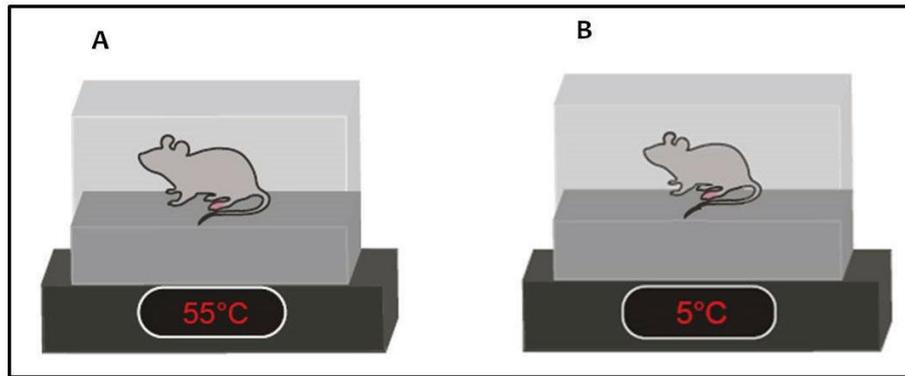


Fig. 36: Evaluation de la sensibilité thermique chez les différents groupes expérimentaux. **A.** Plaques chaudes à température ajustée à 55°C. **B.** Plaques froides à température ajustée à 5°C.

1.5. Traitement médicamenteux de l'ADHD (injection du Méthylphénidate)

Le méthylphénidate (MpH) ou le véhicule ont été administrés par voie intrapéritonéale (i.p. 10 ml/kg dans une solution à 0.9% de NaCl) 45 minutes avant tous les tests comportementaux. Un plan d'étude (Fig. 37) est désigné de sorte que trois sous-groupes différents ont été considérés (véhicule, MpH 3.0 ou 5.0 mg/kg). Au total 12 groupes d'animaux sont concernés (n=10).

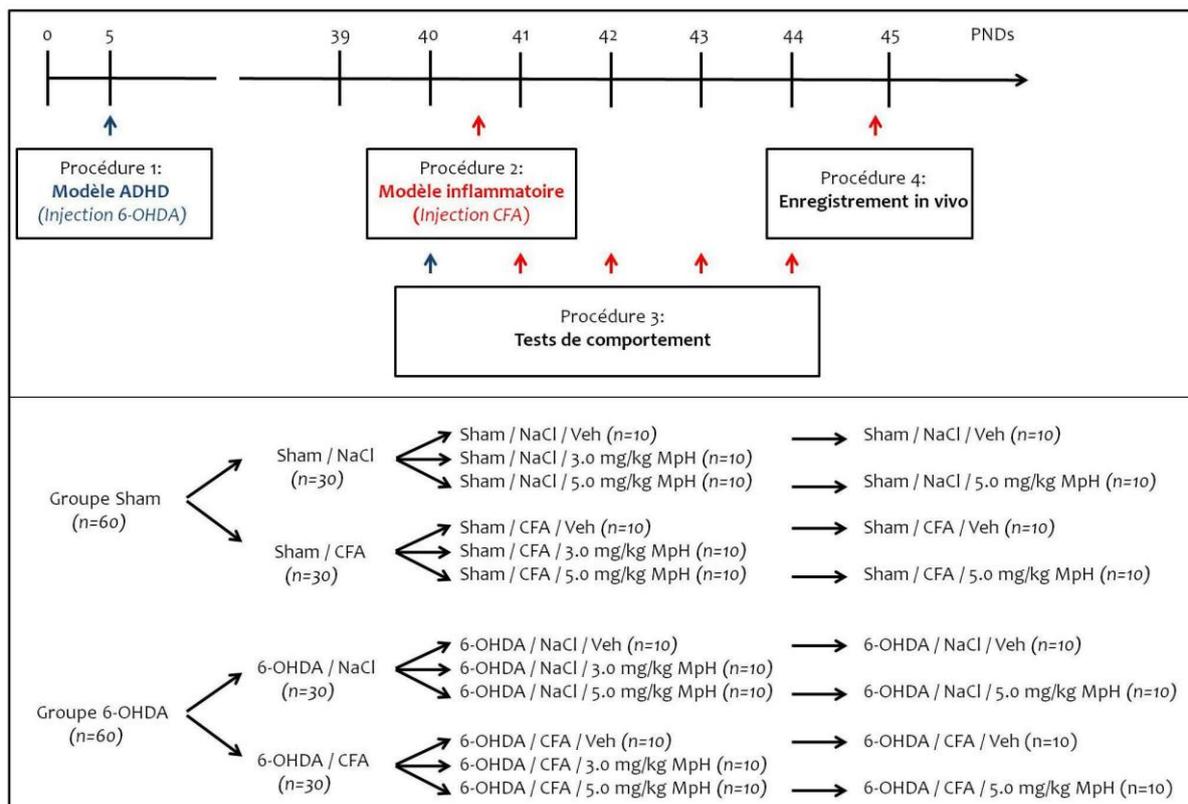


Fig. 37: Diagramme de conception de l'étude avec les différents groupes expérimentaux.

1.6. Enregistrement unitaire *in vivo* des neurones nociceptifs spinaux

L'animal est anesthésié par injection intrapéritonéale de l'uréthane (20%) à la dose (1mg/kg). La profondeur de l'anesthésie est évaluée par l'absence de réflexes nociceptifs après pincement de la patte. La température vitale de l'animal est maintenue constante à $37.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ à l'aide d'une couverture homéotherme. L'animal est placé dans un cadre stéréotaxique (Unimécanique, France) et la colonne vertébrale est maintenue stable à l'aide de pinces de part et d'autre de la zone d'intérêt (**Fig. 38A**). La moelle épinière est exposée par une laminectomie au niveau des vertèbres T13 et L1 (**Fig. 38B**). Une électrode en tungstène de 8 - 10 M Ω , 75 μm de diamètre est insérée avec un micromanipulateur (View Point, France) dans la corne dorsale **ipsilatérale** de la patte arrière droite. L'activité des neurones est observée en touchant la patte. Après une recherche des neurones répondant à des stimuli douloureux (pincement) et non douloureux (brosse) appliquées sur le champ récepteur à la patte arrière ipsilatérale, ils ont été classés en 3 groupes:

- Neurones qui répondent à l'augmentation de l'intensité du stimulus, caractérisés comme wide dynamic range (WDR).
- Neurones qui répondent seulement aux stimuli nociceptifs, appelés nociceptif spécifique.
- Neurones qui répondent seulement au toucher léger, nommés à bas-seuil.

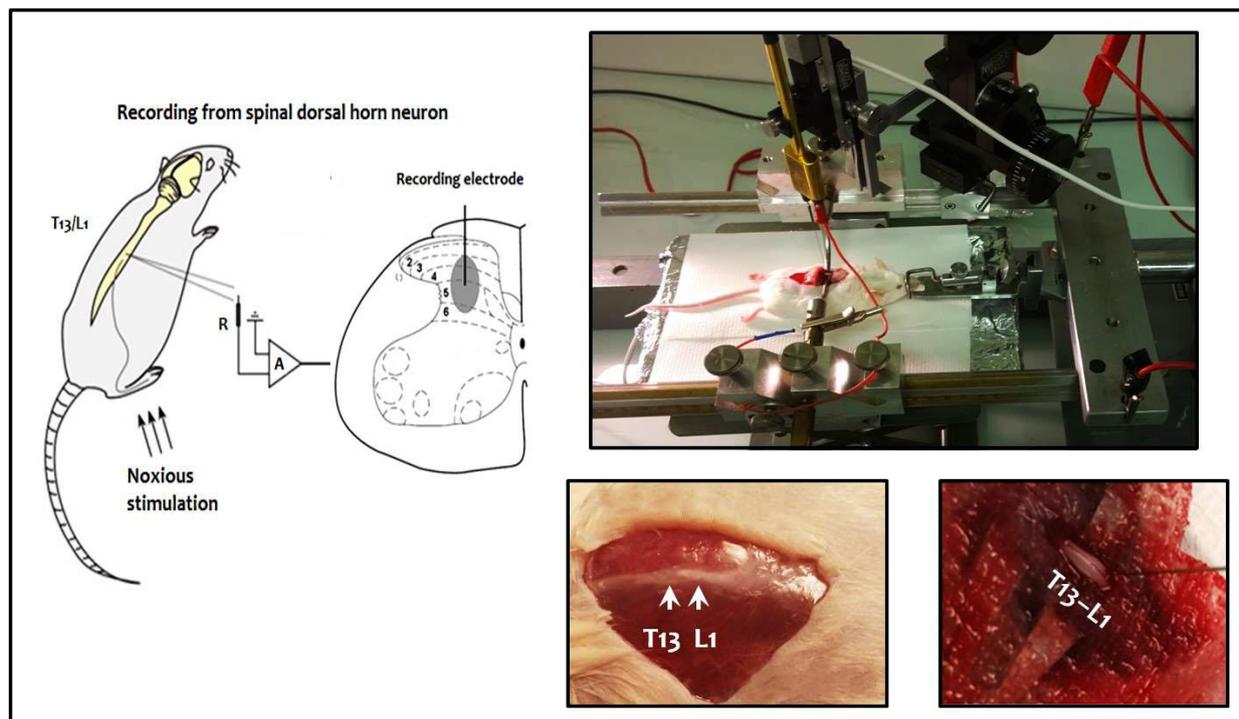


Fig. 38: Enregistrement unitaire (*Single unit*) des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière.

A. Poste d'électrophysiologie *in vivo* pour la souris. **B.** Partie T13/L1 de la moelle épinière.

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité unitaire uniquement des neurones WDR. Après l'identification de ce type cellulaire, une série de monofilaments Von Frey avec des forces de flexion croissantes allant de 0.02 à 8.0 g a été utilisée pour délivrer une pression mécanique à la patte postérieure droite. Chaque filament est appliqué trois fois pendant 2 - 3 secondes. La réponse à chaque stimulus mécanique est mesurée en nombre de potentiels d'action par seconde (Senapati et al., 2005). Les signaux enregistrés sont filtrés en bande passante entre 300 - 8000 Hz, et amplifiés x 10000 (Dam-80, Plexon Inc). Les données sont acquises sur un ordinateur via une interface CED 1401 et analysées par le logiciel Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Juste après que nous avons enregistré l'activité de base du neurone WDR à la 1^{ère} série de Von Frey, le MpH (5.0 mg/kg) ou véhicule (NaCl 0.9%) est injectée en i.p, la stimulation mécanique est appliquée dans le champ récepteur de la patte postérieure droite chaque 10 min et l'enregistrement se poursuit 1h30.

2. Comorbidité ADHD - Douleur

2.1. Animaux

Nous avons utilisé 120 souris mâles Swiss, élevées dans l'animalerie centrale de l'Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc. Tous les efforts ont été faits pour minimiser toute souffrance animale.

2.2. Conception de l'étude

Les animaux utilisés ici sont des animaux ayant subi une injection intracérébroventriculaire de la 6-OHDA à P5 (Voir la section chirurgie; Chap. I). Les animaux sont randomisés en deux groupes: groupe 6-OHDA et groupe sham (n=60 par groupe). La douleur de type inflammatoire a été réalisée par injection de CFA (Voir la 1^{ère} partie; Chap. III) à différents âges en fonction des symptômes type-ADHD (**Fig. 39A**). Les groupes sham et 6-OHDA ont été subdivisés en deux sous-groupes (NaCl et CFA; n=30 par groupe). Pour cela, nous avons réalisés les tests de comportement ADHD (Voir la section tests de comportement; Chap. I) sur trois lots d'animaux (Sham ou 6-OHDA / NaCl ou CFA ; n=10): 1^{er} lot destiné pour évaluer l'activité locomotrice (test de l'Open Field; P24), le 2^{ème} pour les symptômes discrets de l'ADHD (test de l'EPM, SI et NOR; P40 - 46) et le 3^{ème} pour l'inattention et l'impulsivité (test du 5-CSRTT ; P97 - 101) (**Fig. 39B**). Tous les tests comportementaux ont été effectués pour tous les animaux entre 8:00 et 12:00 h pour éviter toute fluctuation liée au rythme circadien dans la performance des animaux. Avant d'introduire chaque souris dans l'un des dispositifs expérimentaux, celui-ci est nettoyé avec une solution de l'éthanol à 75% pour éliminer toute trace d'odeur.

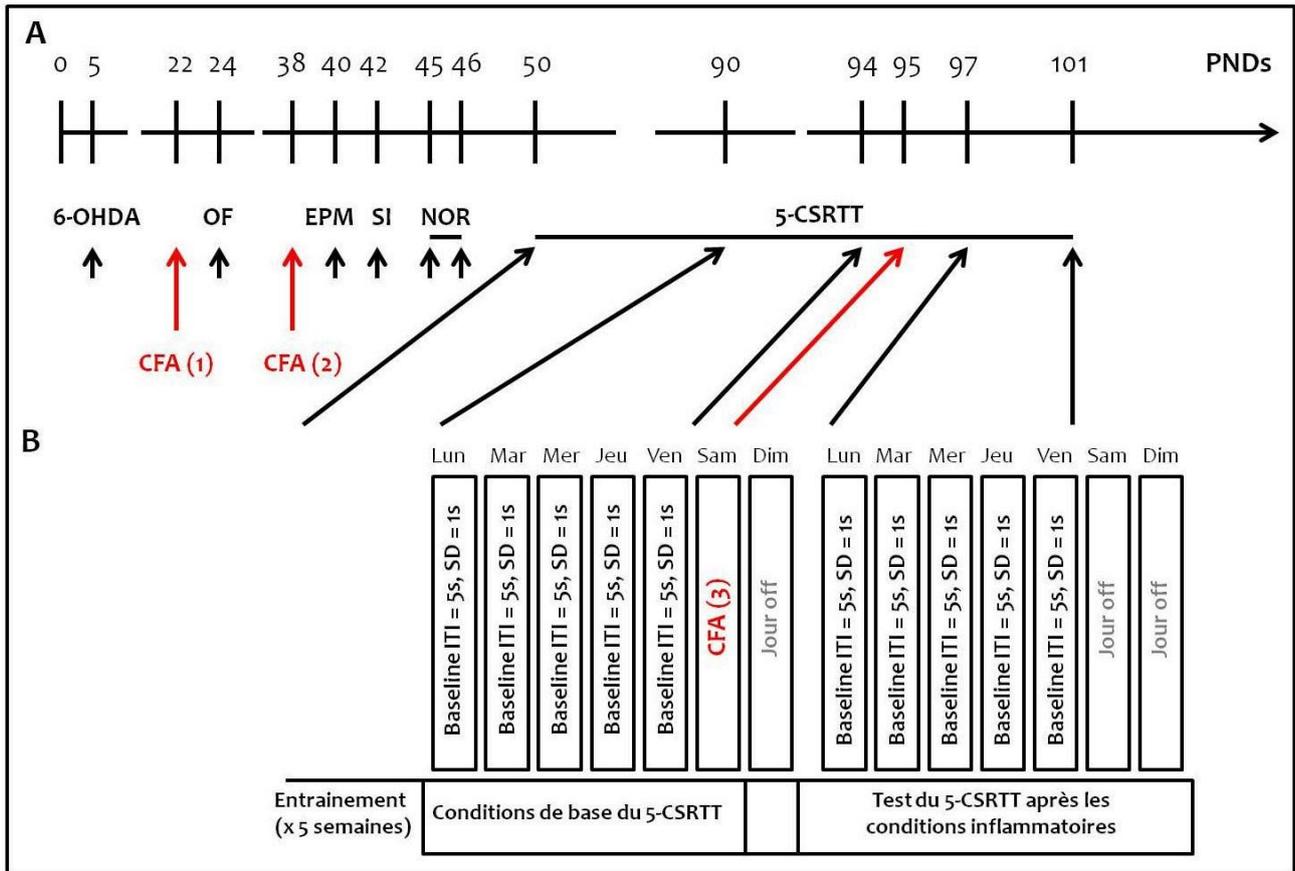


Fig. 39: Conception de l'étude de comorbidité ADHD – douleur avec les différents groupes expérimentaux.

A. Diagramme du déroulement de l'évaluation comportementale type-ADHD avec l'induction de douleur inflammatoire: 1^{er} lot a été injecté au CFA à P22 et évalué dans le test de l'Open field (OF) à P24. Le 2^{ème} a été injecté à P38 et évalué dans le test de l'EPM (à P40), SI (P42) et NOR (P45 - 46). Le 3^{ème} lot a été injecté à P95 après avoir fini l'entraînement du 5-CSRTT (entre P50 - 90). Nous avons évalué l'inattention et l'impulsivité 4 jours avant (P90 - 94) et après (P97 - 101) CFA. **B.** Conception du 5-CSRTT. Les animaux ont été évalués dans les conditions de base du 5-CSRTT (ITI = 5 s et SD = 1 s).

3. Dysfonctionnement des voies descendantes de la douleur

3.1. Dysfonctionnement de l'ACC dans l'ADHD

3.1.1. Animaux

Nous avons utilisé 40 souris mâles Swiss, élevées dans l'animalerie conventionnelle A1 de l'Université de Bordeaux, Bordeaux, France. Après la naissance, les souriceaux mâles restent avec leurs mères jusqu'au jour postnatal 5 (P5) où ils vont subir une lésion néonatale dopaminergique à la 6-OHDA (Voir la section chirurgie; Chap. I). Les protocoles expérimentaux ont été validés par le comité d'éthique local sous le numéro 13126C. Les

animaux étaient maintenus en cycle jour-nuit normal (12h-12h), avaient un accès illimité à l'eau et à la nourriture et régulièrement suivis par les animaliers et les personnes en charge des expériences. Aucun signe d'altération de l'état de santé des animaux (apparence du pelage, prostration) n'a pu être observé durant les expériences.

3.1.2. Electrophysiologie unitaire *in vivo*

3.1.2.1. Enregistrement de l'activité des neurones de l'ACC

À P40, l'animal est anesthésié par injection intrapéritonéale de l'uréthane (20%) à la dose (1 mg/kg). La profondeur de l'anesthésie est évaluée par l'absence de réflexes nociceptifs après pincement de la patte. La température vitale de l'animal est maintenue constante à $37.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ à l'aide d'une couverture homéotherme. Après avoir fixé la souris dans le cadre stéréotaxique, une craniotomie d'environ 1 mm de diamètre est faite sous la loupe binoculaire avec une fraise pneumatique. Le crâne est ensuite mis à nu, une électrode en tungstène de 8 - 10 M Ω , 75 μm de diamètre est insérée dans le côté **gauche** du cortex cingulaire antérieur ([AP] +0.7, [ML] -0.3 et [DV] -1.5 mm) selon les coordonnées stéréotaxiques de l'Atlas de **Paxinos et Franklin (2001)**. Brièvement, le bregma est repéré et un capillaire de verre est positionné sur le bregma, il s'agit du point o. À partir de ce point o la tour à stéréotaxie est déplacée vers le point cible à partir du Bregma. Au point indiqué par les coordonnées, un trou est réalisé dans la boîte crânienne à l'aide d'une fraiseuse à os. L'électrode d'enregistrement est ensuite avancée dans l'ouverture jusqu'à la surface du tissu nerveux, puis descendue dans la structure cible (ACC) selon les coordonnées stéréotaxiques. Une fois la décharge d'un neurone est identifiée, l'enregistrement de l'activité unitaire spontanée est lancé pendant 45 min. Ensuite, nous enregistrons l'activité évoquée par des stimuli mécaniques portés à la patte postérieure, **côté droit**. Les signaux enregistrés sont filtrés en bande passante entre 300 - 8000 Hz, et amplifiés x 10000 (Dam-80, Plexon Inc). Les données sont acquises sur un ordinateur via une interface CED 1401 et analysées par le logiciel Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK).

3.1.2.2. Enregistrement des neurones WDR en manipulant l'ACC

Nous avons évalué l'activité des neurones nociceptifs de la moelle épinière (comme décrit dans la 1^{ère} partie; Chap. III) en réponse aux stimulations mécaniques dans la patte postérieure de l'animal. Après avoir identifié un neurone WDR dans la corne dorsale de la patte ipsilatérale **droite**, nous avons procédé à différentes manipulations de l'ACC (côté **gauche**). Deux lots comprennent un groupe sham et un groupe 6-OHDA (n=10, pour chaque groupe), ont été utilisés pour cette expérimentation: le 1^{er} destiné pour la stimulation électrique et le 2^{ème} pour l'inhibition pharmacologique de l'ACC.

Stimulation électrique de l'ACC: une électrode de stimulation bipolaire (0.15 mm OD; model MS308/SPC; PlasticsOne, Roanoke, USA) est placée dans l'ACC (**Fig. 40A**). La stimulation électrique à l'ACC est réalisée avec des impulsions rectangulaires (durée d'impulsion de 100 µs; fréquence de 100 Hz; des intensités de 10, 20 et 30V) d'une durée de 1s. Les périodes de stimulation totales sont de 10s. Nous avons évalué d'abord l'activité neuronale de base du neurone WDR en réponse aux stimulations mécaniques de Von Frey avant la stimulation de l'ACC, juste après la fin de chaque intensité électrique et toute la période de recouvrement de l'activité électrique de base du neurone WDR.

Inhibition pharmacologique de l'ACC: pour l'infusion intra-ACC, 1 µl de muscimole (1 µg/µl) ou une solution saline est administré dans les 90 s à l'aide d'une micropipette en verre fixée à une pompe (**Fig. 40B**). Nous avons évalué l'activité neuronale de base du neurone WDR en réponse aux stimulations mécaniques de Von Frey avant l'injection pharmacologique dans l'ACC et après chaque 10 min durant 1h30 post-injection du muscimol.

Après avoir obtenu un enregistrement stable pour un neurone de la moelle épinière, nous avons appliqué une stimulation ou une inhibition de l'ACC et nous avons observé l'effet induit par la stimulation ou l'inhibition sur le neurone WDR. Que la procédure soit terminée ou non avec succès, nous ne cherchons pas à enregistrer plus de neurones chez le même animal, car la manipulation de l'ACC peut modifier l'activité basale des autres neurones spinaux. Ainsi, le nombre de neurones enregistrés et d'animaux utilisés était le même.

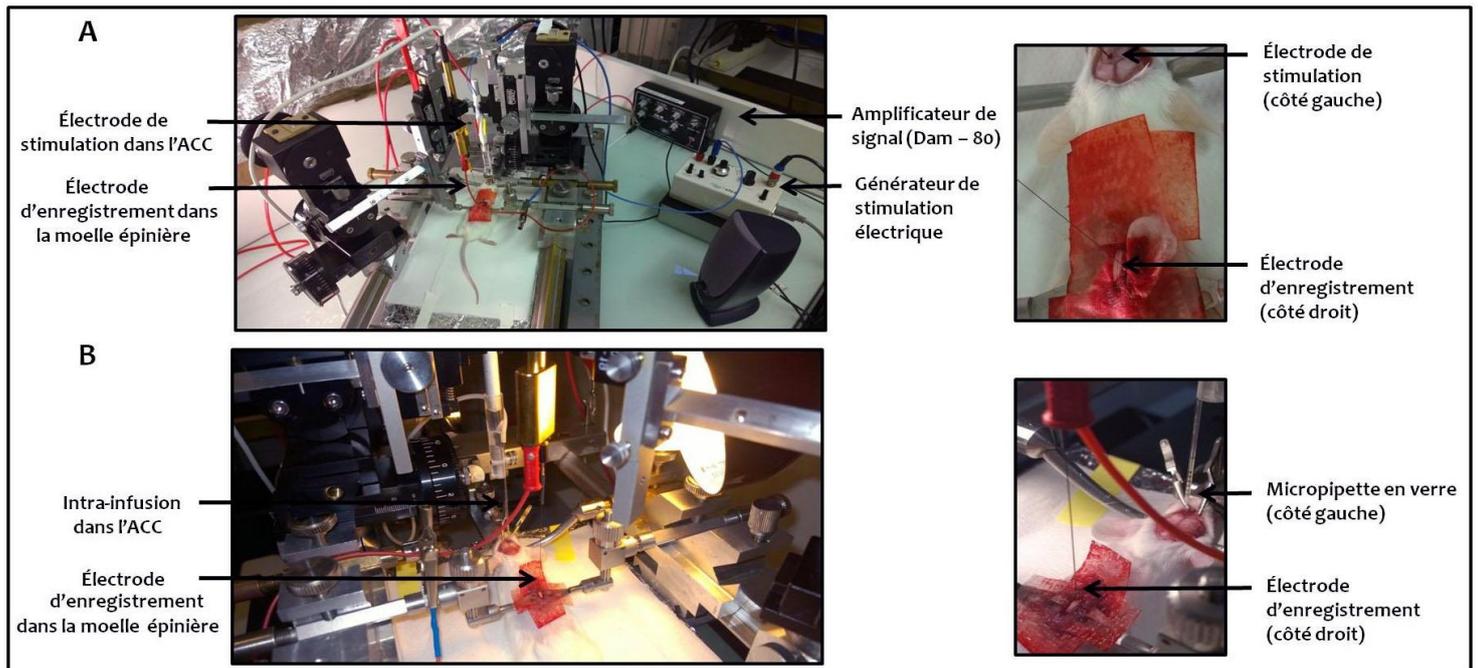


Fig. 40: Effet de l'ACC en controlatérale sur l'activité neuronale des neurones WDR de la moelle épinière en réponses aux stimulations mécaniques (filaments de Von Frey) de la patte ipsilatérale droite.

A. Stimulation électrique de l'ACC. **B.** Inhibition pharmacologique (infusion du muscimol).

3.2. Dysfonctionnement de la voie excitatrice 'ACC - PI' dans l'ADHD

3.2.1. Animaux

Nous avons utilisé 144 souris mâles Swiss, élevées dans l'animalerie conventionnelle A1 de l'Université de Bordeaux, Bordeaux, France. Les protocoles expérimentaux ont été validés par le comité d'éthique local sous le numéro 13126C.

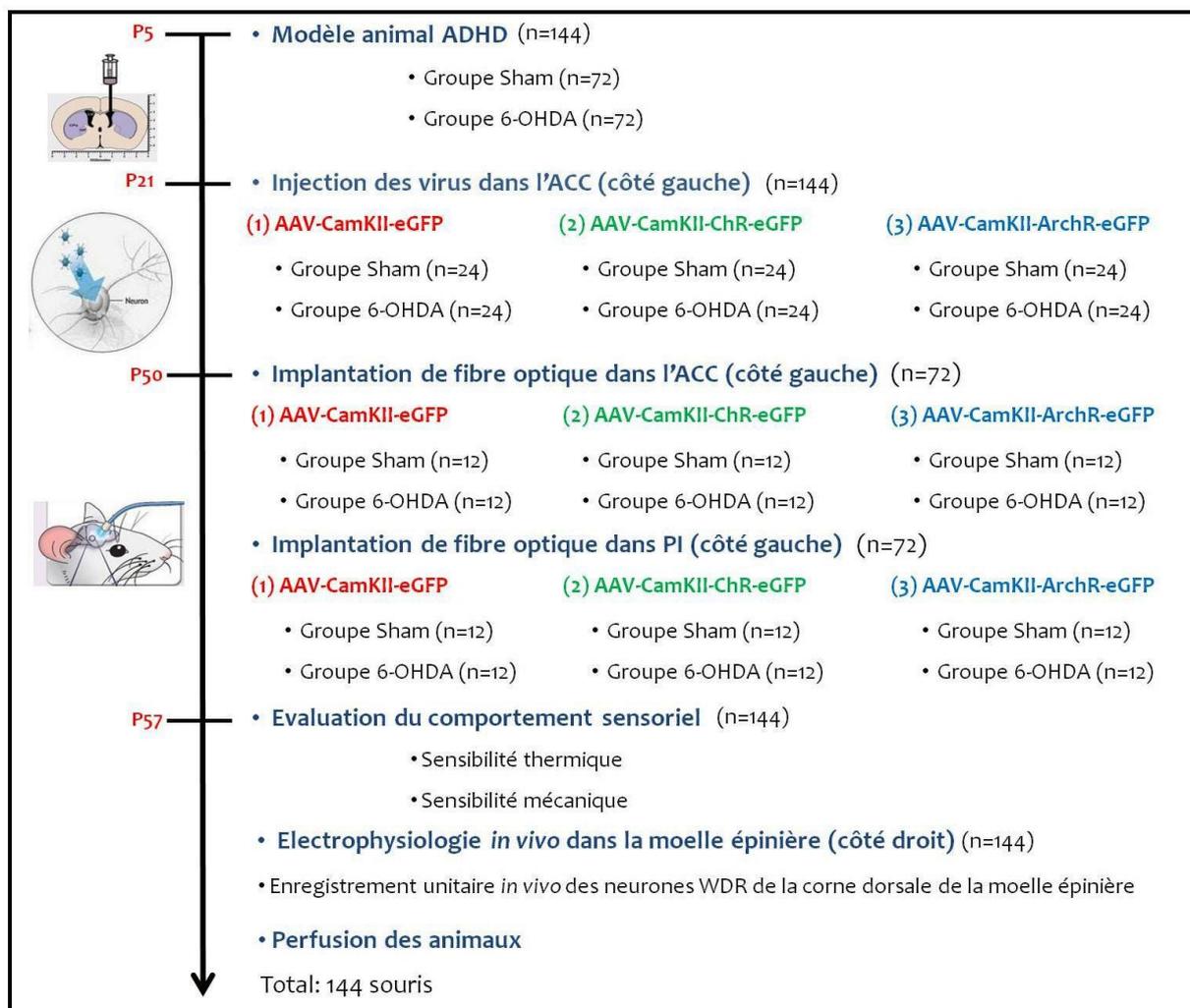


Fig. 41: Diagramme du déroulement de l'expérimentation optogénétique.

3.2.2. Chirurgie

Les animaux utilisés ici sont des animaux ayant subi l'injection intracérébroventriculaire de la 6-OHDA à P5 (Voir la section chirurgie; Chap. I). Les animaux sont randomisés en deux groupes: groupe sham et groupe 6-OHDA (n=72 par groupe).

3.2.2.1. Micro-injection intracérébrale de virus

Cette procédure a pour objectif d'injecter des virus (AAV5.CamkII.ChR2/ArchT3.o.eGFP) dans l'ACC à P21 sur des animaux sham et 6-OHDA.

Les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'isoflurane (à 3% dans une chambre d'induction ensuite à 2% sous masque). La profondeur de l'anesthésie est évaluée par

l'absence de réflexes nociceptifs après pincement de la patte. Avant la chirurgie et à la fin de procédure, les animaux reçoivent une injection d'analgésique buprénorphine à 0.1 mg/kg en sous cutanée pour éviter les douleurs post chirurgicales. Avant et après toute procédure chirurgicale, le matériel est nettoyé et désinfecté. L'opérateur porte obligatoirement blouse et gants, les mains sont désinfectées. Les animaux reçoivent une application d'un onguent ophtalmique (Ocry-gel, Lab TVM, France) pour éviter la déshydratation oculaire. La peau du crâne est rasée et de la bétadine est appliquée sur la peau du crâne pour éviter les infections de la plaie. Une injection de lidocaïne à 1% (100 µl) est faite sous le scalp. La peau est coupée avec un scalpel stérile. Une craniotomie d'environ 1 mm de diamètre a été faite sous la loupe binoculaire avec une fraise pneumatique. Un capillaire de verre est alors descendu dans l'ACC. L'injection est ensuite effectuée selon les coordonnées stéréotaxiques définies par une étude pilote menée chez plusieurs animaux (n=15). Une fois dans la zone d'intérêt, le virus est éjecté du capillaire à l'aide d'une minipompe délivrant un volume de 50 nl/min. Le volume total injecté est de 500 nl de la solution initiale de virus (AAV5.CamKII.ChR2.eGFP: 1×10^{13} ; AAV5.CamKII. ArchT3.o.eGFP: 3×10^{12} ; AAV5.CamKII.eGFP: 1×10^{13}) dans le côté **gauche** de l'ACC ([AP] +1.0 mm de bregma, [ML] -0.3 mm, [DV] -0.9 mm). Après l'injection, l'aiguille a été maintenue en place pendant 5 min supplémentaires pour faciliter la diffusion du virus et ensuite la plaie est suturée. Les animaux sont réchauffés en plaçant la cage sur une couverture chauffante à 37°C jusqu'au réveil. Ils sont gardés sous surveillance durant 2h et ensuite ramenés à l'animalerie. Plusieurs groupes ont été réalisés pour vérifier l'expression du gène d'intérêt à différents temps. Pour les expériences de comportement et d'électrophysiologie, les souris ont été utilisées après quatre semaines permettant une expression maximale du virus.

3.2.2.2. Implantation de fibres optiques

Cette procédure a pour objectif d'implanter les fibres optiques dans l'ACC ou la PI à P50 sur des animaux sham et 6-OHDA.

Deux lots ont été utilisés: le 1^{er} groupe implanté au niveau de l'ACC et le 2^{ème} dans la PI. Quatre à cinq semaines après l'injection de virus, les animaux ont été anesthésiés et fixés dans le cadre stéréotaxique comme décrit précédemment. Une craniotomie a été réalisée

en forant un trou. Ensuite, la canule en fibre de verre simple, de 1.7 ou 4 mm de long et d'un diamètre de 220 µm (MFC_220 / 250-0.66_1.7 mm_RM3_FLT, lentilles doriques, Québec, Canada) a été implantée dans l'ACC ou la PI du côté **gauche**, respectivement. Les coordonnées stéréotaxiques de l'ACC et de la PI ont été fixées à: (ACC/PI: [AP] +0.7/+0.3 mm de bregma, [ML] -0.3/-3.8 mm, [DV] -1.7/-4 mm). La canule a été implantée dans le crâne avec une couche de colle cyanoacrylate suivie d'un ciment dentaire jusqu'à ce que 1.5 ou 3.8 mm de fibre optique soit insérés dans le cerveau, couvrant toute la zone verticale de l'ACC ou de la PI, respectivement. Les animaux sont réchauffés en plaçant la cage sur une couverture chauffante à 37°C jusqu'au réveil. Ils sont gardés sous surveillance durant 2h et ensuite ramenés à l'animalerie.

Après la chirurgie, les souris bénéficient d'au moins 7 jours de récupération avant de débiter le protocole expérimental. Pendant cette période, les animaux sont pesés, manipulés et habitués à la contention quotidiennement afin de déceler tout incident postopératoire.

3.2.3. Tests de comportement douloureux

Tous les animaux ont été évalués sur le plan comportemental pour tester leur sensibilité à la douleur en mesurant leur seuil de retrait de la patte en réponse à une stimulation mécanique (test de Von Frey) et les latences de retrait de la patte en réponse à une stimulation thermique (test plantaire). Les tests ont été réalisés à P49 et à P57, de façon à avoir les données de sensibilité à la douleur le jour avant la chirurgie de l'implantation de fibre optique et après 7 jours de récupération.

3.2.3.1. Sensibilité mécanique (von Frey)

Les souris ont été testées pour les réponses aux stimuli mécaniques (Von Frey; 0.02 à 8.0 g) comme décrit précédemment (Voir la 1^{ère} partie; Chap. III; **Fig. 42**). Pour l'évaluation du seuil de retrait de la patte, les stimuli mécaniques ont été appliqués bilatéralement sur les pattes arrière des souris.

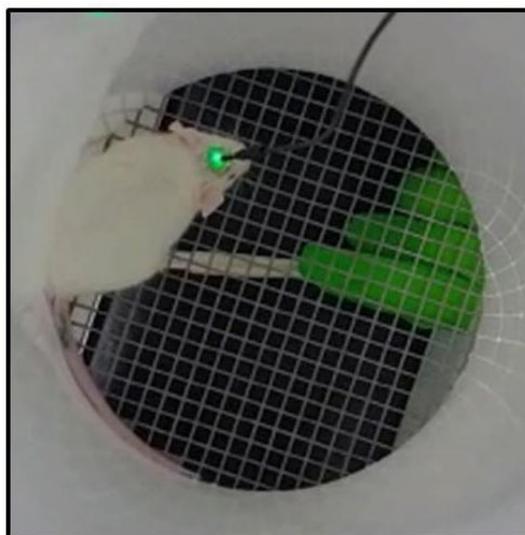


Fig. 42: Test de Von Frey chez la souris en réponses aux manipulations optogénétiques.

3.2.3.2. Sensibilité thermique (Hargreaves)

Pour évaluer l'hyperalgésie thermique, la réactivité à une stimulation thermique nociceptive brève est mesurée à l'aide d'un test plantaire (Plantar Analgesia Meter, Bioseb, France). Cette technique implique l'application d'un faisceau de chaleur radiante sous la patte de l'animal et la mesure du temps nécessaire au retrait (O'Brien et al., 2013). Elle permet aussi de mesurer le degré de l'inconfort de l'animal en réponse à la chaleur par le nombre de léchage du membre lésé. Comme pour le test de Von Frey, l'animal était placé dans la boîte transparente et libre d'explorer pendant 10 minutes (Fig. 43). Le stimulus thermique est appliqué sous la patte postérieure à travers le plancher de la boîte, lorsque l'animal cesse d'explorer. L'intensité du stimulus est ajustée pour générer des latences moyennes de base de 10 à 12 secondes. Si l'animal ne répond pas après 20 secondes la chaleur est arrêtée pour ne pas endommager les tissus. Nous avons appliqué la source de chaleur radiante bilatéralement sur les pattes arrières et nous avons mesuré la latence pour évoquer un retrait.

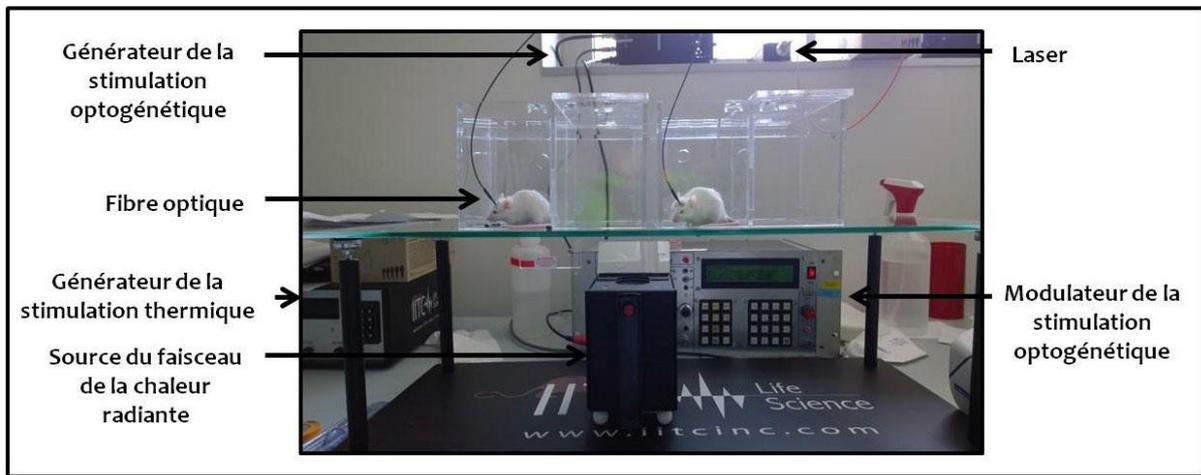


Fig. 43: Test Plantaire pour la souris en réponses aux stimulations optogénétique.

3.2.4. Manipulations optogénétiques

Pour le protocole de l'optogénétique, la lumière a été délivrée pendant 3 minutes. Dans le cas de l'activation, il y avait deux sessions 'off' et une session 'on' (off-on-off). Pendant la session « on » la lumière bleue (473 nm) était émise à une fréquence de 2 Hz (impulsion de 5 ms), avec une intensité de 15 mW/mm^2 à la pointe de la fibre optique. Dans le cas de l'inhibition, il y avait deux sessions 'off' et une session 'on' (off-on-off). Pendant la session « on », la lumière jaune (575 nm) était émise de manière continue avec une intensité de 10 mW/mm^2 (Zhang et al., 2007; Madisen et al., 2012; Kang et al., 2015). Le seuil de retrait de la patte a été mesuré à plusieurs reprises lors des sessions 'off' et 'on' et les moyennes ont été calculées.

3.2.5. Electrophysiologie *in vivo* dans la corne dorsale de la moelle épinière

Après l'évaluation de la sensibilité douloureuse par les tests de comportements, nous avons procédé à l'enregistrement de l'activité unitaire des neurones WDR de la moelle épinière (Voir la 1^{ère} partie; Chap. III) en manipulant optogénétiquement la partie controlatérale de l'ACC ou de la PI de la même manière que pour les expériences *in vivo*. Après l'identification d'un neurone WDR, nous avons enregistré l'activité neuronale en réponse aux stimulations mécaniques de la patte postérieure de l'animal avant ('off'), pendant ('on') et après ('off') la stimulation optogénétique de l'ACC ou de la PI (la récupération (*recovery*) a été évaluée en réalisant des enregistrements toutes les 2 min pendant 15 min après l'arrêt de la stimulation optogénétique). Nous avons limité nos

enregistrements à un seul neurone par animal car la manipulation de l'ACC peut modifier l'activité basale des autres neurones spinaux. Ainsi, le nombre de neurones enregistrés et d'animaux utilisés était le même.

Pour toutes les expériences de comportement et d'électrophysiologie *in vivo*, l'expression virale et les emplacements de fibres optiques ont été vérifiées post-mortem. Toutes les souris ayant une expression virale inadéquate, ou une fibre implantée en dehors de la zone d'intérêt ont été exclues des analyses statistiques.

3.2.6. Immunohistochimie

Quatre à cinq semaines après l'injection, les souris ont été anesthésiées et perfusées avec 0.1 mol/L de PBS (pH 7.2 – 7.4) via l'aorte ascendante suivies de 4% de paraformaldéhyde dans 0.1 M de PB (pH 7.4). Le cerveau a ensuite été disséqué et cryoprotégé dans du PB 0.1 M contenant 12% de saccharose pendant une nuit à 4°C. Des coupes transversales (30 µm d'épaisseur) d'échantillons de cerveau contenant l'ACC et la PI ont été réalisées sur un microtome à congélation et recueillies en série. Ensuite, les sections ont été utilisées pour l'immunomarquage de la GFP. En résumé, des coupes ont été incubées de manière séquentielle avec des antisérums de chèvre IgG anti-GFP (1: 500, ab104139, Abcam) et des IgG anti-chèvre conjugués à de l'Alexa-488 (1: 1000, ab150133, Abcam). Les coupes ont ensuite été rincées dans du PBS, montées sur des lames de verre, séchées à l'air, recouvertes d'un matériau de montage à base de Fluoroshield. Les signaux ont été visualisés au microscope confocal (Leica Microsystems) avec le filtre approprié pour l'Alexa-488 (excitation 495 nm; émission 519 nm).

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SigmaPlot 11.0 (SigmaStat, Systat Software Inc, San Jose, CA, USA). Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm SEM, avec considération du $p < 0.05$ comme seuil de signification statistique. Le test de *t-Student* a été utilisé pour les comparaisons simples à deux échantillons (l'activité spontanée de l'ACC). ANOVA Two-way à mesures répétées a été utilisée pour les comparaisons multiples (l'activité évoquée de l'ACC). ANOVA Two-way suivie par le test *post-hoc* Tukey a été réalisée pour évaluer le comportement ADHD (avec

CFA) et douleur (sans CFA). Une analyse factorielle de variance ANOVA à deux facteurs et à mesures répétées, suivie d'une comparaison multiple par le test *post-hoc* Tukey a été utilisée pour analyser les performances du 5-CSRTT, le comportement douloureux (avec CFA) et les analyses d'électrophysiologiques *in vivo* dans la moelle épinière. Pour les manipulations optogénétiques, le test *t-student* paired est utilisé pour analyser le comportement douloureux et ANOVA Two-way à mesures répétées pour les analyses d'électrophysiologiques dans la moelle épinière.

III. Résultats

1. Hypersensibilité à la douleur chez le modèle ADHD

1.1. Mise en évidence d'un abaissement des seuils de la douleur chez les souris 6-OHDA

Nous avons analysé les réactions nociceptives des souris 6-OHDA aux stimuli thermiques et mécaniques en utilisant le test de la plaque chaude/froide et de Von Frey, respectivement (**Fig. 44**).

Nous avons d'abord évalué la sensibilité thermique des souris 6-OHDA et sham par le test de la plaque chaude et froide (*Hot/Cold plate*). L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs est réalisée en considérant la lésion (6-OHDA) et le traitement (M_{pH}) comme deux facteurs principaux. Les résultats montrent un effet significatif de la lésion ($F_{(1,54)} = 47.80$ et $F_{(1,54)} = 53.70$; $p < 0.001$), alors que le traitement n'a pas d'effet ($F_{(2,54)} = 1.18$ et $F_{(2,54)} = 0.02$; $p > 0.05$). La latence de léchage des pattes chez les souris 6-OHDA apparaît significativement plus courte aussi bien sur la plaque chaude (10.81 ± 0.89 s vs. 16.07 ± 0.90 s, $p < 0.01$; **Fig. 44A**) que froide (12.51 ± 0.66 s vs. 16.60 ± 0.83 s, $p < 0.01$; **Fig. 44B**) par rapport aux souris sham.

Nous avons ensuite mesuré la sensibilité mécanique des souris 6-OHDA et sham par le test de Von Frey. L'analyse statistique des données par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et traitement) montre un effet significatif de la lésion ($F_{(1,54)} = 82.13$; $p < 0.001$), tandis que le traitement n'a aucun effet significatif ($F_{(2,54)} = 0.34$; $p > 0.05$). Le test de Von Frey montre une diminution significative des seuils de douleur chez les souris 6-OHDA (1.26 ± 0.10 g vs. 1.88 ± 0.08 g, $p < 0.001$; **Fig. 44C**) en comparaison avec les souris sham. Pris

ensemble, ces données indiquent que la lésion abaisse les seuils de sensibilité douloureuse. Nous avons aussi évalué la capacité du MpH à modifier les seuils douloureux chez les souris 6-OHDA. Aucune des doses de 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg de MpH n'influence la sensibilité thermique (chaleur: $p > 0.05$; **Fig. 44A**; froid: $p > 0.05$; **Fig. 44B**), ou la sensibilité mécanique ($p > 0.05$; **Fig. 44C**) des souris 6-OHDA. Les mêmes observations de l'absence d'effet de 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg de MpH sont faites chez les souris sham, que ce soit pour la sensibilité thermique (chaleur: $p > 0.05$; **Fig. 44A**; froid: $p > 0.05$; **Fig. 44B**) ou mécanique ($p > 0.05$; **Fig. 44C**).

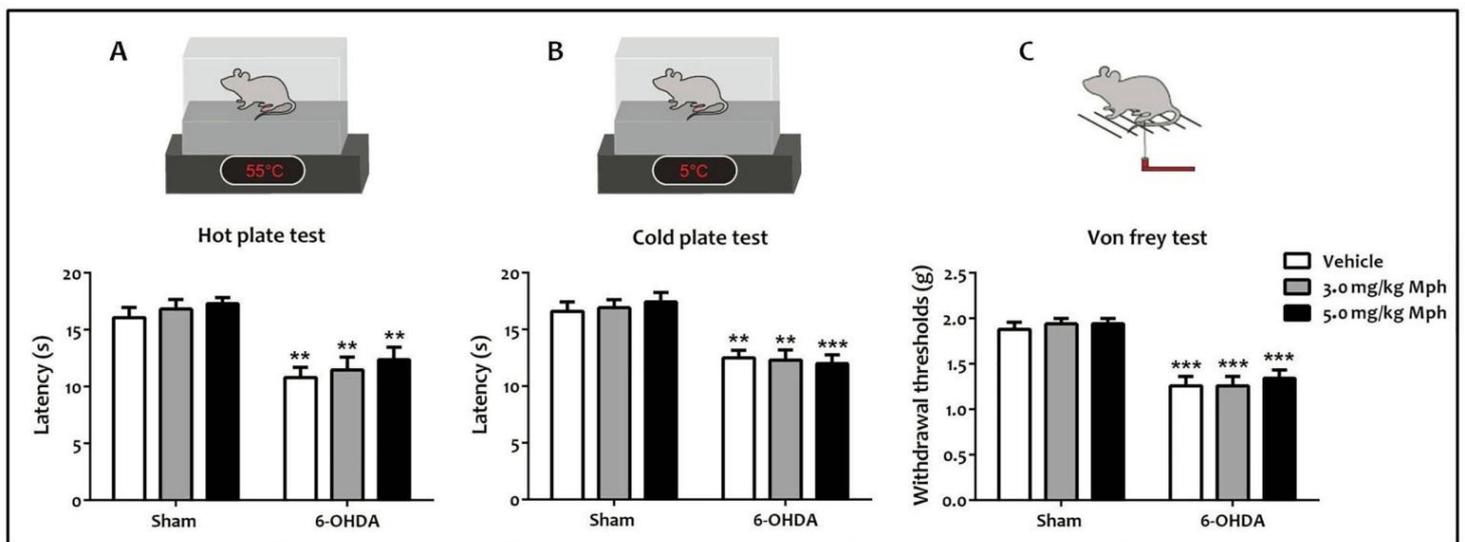


Fig. 44: Hyperalgésie thermique et allodynie mécanique chez les souris 6-OHDA. Latence de léchage de la patte dans la plaque chauffante (55°C) (A) et dans la plaque froide (5°C) (B). Seuils de retrait de la patte en utilisant les filaments de Von Frey (C). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 souris par groupe). ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ en comparaison avec sham.

1.2. Hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA dans les conditions de douleur persistante

Pour déterminer si l'ADHD influence la sensibilisation induite par l'inflammation à différents stimuli douloureux, nous avons induit une réponse inflammatoire persistante dans la patte postérieure droite des animaux par injection du CFA.

L'injection intraplantaire du NaCl n'a aucun effet sur les seuils de douleurs que ce soit pour sensibilité thermique (chaleur: $p > 0.05$; **Fig. 45A**; froid: $p > 0.05$; **Fig. 45B**), que mécanique ($p > 0.05$; **Fig. 45C**) aussi bien chez les souris sham que 6-OHDA pendant les 4 jours suivant l'injection de CFA. Par contre, les animaux sham présentent une diminution

significative des seuils de douleur à la fois aux stimuli thermiques (chaleur: 31%, $p < 0.05$; **Fig. 45A**; froid: 30%, $p < 0.05$; **Fig. 45B**) et mécaniques (42%, $p < 0.01$; **Fig. 45C**) dans les conditions de douleur persistante (4 jours *Post-CFA*) en comparaison avec le jour avant CFA (*Pre-CFA*). Cependant, les animaux 6-OHDA montrent une diminution beaucoup plus importante des seuils de douleur aux stimuli thermiques (chaleur: 60%, $p < 0.001$; **Fig. 45D**; froid: 58%, $p < 0.001$; **Fig. 45E**) et mécaniques (75%, $p < 0.001$; **Fig. 45F**) dans les conditions de douleur persistante par rapport au jour avant CFA. En revanche, aucune des doses de 3.0 mg/kg ou 5.0 mg/kg du MPH n'influence la sensibilité thermique (chaleur: $p > 0.05$; froid: $p > 0.05$) ou mécanique ($p > 0.05$) dans les conditions normales (NaCl) ou inflammatoires (CFA) chez les 2 groupes d'animaux (6-OHDA et sham).

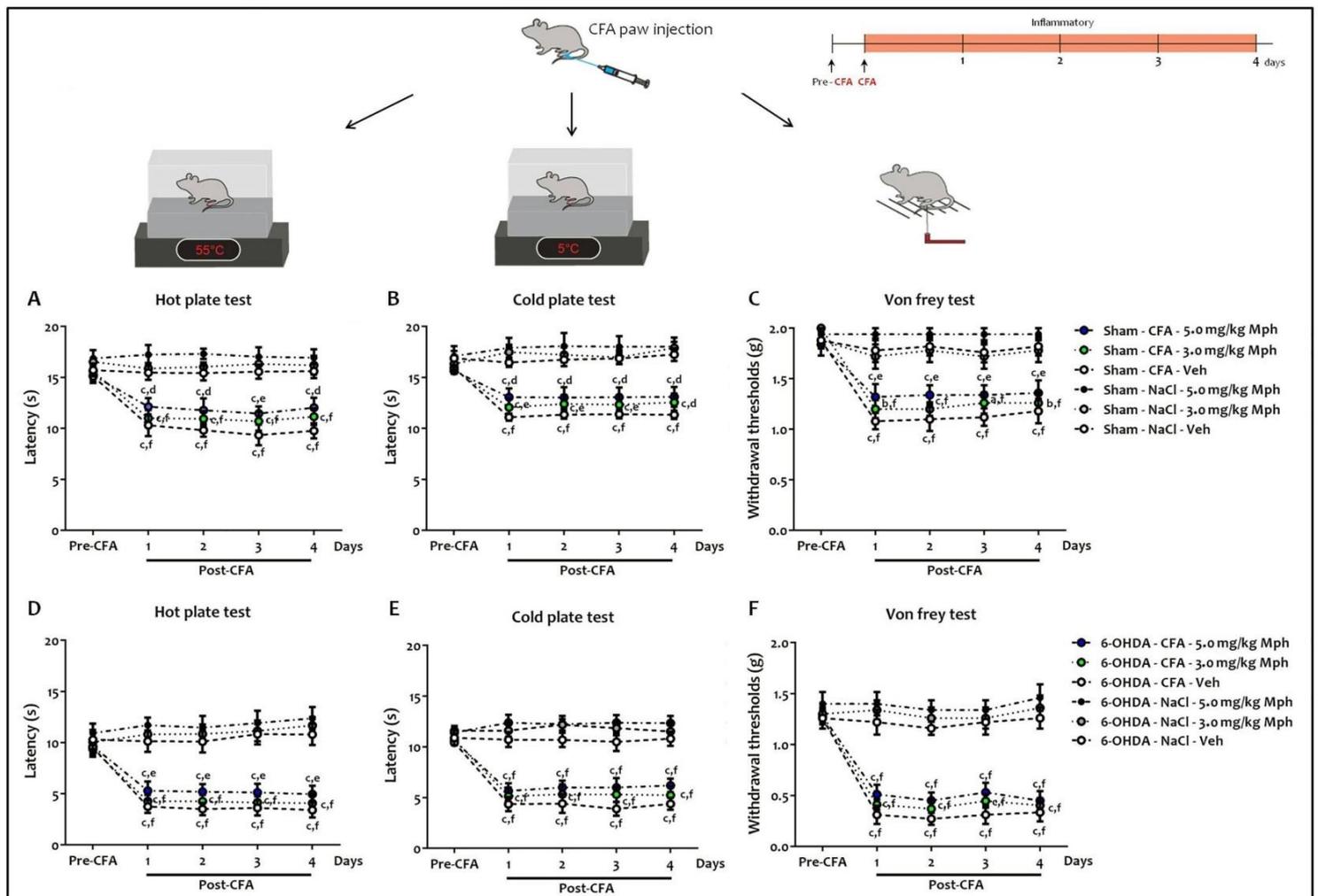


Fig. 45: Hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA dans les conditions de douleur persistante.

Latence de léchage de la patte en utilisant la plaque chauffante (55°C) (A), la plaque froide (5°C) (B) et seuils de retrait de la patte en utilisant les filaments de Von Frey (C) dans les conditions contrôles

(Pre-CFA) et inflammatoire (pendant 4 jours post-CFA). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 souris par groupe). ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ vs. NaCl. ^d $p > 0.05$; ^e $p < 0.01$; ^f $p < 0.001$ Pre-CFA.

1.3. Hyperexcitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA

Nous avons testé par la suite, à l'aide d'enregistrements extracellulaires unitaires, si les modifications de la sensibilité à la douleur des souris 6-OHDA sont dues à une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière (**Fig. 46**).

Les tracés obtenus confirment les tests de comportement (**Fig. 46A**). En effet, d'une part les neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière des souris 6-OHDA répondent aux stimuli non douloureux par rapport aux sham ($p < 0.001$; **Fig. 46A, C**) et d'autre part, une augmentation de la réponse nociceptive des neurones au stimulus douloureux a été également observée chez les animaux 6-OHDA ($p < 0.001$; **Fig. 46A, C**). Fait intéressant, la dose de 5.0 mg/kg du MpH n'influence pas le nombre de potentiel d'action des neurones nociceptifs aussi bien chez les souris sham (stimuli non douloureux: $p > 0.05$; **Fig. 46A, C** ou douloureux: $p > 0.05$; **Fig. 46A, C**) que 6-OHDA (stimuli non douloureux: $p > 0.05$; **Fig. 46A, C** et douloureux: $p > 0.05$; **Fig. 46A, C**).

De plus, l'injection intraplantaire du CFA induit une augmentation de décharge de neurone nociceptif chez les animaux sham à la fois aux stimuli non douloureux ($p < 0.001$; **Fig. 46B, C**) et douloureux ($p < 0.05$; **Fig. 46B, C**) par rapport aux animaux sham NaCl. Cependant, l'inflammation provoque une augmentation plus importante des réponses de neurone nociceptif chez les animaux 6-OHDA à la fois aux stimuli non douloureux ($p < 0.001$; **Fig. 46B, C**) et douloureux ($p < 0.001$; **Fig. 46B, C**) par rapport aux animaux 6-OHDA NaCl. De même que précédemment, nous avons noté une absence de l'effet du MpH à 5.0 mg/kg sur le nombre de réponses de neurone nociceptif à la fois chez les souris shams ($p > 0.05$; **Fig. 46B, C**) et 6-OHDA ($p > 0.05$; **Fig. 46B, C**) dans les conditions de douleur inflammatoire.

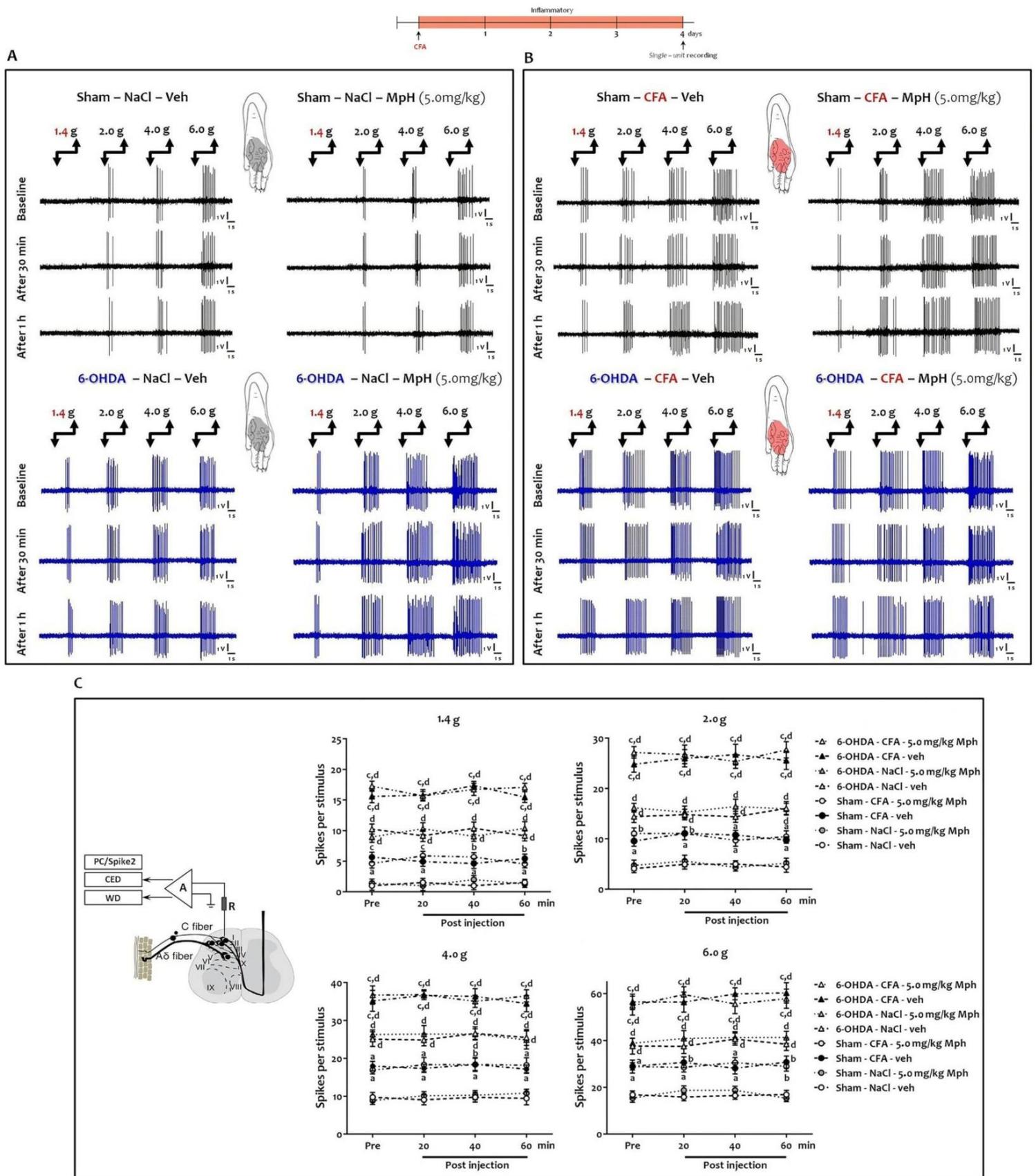


Fig. 46: Hyperexcitabilité des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA.

Tracés représentatives d'enregistrements extracellulaires *in vivo* de neurones WDR activés par un stimulus mécanique (filament de Von Frey) sur les champs récepteurs de la patte arrière non enflammée (NaCl) (A) et enflammée (CFA) (B) chez les animaux sham et 6-OHDA avant et après injection i.p de véhicule (NaCl) ou de traitement (Mph 5.0mg/kg). C. Quantification du nombre de potentiel d'action mesurée par stimulus dans les conditions contrôle (Pre) et toutes les 20 min après l'injection i.p du NaCl ou de Mph jusqu'à 60 min. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 neurones par groupe). ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ vs. NaCl. ^d $p < 0.001$ vs. Sham.

Les résultats obtenus montrent que le comportement hyperalgique repose sur une altération de l'activité des circuits spinaux. Cela suggère que les neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière des souris 6-OHDA deviennent hypersensibles à la douleur. Mais ces résultats suggèrent également que ces dérèglements de l'hyperexcitabilité des neurones spinaux, liée à l'apparition des symptômes ADHD, pourraient expliquer la sensibilisation douloureuse observée dans cette pathologie. Dans nos conditions, l'administration de Mph ne permet pas de restaurer des seuils de douleur semblable aux conditions contrôles.

2. Influence de la douleur persistante sur les symptômes de l'ADHD

Pour déterminer si la sensibilisation douloureuse induite par l'inflammation influence l'ADHD, nous avons également évalué les symptômes ADHD dans les conditions de douleur persistante (injection intraplantaire du CFA).

2.1. Les conditions inflammatoires n'influencent pas l'hyperactivité des souris juvéniles 6-OHDA

Nous avons évalué d'abord l'activité locomotrice spontanée des souris 6-OHDA et sham à P24 par le test de l'OF. L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs a été réalisée en considérant la lésion (6-OHDA) et l'inflammation (CFA) comme deux facteurs principaux. Les résultats montrent un effet significatif de la lésion ($F_{(1,36)} = 239.10$; $F_{(1,36)} = 71.50$ et $F_{(1,36)} = 118.30$, $p < 0.001$) et l'inflammation ($F_{(1,36)} = 28.87$; $F_{(1,36)} = 27.90$ et $F_{(1,36)} = 27.74$, $p < 0.001$) sur la distance parcourue, le temps moyen de mobilité et la vitesse de déplacement des animaux respectivement.

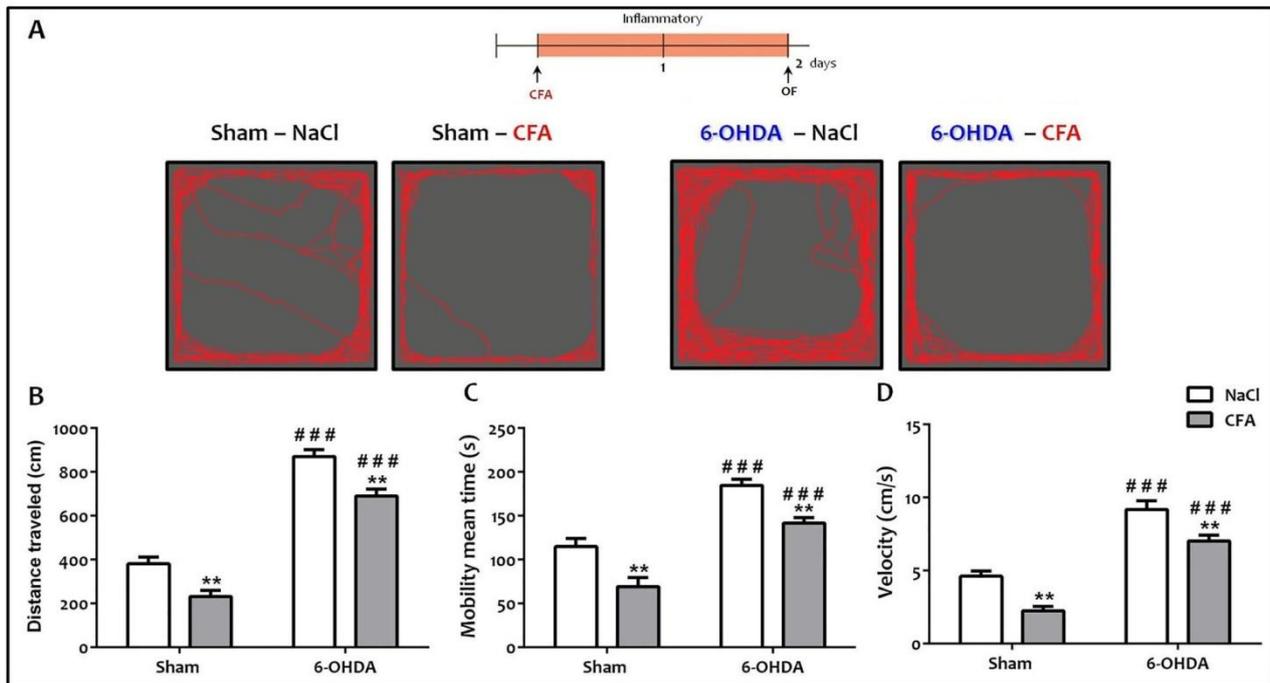


Fig. 47: Activité locomotrice spontanée chez les souris 6-OHDA.

A. Video-tracking représentatives de l'activité locomotrice dans le champ ouvert. **B.** Distance parcourue pendant 10 min (cm). **C.** Temps moyen de mobilité (s). **D.** Vitesse moyenne de déplacement (cm/s). Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe. ** $p < 0.01$ par rapport au NaCl; ### $p < 0.001$ vs sham.

À P24, l'analyse *post-hoc* de Tukey test montre que les souris 6-OHDA présentent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux sham (**Fig. 47A**) avec une distance parcourue significativement plus longue ($q=15.94$, $p < 0.001$; **Fig. 47B**), un temps de mobilité plus élevé ($q=8.30$, $p < 0.001$; **Fig. 47C**) et une vitesse de déplacement supérieure ($q=10.62$, $p < 0.001$; **Fig. 47D**). Ces observations indiquent que les souris 6-OHDA présentent une hyperactivité à P24, l'une des principales caractéristiques comportementales de l'ADHD. Cependant, l'injection intraplantaire du CFA diminue de manière similaire la distance moyenne parcourue chez les souris sham et 6-OHDA ($q=4.89$; $q=5.85$, $p < 0.01$; respectivement; **Fig. 47A-B**), le temps moyen de mobilité ($q=5.43$; $q=5.13$, $p < 0.01$; respectivement; **Fig. 47C**) et la vitesse moyenne de déplacement ($q=5.53$; $q=5.00$, $p < 0.01$; respectivement; **Fig. 47D**). Ainsi, ces données montrent que l'inflammation n'a aucun effet spécifique sur l'activité locomotrice des souris 6-OHDA.

Après avoir démontré que l'inflammation n'influence pas spécifiquement l'hyperactivité des souris 6-OHDA, nous nous sommes concentrés sur les symptômes mineurs du

syndrome, à savoir l'anxiété, le comportement antisocial et les troubles cognitifs chez les souris adolescentes (voir **Fig. 48-50**).

2.2. Les conditions inflammatoires n'influencent pas le comportement anxieux des souris adolescentes 6-OHDA

Nous avons évalué le comportement anxieux des souris 6-OHDA et sham à P40 par le test de l'EPM. L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs confirme un effet majeur de la lésion ($F_{(1,36)} = 70.75$; $F_{(1,36)} = 18.24$; $F_{(1,36)} = 51.78$; $F_{(1,36)} = 26.43$, $p < 0.001$), l'inflammation ($F_{(1,36)} = 15.35$; $F_{(1,36)} = 20.98$; $F_{(1,36)} = 17.98$; $F_{(1,36)} = 18.12$, $p < 0.001$) sur tous les paramètres d'anxiété (le temps passé et le nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés). L'analyse *post-hoc* montre le temps passé ($q=8.51$, $p < 0.001$) et le nombre d'entrées ($q=4.39$, $p < 0.05$) dans les bras ouverts sont inférieurs chez le groupe 6-OHDA par rapport au groupe sham (**Fig. 48A, B et C**). Cependant, les souris 6-OHDA sont rentrées plus fréquemment dans les bras fermés du labyrinthe ($q=5.20$, $p < 0.01$; **Fig. 48A, E**), où elles passent beaucoup plus de temps que les souris sham ($q=7.54$, $p < 0.001$; **Fig. 48D**).

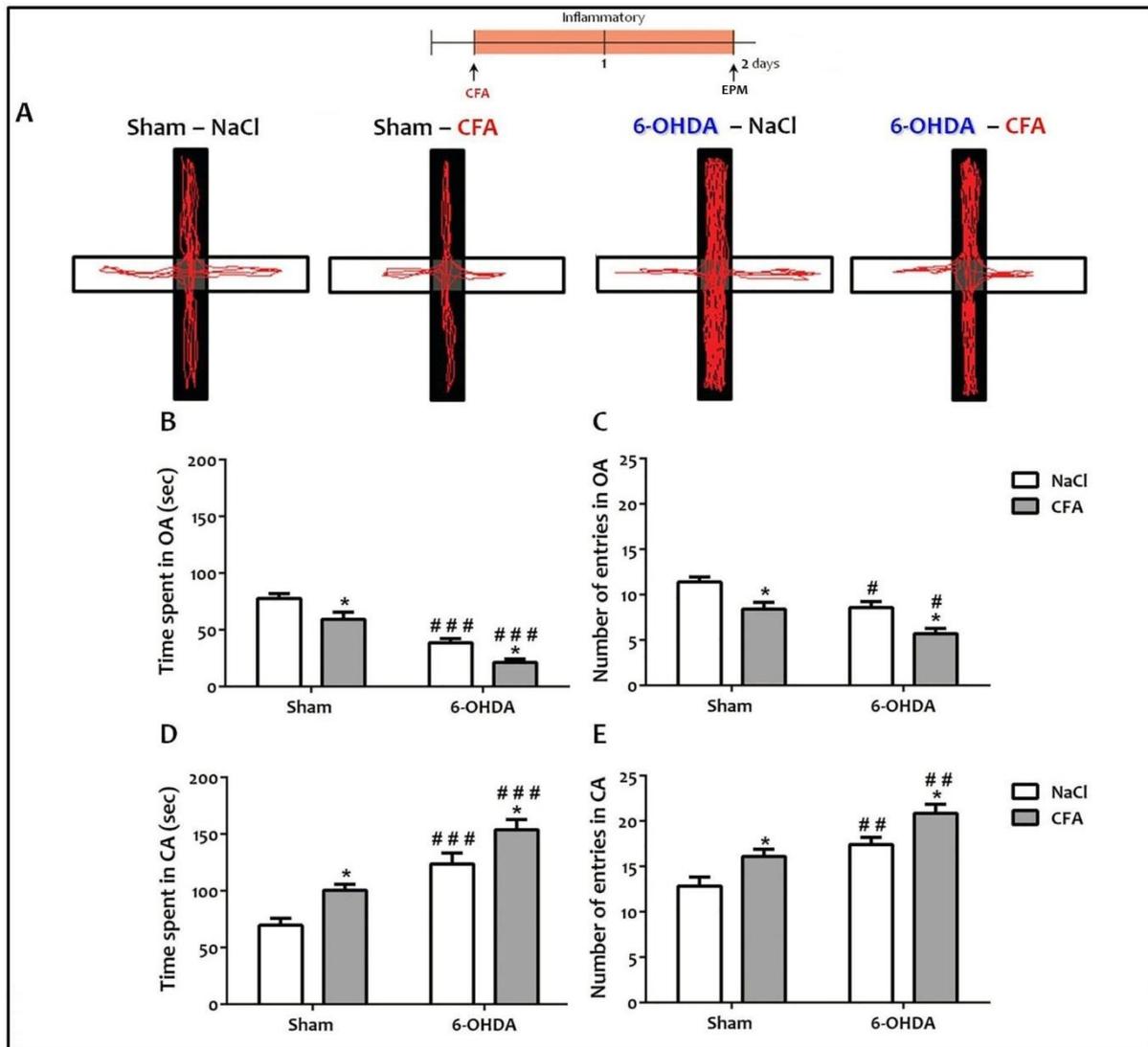


Fig. 48: Comportement anxieux chez les souris 6-OHDA.

A. Video-tracking représentatives illustrant la réticence d'une souris 6-OHDA à explorer les bras ouverts de l'EPM par rapport au sham. **B.** Temps passé dans les bras ouverts. **C.** Nombre d'entrées dans les bras ouverts. **D.** Temps passé dans les bras fermés. **E.** Nombre d'entrées dans les bras fermés EPM. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n=10$ souris par groupe, * $p<0.05$ vs NaCl; # $p<0.05$, ## $p<0.01$ et ### $p<0.001$ vs sham.

En revanche, l'injection du CFA diminue de manière similaire le temps passé ($q=4.20$; $q=3.82$, $p<0.05$; respectivement; **Fig. 48A-B**) et le nombre d'entrées ($q=4.66$; $q=4.50$, $p<0.05$; respectivement; **Fig. 48C**) dans les bras ouverts par les souris sham et 6-OHDA. De plus, l'inflammation augmente de manière similaire le temps passé ($q=3.90$; $q=4.59$, $p<0.05$; respectivement; **Fig. 48A-B**) et le nombre d'entrées ($q=4.20$; $q=4.61$, $p<0.05$; respectivement; **Fig. 48C**) dans les bras fermés par les souris sham et 6-OHDA.

2.3. Les conditions inflammatoires n'influencent pas le comportement antisocial et agressif des souris adolescentes 6-OHDA

L'analyse des données par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et inflammation), révèle que le comportement antisocial (durée totale du contact) est significativement affecté par la lésion ($F_{(1,36)} = 286.60$; $p < 0.001$) et l'inflammation ($F_{(1,36)} = 18.22$, $p < 0.001$). Au cours du test de l'interaction sociale dans un nouvel environnement, la durée totale de contacts des souris 6-OHDA est significativement plus basse que celle des souris sham ($q = 17.24$, $p < 0.001$; **Fig. 49A**). En revanche, l'inflammation diminue de la même manière ce paramètre chez les souris shams ($q = 4.57$, $p < 0.05$) et les souris 6-OHDA ($q = 3.96$, $p < 0.05$; respectivement; **Fig. 49A**).

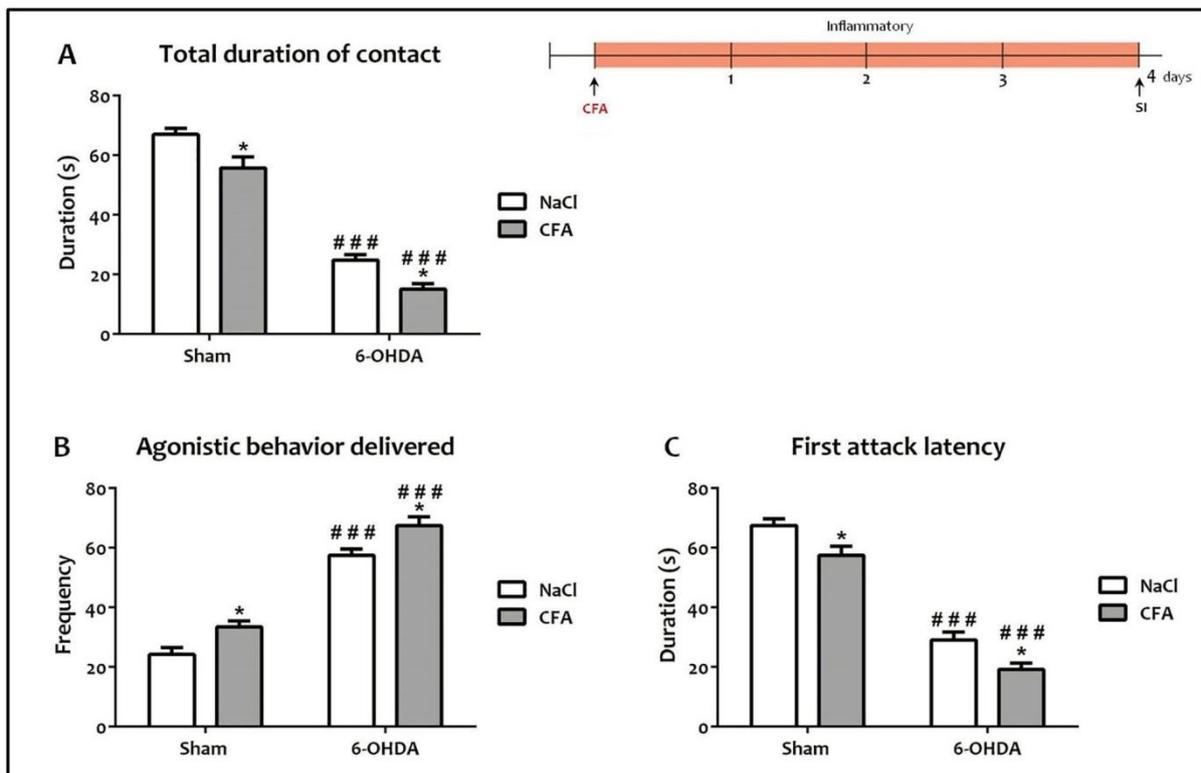


Fig. 49: Interaction sociale (A) et agressivité (C, D) chez les souris 6-OHDA.

A. Durée totale de contacts. **B.** Comportement agoniste délivré. **C.** Latence de la première attaque. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM, $n = 10$ souris par groupe, * $p < 0.05$ vs NaCl; ### $p < 0.001$ vs sham.

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (lésion et inflammation) révèle qu'à la fois le comportement agonistique et la latence de la première attaque sont significativement affectés par la lésion ($F_{(1,36)} = 197.00$; $F_{(1,36)} = 225.3$, $p < 0.001$;

respectivement) et l'inflammation ($F_{(1,36)} = 15.99$; $F_{(1,36)} = 15.36$; $p < 0.001$; respectivement). Les souris 6-OHDA présentent une augmentation significative du comportement agonistique (nombre d'attaques mordantes) contre les souris test par rapport aux souris sham ($q=13.87$, $p < 0.001$; **Fig. 49C**). Cependant, l'inflammation exacerbe de la même manière le comportement agonistique chez les souris sham ($q=3.83$, $p < 0.05$; **Fig. 49C**) et 6-OHDA ($q=4.17$, $p < 0.05$; **Fig. 49C**). De plus, la latence de la première attaque est plus courte chez les souris 6-OHDA que les souris sham ($q=15.05$, $p < 0.001$; **Fig. 49D**). L'inflammation diminue significativement et de la même manière ce paramètre chez les souris sham ($q= 3.96$, $p < 0.05$) et 6-OHDA ($q=3.88$, $p < 0.05$; **Fig. 49C, D**).

2.4. Les conditions inflammatoires n'influencent pas le dysfonctionnement de la mémoire à court terme des souris adolescentes 6-OHDA

L'analyse ANOVA à deux facteurs (lésion et inflammation) montre que la lésion ($F_{(1,36)} = 51.01$ et $F_{(1,36)} = 63.11$, $p < 0.001$) et l'inflammation ($F_{(1,36)} = 17.10$ et $F_{(1,36)} = 18.60$, $p < 0.001$) affectent significativement le Tr et le Dr. Dans le test de reconnaissance d'objet, le temps d'exploration du nouvel objet est significativement réduit chez les souris 6-OHDA ($q=7.41$, $p < 0.001$; **Fig. 50A**) par rapport aux souris sham. En outre, le Dr est significativement plus faible chez le groupe 6-OHDA par rapport au groupe sham ($q=7.56$, $p < 0.001$; **Fig. 50B**), suggérant que les capacités cognitives et la mémoire de reconnaissance seraient également altérées chez les souris 6-OHDA. L'inflammation diminue de manière similaire le temps d'exploration du nouvel objet chez les souris sham ($q=4.40$, $p < 0.05$; **Fig. 50A**) et 6-OHDA ($q=3.87$, $p < 0.05$; **Fig. 50A**). De plus, l'inflammation altère de la même manière le Dr chez les souris sham ($q=3.92$, $p < 0.05$; **Fig. 50B**) et 6-OHDA ($q=4.70$, $p < 0.05$; **Fig. 50B**).

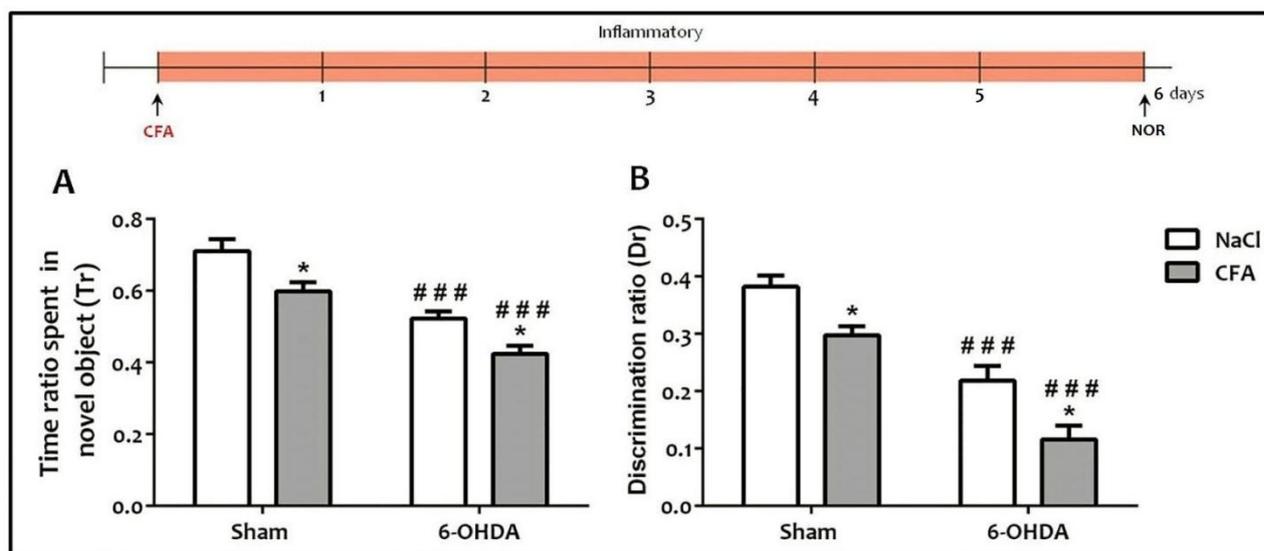


Fig. 50: Mémoire à court-terme chez les souris 6-OHDA.

A. Rapport du temps (*Tr*) passé dans le nouvel objet. **B.** Rapport de discrimination (*Dr*). Toutes les données présentées sont des moyennes ± SEM, n=10 souris par groupe, *p<0.05 vs NaCl; ###p<0.001 vs sham.

Ces données confirment d'une part que les souris 6-OHDA adolescentes montrent une augmentation de l'anxiété, des comportements antisociaux et agressifs, et des déficits d'apprentissage et de mémoire, qui sont les symptômes discrets de l'ADHD. Cependant, les conditions de douleur persistante influence de la même manière le comportement anxieux, les interactions sociales et les dysfonctionnements cognitifs des souris 6-OHDA que les souris sham.

2.5. Les conditions inflammatoires n'ont aucun effet sur l'inattention et l'impulsivité des souris adultes 6-OHDA

L'analyse statistique par le test ANOVA à deux facteurs (groupe et session) à mesures répétées, indique que les pourcentages des réponses correctes, d'omissions, et des réponses prématures sont significativement affectés par le facteur de groupe ($F_{(3,27)} = 77.53$; $F_{(3,27)} = 165.60$; $F_{(3,27)} = 135.30$, $p < 0.001$; respectivement) dans les conditions de base du 5-CSRTT; alors que le nombre de session ($F_{(3,27)} = 0.14$; $F_{(3,27)} = 0.41$; $F_{(3,27)} = 2.37$, $p > 0.05$; respectivement) n'a aucun effet. Pour les réponses persévérantes, le test ANOVA à deux facteurs (groupe et session) et à mesures répétées a montré un effet significatif aussi bien de groupe ($F_{(3,27)} = 69.14$, $p < 0.001$) que du nombre de sessions ($F_{(3,27)} = 6.82$, $p < 0.01$).

Pendant les conditions de base du 5-CSRTT (SD = 1 s ; ITI = 5 s), les souris 6-OHDA sont moins précises que les souris sham ($p < 0.001$; **Fig. 51A**), faisant plus d'erreurs d'omissions ($p < 0.001$; **Fig. 51B**) et plus de réponses précoces ($p < 0.001$; **Fig. 51C**) et persévérantes ($p < 0.001$; **Fig. 51D**). Ainsi, nos données confirment que les souris 6-OHDA présentent à la fois un déficit de l'attention et une impulsivité. Fait intéressant, l'inflammation n'a aucun effet ni sur les paramètres de l'attention (réponses correctes: $p > 0.05$; **Fig. 51A**; omissions: $p > 0.05$; **Fig. 51B**) ni sur les paramètres de l'impulsivité (réponses précoces: $p > 0.05$; **Fig. 51C**; persévérantes: $p > 0.05$; **Fig. 51D**) aussi bien chez les souris 6-OHDA que chez les sham.

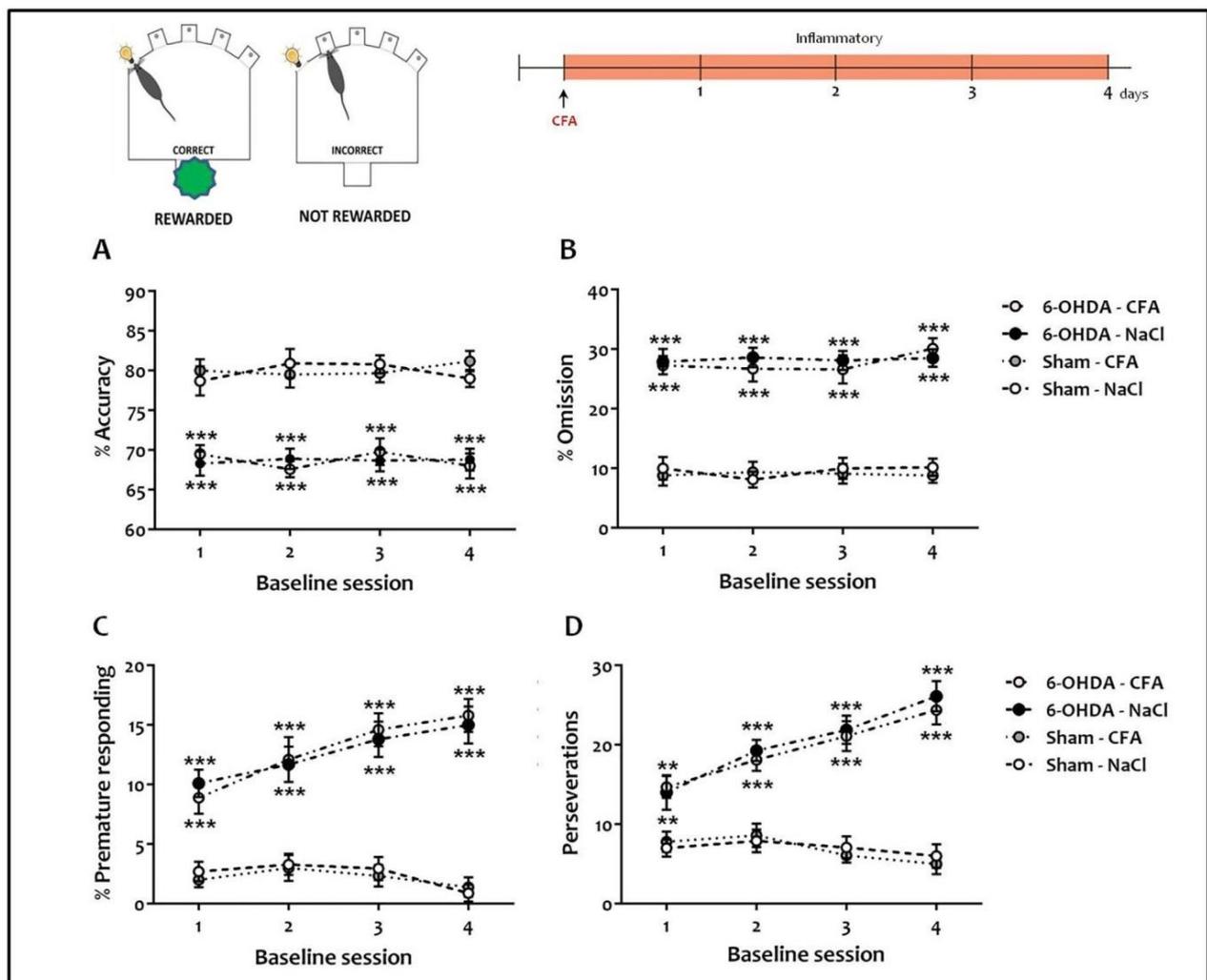


Fig. 51: Performance de base (ITI = 5 s ; SD = 1 s) dans le 5-CSRTT pour les quatre jours successifs (axe X) de l'entraînement chez les souris 6-OHDA. **A.** Pourcentage de précision ou de réponses correctes. **B.** Pourcentage d'omissions. **C.** Pourcentage de réponses précoces. **D.** Pourcentage de réponses persévérantes. Toutes les données présentées sont des moyennes \pm SEM à partir de 10 souris par groupe, *** $p < 0.001$ vs sham.

3. Dysfonctionnement des voies de la douleur chez le modèle ADHD

3.1. ACC à l'origine du dysfonctionnement des contrôles descendants

Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle l'ACC est à l'origine des dysfonctionnements des contrôles descendants qui altèrent l'activité des neurones spinaux.

Nous nous sommes d'abord intéressés à l'activité spontanée de l'ACC (côté gauche) (**Fig. 52A-C**), ainsi qu'à l'activité évoquée (**Fig. 52D-F**) par des stimuli mécaniques dans la patte postérieure (côté droit) des souris sham et 6-OHDA.

3.1.1. Hyperactivité de l'ACC chez les souris 6-OHDA

Nos enregistrements unitaires *in vivo* indiquent que les neurones de l'ACC sont hyperactifs chez les souris 6-OHDA (**Fig. 52B**). Le nombre de potentiel d'action par seconde des neurones ACC des souris 6-OHDA est supérieur à celui des souris sham ($p < 0.01$; **Fig. 52C**). De plus, nos tracés montrent que l'application des stimuli mécaniques (pression croissante) sur la patte postérieure de l'animal provoque une augmentation très remarquable de décharge des neurones de l'ACC chez les souris 6-OHDA par rapport aux animaux sham (**Fig. 52E**). Le nombre de potentiel d'action des neurones ACC des souris 6-OHDA est supérieur à celui obtenu chez les shams soumises à des stimuli non douloureux ($p < 0.05$; **Fig. 52C**). La décharge des neurones de l'ACC augmente encore plus lorsque les animaux reçoivent des stimuli périphériques douloureux ($p < 0.001$; **Fig. 52C**). Ce résultat suggère fortement l'implication de l'ACC dans les dérèglements de la perception douloureuse qui affectent les souris 6-OHDA.

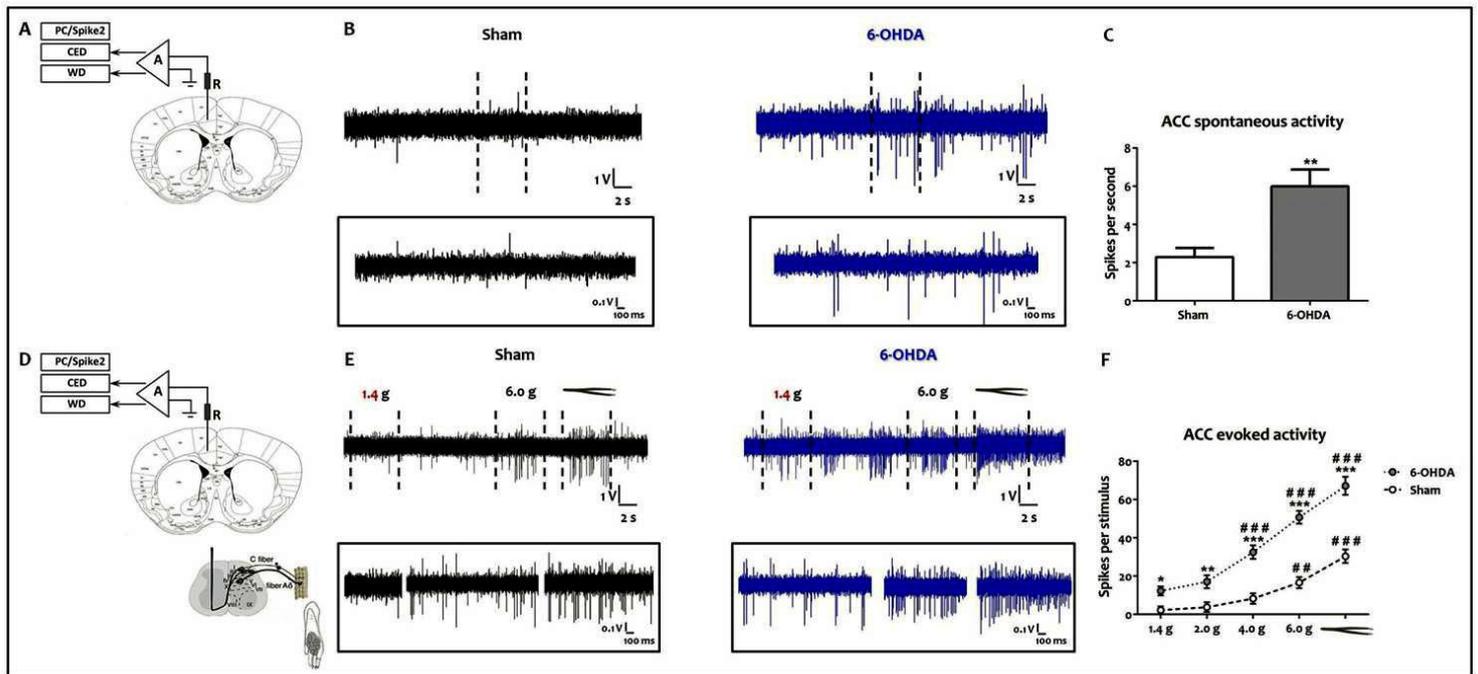


Fig. 52: Hyperactivité des neurones de l'ACC chez les souris 6-OHDA.

A, D. Schéma représentatif de l'enregistrement *in vivo* de l'activité spontanée et évoquée des neurones de l'ACC. **B.** Tracés de l'enregistrement de l'activité unitaire spontanée d'un neurone de l'ACC. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesurée par seconde. **E.** Tracés de l'enregistrement de l'activité unitaire évoquée d'un neurone de l'ACC. **F.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesurée par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g et pincement). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 neurones par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ vs. Sham. ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ vs. 1.4g.

3.1.2. Effet de la régulation de l'ACC sur l'activité des neurones nociceptifs

Nous avons ensuite exploré les effets d'une modulation expérimentale de l'ACC sur l'activité des neurones spinaux.

Nous avons enregistré les effets de l'activation de l'ACC controlatérale (**Fig. 53A**) sur les réponses évoquées par des stimuli mécaniques dans les neurones WDR de la moelle épinière. Nos tracés montrent que la stimulation électrique de l'ACC controlatérale (100 Hz) augmente les réponses des neurones WDR (**Fig. 53B**) chez le groupe sham aux stimuli mécaniques non douloureux (1.4g; 10V: $p < 0.05$; 20V: $p < 0.05$; 30V: $p < 0.01$) et douloureux (6.0g; 10V: $p < 0.001$; 20V: $p < 0.001$; 30V: $p < 0.001$; **Fig. 53C**). Cet effet est significativement plus marqué chez les souris 6-OHDA (1.4g: 10V: $p < 0.05$; 20V: $p < 0.001$; 30V: $p < 0.001$; 6.0g; 10V: $p < 0.01$; 20V: $p < 0.001$; 30V: $p < 0.001$). De manière intéressante, l'activité des neurones WDR revient à sa valeur initiale 2 min après la dernière stimulation électrique chez les

souris sham ($p < 0.001$; **Fig. 53B, C**), que le stimulus soit douloureux ou non, alors que la potentialisation des neurones WDR des souris 6-OHDA est maintenue ($p > 0.05$; **Fig. 53B, C**). A la fin de l'enregistrement, nous avons augmenté l'intensité électrique pour visualiser et confirmer le site de stimulation dans l'ACC. L'emplacement de l'électrode de stimulation unilatérale dans l'ACC est [AP] +1.0, [ML] -0.3 et [DV] -1.5 mm (**Fig. 53D**).

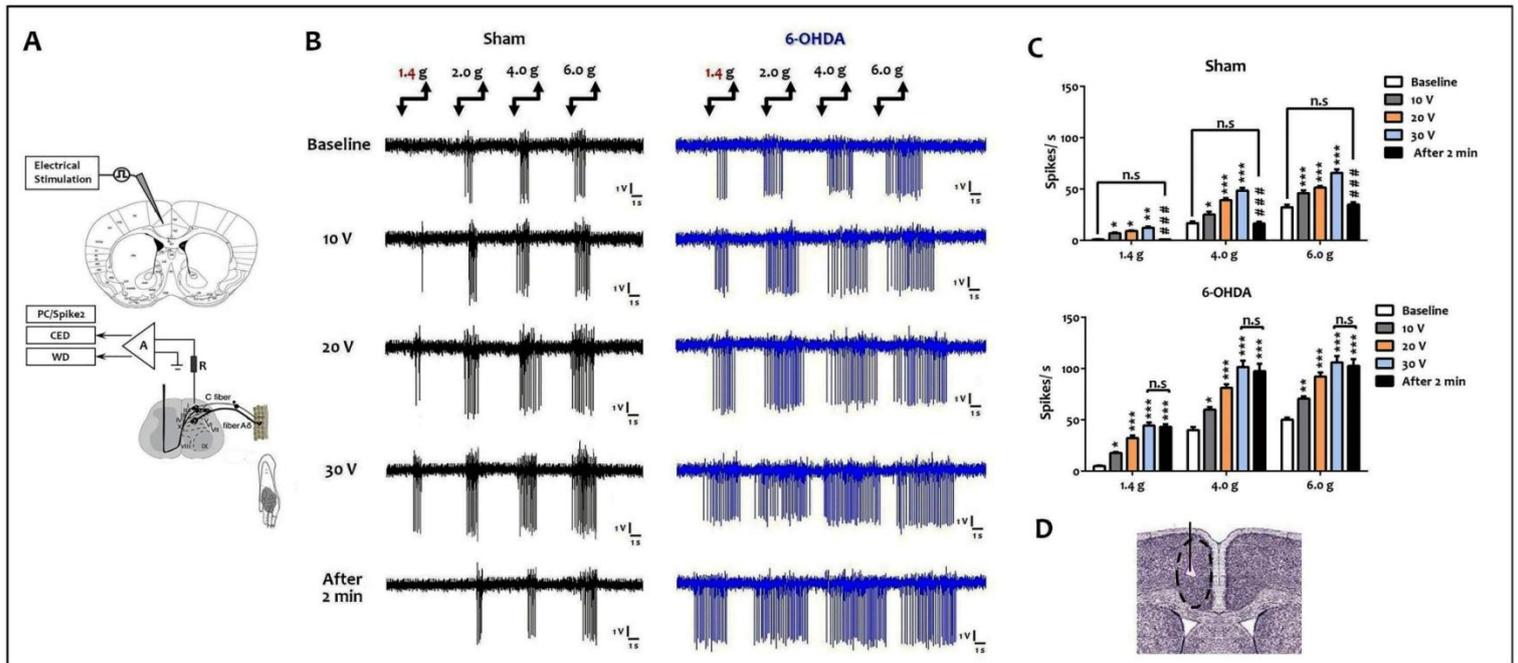


Fig. 53: Effets de la stimulation de l'ACC sur la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement *in vivo* des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant l'ACC en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différentes intensités de stimulation de l'ACC (100Hz: 10V, 20V, 30V) et après 2 minutes de la dernière stimulation. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 neurones par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ vs. Baseline. ### $p < 0.001$ vs. 30V. **D.** Vérification de l'emplacement de l'électrode de stimulation dans l'ACC.

Nous avons ensuite réalisé une inhibition pharmacologique de l'ACC (**Fig. 54A**). Nous avons utilisé une injection locale de muscimol dans l'ACC de manière à potentialiser les récepteurs inhibiteurs GABA-A. Nos tracés montrent que l'infusion de muscimol dans l'ACC controlatérale (**Fig. 54B**) bloque partiellement l'activité électrique des neurones WDR de la moelle épinière chez le groupe sham et 6-OHDA à des stimuli mécaniques non douloureux et douloureux ($p < 0.05$; **Fig. 54C**) 30 minutes après l'injection du muscimol.

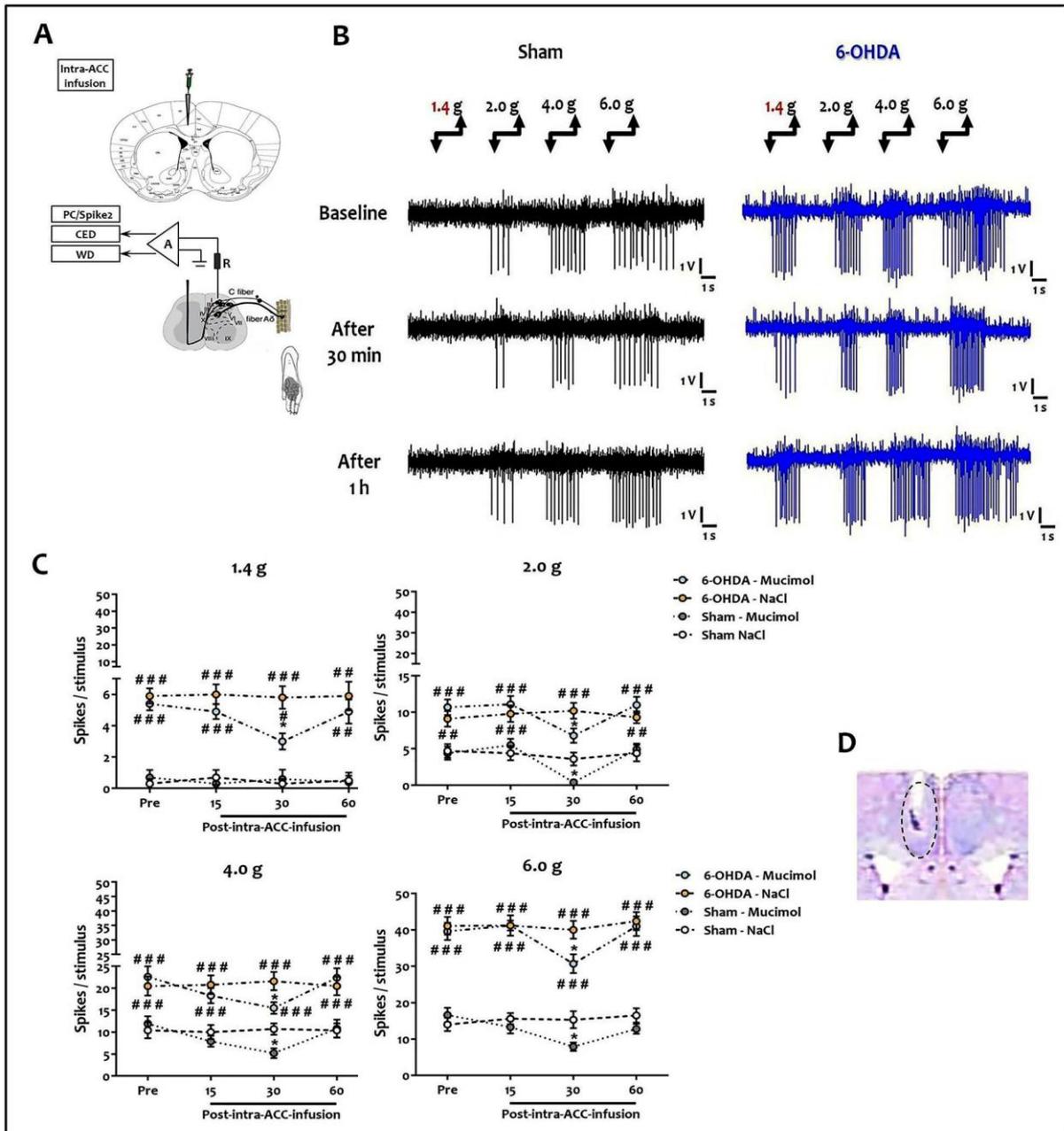


Fig. 54: Effets de l'inhibition de l'ACC sur la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement *in vivo* des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en inhibant l'ACC en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g) avant et après une heure post-intrafusion du muscimol dans l'ACC chaque 15 minutes. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (10 neurones par groupe). * $p < 0.05$ vs. Pre-infusion. ### $p < 0.001$ vs. Sham. **D.** Vérification de l'emplacement de la micropipette en verre dans l'ACC.

3.2. L'ACC exerce un contrôle bidirectionnel de la modulation des voies descendantes et de la perception de la douleur chez les souris 6-OHDA

Pour étudier le rôle de l'ACC dans la perception de la douleur chez la souris 6-OHDA, nous avons utilisé des outils optogénétiques pour manipuler de manière globale l'activité des neurones excitateurs de sortie dans l'ACC, en ciblant une zone bien définie anatomiquement: 24b ou ACd (Fig. 55A). Nous avons utilisé le canal cationique Channelrhodopsine 2 (ChR2) pour stimuler les neurones de l'ACC et la pompe à protons Archæorhodopsine (ArchT3.0) pour leur inhibition sous le contrôle du promoteur CaMKII, à l'aide de vecteurs adéno-associés de sérotype 5 (AAV5.CaMKII.eGFP; Fig. 55B). L'efficacité de transduction était de l'ordre de 80% des neurones excitateurs (Fig. 55C).

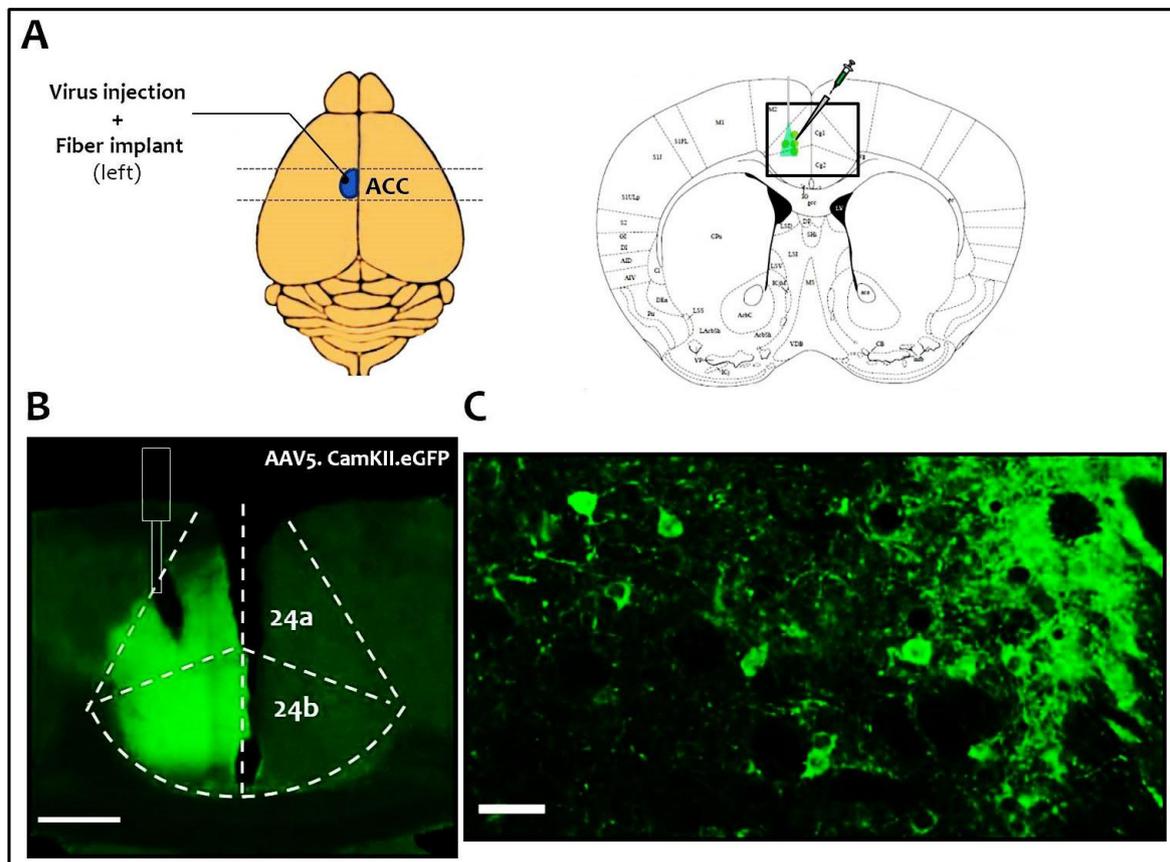


Fig. 55: Manipulations optogénétiques de l'ACC dans la modulation de la douleur. **A.** Expression virale et la zone d'illumination de la fibre optique implantée dans l'ACC. **B, C.** Exemple de l'expression virale des neurones excitateurs pyramidaux (barre d'échelle: 1 mm et 50 μ m, respectivement).

Tout au long de notre étude, nous avons injecté de l'AAV5.CamKII.ChR2, l'AAV5.CamKII.ArchT3.0 ou de l'AAV5.CamkII.eGFP de manière unilatérale dans l'ACC gauche. La canule optique a été implantée au milieu des sites d'injection virale (**Fig. 55**).

3.2.1. L'activation des neurones excitateurs de l'ACC augmente la perception de la douleur et l'activité des neurones spinaux chez les souris 6-OHDA

Nous avons d'abord testé si l'activation spécifique des neurones excitateurs de l'ACC était suffisante pour moduler les réponses nociceptives sur des animaux éveillés en mouvement libre (*freely moving*) (**Fig. 56**). Nous avons ensuite évalué la réponse des neurones spinaux à l'aide d'enregistrements unitaires *in vivo* dans la corne dorsale de la moelle épinière en controlatéral (**Fig. 56A**). L'AAV5.CamKII.ChR2 a été injecté dans l'ACC des deux groupes (sham et 6-OHDA) et une lumière de 473 nm a été pulsée à 2 Hz pendant toute la période d'activation de l'ACC. Cette fréquence a été choisie en fonction de nos enregistrements unitaires *in vivo* dans l'ACC au cours d'une stimulation périphérique douloureuse (voir l'électrophysiologie *in vivo* dans l'ACC).

Nous avons observé une diminution significative des seuils de douleur aussi bien de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=2.56$, $p<0.05$; IR 40: $t=3.05$, $p<0.05$; **Fig. 56A**) que controlatérale (Von Frey: $t=3.10$, $p<0.05$; IR 40: $t=2.65$, $p<0.05$; **Fig. 56B**) en réponse à des stimuli mécaniques et thermiques chez le groupe sham lorsque la lumière est délivrée. Par contre lorsque la lumière est éteinte, les seuils de douleur à la fois mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=0.01$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.1$, $p>0.05$; **Fig. 56A**) et controlatérale (Von Frey: $t=0.13$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.30$, $p>0.05$; **Fig. 56B**) reviennent à leurs valeurs de base. Chez les souris 6-OHDA, le seuil mécanique et la latence de retrait à la fois de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=3.62$, $p<0.01$; IR 40: $t=3.80$, $p<0.01$; **Fig. 56C**) et controlatérale (Von Frey: $t=4.27$, $p<0.01$; IR 40: $t=3.79$, $p<0.01$; **Fig. 56D**) ont diminué lorsque la lumière est délivrée. Lorsque la lumière est éteinte, les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=0.13$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.20$, $p>0.05$; **Fig. 56C**) et controlatérale (Von Frey: $t=0.35$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.65$, $p>0.05$; **Fig. 56D**) sont rétablis à leurs niveaux de base.

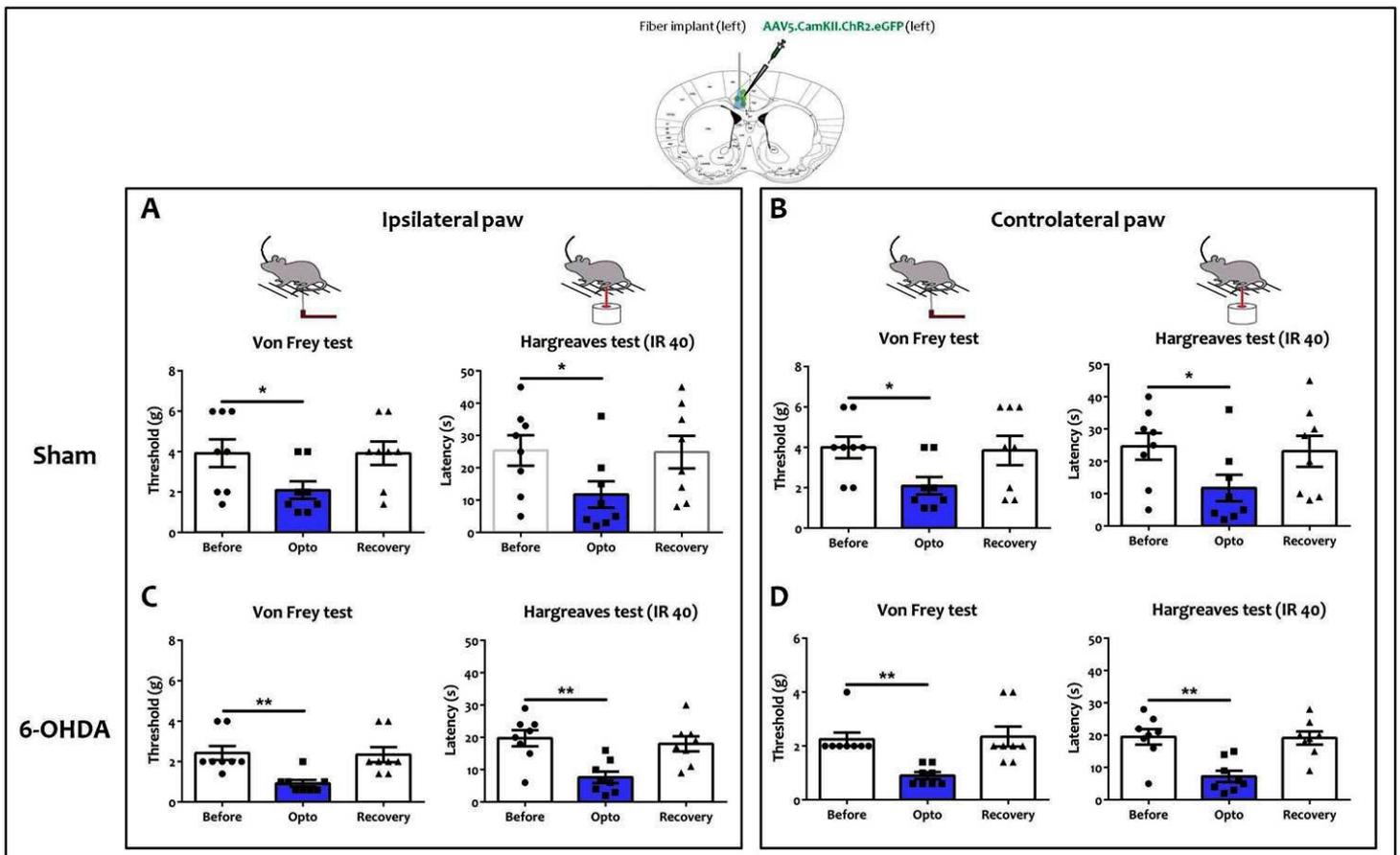


Fig. 56: Activation des neurones CamKII positifs de l'ACC diminue les seuils de douleur chez les souris 6-OHDA.

Haut: Diagramme schématique du site de l'injection virale et l'emplacement de la fibre optique dans l'ACC. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ en comparaison avec before.

Les enregistrements *in vivo* confirment les tests de comportement. Chez les souris sham, les neurones WDR de la corne dorsale de la moelle épinière présentent une activité augmentée d'une part en réponse aux stimuli non douloureux (1.4g: $q=4.27$, $p < 0.05$; **Fig. 57B, C**), et d'autre part en réponse aux stimuli douloureux (6.0g: $q=4.53$, $p < 0.05$; **Fig. 57B, C**) de la patte postérieure controlatérale lorsque la lumière est délivrée. Lorsque la lumière est éteinte, le nombre de potentiel d'action émis après stimulation périphérique s'abaisse et revient aux niveaux de base, comme avant l'activation optogénétique de l'ACC (1.4g et 6.0g: $q=0.00$ et $q=0.30$, $p > 0.05$; **Fig. 57B, C**). Chez les souris 6-OHDA, nos tracés montrent que la stimulation optogénétique de l'ACC augmente les réponses des neurones WDR aux stimuli mécaniques non douloureux (1.4g: $q=7.52$, $p < 0.001$; **Fig. 57B, C**) et douloureux (6.0g: $q=5.45$, $p < 0.01$; **Fig. 57B, C**). Cet effet est significativement plus

marqué chez les souris 6-OHDA (1.4g: 58.33% vs. 45.12%; 6.0g: 26.48% vs 23%.24). Lorsque la lumière est éteinte, le nombre de potentiel d'action par stimuli périphérique s'abaisse et revient à leurs niveaux de base comme dans le cas avant l'activation optogénétique de l'ACC (1.4g et 6.0g: $q=0.03$ et $q= 0.59$, $p>0.05$; Fig. 57B, C).

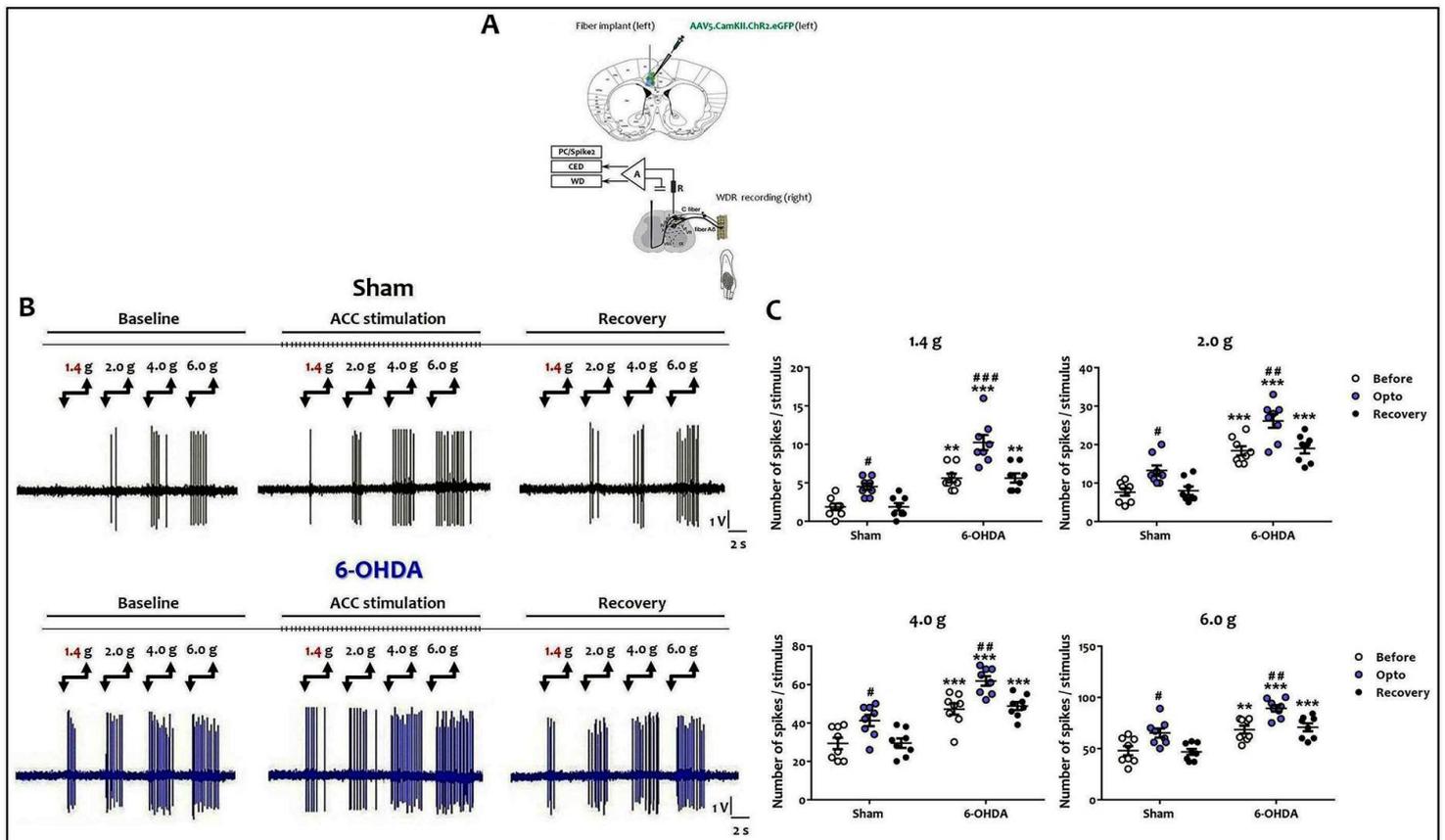


Fig. 57: Activation des neurones CamKII positifs de l'ACC augmente la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques chez les souris 6-OHDA.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement in vivo des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant l'ACC en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents temps: avant la stimulation optogénétique (before), pendant (opto) et après 2 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ vs. sham. # $p<0.05$; ## $p<0.01$; ### $p<0.001$ vs. before.

3.2.2. L'inhibition des neurones excitateurs de l'ACC diminue la perception de la douleur et l'activité des neurones spinaux chez les souris 6-OHDA

Nous avons ensuite inhibé les neurones excitateurs de l'ACC, exprimant *CaMKII.ArchT3.0*, avec une lumière jaune (575 nm en continue) et avons déterminé le seuil de douleur chez les souris sham et 6-OHDA.

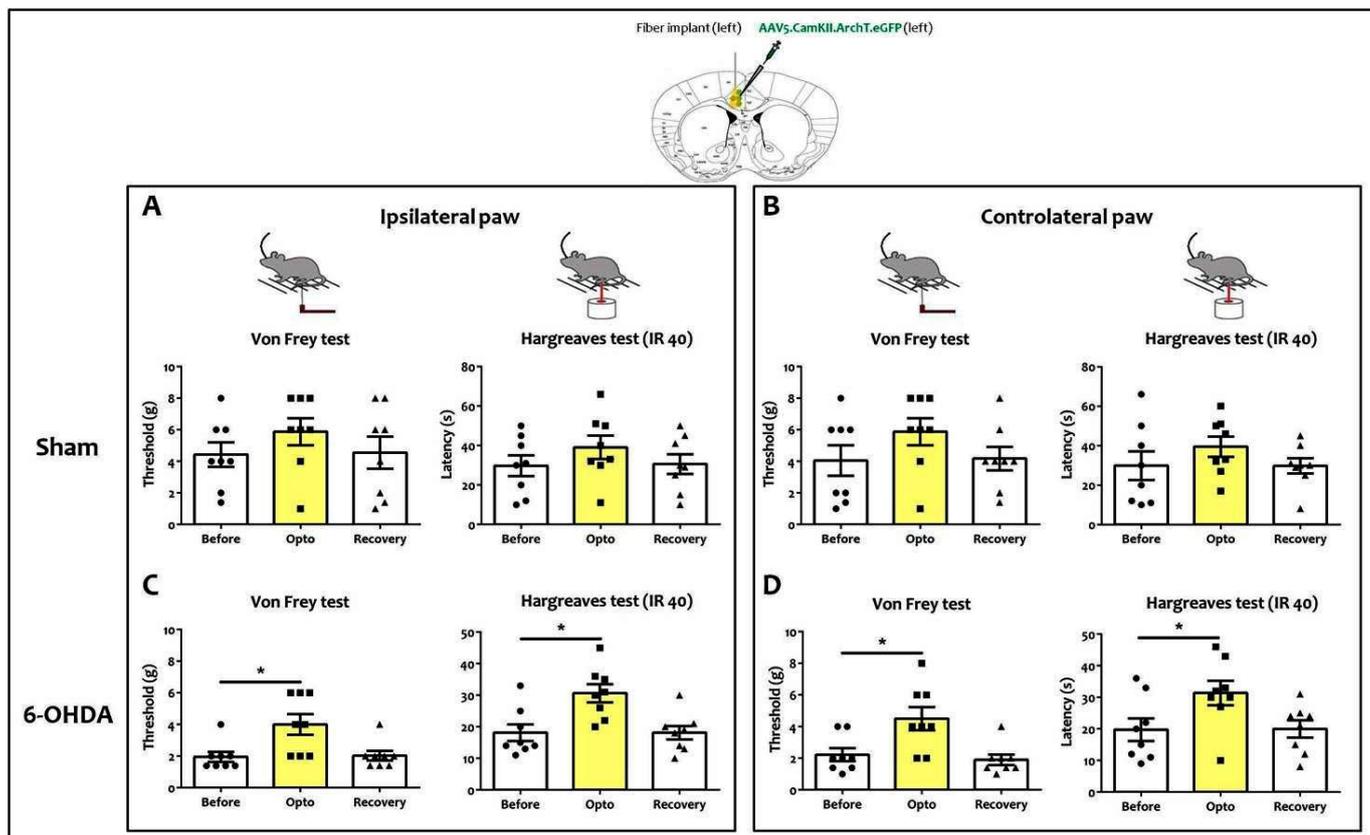


Fig. 58: Inhibition des neurones CamKII positifs de l'ACC réverse les seuils de douleur chez les souris 6-OHDA.

Haut: Diagramme schématique du site de l'injection virale et l'emplacement de la fibre optique dans l'ACC. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe). * $p < 0.05$ en comparaison avec before.

Chez les souris sham, l'inhibition optogénétique par la lumière des neurones de l'ACC n'a aucun effet significatif sur les seuils de douleur que ce soit en réponse aux stimuli mécaniques ou thermiques aussi bien dans la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=1.34$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.96$, $p > 0.05$; **Fig. 58A**) que controlatérale (Von Frey: $t=1.95$, $p > 0.05$; IR 40: $t=1.53$, $p > 0.05$; **Fig. 58B**). Par contre, nous avons remarqué un effet réversible de la sensibilité douloureuse chez les souris 6-OHDA. Le seuil mécanique et la latence de retrait à la fois de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=2.51$, $p < 0.05$; IR 40: $t=2.47$, $p < 0.05$; **Fig. 58C**) et controlatérale (Von Frey: $t=2.89$, $p < 0.05$; IR 40: $t=3.10$, $p < 0.05$; **Fig. 58D**) des souris 6-OHDA a augmenté lorsque la lumière a été délivrée. Par contre lorsque la lumière est éteinte, les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=0.17$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.01$, $p > 0.05$; **Fig. 58C**) et

controlatérale (Von Frey: $t=1.24$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.04$, $p>0.05$; **Fig. 58D**) sont complètement rétabli de nouveau à leurs valeurs de base.

Chez les souris sham, nos enregistrements unitaires *in vivo* montrent qu'aucun changement dans l'activité électrique des neurones WDR de la corne dorsale de la moelle épinière aux stimuli non douloureux (1.4g: $q=0.36$, $p>0.05$; **Fig. 59B, C**) ou douloureux (6.0g: $q=0.15$, $p>0.05$; **Fig. 59B, C**) de la patte postérieure controlatérale lorsque la lumière est délivrée. En revanche chez les souris 6-OHDA, nos tracés montrent que l'inhibition optogénétique de l'ACC diminue significativement les réponses des neurones WDR aux stimuli mécaniques non douloureux (1.4g: $q=4.67$, $p<0.05$; **Fig. 59B, C**) et douloureux (6.0g: $q=4.46$, $p<0.05$; **Fig. 59B, C**). Lorsque la lumière est éteinte, le nombre de potentiel d'action par stimuli périphérique revient à son niveau de base comme avant l'inhibition optogénétique de l'ACC (1.4g et 6.0g: $q=0.36$ et $q=0.04$, $p>0.05$; **Fig. 59B, C**).

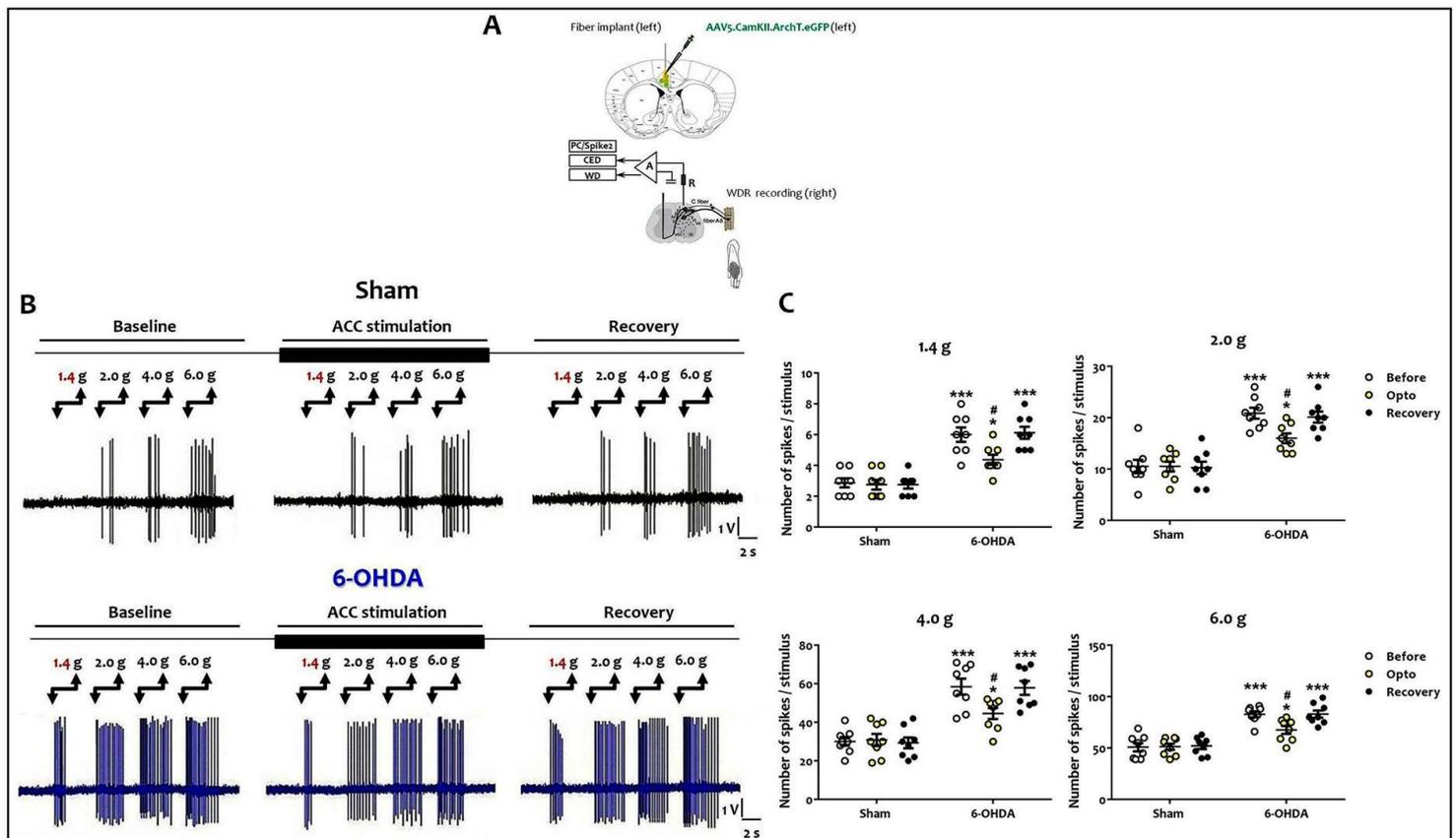


Fig. 59: Inhibition des neurones CamKII positifs dans l'ACC diminue la réponse des neurones spinaux WDR à différents stimuli mécaniques chez les souris 6-OHDA. **A, B.** Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement *in vivo* des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant l'ACC en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents

temps: avant la stimulation optogénétique (before), pendant (opto) et après 2 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). *** $p < 0.001$ vs. sham. # $p < 0.05$ vs. before.

Dans leur ensemble, ces données confirment que la régulation de la sensibilité douloureuse dans les conditions ADHD implique l'ACC, en particulier les neurones excitateurs de l'ACd.

En revanche, les seuils de douleur chez les souris sham injectées avec l'AAV5.CamKII.eGFP (virus contrôle) ne sont pas affectées par la lumière que ce soit au niveau de la patte ipsilatérale (Von Frey: $t=0.01$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.06$, $p > 0.05$; **Fig. 60A**) ou controlatérale (Von Frey: $t=0.11$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.10$, $p > 0.05$; **Fig. 60B**). Les mêmes observations de l'absence d'effet de la lumière sur la sensibilité douloureuse sont faites chez les souris 6-OHDA, que ce soit pour la patte ipsilatérale (Von Frey: $t=0.17$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.24$, $p > 0.05$; **Fig. 60C**) ou controlatérale (Von Frey: $t=0.04$, $p > 0.05$; IR 40: $t=0.2$, $p > 0.05$; **Fig. 60D**).

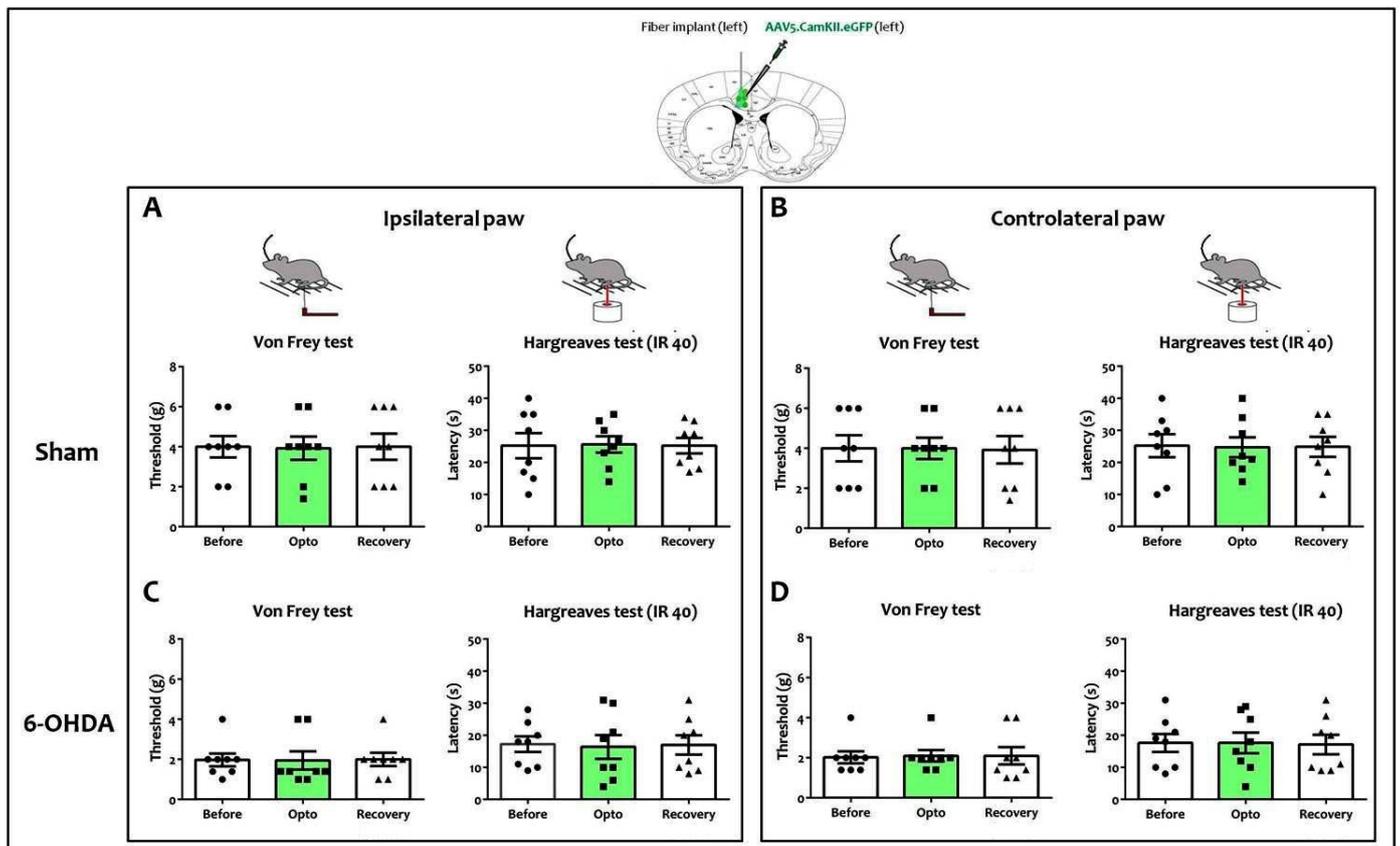


Fig. 60: Effet de la lumière sur les neurones exprimant *CamKII.eGFP* (virus contrôle) dans la réaction nociceptive.

Haut: Diagramme schématique du site de l'injection virale et l'emplacement de la fibre optique dans l'ACC. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe).

De plus, chez les souris sham exprimant l'AAV5.CamkII.eGFP, nos enregistrements *in vivo* confirment l'absence d'effet de la lumière sur les neurones WDR de la patte postérieure controlatérale en réponse aux stimuli périphériques non douloureux (1.4g: $q=0.18$, $p>0.05$; **Fig. 61B, C**) ou douloureux (6.0g: $q=0.07$, $p>0.05$; **Fig. 61B, C**). Les mêmes observations sont faites chez les souris 6-OHDA, que ce soit en réponse aux stimuli non douloureux (1.4g: $q=0.02$, $p>0.05$; **Fig. 61B, C**) ou douloureux (6.0g: $q=0.03$, $p>0.05$; **Fig. 61B, C**).

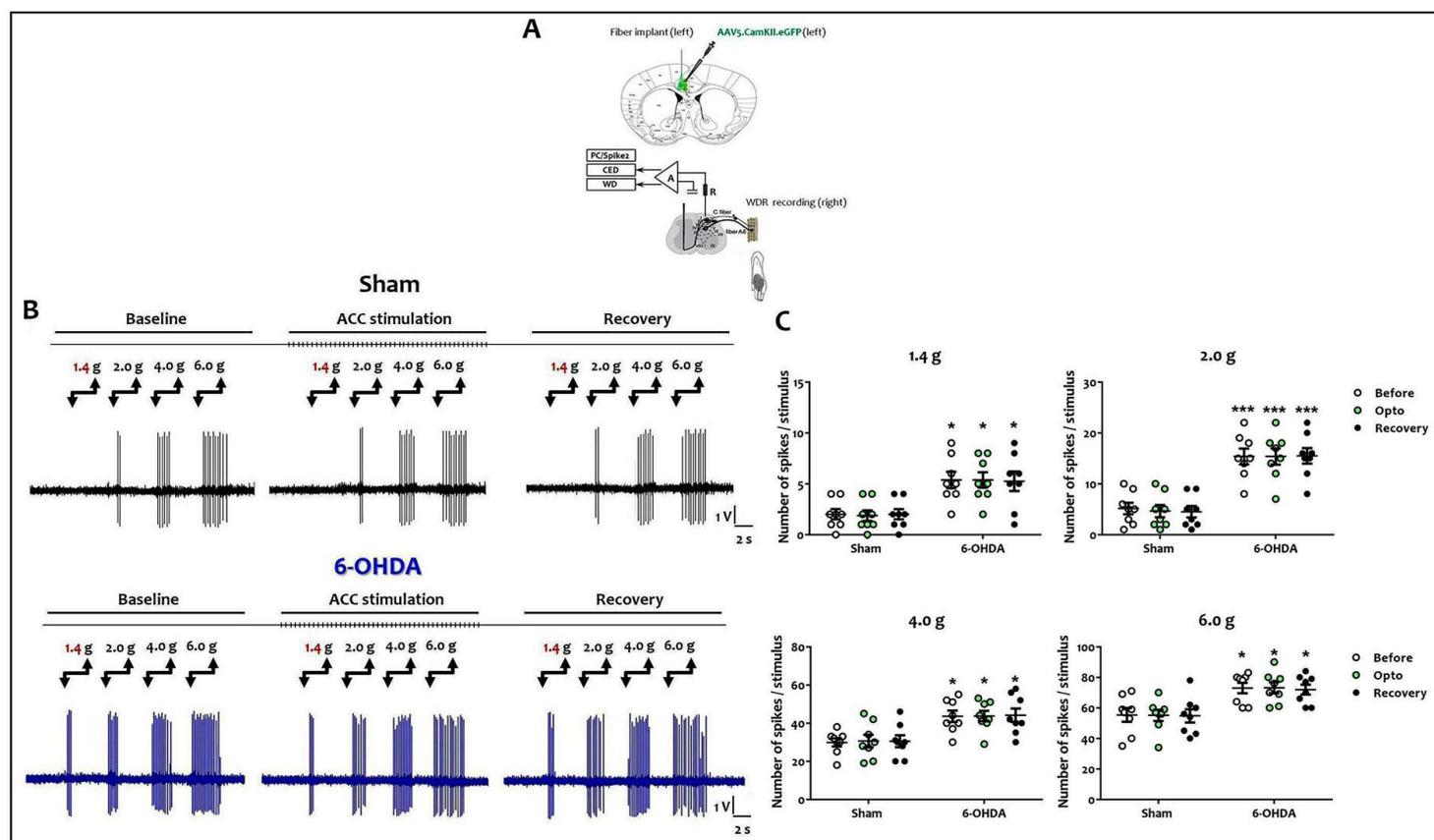


Fig. 61: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) de l'activité des neurones WDR.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement *in vivo* des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant l'ACC en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents temps: avant la stimulation optogénétique (before), pendant (opto) et après 2 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). * $p<0.05$; *** $p<0.001$ vs. sham.

3.3. La voie excitatrice ‘ACC – PI’ a un rôle bidirectionnel dans la modulation et le maintien de la sensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA

Nous avons ensuite cherché à comprendre le circuit issu de l’ACC et impliqué dans la sensibilisation centrale à la douleur en conditions ADHD. Le cortex cingulaire antérieur ‘ACC’ et l’insula postérieure ‘PI’ sont deux zones clés dans l’ADHD et la douleur. Dans ce sens, nous nous sommes demandés si la voie excitatrice ACC – PI est impliquée dans le dysfonctionnement des voies descendantes de la douleur.

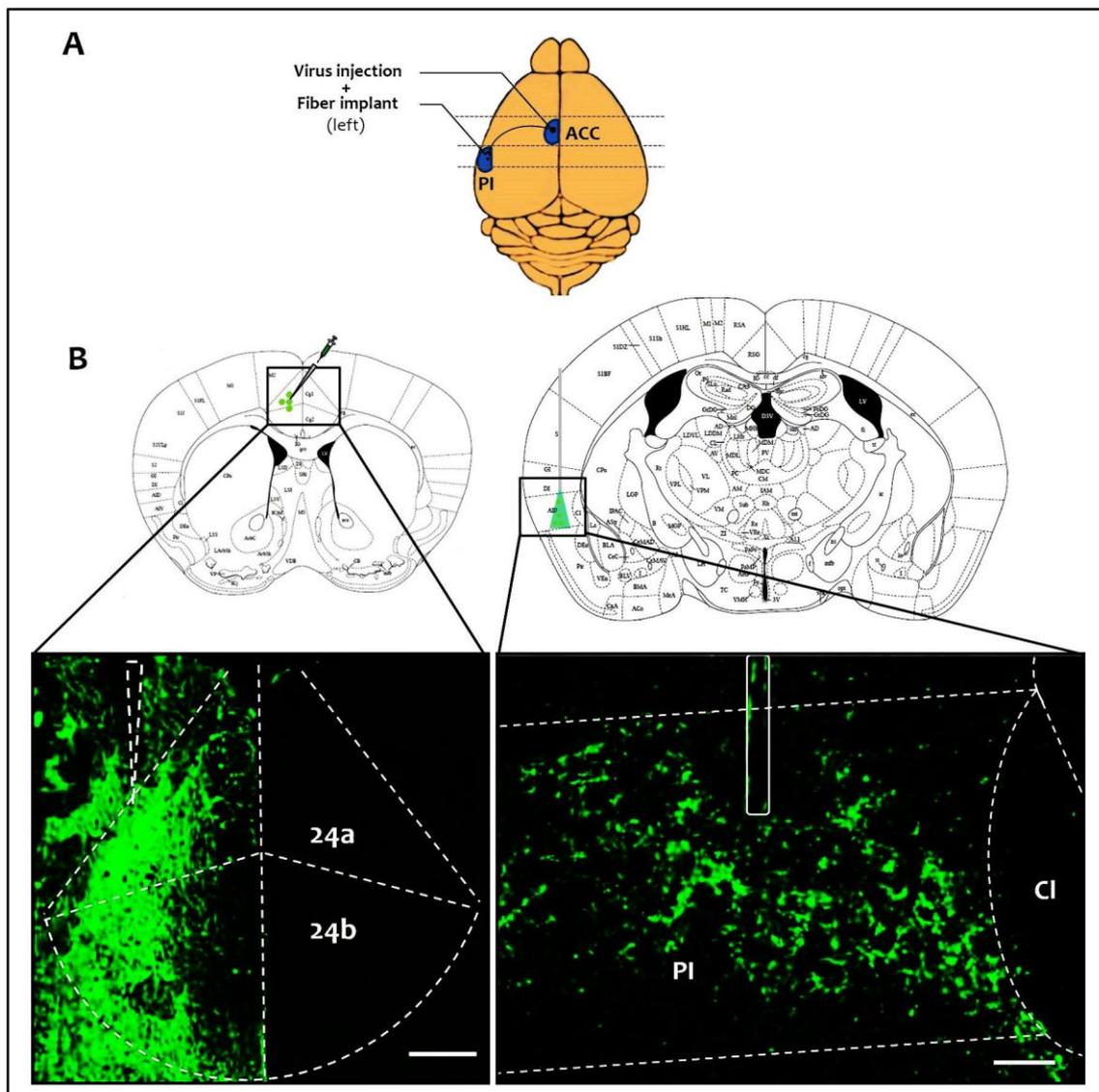


Fig. 62: Manipulations optogénétiques des projections ACC- PI ipsilatérales dans la modulation de la douleur en conditions ADHD.

A. Schéma illustratif de la manipulation optogénétique de la voie descendante ACC – PI ipsilatérale (côté gauche). **B.** Exemples de l’expression virale des projections de l’ACC des neurones excitateurs exprimant la Chr2 ou ArchT3.0 sous le contrôle du promoteur CamKII à PI. Barre d’échelle: ACC (1 mm), PI (200 μ m).

Nous avons d'abord vérifié que l'injection virale unilatérale de l'ACC côté gauche permet l'expression du virus dans les zones de projections ipsilatérales, en particulier la PI (**Fig. 62A**). La **Fig. 62B** confirme le site d'injection virale dans la zone ACd (24b), ainsi qu'une forte expression virale dans la PI. Les images valident également l'emplacement de la fibre optique.

Pour étudier plus en détail si les projections ACC – PI sont impliquées de manière fonctionnelle dans l'induction de l'hypersensibilité nociceptive, nous avons stimulé ou inhibé directement les projections de l'ACC vers la PI par des manipulations optogénétiques.

3.3.1. L'activation des projections excitatrices ACC – PI potentialise l'hypersensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA

Premièrement, nous avons infecté unilatéralement les neurones de l'ACC (côté gauche) avec l'*AAV5.CamKII.ChR2*. Nous avons ensuite activé les projections exprimant *ChR2* via une fibre optique placée dans la PI ipsilatérale (côté gauche).

Chez le groupe sham, nous avons observé une diminution significative des seuils de douleur aussi bien de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=2.84$, $p<0.05$; IR 40: $q=3.36$, $p<0.05$; **Fig. 63A**) que controlatérale (Von Frey: $t=2.97$, $p<0.05$; IR 40: $q=3.42$, $p<0.05$; **Fig. 63B**) en réponse aux stimuli mécaniques et thermiques lorsque la lumière est délivrée. Deux minutes après l'arrêt de la stimulation optogénétique, la modification des seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $q=2.35$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.05$, $p>0.05$; **Fig. 63A**) et controlatérale (Von Frey: $t=0.21$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.36$, $p>0.05$; **Fig. 63B**) se maintient. Par contre après cinq minutes, les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=0.14$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.04$, $p>0.05$; **Fig. 63A**) et controlatérale (Von Frey: $t=0.19$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.08$, $p>0.05$; **Fig. 63B**) reviennent à leurs niveaux de base, tout comme avant la manipulation optogénétique.

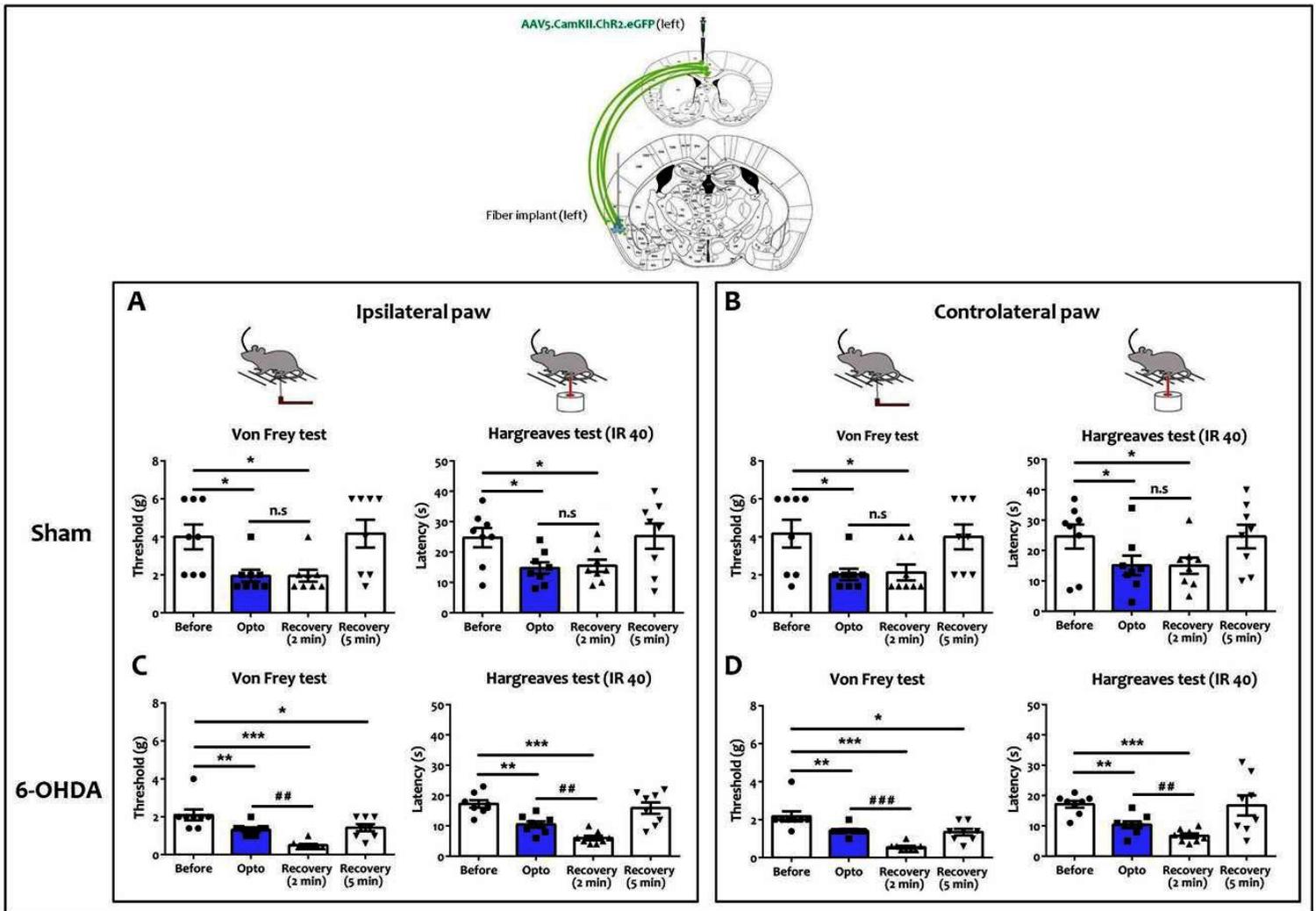


Fig. 63: Activation des projections ACC – PI excitatrices potentialise et maintient la sensibilité douloureuse.

Haut: Diagramme schématique du site de l'injection virale dans l'ACC et l'emplacement de la fibre optique dans le PI. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ en comparaison avec before. # $p < 0.01$; ## $p < 0.001$ vs. opto.

Chez les souris 6-OHDA, le seuil mécanique et la latence de retrait à la fois de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=3.70$, $p < 0.01$; IR 40: $t=3.56$, $p < 0.01$; **Fig. 63C**) et controlatérale (Von Frey: $t=3.72$, $p < 0.01$; IR 40: $t=3.50$, $p < 0.01$; **Fig. 63D**) diminuent significativement lorsque la lumière est délivrée. De manière intéressante, 2 minutes après la stimulation optogénétique, la modification des seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=5.40$, $p < 0.01$; IR 40: $t=4.96$, $p < 0.01$; **Fig. 63C**) et controlatérale (Von Frey: $t=7.00$, $p < 0.001$; IR 40: $t=3.37$, $p < 0.01$; **Fig. 63D**) est encore accentuée, par rapports à leur niveau pendant l'activation optogénétique

de la voie ACC – PI excitatrice. Cet effet est plus marqué dans la patte controlatérale des souris 6-OHDA (Von Frey: 76.19% vs. 74.71%; IR 40: 65.21% vs. 60.58%). Par contre après cinq minutes, les seuils de douleur thermique de la patte postérieure ipsilatérale (IR 40: $t=0.52$, $p>0.05$; **Fig. 63C**) et controlatérale (IR 40: $t=0.09$, $p>0.05$; **Fig. 63D**) reviennent à leurs niveaux de base, alors que les seuils de douleur mécanique ipsilatérale (Von Frey: $t=3.12$, $p<0.05$; **Fig. 63C**) et controlatérale (Von Frey: $t=2.98$, $p<0.05$; **Fig. 63D**) ne sont pas complètement rétabli.

Les enregistrements unitaires *in vivo* confirment les résultats du comportement. Les neurones WDR de la corne dorsale de la moelle épinière des souris sham sont activés en réponse aux stimuli non douloureux (1.4g: $q=4.56$, $p<0.05$; **Fig. 64B, C**), et présentent une augmentation d'activité en réponse aux stimuli douloureux (6.0g: $q=4.79$, $p<0.05$; **Fig. 64B, C**) de la patte postérieure controlatérale. Lorsque la lumière est éteinte après deux minutes, nous avons remarqué que l'activité des neurones WDR de la moelle épinière n'évolue pas, comme dans le cas de l'activation optogénétique de cette même voie ACC – PI (1.4g et 6.0g: $q=0.0$ et $q=0.17$, $p>0.05$; **Fig. 64B, C**). Au contraire, après cinq minutes, l'activité électrique des neurones WDR revient à son niveau de base, comme avant la manipulation optogénétique (1.4g et 6.0g: $q=0.16$ et $q=0.49$, $p>0.05$; **Fig. 64B, C**). Chez les souris 6-OHDA, nos tracés montrent que l'activation optogénétique de la voie excitatrice ACC – PI augmente les réponses des neurones WDR aux stimuli mécaniques non douloureux (1.4g: $q=5.37$, $p<0.01$; **Fig. 64B, C**) et douloureux (6.0g: $q=5.32$, $p<0.01$; **Fig. 64B, C**). Cet effet est significativement plus marqué chez les souris 6-OHDA que chez les souris sham (1.4g: 62.26% vs. 55.66%; 6.0g: 34.64% vs. 27.11%). Cependant, lorsque la lumière est éteinte après deux minutes, nous avons remarqué que l'activité des neurones WDR continue d'augmenter (1.4g et 6.0g: $q=3.91$ et $q=4.59$, $p<0.05$; **Fig. 64B, C**). Par contre, après cinq minutes, les réponses neuronales WDR ne sont pas complètement rétabli à leur niveau de base (1.4g et 6.0g: $q=4.55$ et $q=5.18$, $p<0.05$; **Fig. 64B, C**).

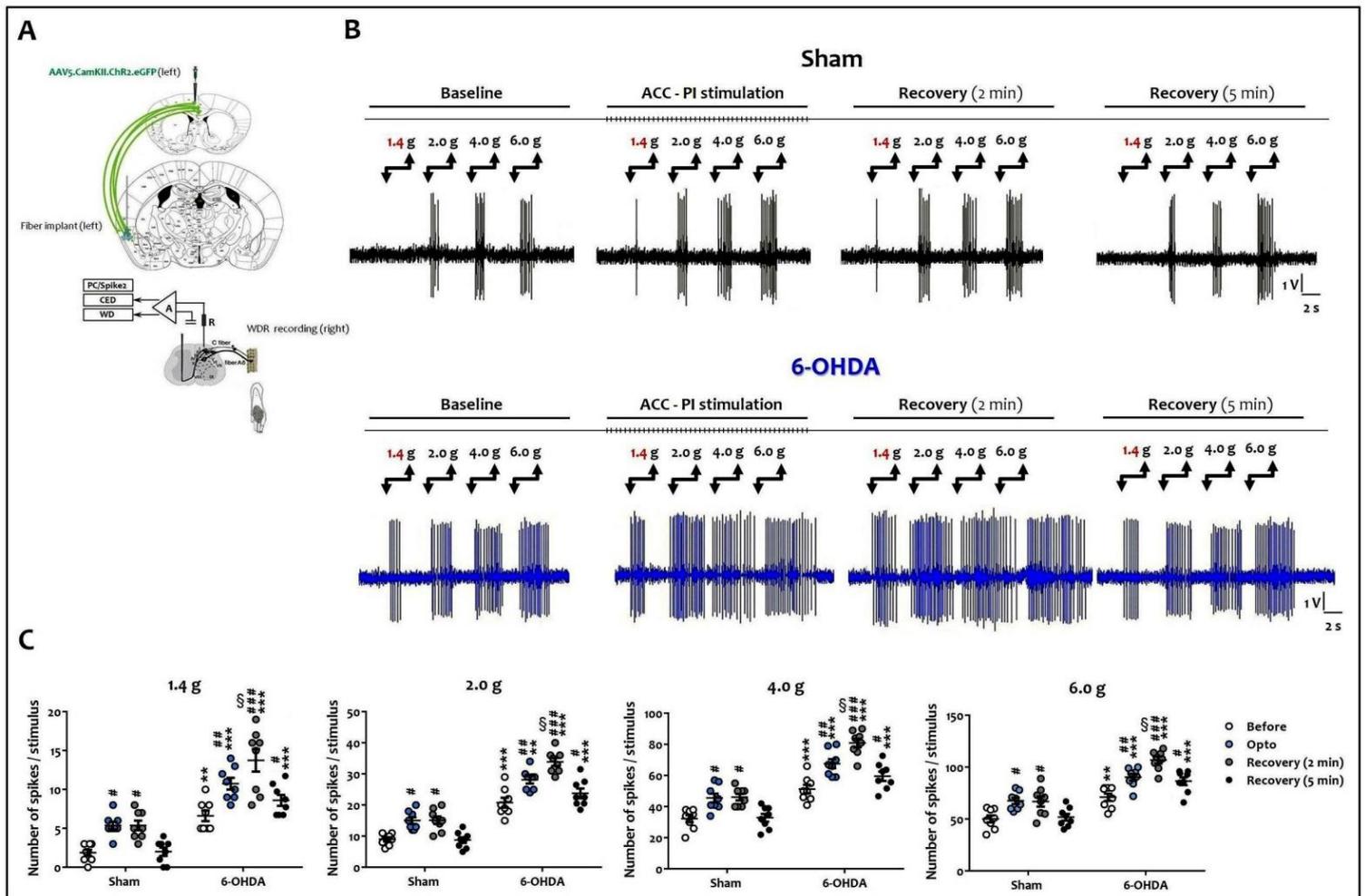


Fig. 64: Activation des projections ACC – PI excitatrices potentialise la décharge des neurones WDR de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement in vivo des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant l'ACC – PI en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents temps: avant la stimulation optogénétique (before), pendant (opto), après 2 et 5 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ vs. sham. # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$ vs. before. § $p < 0.05$ vs. opto.

3.3.2. L'inhibition des projections excitatrices ACC – PI réverse et maintient la sensibilité à la douleur chez les souris 6-OHDA

Nous avons ensuite inhibé les voies excitatrices de l'ACC – PI, exprimant *CaMKII.ArchT3.0*, avec une lumière jaune (575 nm en continue) et nous avons déterminé le seuil de douleur chez les souris sham et 6-OHDA.

Dans le groupe sham, nos résultats montrent une augmentation significative des seuils de douleur aussi bien de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: $t=3.42$, $p < 0.05$; IR 40:

t=2.51, $p < 0.05$; **Fig. 65A**) que controlatérale (Von Frey: t=2.38, $p < 0.05$; IR 40: t=2.76, $p < 0.05$; **Fig. 65B**) en réponse aux stimuli mécaniques et thermiques lorsque la lumière est délivrée. Deux minutes après l'arrêt de la stimulation optogénétique, la modification des seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: t=0.42, $p > 0.05$; IR 40: t=0.27, $p > 0.05$; **Fig. 65A**) et controlatérale (Von Frey: t=0.05, $p > 0.05$; IR 40: t=0.02, $p > 0.05$; **Fig. 65B**) se maintient. Par contre après cinq minutes, les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: t=0.31, $p > 0.05$; IR 40: t=0.20, $p > 0.05$; **Fig. 65A**) et controlatérale (Von Frey: t=0.01, $p > 0.05$; IR 40: t=0.06, $p > 0.05$; **Fig. 65B**) reviennent à leurs niveaux de base, comme avant l'inhibition optogénétique de cette voie ACC – PI. Chez les souris 6-OHDA, le seuil mécanique et la latence de retrait à la fois de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: t=3.71, $p < 0.01$; IR 40: t=3.56, $p < 0.01$; **Fig. 65C**) et controlatérale (Von Frey: t=4.48, $p < 0.01$; IR 40: t=3.73, $p < 0.01$; **Fig. 65D**) augmente significativement lorsque la lumière est délivrée. Ici encore, 2 minutes après l'arrêt de la stimulation optogénétique, nous avons remarqué qu'à la fois les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: t=2.38, $p < 0.05$; IR 40: t=2.43, $p < 0.05$; **Fig. 65C**) et controlatérale (Von Frey: t=2.65, $p < 0.05$; IR 40: t=2.41, $p < 0.05$; **Fig. 65D**) continuent d'augmenter. Par contre après cinq minutes, les seuils de douleur mécanique et thermique de la patte postérieure ipsilatérale (Von Frey: t=0.52, $p > 0.05$; IR 40: t=0.44, $p > 0.05$; **Fig. 65C**) et controlatérale (Von Frey: t=2.43, $p > 0.05$; IR 40: t=0.62, $p > 0.05$; **Fig. 65D**) reviennent à leurs niveaux de base.

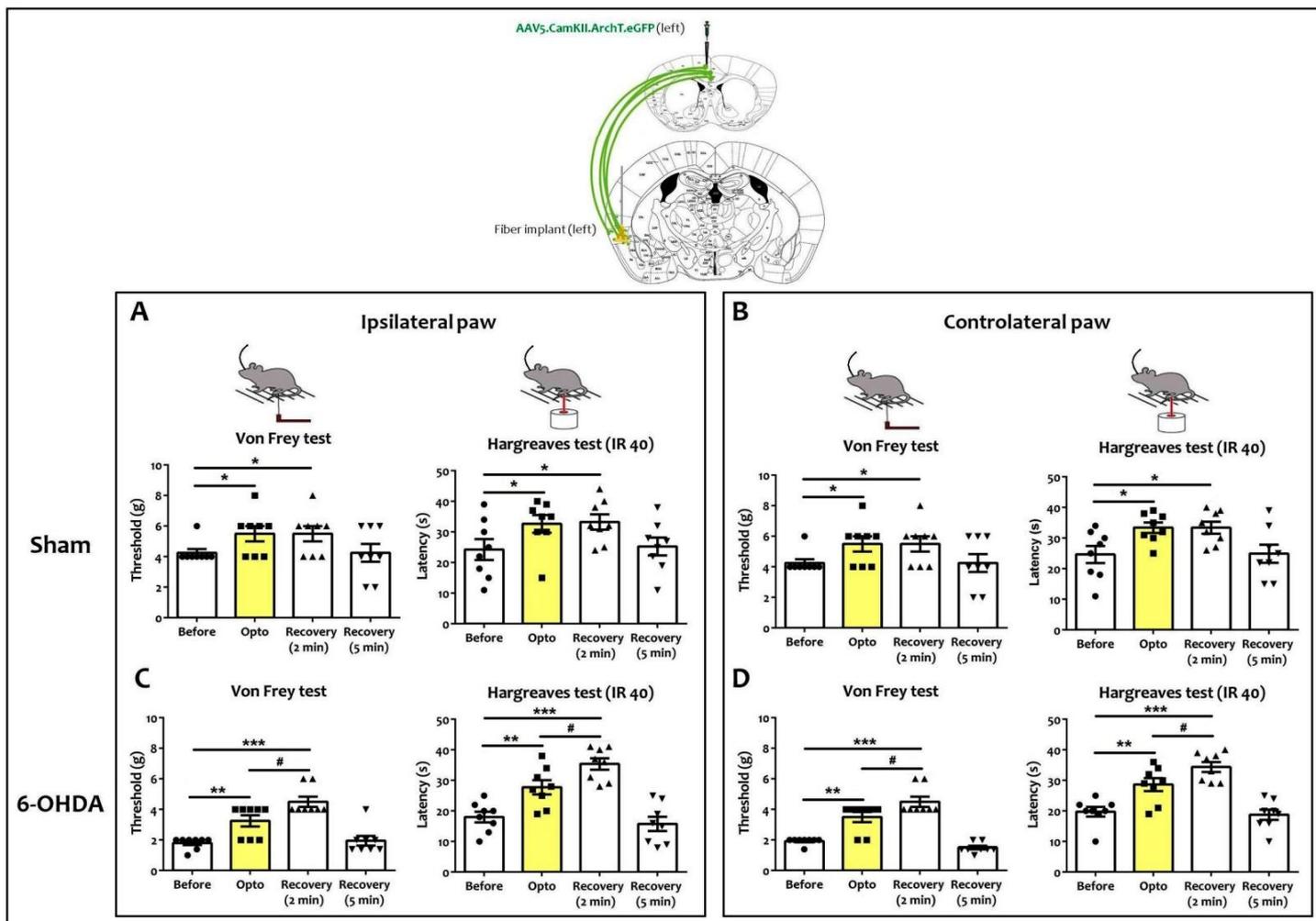


Fig. 65: Inhibition des projections ACC – PI excitatrices réverse et maintient la sensibilité douloureuse.

Haut: Diagramme schématique du site de l'injection virale dans l'ACC et l'emplacement de la fibre optique dans le PI. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ en comparaison avec before. # $p < 0.05$ vs. opto.

Les enregistrements unitaires *in vivo* confirment les résultats du comportement. L'inhibition optogénétique de la voie excitatrice ACC – PI bloque partiellement l'activité électrique des neurones WDR de la corne dorsale de la moelle épinière en réponse aux stimuli douloureux (6.0g: $q = 5.07$, $p < 0.05$; **Fig. 66B, C**) de la patte postérieure controlatérale des souris sham. Deux minutes après l'arrêt de la stimulation optogénétique, nous avons remarqué que l'activité des neurones WDR de la moelle épinière en réponse aux stimuli périphérique se maintient (6.0g: $q = 0.17$, $p > 0.05$; **Fig. 66B, C**). Au contraire, après cinq minutes, l'activité électrique des neurones WDR revient à son niveau de base, comme avant la manipulation optogénétique (6.0g: $q = 0.43$, $p > 0.05$; **Fig.**

66B, C). Chez les souris 6-OHDA, nos tracés montrent que l'inhibition optogénétique de la voie excitatrice ACC – PI bloque significativement les réponses des neurones WDR aux stimuli mécaniques non douloureux (1.4g: $q=4.56$, $p<0.05$; **Fig. 66B, C**) et douloureux (6.0g: $q=6.24$, $p<0.01$; **Fig. 66B, C**). Cependant, 2 minutes après l'arrêt de la stimulation optogénétique, nous avons remarqué une amplification de la diminution de l'activité des neurones WDR en réponse aux stimuli périphérique (1.4g et 6.0g: $q=4.56$ et $q=4.81$, $p<0.05$; **Fig. 66B, C**). Par contre après cinq minutes, l'activité des neurones WDR revient à son niveau de base tout comme avant la manipulation optogénétique (1.4g et 6.0g: $q=0.0$ et $q=1.27$, $p>0.05$; **Fig. 66B, C**).

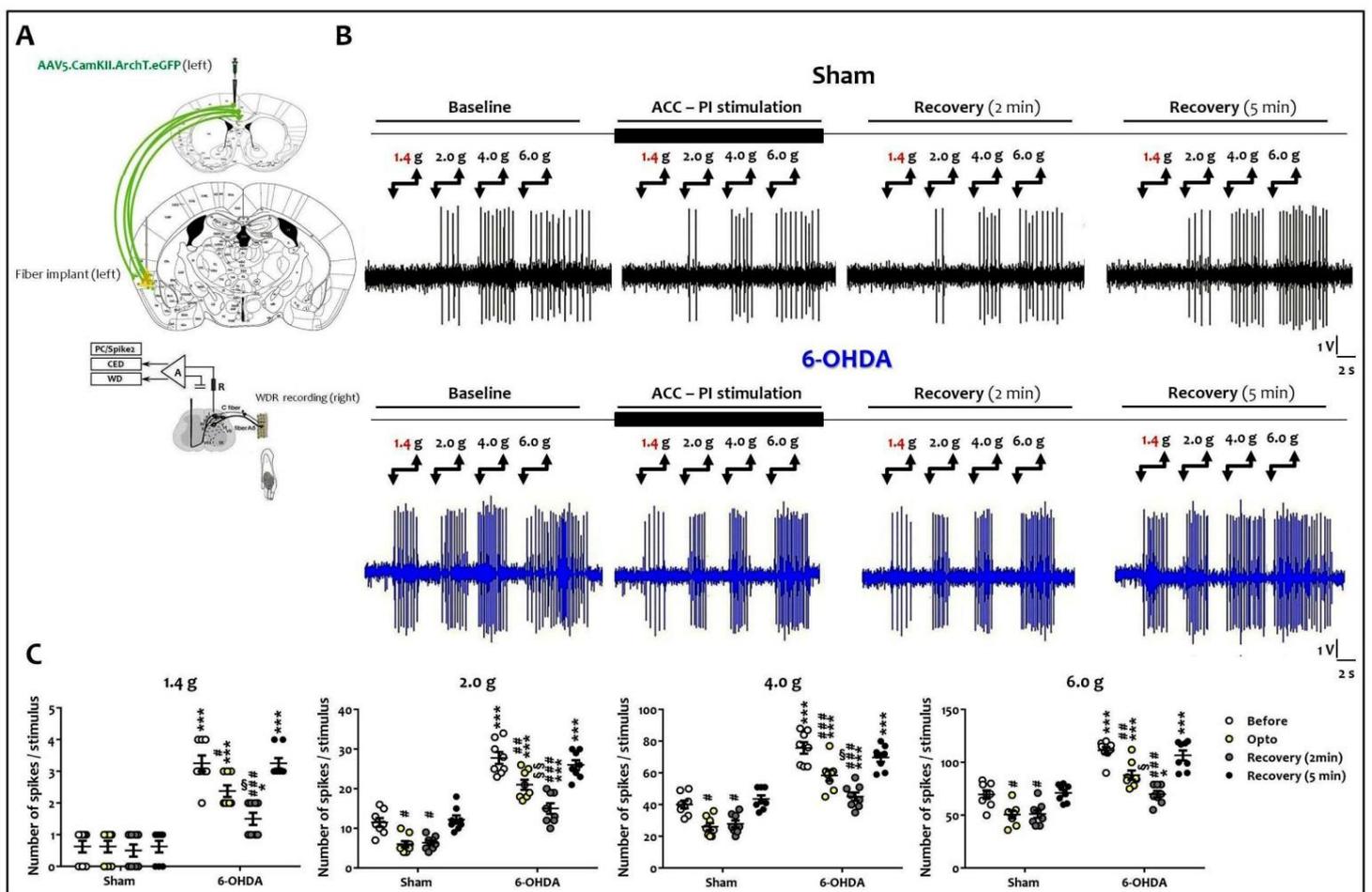


Fig. 66: Inhibition des projections ACC – PI excitatrices bloque la décharge des neurones WDR de la moelle épinière chez les souris 6-OHDA.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement in vivo des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en inhibant la voie ACC – PI en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents temps: avant la manipulation optogénétique (before), pendant (opto), après 2 et 5 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). * $p<0.05$; *** $p<0.001$ vs. sham. # $p<0.05$; ## $p<0.01$; ### $p<0.001$ vs. before. $^{\$}$ $p<0.05$; $^{\$}$ $p<0.01$ vs. opto.

Dans leur ensemble, ces données montrent que la voie excitatrice ACC – PI est impliquée non seulement dans l’hypersensibilité nociceptive mais aussi dans le maintien de la sensibilité douloureuse en conditions ADHD.

En revanche, les seuils de douleur chez les souris sham injectées AAV5.CamKII.eGFP (virus contrôle) ne sont pas affectées par la stimulation lumineuse de la patte ipsilatérale (Von Frey: $t=0.24$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.10$, $p>0.05$; **Fig. 67A**) ou controlatérale (Von Frey: $t=0.03$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.16$, $p>0.05$; **Fig. 67B**). Les mêmes observations de l’absence d’effet de la lumière sur la sensibilité douloureuse sont faites chez les souris 6-OHDA, que ce soit pour la patte ipsilatérale (Von Frey: $t=0.15$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.14$, $p>0.05$; **Fig. 67C**) ou controlatérale (Von Frey: $t=0.02$, $p>0.05$; IR 40: $t=0.01$, $p>0.05$; **Fig. 67D**).

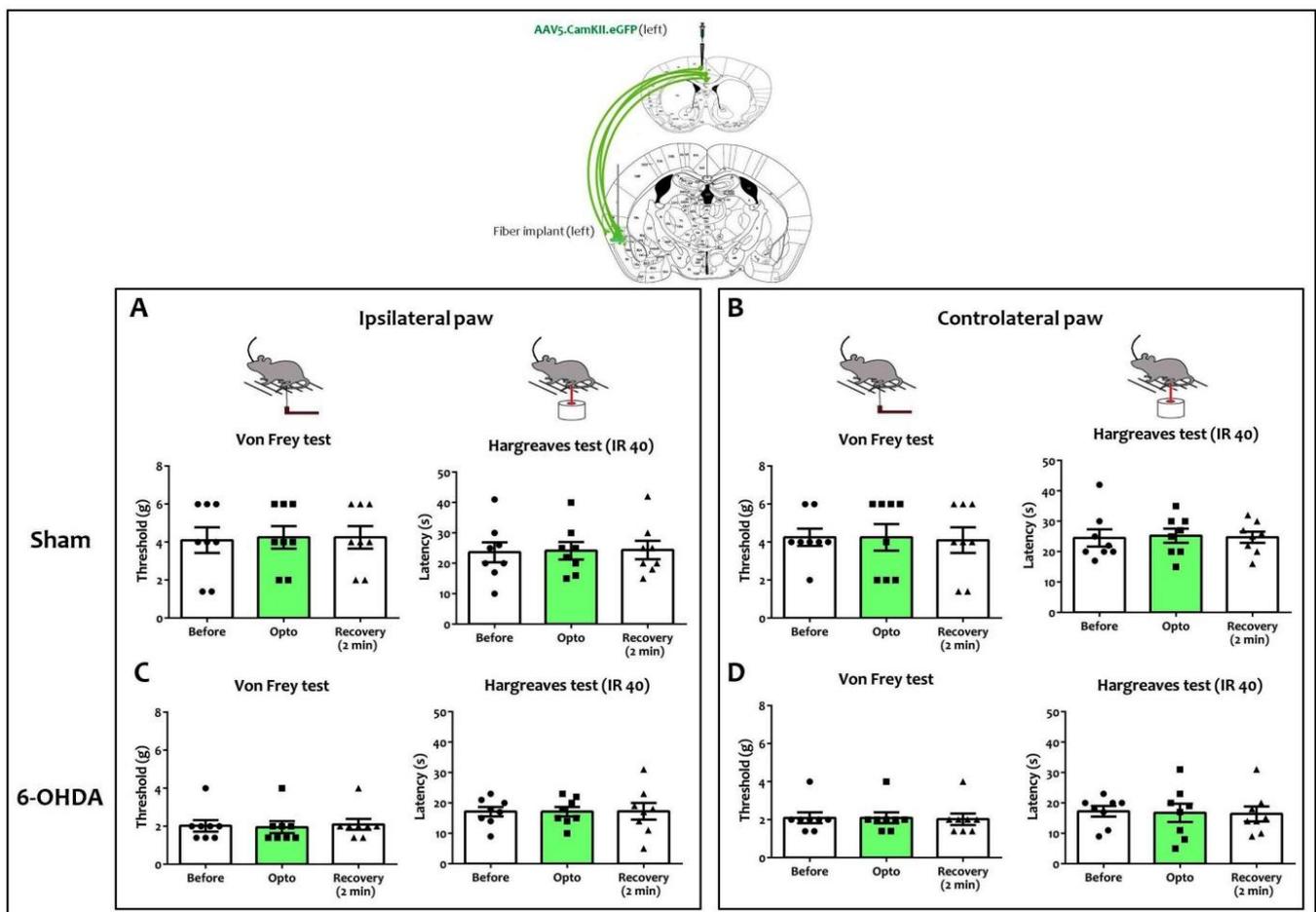


Fig. 67: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) dans la réaction nociceptive.

Haut: Diagramme schématique du site de l’injection virale dans l’ACC et l’emplacement de la fibre optique dans le PI. **A, C.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte ipsilatérale des animaux sham et 6-OHDA. **B, D.** Tests de Von Frey et plantaire sur la patte controlatérale des animaux sham et 6-OHDA. Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 souris par groupe).

De plus, nos enregistrements *in vivo* confirment l'absence d'effet de la lumière sur les neurones WDR de la patte postérieure controlatérale en réponse aux stimuli périphériques non douloureux (1.4g: $q=0.0$, $p>0.05$; **Fig. 68B, C**) ou douloureux (6.0g: $q=0.63$, $p>0.05$; **Fig. 68B, C**) chez les souris sham exprimant AAV5.CamkII.eGFP. Les mêmes observations sont faites chez les souris 6-OHDA, que ce soit en réponse aux stimuli non douloureux (1.4g: $q=0.35$, $p>0.05$; **Fig. 68B, C**) ou douloureux (6.0g: $q=0.14$, $p>0.05$; **Fig. 68B, C**).

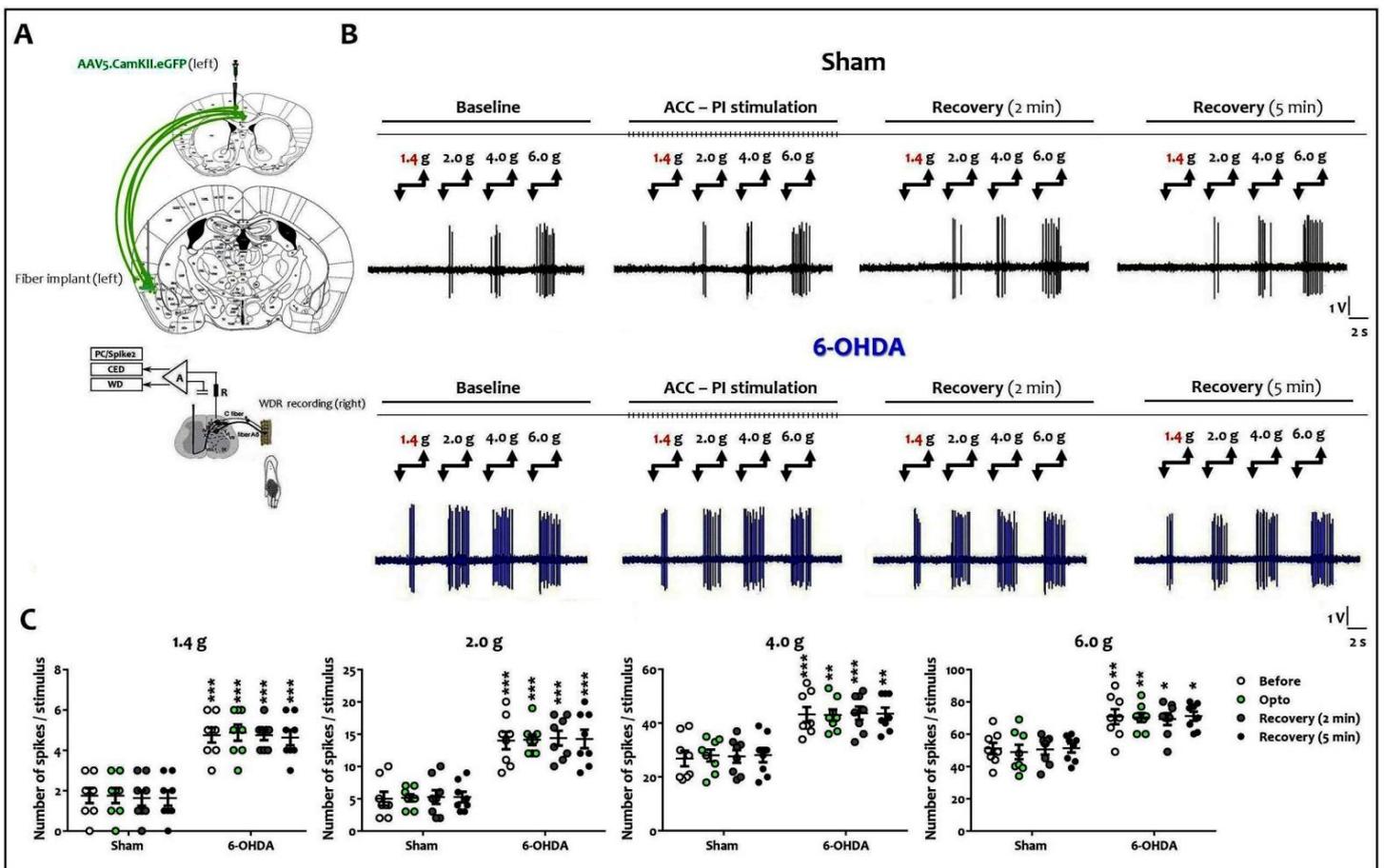


Fig. 68: Effet de la lumière sur les neurones exprimant CamKII.eGFP (virus contrôle) de l'activité des neurones WDR.

A, B. Schéma représentatif et tracés de l'enregistrement *in vivo* des neurones WDR ipsilatéraux de la patte postérieure des animaux en stimulant la voie ACC – PI en controlatérale. **C.** Quantification du nombre de potentiel d'action mesuré par stimulus (filament de Von Frey: 1.4g, 2.0g, 4.0g, 6.0g), à différents temps: avant la stimulation optogénétique (before), pendant (opto) et après 2 minutes (recovery). Toutes les données sont des moyennes \pm SEM (8 neurones par groupe). * $p<0.05$; *** $p<0.001$ vs. sham.

IV. Discussion

Il n'y a eu à ce jour que quelques rapports portant sur l'étude de la sensibilité à la douleur chez les personnes ADHD. De plus, bien que plusieurs études aient signalé une augmentation de la prévalence de la douleur chez les jeunes enfants (Scherder et al., 2008) et les adultes ADHD (Kessler et al., 2009; Stray et al., 2013), certains travaux indiquent une absence d'altération (Egger et al., 1999), ou même une diminution (Scherder et al., 2007) de la perception douloureuse. La première constatation selon laquelle les sujets ADHD présentent des latences plus courtes (Stray et al., 2013; Treister et al., 2013) de la réponse à un stimulus douloureux et une diminution de la tolérance au froid (Stray et al., 2013; Treister et al., 2013) est nouvelle et fournit des preuves psychophysiques d'une hypersensibilité à la douleur. Une explication possible de cette sensibilisation des sujets ADHD est fournie par certaines études suggérant que l'expérience de la douleur passée peut influencer sur la perception de la douleur actuelle. Par exemple, Rollman et al. (2004) ont rapporté que les personnes souffrant de douleur forte au cours de leur vie montraient une tolérance réduite à la douleur. En même temps, il a été constaté que les personnes ADHD étaient davantage exposées à des situations de douleur au cours de leur enfance en raison d'une incidence d'accidents plus élevée et d'une exposition accrue aux procédures médicales par rapport aux enfants en bonne santé (Cuffe et al., 2009). Une autre explication possible de l'hypersensibilité à la douleur chez les ADHD repose sur le dysfonctionnement des voies dopaminergiques (Lou et al., 1989; Swanson et al., 2007). L'implication de ces mêmes voies dans la physiopathologie de la douleur est démontrée par de nombreuses études (Jääskeläinen et al., 2001; Cervenka et al., 2006; Wood, 2008). Par conséquent, les altérations de la perception de la douleur pourraient être liées à des anomalies de la transmission dopaminergique, déjà impliquée dans la survenue des symptômes majeurs de l'ADHD.

Notre étude démontre les effets de la déplétion néonatale en dopamine sur les réponses comportementales nociceptives à divers stimuli somatosensoriels, notamment mécaniques et thermiques, pendant l'adolescence. Les souris 6-OHDA présentent une hyperalgésie thermique et une allodynie mécanique par rapport aux souris sham. Cela suggère que les souris 6-OHDA sont plus sensibles à la douleur, ce qui est en accord avec

certaines études cliniques. Plusieurs travaux ont montré que les noyaux gris centraux et les systèmes dopaminergiques sont concernés par la modulation des entrées nociceptives somatosensorielles (**Chudler et Dong, 1995; Coizet et al., 2006; Pelissier et al., 2006; Coizet et al., 2010**). Quatre-vingt douze pour cent des neurones dopaminergiques de la SN pars compacta présentent une courte latence de réponse à un stimulus nociceptif, parmi lesquels environ 80% montrent des réponses inhibitrices au stimulus (**Coizet et al., 2010**). L'administration d'un agoniste du récepteur D2 de la dopamine dans le striatum réduit la réponse comportementale nociceptive à une injection de formol (**Magnusson et Fisher, 2000**). De plus, les douleurs toniques induites par des stimuli thermiques et mécaniques sont plus sensibles aux agents dopaminergiques (**Pelissier et al., 2006; Camarasa et al., 2009**) que les douleurs thermiques et mécaniques phasiques. Une réponse hyperalgésique à des stimuli chimiques toniques accompagnée d'un comportement nociceptif accru lors du test au formol caractérise des rats présentant un déficit en dopamine à l'âge adulte (**Tassorelli et al., 2007**). De même, dans la présente étude, les souris 6-OHDA présentent une amplification de la réponse comportementale hyperalgésique à l'injection de CFA, montrant un comportement nociceptif accru aux stimuli mécaniques et thermiques. Avec les résultats d'études précédentes (**Pelissier et al., 2006; Tassorelli et al., 2007; Camarasa et al., 2009**), nos données suggèrent que le système neuronal dopaminergique joue un rôle crucial dans le traitement de la douleur, en particulier la douleur persistante, et pourrait être un substrat des comorbidités douleur/ADHD.

Le MpH est un psychostimulant qui augmente la concentration extracellulaire de dopamine et de noradrénaline en inhibant la fonction de leurs transporteurs correspondants (**Sulzer et al., 2005**). Le MpH a également un effet sédatif sur les symptômes ADHD induits par la déplétion néonatale en dopamine (Voir Chap. I). Cependant, l'administration du MpH n'améliore pas la réponse hyperalgésique chez les souris 6-OHDA. Notre étude révèle également que les souris 6-OHDA présentaient une perte presque complète de neurones immunoréactifs TH dans le cerveau, mais pas dans le LC (Voir Chap. I), ce qui suggère que le système neuronal noradrénergique était préservé, au moins partiellement. Pris ensemble, ces résultats indiquent que les cibles du MpH correspondent à des systèmes cérébraux spécifiques de l'ADHD induite par la

déplétion néonatale de dopamine, et différents de ceux qui sous-tendent la réponse hyperalgésique.

Un résultat essentiel de notre étude est que la réponse comportementale hyperalgésique des souris 6-OHDA est liée à une altération de l'intégration sensorielle dans la moelle épinière. Nous avons montré que cette réponse anormale est associée à une augmentation de décharge dans les neurones spinaux à convergence (WDR). De plus, nous avons démontré que l'injection de CFA dans la patte postérieure induit une augmentation de la décharge de ces neurones spinaux du côté ipsilatéral, par rapport aux souris 6-OHDA injectées avec du NaCl. Ce résultat est en accord avec l'hyperactivité des neurones spinaux en conditions de douleur persistante. Chez les rats adultes présentant une déplétion en dopamine, une augmentation du nombre de cellules positives IR-Fos au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière confirme l'activation des circuits spinaux du côté ipsilatéral à la stimulation mécanique de la patte postérieure (**Reyes et Mitrofanis, 2008**). Les mêmes auteurs suggèrent une réduction des projections sérotoninergiques inhibitrices du raphé sur la moelle épinière en raison de la réduction des inputs dopaminergiques excitateurs sur le raphé (**Reyes et Mitrofanis, 2008**). L'ensemble de ces données est en accord avec le fait que les voies descendantes noradrénergiques et sérotoninergiques vers la moelle épinière modulent l'activité des neurones nociceptifs (**Jones, 1991; Millan, 2002; Pertovaara, 2006; Saade' et Jabbur, 2008; Heinricher et al., 2009; Wu et al., 2010; Bardin, 2011**). Des contrôles descendants dopaminergiques ont également été décrits dans la moelle épinière (**Lapirot et al., 2011; Taniguchi et al., 2011; Kawamoto et al., 2012**). En utilisant une analyse de *patch-clamp in vivo*, **Taniguchi et al. (2011)** ont rapporté que la dopamine produisait des effets inhibiteurs directs sur les neurones de la moelle épinière en réponse à une stimulation cutanée nocive ou non nocive. Dans une structure différente, mais proche fonctionnellement, le noyau du trijumeau, on observe une réduction ou une facilitation du comportement nociceptif induit par une injection de formol lors de l'administration locale respective d'un agoniste ou antagoniste du récepteur de type D2, ce qui suggère l'existence d'un contrôle dopaminergique descendant de la transmission nociceptive médié par les récepteurs de type D2 dans la corne dorsale de la moelle (**Lapirot et al., 2011**). Ces résultats suggèrent que la réponse hyperalgésique à l'injection de CFA dans la présente étude est imputable à

la désinhibition du contrôle dopaminergique descendant provoquée par une déplétion néonatale en dopamine. On peut supposer que les modifications de la transmission dopaminergique ont un effet direct, via des projections catécholaminergiques vers la moelle épinière, ou bien un effet via une perturbation des aires cérébrales impliqués dans les contrôles descendants et participant aussi aux circuits de l'ADHD. Étant donné que la projection dopaminergique directe de la VTA exerce un effet inhibiteur sur les réponses électriques du cortex préfrontal à la stimulation mécanique nociceptive (**Sogabe et al., 2013**), les projections dopaminergiques ascendantes devraient aussi être prises en compte pour les futures expériences.

Les patients ADHD présentent des dysfonctionnements cérébraux fronto-striato-thalamo-pariétaux au cours des tâches de l'attention et l'inhibition (**Konrad et al., 2006; Burgess et al., 2010; Cubillo et al., 2011; Rubia et al., 2009; 2011**). Les patients ADHD ont montré une réduction de l'activité dans l'ACC et l'insula, qui suggère des déficits dans un réseau inhibiteur typique de la réponse motrice et de l'inhibition de l'interférence (**Nee et al., 2007; Simmonds et al., 2008; Chambers et al., 2009**). Le dysfonctionnement de l'ACC et l'insula, détecté par IRM fonctionnelle, est l'un des déficits de l'inhibition les mieux décrits chez les patients ADHD (**Hart et al., 2013**). Il pourrait représenter un bio-marqueur neurofonctionnel spécifique du trouble ADHD (**Rubia et al., 2011**) qui permettrait de distinguer ces patients des sujets atteints de trouble de la conduite (**Rubia et al., 2009; 2010**) ou de trouble obsessionnel compulsif (**Rubia et al., 2010**).

Des mécanismes de plasticité sont aussi responsables des phénomènes de sensibilisation à la douleur. En effet, des études sur des modèles de rongeurs ont montré que la sensibilisation périphérique des nocicepteurs et la plasticité synaptique à long terme de la moelle épinière, ou la plasticité des régions sous-corticales et corticales contribuent à la douleur chronique (**Sandkuhler, 2007; Zhuo, 2008; 2014**). Des approches d'imagerie cérébrale chez l'homme ont fourni des informations cruciales sur les régions corticales impliquées dans différents types de douleur (**Apkarian et al., 2005; Bushnell et al., 2013**). L'ACC et d'autres zones corticales, y compris l'insula, le S1, le S2 et le PFC, sont activés par divers stimuli somatiques et viscéraux neutres (**Talbot et al., 1991; Apkarian et al., 2005; Bushnell et al., 2013**).

L'ACC est constitué des couches I, II – III et V – VI chez les rongeurs et l'Homme ([Devinsky et al., 1995](#); [Vogt, 2005](#)) contrairement aux autres régions corticales, l'ACC n'a pas de couche IV. La couche I contient des interneurones et des fibres de projection provenant d'autres régions du système nerveux central; certaines d'entre elles forment des connexions avec des neurones dans les couches les plus profondes de l'ACC. Les couches II à III contiennent principalement des cellules pyramidales. Les couches plus profondes de l'ACC contiennent des cellules pyramidales et des interneurones ([Devinsky et al., 1995](#); [Vogt, 2005](#)). Un grand nombre de ces neurones pyramidaux envoient leurs projections vers d'autres zones corticales. La stimulation de l'ACC chez diverses espèces de mammifères peut induire une vocalisation ([Devinsky et al., 1995](#)), que l'on pense être un indicateur de douleur ou de peur, vraisemblablement par le biais d'une projection sur le cortex moteur. Les neurones de l'ACC projettent également vers l'insula ou le PFC ([Medalla et Barbas, 2012](#)), ces dernières connexions pouvant influencer le sommeil et la cognition ([Devinsky et al., 1995](#); [Vogt, 2005](#)). Les projections de l'ACC vers les structures sous-corticales atteignent l'hypothalamus et la PAG ([Bragin et al., 1984](#)), elle-même impliquée dans la modulation descendante de la transmission sensorielle spinale. Les neurones de l'ACC forment également des connexions avec les neurones de l'amygdale, structure jouant un rôle clé dans le traitement de la peur et de l'anxiété ([LeDoux, 2000](#); [Tovote et al., 2015](#)). Une projection de l'ACC vers le IC, une région qui influence les seuils de douleur thermique chez la souris, a également été décrite ([Aston-Jones et Cohen, 2005](#); [Hickey et al., 2014](#)). En outre, une projection directe des cellules pyramidales profondes de l'ACC vers la moelle épinière, en particulier la corne dorsale, a été récemment mise en évidence ([Chen et al., 2014](#)). En retour, l'ACC reçoit une innervation dopaminergique, sérotoninergique, cholinergique et noradrénergique ([Chandler et al., 2013](#)). Bien que l'on connaisse mal les rôles spécifiques de ces projections, on peut présumer que cette connectivité très large contribue au rôle complexe de l'ACC dans le traitement de la douleur et les émotions associées.

L'ACC est une zone corticale importante aussi pour la perception de la douleur, la sensibilisation douloureuse et les troubles émotionnels associés ([Vogt, 2005](#); [Zhuo, 2014](#); [Koga, et al., 2015](#); [Bliss et al., 2016](#)). Une hyperactivation de l'ACC a été régulièrement observée lors des études IRM fonctionnelles chez des personnes souffrant de douleurs

neuropathiques et de douleurs viscérales chroniques, telles que le syndrome du côlon irritable (Zhuo et Gebhart, 1997; Zhuo et al., 2002). Cliniquement, les lésions de l'ACC réduisent considérablement les souffrances chroniques liées à la douleur (Zhuo, 2008). Les neurones de l'ACC répondent aux stimuli somatosensoriels mécaniques ou thermiques tant nocifs que non nocifs (Basbaum et Fields, 1984; Wang et al., 2009; Chen et al., 2014). Nos enregistrements *in vivo* montrent que l'activité spontanée et évoquée de l'ACC est augmentée en conditions ADHD, sa régulation affecte l'activité des neurones spinaux. Plus précisément, la stimulation et l'inhibition de l'ACC entraîne une augmentation et une diminution de décharge des neurones spinaux, en accord avec les résultats du groupe Zhuo (Kang et al., 2015; Chen et al., 2018). Ils ont montré qu'une lésion nerveuse provoquait une potentialisation des réponses postsynaptiques des neurones de la couche profonde de l'ACC qui envoient des projections directes vers la corne dorsale de la moelle épinière (Chen et al., 2014; 2018).

L'ACC est très largement associée à la douleur émotionnelle ou psychologique - la tristesse induite de manière expérimentale, l'exclusion sociale ou le rejet ont tous entraîné une augmentation de l'activité dans cette région corticale (Eisenberger et al., 2003; Yoshino et al., 2010). Chez l'homme, des études par IRM fonctionnelle ont montré que la partie ventrale de l'ACC, impliquée dans le traitement des émotions (Kanske et Kotz, 2012), est hyperactive chez les patients déprimés (Mayberg et al., 1999; Yoshimura et al., 2010) et que les *patterns* d'activité dans les sous-régions de l'ACC étaient corrélés à des groupes de symptômes tels que la tristesse et l'humeur dépressive (Mayberg et al., 1999). Ce rôle possible de l'ACC est également corroboré par des études précliniques chez l'animal montrant une augmentation de l'activité de l'ACC accompagnant des comportements dépressifs dans un paradigme de défaite sociale, comme en témoigne la surexpression de c-Fos (Yu et al., 2011). Il semble donc probable que, dans la douleur persistante, l'ACC contribue à divers effets négatifs, notamment le désagrément de la douleur. En effet, en combinant des analyses électrophysiologiques, optogénétiques et comportementales dans un modèle murin de douleur neuropathique, le groupe de Yalcin a récemment confirmé que l'hyperactivité de l'ACC contribue de manière essentielle à la composante émotionnelle de la douleur (troubles de l'humeur tels que l'anxiété et la dépression) (Sellmeijer et al., 2018). Une lésion de l'ACC peut bloquer l'aversion de la

douleur persistante dans les modèles de douleur neuropathique (Qu et al., 2011; Barthas et al., 2015) et inflammatoire sans affecter l'hypersensibilité mécanique (Johansen et al., 2001; Chen et al., 2014; Barthas et al., 2015). Au contraire, la lésion de l'insula postérieure (PI) peut supprimer le maintien de l'hypersensibilité mécanique (Benison et al., 2011; Barthas et al., 2015) sans affecter la douleur persistante (Barthas et al., 2015).

En lien avec les données précédentes, nos résultats fournissent des preuves solides que la stimulation de l'ACC facilite la transmission excitatrice sensorielle de la moelle épinière, et qu'une inhibition de l'ACC bloque la facilitation descendante de la douleur.

L'identité des circuits corticaux à l'origine de la douleur est en grande partie obscure. L'ACC est constamment activée pendant la douleur, mais la spécificité fonctionnelle des divisions de l'ACC, qui peuvent être délimitées sur la base de la cytoarchitecture, de la neurochimie et la connectivité, et les circuits sous-jacents n'ont pas été pris en compte dans la plupart des études fonctionnelles (Vogt, 2005; Apps et al., 2013). Il est bien établi que la désignation de Brodmann (1909) de l'ACC ne représente pas une seule structure / entité fonctionnelle et la communauté d'imagerie humaine a cherché à résoudre ce problème en appliquant les désignations spatiales au sein de l'ACC qui ne reflètent pas l'organisation cytoarchitecturale. L'ACC dorsal (ACd), par exemple, est un terme qui est variablement utilisé pour faire référence à la zone 24b au-dessus du corps calleux (Mayberg et al., 2000), les zones 24c' et 32' (Bush et al., 2002) ou des zones 24' et 23 (Wager et al., 2004). Les études sur les fonctions de l'ACC dans la douleur chez les rongeurs décrivent soit un rôle exclusif dans l'aspect négatif lié à la douleur, mais pas dans la composante sensorielle de la douleur (Gao et al., 2004; Johansen et al., 2004; Qu et al., 2011), ni dans les fonctions sensorielles pronociceptives (Wei et al., 2002; Koga et al., 2010; Li et al., 2010; Gu et al., 2015; Kang et al., 2015). La plupart des études portant sur l'impact de la fonction cingulaire sur la nociception ont ciblé l'ACC rostral ou prégenual (rACC) (Johansen et al., 2004; Chen et al., 2014; Gu et al., 2015; Kang et al., 2015), alors que nous nous sommes concentrés exclusivement sur l'ACd, qui est un sous-domaine distincte cytoarchitecturalement et fonctionnellement sur plusieurs espèces, y compris la souris, le rat et l'humain (Vogt et Paxinos, 2014). Lorsque nos résultats sur l'ACd sont combinés avec deux études importantes précédentes manipulant sélectivement le rACC chez les rongeurs (Johansen et al., 2004; Qu et al., 2011), une image se dégage suggérant que les

domaines ACd et rACC atténuent respectivement les dimensions sensorielles et affectives de la sensibilité à la douleur, qui est conforme aux prévisions de certaines études d'imagerie antérieures et récentes sur des sujets humains ([Vogt et al., 2003](#); [Singer et al., 2004](#); [Hu et al., 2015](#)).

Ici, les analyses interrogatives utilisant l'optogénétique pour cibler des populations cellulaires spécifiques, ainsi que pour manipuler des circuits avec une précision temporelle, ont révélé que le domaine de l'ACd induisait une hypersensibilité sensorielle chez les souris sham et beaucoup plus chez les souris 6-OHDA. Bien que tous les neurones et sous-domaines de l'ensemble de l'ACd ne puissent être ciblés simultanément avec l'optogénétique, une manipulation de l'activité des neurones excitateurs de la région éclairée était suffisante pour moduler la plasticité sensorielle nociceptive. De plus, notre observation selon laquelle une inhibition de l'ACd peut inverser l'hypersensibilité uniquement chez les souris 6-OHDA, offre une perspective puissante sur de nombreux troubles cliniques impliquant une participation importante de l'ACd et une plasticité dépendante de l'activité. Les neurones de l'ACC répondent aux stimuli somatosensoriels mécaniques ou thermiques tant nocifs que non nocifs ([Yamamura et al., 1996](#); [Hutchison et al., 1999](#); [Iwata et al., 2005](#); [Koga et al., 2010](#)). En particulier, les neurones pyramidaux, qui intègrent les entrées des différentes couches corticales, sont excités par des entrées mécaniques nocives ([Yamamura et al., 1996](#); [Hutchison et al., 1999](#); [Iwata et al., 2005](#); [Koga et al., 2010](#)). Les cellules non pyramidales de l'ACC sont des neurones inhibiteurs contenant du GABA et divers neuropeptides ([Koga et al., 2015](#)). Dans les circuits locaux, les neurones inhibiteurs reçoivent l'innervation glutamatergique excitatrice des cellules pyramidales, ce qui entraîne la libération en retour de GABA dans la région périsomatique des cellules pyramidales. De plus, il a été démontré que la stimulation optogénétique des interneurones inhibiteurs GABAergiques dans l'ACC exerce un effet inhibiteur sur la nociception. Une étude ([Gu et al., 2015](#)) a montré que les comportements nociceptifs induits par l'injection sous-cutanée de formol dans la patte postérieure étaient atténués par l'activation optogénétique de l'ACC chez des souris chez lesquelles la channelrhodopsine 2 était principalement exprimée dans les interneurones inhibiteurs sous le contrôle de l'antigène 1, theta (Thy1) de la cellule thymus. Dans une seconde étude, dans laquelle une approche Cre – loxP permettait une expression plus précise du

channelrhodopsin 2 spécifique au type de cellule, il a également été montré que l'activation optogénétique des interneurons positifs pour la parvalbumine, mais non des interneurons positifs pour la somatostatine, réduisait l'hypersensibilité mécanique induite par le CFA (Koga et al., 2015). Cet effet inhibiteur sur l'hypersensibilité mécanique était probablement dû à l'inhibition des neurones pyramidaux de l'ACC, car l'effet sur la nociception était comparable à celui induit par l'inhibition optogénétique de la décharge de la protéine kinase de type II dépendante du calcium / calmoduline (CaMKII) – exprimée par les cellules pyramidales. En d'autres termes, l'activation des neurones pyramidaux de l'ACC est également nécessaire pour la médiation de l'hypersensibilité. En résumé, l'application récente de l'optogénétique à l'étude de la comorbidité ADHD-douleur permet de disséquer les effets de la manipulation aiguë du rôle de types neuronaux spécifiques dans les composantes sensorielle, affective et cognitive de la douleur.

De plus, dans nos expériences de traçage fonctionnel, nous avons testé une voie reliant les neurones excitateurs de l'ACd aux neurones de la PI, que nous avons trouvée suffisante pour induire et maintenir un état d'hypersensibilité. Nos données comportementales en combinaison avec nos tracés *in vivo* montrent pour la première fois une piste de la nature du dysfonctionnement du contrôle descendant dans les conditions ADHD. L'activation de la voie ACd – PI provoque une aggravation de la sensibilité douloureuse et l'activité électrique des neurones nociceptifs chez les souris 6-OHDA et que ça se maintient plus au fil du temps. Son inhibition reverse également la sensibilité à la douleur et l'intégration sensorielle dans la moelle épinière. Il existe différentes opinions sur les contributions de l'insula antérieure et de la PI dans la perception et au traitement de la douleur (Vogt, 2005; Craig, 2009; Davis et al., 2015; Segerdahl et al., 2015). Selon le modèle de Craig, la PI génère la représentation corticale initiale de l'homéostasie du corps, qui fournit ensuite les informations relatives à l'insula antérieure sur lesquelles sont générées les émotions associées à cette représentation (Craig, 2009). Les rapports indiquant que l'intensité physique d'un stimulus de la douleur est en corrélation avec l'activation de la PI chez les sujets humains, alors que la douleur perçue est en corrélation avec l'activation dans l'insula antérieure bilatérale (Craig, 2009). Nous n'avons pas déterminé ici comment l'hypersensibilité sensorielle est déclenchée par l'ACd et la voie ACd – PI. Plusieurs mécanismes sont possibles, tels que la modulation d'un réseau

d'anticipation impliquant l'ACd, une influence sur l'attention (Kawai et al., 2018), la modulation du "réseau de saillance", la modulation des fonctions spinothalamiques et thalamocorticales ascendantes dans les conditions ADHD. Les entrées nociceptives dans la PI (Vogt, 2005) ou la régulation du traitement nociceptif spinal par des voies de contrôle descendantes. Il convient également de noter les multiples sources de données reliant la PI au codage d'intensité, y compris le codage de l'intensité de la douleur (Segerdahl et al., 2015), et il a été proposé que l'insula a une fonction générale en tant que détecteur de magnitude générale (Baliki et al., 2009). Par conséquent, les connexions ACd à PI peuvent exploiter cette fonction de la PI pour amplifier la perception dans le contexte de la nociception. Un aspect mécaniste notable révélé par cette étude est que, indépendamment de celui des mécanismes supraspinaux ci-dessus participant après l'activation de l'ACd, le processus en aval final via lequel l'ACd module l'hypersensibilité nociceptive est donné par une facilitation descendante du traitement nociceptif spinal. Ainsi, le groupe de Veinante (Fillinger et al., 2017) ont trouvé que le mésencéphale, en particulier le PAG et le SC (Superior Colliculus), reçoivent des entrées de la part de l'ACC et du MCC (Mid-Cingulate Cortex), les pons semblaient préférentiellement ciblés par l'ACC et les pons caudaux et la médulla recevait une entrée presque exclusive de l'ACd (24b). De plus, En outre, ils ont trouvé des régions denses d'efférents ACd sérotoninergiques au mésencéphale, principalement au MnR (Median raphe N), pMnR (Paramedian raphe N) et DR (Dorsal raphe nucleus), conformément aux données de traçage chez le rat (Sesack et al., 1989; Behzadi et al., 1990; Peyron et al., 1998; Jankowski et Sesan, 2004; Gabbott et al., 2005). De plus, la PI est anatomiquement et fonctionnellement lié au noyau raphé magnus, site d'origine de la modulation sérotoninergique (Tan et al., 2017), et nous avons constaté que la voie ACd – PI influait sur la nociception, peut être probablement en recrutant des mécanismes sérotoninergiques descendants. Les voies sérotoninergiques originaires du noyau de raphé magnus exercent une modulation facilitante importante dans la moelle épinière, et l'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du tronc cérébral a récemment été rapportée pour induire une hypersensibilité nociceptive (Cai et al., 2014).

Il reste à débattre sur le point de savoir si la plasticité corticale est simplement un reflet et une manifestation de phénomènes de sensibilisation dépendant de l'activité qui se sont

déjà produits dans les segments initiaux de la voie nociceptive, ou si la plasticité structurelle et fonctionnelle de l'ACd dans les conditions ADHD peut être à l'origine de la douleur chez cette population. Nous rapportons ici que l'activation des afférents ACd – PI seuls peut générer un état d'hypersensibilité nociceptive indépendant d'une entrée de conditionnement nociceptif périphérique. Ceci a des implications sur les changements de sensibilité à la douleur signalés chez les patients ADHD en l'absence de blessures ou de pathologies physiques évidentes. Nos données fournissent donc une base mécaniste pour l'exacerbation de la douleur par l'ADHD susceptibles de déréguler l'activité de base dans l'ACd et la PI. Pris ensemble, les résultats de la présente étude donnent un aperçu des circuits corticaux impliqués dans la transition de la douleur dans les conditions ADHD. Ces résultats permettront d'orienter la poursuite de notre travail, et en particulier l'identification des circuits neuronaux impliqués dans l'ADHD et les dysfonctionnements de l'intégration sensorielle spinale.

V. Conclusion

Nos données démontrent que les conditions ADHD induisent une hyperactivation des neurones spinaux et une hypersensibilité à la douleur. Nous mettons en évidence le rôle majeur de l'ACC dans le dysfonctionnement induit par l'ADHD des voies descendantes qui contrôlent l'activité des neurones spinaux. Notre objectif est maintenant d'évaluer par des approches virales les voies douloureuses qui sont modulées par l'hyperexcitabilité de l'ACC, et les conséquences de leur activation / inhibition sur les symptômes ADHD. Nous espérons déterminer les circuits communs, ou spécifiques, à l'ADHD et à la sensibilisation douloureuse. Des systèmes communs à ces comorbidités pourraient être ciblés pour traiter à la fois la douleur et l'ADHD, avec le double objectif d'éviter une aggravation réciproque des pathologies comorbides, et d'amplifier l'efficacité des approches thérapeutiques.

Conclusion générale

La lésion 6-OHDA est un modèle de l'ADHD couramment utilisé chez le rat. Cependant, une évaluation complète des symptômes semblables à l'ADHD était incomplète, et les données chez la souris étaient largement indisponibles. Notre premier objectif était d'analyser les symptômes majeurs et mineurs de l'ADHD dans le modèle de lésion néonatale 6-OHDA chez la souris. Les souris 6-OHDA présentent les principaux symptômes de l'ADHD: l'hyperactivité, le déficit de l'attention et l'impulsivité. En outre, le modèle 6-OHDA révèle des symptômes co-existants distincts: de l'anxiété, de comportements antisocial et agressif et une diminution du fonctionnement cognitif. L'efficacité du MPH, un psychostimulant classique utilisé dans le traitement de l'ADHD, est également confirmée. Une analyse histologique soutient en outre la validité du modèle en indiquant la déplétion en dopamine, les changements dans l'épaisseur corticale et les anomalies dans les neurones de l'ACC. Une analyse en composantes principales du profil de comportement confirme que le modèle de souris 6-OHDA présente une bonne validité (*face* et *predictive validity*). Nous concluons donc que la lésion néonatale de la dopamine entraîne des changements comportementaux et morphologiques similaires à ceux observés chez les patients et pourrait donc être utilisé comme un modèle pour étudier les mécanismes physiopathologiques de l'ADHD et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Le deuxième objectif était d'analyser le comportement douloureux et de mettre en évidence les circuits et les mécanismes sous-jacents aux altérations de la douleur dans le modèle ADHD. Les souris 6-OHDA présentent une augmentation marquée de la sensibilité thermique (chaleur et froid) et mécanique. La déplétion en dopamine augmente également la sensibilité à la douleur dans les conditions de douleur persistante, c'est-à-dire 4 jours après l'inflammation de la patte postérieure (injection du CFA). Nous avons démontré ensuite à l'aide d'enregistrements extracellulaires unitaires que les modifications de sensibilité à la douleur des souris 6-OHDA sont dues à une augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la moelle épinière. Nous avons également évalué les symptômes ADHD dans les conditions de douleur inflammatoire. Fait intéressant, les symptômes ADHD n'ont pas été modifiés dans les conditions inflammatoires, ce qui suggère que l'ADHD influence la sensibilité à la douleur alors que l'inverse n'est pas vrai.

Nous avons testé l'hypothèse que les contrôles descendants soient responsables des altérations de la douleur par la modulation des circuits de la moelle épinière. L'ACC est la région clé dans l'ADHD et la douleur, étant impliquée dans les fonctions exécutives, les émotions et elle envoie aussi des projections vers la corne dorsale de la moelle épinière. Toutefois, nous avons exploré si l'ACC est impliqué dans le dysfonctionnement des contrôles descendants chez les souris 6-OHDA. Nous avons enregistré l'activité unitaire spontanée ainsi qu'à l'activité évoquée de l'ACC par des stimuli mécaniques dans la patte postérieure des souris. Nos données indiquent que les neurones de l'ACC sont hyperactifs chez les souris 6-OHDA et que l'application des stimuli mécaniques (pression croissante) sur la patte postérieure de l'animal provoque une augmentation très remarquable de décharge des neurones de l'ACC rapport aux souris sham.

Nous avons ensuite montré que la stimulation électrique de l'ACC augmente considérablement les réponses des neurones WDR à des stimuli mécaniques non douloureux et douloureux, mais significativement plus marqué chez les souris 6-OHDA. De manière intéressante, la potentialisation des neurones WDR des souris 6-OHDA se maintient jusqu'à 2 min après la dernière stimulation électrique de l'ACC, alors qu'elle revient à son activité initiale immédiatement chez les souris sham. Nous avons aussi réalisé une inhibition pharmacologique de l'ACC par une injection locale de muscimole, de manière à potentialiser les récepteurs inhibiteurs GABA-A. Les résultats montrent que l'inhibition de l'ACC bloque partiellement l'activité électrique des neurones WDR de la moelle épinière, confirmant ainsi le rôle de l'ACC dans la régulation des circuits descendants et la réponse des neurones spinaux à des stimulations périphériques. Nos données démontrent que les conditions ADHD induisent une hyperactivation des neurones nociceptifs de la moelle épinière et une hypersensibilité à la douleur. Nous suggérons également que l'ACC pourrait déclencher un dysfonctionnement des neurones de la moelle épinière sur la douleur dans les conditions ADHD.

Nous avons aussi approché la régulation (activation/inhibition) des neurones excitateurs de l'ACC par une approche optogénétique. Nous avons injecté dans l'ACC des constructions virales exprimant les récepteurs ChR2 (excitateur) ou ArchT (inhibiteur) sous le contrôle du promoteur CamkII spécifiques des neurones excitateurs. Les résultats montrent ensuite que l'activation/inhibition des neurones excitateurs de l'ACC provoque

une augmentation/diminution de décharge des neurones WDR de la moelle épinière et donc une diminution/augmentation du seuil de retrait de la patte après stimulation mécanique et thermique chaude. Ces seuils ne sont pas modifiés chez les animaux qui reçoivent la construction virale contrôle, exprimant un gène rapporteur GFP, mais pas le récepteur ChR2. Nous avons poursuivi l'utilisation des approches de traçage viral afin d'interroger les régions impliquées dans le contrôle des voies descendantes, qui reçoivent des projections en provenance de l'ACC et qui sont impliqués dans l'ADHD. Nous avons injecté les virus exprimant les récepteurs ChR2 (excitateur) ou ArchT (inhibiteur) dans l'ACC comme précédemment, une stimulation laser au niveau des projections des neurones de sortie de l'ACC dans le cortex insulaire postérieur (PI). Nous avons mesuré le comportement douloureux et l'activité des neurones spinaux par les mêmes techniques que précédemment. Les manipulations optogénétiques de la voie controlatérale ACC - PI confirment les modifications du comportement douloureux et l'activité des neurones nociceptifs. Nous suggérons également que la connectivité ACC - PI pourrait déclencher un dysfonctionnement des neurones de la moelle épinière sur la douleur dans les conditions ADHD.

Perspectives:

Un deuxième aspect de notre travail sera d'exprimer des récepteurs permettant l'activation ou l'inhibition de ces voies neuronales par chémogénétique (technologie DREADD) afin d'étudier le comportement des souris et les éventuelles modifications des symptômes de l'ADHD. Afin de s'assurer de la spécificité des voies analysées, nous combinerons deux constructions virales, l'une qui exprime le récepteur (DREADD) de façon conditionnelle, sous le contrôle d'un élément de régulation génétique de type LoxP, et l'autre qui exprime l'enzyme CRE ciblant le site LoxP et permettant l'expression du récepteur. Le virus CRE sera un virus capable d'être transporté de manière rétrograde (Cav2). Il sera injecté dans les sites de projections supposés des voies que nous chercherons à tracer. Il pourra ainsi migrer des terminaisons vers les corps cellulaires d'origine. La construction LoxP codant pour le récepteur sera injectée dans la région d'origine et le récepteur ne s'exprimera donc que dans les neurones qui contiennent de la CRE, c'est-à-dire ceux qui projettent dans la région infectée par le virus Cav2-CRE. Les virus co-exprimeront un marqueur fluorescent, GFP ou Tomato, qui permettra de

visualiser les voies tracées. L'activation des récepteurs sera réalisée par injection intrapéritonéale de CNO (activation des DREADD excitateurs ou inhibiteurs). Nous pourrons alors activer ou inhiber spécifiquement ces voies et mesurer le comportement et les symptômes de l'ADHD. Ces résultats nous informeront sur la nature, et la contribution de ces voies aux symptômes de l'ADHD. Notre objectif est de déterminer les régions cérébrales intervenant à la fois dans les processus de l'ADHD et dans l'altération des contrôles descendants de la douleur, mais aussi de mettre en évidence de possibles voies divergentes. Nous déterminerons ainsi les circuits communs et les circuits spécifiques à chacune de ces pathologies.

Références:

- Adriani W, Caprioli A, Granstrem O, Carli M, Laviola G. (2003). **The spontaneously hypertensive rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27:639–651.
- Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR. (1990). **Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions.** *Prog. Brain. Res.* 85:119–146.
- Alsop B. (2007). **Problems with spontaneously hypertensive rats (SHR) as a model of attention deficit/ hyperactivity disorder (AD/HD).** *J. Neurosci. Methods.* 162:42–48.
- American Psychiatric Association. (2013). **Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th ed.** Washington, DC: American Psychiatric Press.
- Amitai N, & Markou A. (2010). **Disruption of performance in the five choice serial reaction time task induced by administration of Nmethyl-D-aspartate receptor antagonists: relevance to cognitive dysfunction in schizophrenia.** *Biol. Psychiatry.* 68, 5–16.
- Amitai N, & Markou A. (2011). **Comparative effects of different test day challenges on performance in the 5-choice serial reaction time task.** *Behav. Neurosci.* 125(5), 764-774; <http://dx.doi.org/10.1037/a0024722>.
- Apkarian AV, Baliki MN, Farmer MA. (2013). **Predicting transition to chronic pain.** *Curr. Opin. Neurol.* 26(4): 360 – 7.
- Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD & Zubieta JK. (2005). **Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease.** *Eur. J. Pain.* 9, 463–484.
- Apps MAJ, Lockwood PL, & Balsters JH. (2013). **The role of the midcingulate cortex in monitoring others’ decisions.** *Front. Neurosci.* 7, 251.
- Archer T, Danysz W, Fredriksson A, Jonsson G, Luthman J, Sundstrom E, et al. (1988a). **Neonatal 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletions: motor activity and performance in maze learning.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31:357–364.
- Archer T, Fredriksson A, Sundstrom E, Luthman J, Lewander T, Soderberg U, et al. (1988b). **Prenatal methylazoxymethanol treatment potentiates d-amphetamine- and methylphenidate-induced motor activity in male and female rats.** *Pharmacol. Toxicol.* 63:233–239.
- Arime Y, Kubo Y & Sora I. (2011). **Animal models of attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Pharm. Bull.* 34(9), 1373–6.
- Arnsten AF, & Li BM. (2005). **Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions.** *Biol. Psychiatry.* 57(11), 1377-1384.
- Arnsten AF. (2009). **Toward a new understanding of attention-deficit hyperactivity disorder pathophysiology.** *CNS drugs.* 23(1), 33-41.
- Arnsten AF. (2011). **Catecholamine influences on dorsolateral prefrontal cortical networks.** *Biol. Psychiatry.* 69, 89–99.

- Aron AR, Dowson JH, Sahakian BJ, & Robbins TW. (2003). **Methylphenidate improves response inhibition in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 54(12), 1465-1468.
- Asinof SK, Paine TA. (2014). **The 5-choice serial reaction time task: a task of attention and impulse control for rodents.** *Journal of Visualized Experiments.* 90:e51574; <http://dx.doi.org/10.3791/51574>.
- Aston-Jones G & Cohen JD. (2005). **Adaptive gain and the role of the locus coeruleus–norepinephrine system in optimal performance.** *J. Comp. Neurol.* 493, 99–110.
- Atkinson M, Hollis C. (2010). **NICE guideline: attention deficit hyperactivity disorder.** *Arch. Dis. Child Educ. Pract. Ed.* 95 (1), 24–27.
- Avale ME, Falzone TL, Gelman DM, Low MJ, Grandy DK, Rubinstein M. (2004). **The dopamine D₄ receptor is essential for hyperactivity and impaired behavioral inhibition in a mouse model of attention deficit/hyperactivity disorder.** *Mol. Psychiatry.* 9, 718. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001474>.
- Baliki MN, Geha PY, & Apkarian AV. **Parsing pain perception between nociceptive representation and magnitude estimation.** *J. Neurophysiol.* 101, 875–887 (2009).
- Barbelivien A, Ruotsalainen S, & Sirviö J. (2001). **Metabolic alterations in the prefrontal and cingulate cortices are related to behavioral deficits in a rodent model of attention-deficit hyperactivity disorder.** *Cereb. Cortex.* 11, 1056-1063.
- Bardin L. (2011). **The complex role of serotonin and 5-HT receptors in chronic pain.** *Behav. Pharmacol.* 22: 390–404.
- Bari A, & Robbins TW. (2011). **Animal models of ADHD.** In *Molecular and Functional Models in Neuropsychiatry.* Springer, Berlin, Heidelberg. 149-185.
- Bari A, Dalley JW, Robbins TW. (2008). **The application of the 5-choice serial reaction time task for the assessment of visual attentional processes and impulse control in rats.** *Nat. Protoc.* 3, 759-767. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2008.41>.
- Barkley RA. (1997). **Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD.** *Psychol. Bull.* 121:65–94.
- Barkley RA. (2002). **Major life activity and health outcomes associated with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *J. Clin. Psychiatry.* 12, 10–5.
- Barr AM, Lehmann-Masten V, Paulus M, Gainetdinov RR, Caron MG, Geyer MA. (2004). **The selective serotonin-2A receptor antagonist M100907 reverses behavioral deficits in dopamine transporter knockout mice.** *Neuropsychopharmacology.* 29:221–228.
- Barr CL, Feng Y, Wigg K, Bloom S, Roberts W, Malone M, et al. (2000). **Identification of DNA variants in the SNAP-25 gene and linkage study of these polymorphisms and attention-deficit hyperactivity disorder.** *Mol. Psychiatry.* 5:405–409.
- Barr RS, Culhane MA, Jubelt LE, Mufti RS, Dyer MA, Weiss AP, et al. (2008). **The effects of transdermal nicotine on cognition in nonsmokers with schizophrenia and nonpsychiatric controls.** *Neuropsychopharmacology.* 33, 480–490.

- Barthas F, Sellmeijer J, Hugel S, Waltisperger E, Barrot M, Yalcin I. (2015). **The anterior cingulate cortex is a critical hub for pain-induced depression.** *Biol. Psychiatry.* 77: 236-245.
- Basbaum AI, and Fields HL. (1984). **Endogenous pain control system: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry.** *Ann. Rev. Neurosci.* 7: 309-338.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. (2009). **Cellular and molecular mechanisms of pain.** *Cell.* 139: 267 – 84.
- Beck, L. H., Bransome, E. D., Mirsky, A. F., Rosvold, H. E. & Sarason, I. A continuous performance test of brain damage. *J. Consult. Psychol.* 20, 343-350 (1956).
- Bedard AC, Martinussen R, Ickowicz A, & Tannock R. (2004). **Methylphenidate improves visual-spatial memory in children with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 43(3), 260-268.
- Bendel P, Eilam R. (1992). **Quantitation of ventricular size in normal and spontaneously hypertensive rats by magnetic resonance imaging.** *Brain. Res.* 574:224-228.
- Benedetti F. (2013). **Placebo and the new physiology of the doctor-patient relationship.** *Physiol. Rev.* 93(3): 1207 – 46.
- Benison AM, Chumachenko S, Harrison JA, Maier SF, Falci SP, Watkins LR, et al. (2011). **Caudal granular insular cortex is sufficient and necessary for the long-term maintenance of allodynic behavior in the rat attributable to mononeuropathy.** *J. Neurosci.* 31(17), 6317-6328.
- Bernal J. (2002). **Action of thyroid hormone in brain.** *J. Endocrinol. Invest.* 25:268-288.
- Berridge CW, Devilbiss DM, Andrzejewski ME, Arnsten AF, Kelley AE, Schmeichel B, et al. (2006). **Methylphenidate preferentially increases catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function.** *Biological psychiatry.* 60(10), 1111-1120.
- Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Cradock MM, Anand KJ. (2002). **Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a metaanalysis.** *JAMA.* 288:728-737.
- Biederman J, Milberger S, Faraone SV, Kiely K, Guite J, Mick E, et al. (1995). **Family-environment risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. A test of Rutter's indicators of adversity.** *Arch. Gen. Psychiatry.* 52:464-470.
- Biederman J, Petty CR, Ball SW, Fried R, Doyle AE, Cohen D, et al. (2009). **Are cognitive deficits in attention deficit/hyperactivity disorder related to the course of the disorder? A prospective controlled follow-up study of grown up boys with persistent and remitting course.** *Psychiatry. Res.* 170:177-182.
- Biederman J, Petty CR, Evans M, Small J, & Faraone SV. (2010). **How persistent is ADHD? A controlled 10-year follow-up study of boys with ADHD.** *Psychiatry. Res.* 177(3), 299-304.
- Biederman J. (1998). **Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective.** *The Journal of clinical psychiatry.* 59, 4-16.

- Biederman J. (2005). **Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview.** *Biol. Psychiatry.* 57, 1215–1220. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.10.020>.
- Bittolo T, Raminelli CA, Deiana C, Baj G, Vaghi V, Ferrazzo S, et al. (2016). **Pharmacological treatment with mirtazapine rescues cortical atrophy and respiratory deficits in MeCP2 null mice.** *Sci. Rep.* 6, 19796, <https://doi.org/10.1038/srep19796>.
- Bizot JC, Chenault N, Houze B, Herpin A, David S, Pothion S, Trovero F. (2007). **Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats.** *Psychopharmacology (Berl).* 193:215–223.
- Bledsoe JC, Semrud-Clikeman M, & Pliszka SR. (2013). **Anterior cingulate cortex and symptom severity in attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Journal of Abnormal Psychology.* 122, 558-565.
- Bliss TVP, Collingridge GL, Kaang Bk, and Zhuo M. (2016). **Synaptic Plasticity In The Anterior Cingulate Cortex In Acute And Chronic Pain.** *Nat. Rev.* (8):485-96.
- Blum K, Chen AL, Braverman ER, Comings DE, Chen TJ, Arcuri V, et al. (2008). **Attention-deficit-hyperactivity disorder and reward deficiency syndrome.** *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 4 (5), 893–918.
- Bolea-Alamanac B, Nutt DJ, Adamou M, Asherson P, Bazire S, Coghill D, et al. (2014). **Evidence-based guidelines for the pharmacological management of attention deficit hyperactivity disorder: update on recommendations from the British Association for Psychopharmacology.** *J. Psychopharmacol.* 28 (3), 179–203.
- Bonath B, Tegelbeckers J, Wilke M, Flechtner HH, & Krauel K. (2018). **Regional gray matter volume differences between adolescents with ADHD and typically developing controls: further evidence for anterior cingulate involvement.** *Journal of attention disorders.* 22(7), 627-638.
- Bortalanza IB, Ferreira J, Hess SC, Dellemonache F, Yunes RA, and Calixto JB. (2002). **Anti-allodynic action of the tormentic acid, a triterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice.** *Eur. J. Pharmacol.* 25, 203–208. [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02428-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02428-7).
- Bouchatta O, Manouze H, Bouali-Benazzouz R, Kerekes N, Ba-M'hamed S, Fossat P, Landry M, Bennis M. (2018). **Neonatal 6-OHDA lesion model in mouse induces Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder (ADHD)-like behaviour.** *Sci. Rep.* 8(1), 15349; <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-33778-0>.
- Bragin EO, Yeliseeva ZV, Vasilenko GF, Meizerov EE, Chuvin BT, & Durinyan RA. (1984). **Cortical projections to the periaqueductal grey in the cat: a retrograde horseradish peroxidase study.** *Neurosci. Lett.* 51(2), 271-275.
- Braun JM, Kahn RS, Froehlich T, Auinger P, Lanphear BP. (2006). **Exposures to environmental toxicants and attention deficit hyperactivity disorder in U.S. Children.** *Environ. Health. Perspect.* 114:1904–1909.
- Brodin E, Ernberg M, Olgart L. (2016). **Neurobiology: General considerations – from acute to chronic pain.** *Nor. Tannlegeforening Tid.* 126: 28–33.

- Brodmann K. (1909). **Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues.** Barth.
- Bruno KJ, Freet CS, Twining RC, Egami K, Grigson PS, Hess EJ. (2007). **Abnormal latent inhibition and impulsivity in coloboma mice, a model of ADHD.** *Neurobiol. Dis.* 25:206–216.
- Brus R, Nowak P, Szkilnik R, Mikolajun U, & Kostrzewa RM. (2004). **Serotonergics attenuate hyperlocomotor activity in rats. Potential new therapeutic strategy for hyperactivity.** *Neurotoxicity research.* 6(4), 317-325.
- Bull E, Reavill C, Hagan JJ, Overend P, Jones DN. (2000). **Evaluation of the spontaneously hypertensive rat as a model of attention deficit hyperactivity disorder: acquisition and performance of the DRL-60s test.** *Behav. Brain. Res.* 109:27–35.
- Burbach JP. (2010). **Neuropsychiatric connexions of ADHD genes.** *Lancet.* 376: 1367– 1368.
- Burgess GC, Depue BE, Ruzic L, Willcutt EG, Du YPP, Banich MT. (2010). **Attentional control activation relates to working memory in attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 67(7): 632-640.
- Bush G, Vogt BA, Holmes J, Dale AM, Greve D, Jenike MA, et al. (2002). **Dorsal anterior cingulate cortex: a role in rewardbased decision-making.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99:523–528.
- Bushnell MC, Ceko M & Low LA. (2013). **Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain.** *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 502–511.
- Button TM, Thapar A, McGuffin P. (2005). **Relationship between antisocial behaviour, attention deficit hyperactivity disorder and maternal prenatal smoking.** *Br. J. Psychiatry.* 187:155–160.
- Cai YQ, Wang W, Hou YY, & Pan ZZ. (2014). **Optogenetic activation of brainstem serotonergic neurons induces persistent pain sensitization.** *Mol. Pain.* 10, 70.
- Calvino B. (2006). **Neural basis of pain.** *Psychol. Neuropsychiatr. Vieil.* 4:7-20.
- Camarasa J, García-Ratés S, Pubill D, Escubedo E. (2009). **The involvement of nicotinic receptor subtypes in the locomotor activity and analgesia induced by methamphetamine in mice.** *Behav. Pharmacol.* 20: 623–630; <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0b013e328331ba5b>.
- Canadian Attention Deficit Hyperactivity Disorder Resource Alliance (CADDRA). (2011). **Canadian ADHD Practice Guidelines, third ed.** CADDRA, Toronto, ON, Canada.
- Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ. (2001). **Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core.** *Science.* 292:2499–2501.
- Carey CE, Agrawal A, Bucholz KK, Hartz SM, Lynskey MT, Nelson EC, et al. (2016). **Associations between polygenic risk for psychiatric disorders and substance involvement.** *Front. Genet.* 7, 149.
- Carli M, Robbins TW, Evenden JL, & Everitt BJ. (1983). **Effects of lesions to ascending noradrenergic neurons on performance of a 5-choice serial reaction task in rats;**

- implications for theories of dorsal noradrenergic bundle function based on selective attention and arousal.** *Behav. Brain. Res.* 9, 361–380.
- Carr KD. (2007). **Chronic food restriction: enhancing effects on drug reward and striatal cell signaling.** *Physiol Behav.* 91(5): 459-72; <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.021>.
- Castaneda E, Whishaw IQ, & Robinson TE. (1990). **Changes in striatal dopamine neurotransmission assessed with microdialysis following recovery from a bilateral 6-OHDA lesion: variation as a function of lesion size.** *J. Neurosci.* 10(6), 1847-1854.
- Castellanos FX, Sonuga-Barke EJ, Milham MP & Tannock R (2006). **Characterizing cognition in ADHD: beyond executive dysfunction.** *Trends. Cogn. Sci.* 10, 117–123, <https://doi.org/10.1016/j.tics.2006.01.011>.
- Castro-Lopes JM, Tavares I, Coimbra A. (1993). **GABA decreases in the spinal cord dorsal horn after peripheral neurectomy.** *Brain. Res.* 620(2): 287 – 91.
- Catala-Lopez F, Hutton B, Nunez-Beltran A, Page MJ, Ridao M, Macias Saint- Gerons D, et al. (2017). **The pharmacological and non-pharmacological treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: a systematic review with network meta-analyses of randomised trials.** *PLoS One.* 12 (7), e0180355.
- Caye A, Spadini AV, Karam RG, Grevet EH, Rovaris DL, Bau CH, et al. (2016). **Predictors of persistence of ADHD into adulthood: a systematic review of the literature and meta-analysis.** *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry.* 25, 1151-1159; <http://dx.doi.org/10.1007/s00787-016-0831-8>.
- Cervenka S. (2006). **Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: A PET study on D2-receptor binding.** *Brain.* 129(8), 2017-2028; <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awl163>.
- Chamberlain SR, Robbins TW, Winder-Rhodes S, Müller U, Sahakian BJ, Blackwell AD, et al. (2010). **Translational approaches to frontostriatal dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder using a computerized neuropsychological battery.** *Biol. Psychiatry.* 69(12), 1192-1203.
- Chambers CD, Garavan H, Bellgrove MA. (2009). **Insights into the neural basis of response inhibition from cognitive and clinical neuroscience.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 33(5): 631-646.
- Chandler DJ, Lamperski CS & Waterhouse BD. (2013). **Identification and distribution of projections from monoaminergic and cholinergic nuclei to functionally differentiated subregions of prefrontal cortex.** *Brain. Res.* 1522, 38–58.
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, & Yaksh TL. (1994). **Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw.** *J. Neurosci. Meth.* 53(1), 55-63.
- Chen T, Koga K, Descalzi G, Qiu S, Wang J, Zhang LS, et al. (2014). **Postsynaptic potentiation of corticospinal projecting neurons in the anterior cingulate cortex after nerve injury.** *Mol. Pain.* 10(1), 33.

- Chen T, Taniguchi W, Chen QY, Tozaki-Saitoh H, Song Q, Liu RH, et al. (2018). **Top-down descending facilitation of spinal sensory excitatory transmission from the anterior cingulate cortex.** *Nat. Commun.* 9(1), 1886.
- Chen Z, Jalabi W, Hu W, Park HJ, Gale JT, Kidd GJ, et al. (2014). **Microglial displacement of inhibitory synapses provides neuroprotection in the adult brain.** *Nat. Commun.* 5, 4486.
- Cheon KA, Ryu YH, Kim YK, Namkoong K, Kim CH, Lee JD. (2003). **Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [¹²³I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder.** *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 30:306–311.
- Choi S, and Lovinger DM. (1997). **Decreased frequency but not amplitude of quantal synaptic responses associated with expression of corticostriatal long-term depression.** *J. Neurosci.* 17(21), 8613-8620.
- Christakou A, Robbins TW, & Everitt BJ. (2004). **Prefrontal cortical-ventral striatal interactions involved in affective modulation of attentional performance: implications for corticostriatal circuit function.** *J. Neurosci.* 24, 773–780.
- Chudasama Y, Passetti F, Rhodes SE, Lopian D, Desai A, Robbins TW. (2003). **Dissociable aspects of performance on the 5-choice serial reaction time task following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity.** *Behav. Brain. Res.* 146:105–119
- Chudler EH, & Dong WK. (1995). **The role of the basal ganglia in nociception and pain.** *Pain.* 60(1), 3-38; [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00172-B](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959(94)00172-B).
- Clatworthy PL, Lewis SJ, Brichard L, Hong YT, Izquierdo D, Clark L, et al. (2009). **Dopamine release in dissociable striatal subregions predicts the different effects of oral methylphenidate on reversal learning and spatial working memory.** *J. Neurosci.* 29(15), 4690-4696.
- Coghill D, Banaschewski T. (2009). **The genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Expert. Rev. Neurother.* 9:1547–1565.
- Coizet V, Dommett EJ, Klop EM, Redgrave P, & Overton PG. (2010). **The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons.** *Neuroscience.* 168(1), 263-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.049>.
- Coizet V, Dommett EJ, Redgrave P, Overton PG. (2006). **Nociceptive responses of midbrain dopaminergic neurones are modulated by the superior colliculus in the rat.** *Neuroscience.* 139:1479–1493. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.03.091>.
- Cole BJ, Robbins TW. (1987). **Amphetamine impairs the discriminative performance of rats with dorsal noradrenergic bundle lesions on a 5-choice serial reaction time task: new evidence for central dopaminergic-noradrenergic interactions.** *Psychopharmacology (Berl).* 91:458–466.

- Cortese S. (2012). **The neurobiology and genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): what every clinician should know.** *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 16 (5), 422–433.
- Counts CA, Nigg JT, Stawicki JA, Rappley MD, von Eye A. (2005). **Family adversity in DSM-IV ADHD combined and inattentive subtypes and associated disruptive behavior problems.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 44:690–698.
- Craig AD. (2009). **How do you feel—now? The anterior insula and human awareness.** *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 59–70.
- Cubillo A, Halari R, Smith A, Taylor E, Rubia K. (2011). **A review of fronto-striatal and fronto-cortical brain abnormalities in children and adults with Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and new evidence for dysfunction in adults with ADHD during motivation and attention.** *Cortex.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.cortex.2011.04.007>.
- Cuffe SP, Moore CG, McKeown R. (2009). **ADHD and health services utilization in the national health interview survey.** *J. Atten. Disord.* 12:330–40.
- D’Onofrio BM, Van Hulle CA, Waldman ID, Rodgers JL, Harden KP, Rathouz PJ, et al. (2008). **Smoking during pregnancy and offspring externalizing problems: an exploration of genetic and environmental confounds.** *Dev. Psychopathol.* 20:139–164.
- Dalley JW, Mar AC, Economidou D, Robbins TW. (2008). **Neurobehavioral mechanisms of impulsivity: fronto-striatal systems and functional neuro-chemistry.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 90:250–260; <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.12.021>.
- Dalton GL, Lee MD, Kennett GA, Dourish CT, Clifton PG. (2004). **mCPP-induced hyperactivity in 5-HT_{2C} receptor mutant mice is mediated by activation of multiple 5-HT receptor subtypes.** *Neuropharmacology.* 46:663–671.
- Davids E, Zhang K, Kula NS, Tarazi FI, & Baldessarini RJ. (2002). **Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301, 1097–1102.
- Davids E, Zhang K, Tarazi FI, & Baldessarini RJ. (2003). **Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder.** *Brain. Res. Brain. Res. Rev.* 42, 1–21.
- Davis KD, Bushnell MC, Iannetti GD, St Lawrence K, & Coghill R. (2015). **Evidence against pain specificity in the dorsal posterior insula.** *F1000Res.* 4, 362.
- de Bruin NM, Fransen F, Duytschaever H, Grantham C, Megens AA. (2006). **Attentional performance of (C57BL/6Jx129Sv)F₂ mice in the five-choice serial reaction time task.** *Physiol. Behav.* 89, 692–703.
- de Villiers AS, Russell VA, Sagvolden T, Searson A, Jaffer A, Taljaard JJ. (1995). **Alpha 2-adrenoceptor mediated inhibition of [3H]dopamine release from nucleus accumbens slices and monoamine levels in a rat model for attention-deficit hyperactivity disorder.** *Neurochem. Res.* 20:427–433.
- dela Pena I, Gevorkiana R, Shi WX. (2015). **Psychostimulants affect dopamine transmission through both dopamine transporter-dependent and independent mechanisms.** *Eur. J. Pharmacol.* 764, 562–570.

- Dell'Anna ME, Calzolari S, Molinari M, Iuvone L, Calimici R. (1991). **Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and CA1 cell density reduction in developing rats.** *Behav. Brain. Res.* 45:125–134.
- Dell'Anna ME, Luthman J, Lindqvist E, Olson L. (1993). **Development of monoamine systems after neonatal anoxia in rats.** *Brain. Res. Bull.* 32:159–170.
- Devinsky O, Morrell MJ, & Vogt BA. (1995). **Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour.** *Brain.* 118, 279–306.
- Dickey RP, Minton JP. (1972). **Levodopa relief of bone pain from breast cancer.** *N. Engl. J. Med.* 286:843.
- Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ. (1999). **Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder.** *Lancet.* 354, 2132–2133.
- Dunn W, Bennett D. (2002). **Patterns of sensory processing in children with attention deficit hyperactivity disorder.** *Am. J. Occup. Ther.* 22:4–15.
- Duong S, Chung K, Wigal SB. (2012). **Metabolic, toxicological, and safety considerations for drugs used to treat ADHD.** *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 8 (5), 543–552.
- Duzel E, Bunzeck N, Guitart-Masip M, Wittmann B, Schott BH, Tobler PN. (2009). **Functional imaging of the human dopaminergic midbrain.** *Trends. Neurosci.* 32: 321–328.
- Eagle DM, & Baunez C. (2010). **Is there an inhibitory-response-control system in the rat? Evidence from anatomical and pharmacological studies of behavioral inhibition.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 34(1), 50-72.
- Eagle DM, Bari A, Robbins TW. (2008). **The neuropsychopharmacology of action inhibition: cross-species translation of the stop-signal and go/no-go tasks.** *Psychopharmacology (Berl).* 199:439–456.
- Eagle DM, Robbins TW. (2003). **Inhibitory control in rats performing a stop-signal reaction-time task: effects of lesions of the medial striatum and d-amphetamine.** *Behav. Neurosci.* 117:1302–1317.
- Eagle DM, Tufft MR, Goodchild HL, & Robbins TW. (2007). **Differential effects of modafinil and methylphenidate on stop-signal reaction time task performance in the rat, and interactions with the dopamine receptor antagonist cis-flupenthixol.** *Psychopharmacology.* 192, 193–206. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0701-7>.
- Egger HL, Costello EJ, Erkanli A, Angold A. (1999). **Somatic complaints and psychopathology in children and adolescents: stomach aches, musculoskeletal pains, and headaches.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 38(7):852-60. <http://dx.doi.org/10.1097/00004583-199907000-00015>.
- Eisenberger NI, Lieberman MD & Williams KD. (2003). **Does rejection hurt? An fMRI study of social exclusion.** *Science.* 302, 290–292.
- Eisenberger NI. (2012). **The pain of social disconnection: examining the shared neural underpinnings of physical and social pain.** *Nat. Rev. Neurosci.* 3; 13(6): 421 – 34.

- Elia J, Glessner JT, Wang K, Takahashi N, Shtir CJ, Hadley D, et al., (2011). **Genome-wide copy number variation study associates metabotropic glutamate receptor gene networks with attention deficit hyperactivity disorder.** *Nat. Genet.* 44 (1), 78–84.
- Ellis B, Nigg J. (2009). **Parenting practices and attention-deficit/hyperactivity disorder: new findings suggest partial specificity of effects.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 48:146–154.
- Engert V, & Pruessner JC. (2008). **Dopaminergic and noradrenergic contributions to functionality in ADHD: the role of methylphenidate.** *Current neuropharmacology.* 6(4), 322-328.
- Epstein JN, Erkanli A, Conners CK, Klaric J, Costello JE, Angold A. (2003). **Relations between Continuous Performance Test performance measures and ADHD behaviors.** *J. Abnorm. Child. Psychol.* 31(5): 543-54; <http://dx.doi.org/10.1023/A:1025405216339>.
- Erinoff L, MacPhail RC, Heller A, & Seiden LS. (1979). **Age-dependent effects of 6-hydroxydopamine on locomotor activity in the rat.** *Brain. Res.* 164, 195–205.
- Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Jons PH, & Cohen RM. (1998). **DOPA decarboxylase activity in attention deficit hyperactivity disorder adults. A [fluorine-18] fluorodopa positron emission tomographic study.** *J. Neurosci.* 18(15), 5901-5907.
- Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Pascualvaca D, Jons PH, Cohen RM. (1999). **High midbrain [18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder.** *Am. J. Psychiatry.* 156: 1209–15.
- Ertas M, Sagduyu A, Arac N, Uludag B, Ertekin C. (1998). **Use of levodopa to relieve pain from painful symmetrical diabetic polyneuropathy.** *Pain.* 75: 257–9.
- Escobar M, Oberling P, Miller RR. (2002). **Associative deficit accounts of disrupted latent inhibition and blocking in schizophrenia.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26, 203–216.
- Evenden JL. (1999). **Varieties of impulsivity.** *Psychopharmacol (Berl).* 146(4): 348-61; <http://dx.doi.org/10.1007/PL00005481>.
- Fahlke C, Hansen S. (1999). **Alcohol responsiveness, hyperreactivity, and motor restlessness in an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder.** *Psychopharmacology. (Berl).* 146:1–9.
- Fan X, Xu M, Hess EJ. (2010). **D2 dopamine receptor subtype-mediated hyperactivity an amphetamine responses in a model of ADHD.** *Neurobiol. Dis.* 37:228–236.
- Faraone SV, Asherson P, Banaschewski T, Biederman J, Buitelaar JK, Ramos-Quiroga JA, et al. (2015). **Attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Nat. Rev. Dis. Primers.* 1, 15020.
- Faraone SV, Biederman J, Mick E. (2006). **The age-dependent decline of attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis of follow-up studies.** *Psychol. Med.* 36, 159–165, <https://doi.org/10.1017/S003329170500471X>.
- Faraone SV, Biederman J. (1994). **Is attention deficit hyperactivity disorder familial ?** *Harv. Rev. Psychiatry.* 1:271–287.

- Faraone SV, Buitelaar J. (2010). **Comparing the efficacy of stimulants for ADHD in children and adolescents using meta-analysis.** *Eur. Child Adolesc. Psychiatry.* 19 (4), 353–364.
- Faraone SV, Doyle AE, Mick E, & Biederman J. (2001). **Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder.** *Am. J. Psychiatry.* 158(7), 1052-1057.
- Faraone SV, Glatt SJ. (2010). **A comparison of the efficacy of medications for adult attention-deficit/hyperactivity disorder using meta-analysis of effect sizes.** *J. Clin. Psychiatry.* 71, 754–763.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, et al. (2005). **Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 57:1313–23.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, et al. (2005). **Molecular genetics of attention- deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 57: 1313-1323.
- Faraone SV, Sergeant J, Gillberg C, and Biederman J. (2003). **The worldwide prevalence of ADHD: Is it an American condition?.** *World Psychiatry.* 2:104-113.
- Faraone SV. (2018). **The pharmacology of amphetamine and methylphenidate: Relevance to the neurobiology of attention-deficit/hyperactivity disorder and other psychiatric comorbidities.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 87, 255–270.
- Farb DH, Ratner MH. (2014). **Targeting the modulation of neural circuitry for the treatment of anxiety disorders.** *Pharmacol. Rev.* 66 (4), 1002–1032.
- Feng Y, Crosbie J, Wigg K, Pathare T, Ickowicz A, Schachar R, et al. (2005). **The SNAP25 gene as a susceptibility gene contributing to attention-deficit hyperactivity disorder.** *Mol. Psychiatry.* 10(998–1005):973.
- Ferguson SA, Paule MG, Cada A, Fogle CM, Gray EP, & Berry KJ. (2007). **Baseline behavior, but not sensitivity to stimulant drugs, differs among spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto, and Sprague-Dawley rat strains.** *Neurotoxicology and teratology.* 29(5), 547-561.
- Ferguson SA. (1996). **Neuroanatomical and functional alterations resulting from early postnatal cerebellar insults in rodents.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 55:663–671
- Ferguson SA. (2001). **A review of rodent models of ADHD.** In: Solano MV, Arnsten AFT, Castellanos FX. (eds) *Stimulant Drugs and ADHD, Basic and Clinical Neuroscience.* University Press: Oxford. 209–220.
- Festing MF, Bender K. (1984). **Genetic relationships between inbred strains of rats. An analysis based on genetic markers at 28 biochemical loci.** *Genet. Res.* 44:271–281.
- Filipek PA, Semrud-Clikeman M, Steingard RJ, Renshaw PF, Kennedy DN, Biederman J. (1997). **Volumetric MRI analysis comparing subjects having attention-deficit hyperactivity disorder with normal controls.** *Neurology.* 48:589–601.

- Fillinger C, Yalcin I, Barrot M, & Veinante P. (2017). **Afferents to anterior cingulate areas 24a and 24b and midcingulate areas 24a' and 24b' in the mouse.** *Brain Struct. Funct.* 222, 1509–1532.
- Fineberg NA, Potenza MN, Chamberlain SR, Berlin HA, Menzies L, Bechara A, et al. (2009). **Probing compulsive and impulsive behaviors, from animal models to endophenotypes: a narrative review.** *Neuropsychopharmacology.* 35(3):591–604.
- Fineberg NA, Potenza MN, Chamberlain SR, Berlin HA, Menzies L, Bechara A, Sahakian BJ, Robbins TW, Bullmore ET, Hollander E. (2010). **Probing compulsive and impulsive behaviors, from animal models to endophenotypes: a narrative review.** *Neuropsychopharmacol.* 35(3):591-604; <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2009.185>.
- Fischer AG, Bau CH, Grevet EH, Salgado CA, Victor MM, Kalil KL, et al. (2007). **The role of comorbid major depressive disorder in the clinical presentation of adult ADHD.** *J. Psychiatric. Res.* 41(12), 991-996.
- Forsberg H, Fernell E, Waters S, Waters N, & Tedroff J. (2006). **Altered pattern of brain dopamine synthesis in male adolescents with attention deficit hyperactivity disorder.** *Behav. Brain. Func.* 2(1), 40.
- Fossat P, Bacqué-Cazenave J, De Deurwaerdère P, Delbecque JP, & Cattaert D. (2014). **Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin.** *Science.* 344(6189), 1293-1297.
- Fox AT, Hand DJ, Reilly MP. (2008). **Impulsive choice in a rodent model of attention-deficit/ hyperactivity disorder.** *Behav. Brain. Res.* 187:146–152.
- Fried R, Petty C, Faraone SV, Hyder LL, Day H, & Biederman J. (2016). **Is ADHD a risk factor for high school dropout? A controlled study.** *J. Atten. Disord.* 20, 383–389, <https://doi.org/10.1177/1087054712473180>.
- Fung YK, Lau YS. (1989). **Effects of prenatal nicotine exposure on rat striatal dopaminergic and nicotinic systems.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 33:1–6.
- Gainetdinov RR, Caron MG. (2000). **An animal model of attention deficit hyperactivity disorder.** *Mol. Med. Today.* 6:43–44.
- Gainetdinov RR, Caron MG. (2001). **Genetics of childhood disorders: XXIV. ADHD, part 8: Hyperdopaminergic mice as an animal model of ADHD.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 40:380–382.
- Gainetdinov RR, Jones SR, Caron MG. (1999a). **Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knock-out mice.** *Biol. Psychiatry.* 46:303–311.
- Gainetdinov RR, Jones SR, Fumagalli F, Wightman RM, Caron MG. (1998). **Re-evaluation of the role of the dopamine transporter in dopamine system homeostasis.** *Brain. Res. Brain. Res. Rev.* 26:148–153.
- Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, Levin ED, Jaber M, Caron MG. (1999b). **Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity.** *Science.* 283:397–401.

- Gao YJ, Ren WH, Zhang YQ & Zhao ZQ. (2004). **Contributions of the anterior cingulate cortex and amygdala to pain- and fear-conditioned place avoidance in rats.** *Pain.* 110, 343–353.
- Gelman DM, Noain D, Avale ME, Otero V, Low MJ, Rubinstein M. (2003). **Transgenic mice engineered to target Cre/loxP-mediated DNA recombination into catecholaminergic neurons.** *Genesis.* 36: 196–202.
- Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. (1996). **Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter.** *Nature.* 379:606–612.
- Gizer IR, Ficks C, Waldman ID. (2009). **Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review.** *Hum. Genet.* 126:51–90.
- Golgi C. (1873). **Sulla struttura della sostanza grigia del cervello.** *Gazz. Med. Ital. (Lombardia),* 33 244.
- Gould TJ, Wehner JM. (1999). **Nicotine enhancement of contextual fear conditioning.** *Behav. Brain. Res.* 102(1-2):31-9; [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(98\)00157-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(98)00157-0).
- Granon S, Changeux JP. (2006). **Attention-deficit/hyperactivity disorder: a plausible mouse model?** *Acta. Paediatr.* 95:645–649.
- Granon S, Faure P, Changeux JP. (2003). **Executive and social behaviors under nicotinic receptor regulation.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100:9596–9601.
- Greenhill LL, Pliszka S, & Dulcan MK. (2002). **Practice parameter for the use of stimulant medications in the treatment of children, adolescents, and adults.** *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry.* 41(2), 26S-49S.
- Grottick AJ, & Higgins GA. (2002). **Assessing a vigilance decrement in aged rats: Effects of pre-feeding, task manipulation, and psychostimulants.** *Psychopharmacology,* 164(1), 33-41; <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-002-1174-3>.
- Gu L, Uhelski ML, Anand S, Romero-Ortega M, Kim YT, Fuchs PN, et al. (2015). **Pain inhibition by optogenetic activation of specific anterior cingulate cortical neurons.** *PLoS One.* 10, e0117746.
- Hand DJ, Fox AT, Reilly MP. (2009). **Differential effects of d-amphetamine on impulsive choice in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats.** *Behav. Pharmacol.* 20:549–553.
- Handley SL, & Mithani S. (1984). **Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour.** *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology.* 327(1), 1-5.
- Hanna GL, Ornitz EM, Hariharan M. (1996). **Urinary catecholamine excretion and behavioral differences in ADHD and normal boys.** *J. Child. Adolesc. Psychopharmacol.* 6, 63–73.
- Harati H, Majchrzak M, Cosquer B, Galani R, Kelche C, Cassel JC, Barbelivien A. (2011). **Attention and memory in aged rats: impact of lifelong environmental enrichment.** *Neurobiol. Aging.* 32, 718-736; <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.03.012>.

- Harris KM, Jensen FE, Tsao B. (1992). **Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation.** *J. Neurosci.* 12(7), 2685-2705.
- Harrison AA, Everitt BJ, Robbins TW. (1997). **Central 5-HT depletion enhances impulsive responding without affecting the accuracy of attentional performance: interactions with dopaminergic mechanisms.** *Psychopharmacology (Berl).* 133:329–342.
- Hart H, Radua J, Nakao T, Mataix-Cols D, & Rubia K. (2013). **Meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies of inhibition and attention in attention-deficit/hyperactivity disorder: exploring task-specific, stimulant medication, and age effects.** *JAMA. Psychiatry.* 70(2), 185-198.
- Hausknecht KA, Acheson A, Farrar AM, Kieres AK, Shen RY, Richards JB, et al. (2005). **Prenatal alcohol exposure causes attention deficits in male rats.** *Behav. Neurosci.* 119:302–310.
- Hawi Z, Kent L, Hill M, Anney RJ, Brookes KJ, Barry E, et al. (2010). **ADHD and DAT1: further evidence of paternal over-transmission of risk alleles and haplotype.** *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 153B:97–102.
- Heal DJ, Smith SL, Kulkarni RS, Rowley HL. (2008). **New perspectives from microdialysis studies in freely-moving, spontaneously hypertensive rats on the pharmacology of drugs for the treatment of ADHD.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 90:184–197.
- Heffner TG & Seiden LS. (1982). **Possible involvement of serotonergic neurons in the reduction of locomotor hyperactivity caused by amphetamine in neonatal rats depleted of brain dopamine.** *Brain. Res.* 244, 81–90.
- Heinricher MM, Tavares I, Leith JL, Lumb BM. (2009). **Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity.** *Brain. Res. Rev.* 60: 214–225.
- Helms CM, Gubner NR, Wilhelm CJ, Mitchell SH, Grandy DK. (2008). **D4 receptor deficiency in mice has limited effects on impulsivity and novelty seeking.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 90:387–393.
- Hemsley DR. (1993). **A simple (or simplistic?) cognitive model for schizophrenia.** *Behav. Res. Ther.* 31(7):633-45.
- Herrera-Marschitz M, Luthman J, & Ferré S. (1994). **Unilateral neonatal intracerebroventricular 6-hydroxydopamine administration in rats: II. Effects on extracellular monoamine, acetylcholine and adenosine levels monitored with in vivo microdialysis.** *Psychopharmacology.* 116(4), 451-456.
- Hess EJ, Collins KA, Wilson MC. (1996). **Mouse model of hyperkinesis implicates SNAP-25 in behavioral regulation.** *J. Neurosci.* 16:3104–3111.
- Hesse S, Ballaschke O, Barthel H, & Sabri O. (2009). **Dopamine transporter imaging in adult patients with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Psychiatry. Res. Neuroimaging.* 171(2), 120-128.

- Hickey L, Li Y, Fyson SJ, Watson TC, Perrins R, Hewinson J, et al. (2014). **Optoactivation of locus ceruleus neurons evokes bidirectional changes in thermal nociception in rats.** *J. Neurosci.* 34(12), 4148-4160.
- Hicks BM, South SC, Dirago AC, Iacono WG, McGue M. (2009). **Environmental adversity and increasing genetic risk for externalizing disorders.** *Arch. Gen. Psychiatry.* 66:640–648.
- Higgins GA, & Breyse N. (2008). **Rodent model of attention: the 5-choice serial reaction time task.** *Curr. Prot. Pharmacology.* Chapter 5. Unit 5. 49.
- Highfield DA, Hu D, Amsel A. (1998). **Alleviation of x-irradiation-based deficit in memory-based learning by D-amphetamine: suggestions for attention deficit-hyperactivity disorder.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95:5785–5788.
- Holson RR, Gazzara RA, Ferguson SA, Adams J. (1997). **Behavioral effects of low-dose gestational day 11-13 retinoic acid exposure.** *Neurotoxicol. Teratol.* 19:355–362
- Hu L, Zhang L, Chen R, Yu H, Li H, & Mouraux A. (2015). **The primary somatosensory cortex and the insula contribute differently to the processing of transient and sustained nociceptive and non-nociceptive somatosensory inputs.** *Hum. Brain. Mapp.* 36, 4346–4360.
- Humby T, Laird F.M, Davies W, Wilkinson L.S. (1999). **Visuospatial attentional functioning in mice: interactions between cholinergic manipulations and genotype.** *Eur. J. Neurosci.* 11:2813–2823; <http://dx.doi.org/j.1460-9568.1999.00701.x>.
- Humby T, Wilkinson L, & Dawson G. (2005). **Assaying aspects of attention and impulse control in mice using the 5-choice serial reaction time task.** *Curr. Prot. Neurosci.* 31(1), 8-5.
- Humby T, Wilkinson LS. (2011). **Assaying dissociable elements of behavioural inhibition and impulsivity: translational utility of animal models.** *Curr. Opin. Pharmacol.* 11, 534–539. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2011.06.006>.
- Hutchison WD, Davis KD, Lozano AM, Tasker RR, & Dostrovsky JO. (1999). **Pain-related neurons in the human cingulate cortex.** *Nat. Neurosci.* 2, 403–405.
- Ironside S, Davidson F, & Corkum P. (2010). **Circadian motor activity affected by stimulant medication in children with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Journal of sleep research.* 19(4), 546-551.
- Iuvone L, Geloso MC, Dell'Anna E. (1996). **Changes in open field behavior, spatial memory, and hippocampal parvalbumin immunoreactivity following enrichment in rats exposed to neonatal anoxia.** *Exp. Neurol.* 139:25–33.
- Iwata K, Kamo H, Ogawa A, Tsuboi Y, Noma N, Mitsuhashi Y, et al. (2005). **Anterior cingulate cortical neuronal activity during perception of noxious thermal stimuli in monkeys.** *J. Neurophysiol.* 94, 1980–1991.
- Jääskeläinen SK, Rinne JO, Forssell H, Tenovuo O, Kaasinen V, Sonninen P, & Bergman J. (2001). **Role of the dopaminergic system in chronic pain – a fluorodopa-PET study.** *Pain.* 90(3), 257-260; [http://dx.doi.org/10.1016/s0304-3959\(00\)00409-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0304-3959(00)00409-7).

- Jacobson JL, Jacobson SW. (2003). **Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age.** *J. Pediatr.* 143:780–788.
- Johansen EB, Killeen PR, Sagvolden T. (2007). **Behavioral variability, elimination of responses, and delay-of-reinforcement gradients in SHR and WKY rats.** *Behav. Brain. Funct.* 3:60.
- Johansen JP & Fields HL. (2004). **Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex produces an aversive teaching signal.** *Nat. Neurosci.* 7, 398–403.
- Johansen JP, Fields HL & Manning BH. (2001). **The affective component of pain in rodents: direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98, 8077–8082.
- Johnson ML, Ely DL, Turner ME. (1992). **Genetic divergence between the Wistar-Kyoto rat and the spontaneously hypertensive rat.** *Hypertension.* 19:425–427.
- Jones MD, Hess EJ. (2003). **Norepinephrine regulates locomotor hyperactivity in the mouse mutant coloboma.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75:209–216.
- Jones MD, Williams ME, Hess EJ. (2001a). **Abnormal presynaptic catecholamine regulation in a hyperactive SNAP-25-deficient mouse mutant.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 68:669–676.
- Jones MD, Williams ME, Hess EJ. (2001b). **Expression of catecholaminergic mRNAs in the hyperactive mouse mutant coloboma.** *Brain. Res. Mol. Brain. Res.* 96:114–121.
- Jones SL. (1991). **Descending noradrenergic influences on pain.** *Prog. Brain. Res.* 88: 381–394.
- Jonkman LM, Kemner C, Verbaten MN, Van Engeland H, Kenemans JL, Camfferman G, et al. (1999). **Perceptual and response interference in children with attention-deficit hyperactivity disorder and the effects of methylphenidate.** *Psychophysiology.* 36, 419–429 (1999).
- Joseph A, Ayyagari R, Xie M, Cai S, Xie J, Huss M, et al. (2017). **Comparative efficacy and safety of attention-deficit/hyperactivity disorder pharmacotherapies, including guanfacine extended release: a mixed treatment comparison.** *Eur. Child Adolesc. Psychiatry.* 26 (8), 875–897.
- Jucaite A, Fernell E, Halldin C, Forssberg H, Farde L. (2005). **Reduced midbrain dopamine transporter binding in male adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder: association between striatal dopamine markers and motor hyperactivity.** *Biol. Psychiatry.* 57:229–238.
- Julius D, Basbaum AI. (2001). **Molecular mechanisms of nociception.** *Nature.* 14: 203 – 10.
- Kang SJ, Kwak C, Lee J, Sim SE, Shim J, Choi T, et al. (2015). **Bidirectional modulation of hyperalgesia via the specific control of excitatory and inhibitory neuronal activity in the ACC.** *Mol. Brain.* 8(1), 81.
- Kanske P, & Kotz SA. (2012). **Effortful control, depression, and anxiety correlate with the influence of emotion on executive attentional control.** *Biol. Psychology.* 91(1), 88-95.

- Kawamoto K, Otsuguro K, Ishizuka M, Ito S. (2012). **Inhibitory effects of dopamine on spinal synaptic transmission via dopamine D1-like receptors in neonatal rats.** *Br. J. Pharmacol.* 166: 788–800.
- Kernbaum S, Hauchecorne J. (1981). **Administration of levodopa for relief of herpes zoster pain.** *J. Am. Med. Assoc.* 246:132–4.
- Kessler RC, Adler L, Barkley R, Biederman J, Conners CK, Demler O, et al. (2006). **The prevalence and correlates of adult ADHD in the United States: results from the National Comorbidity Survey Replication.** *Am. J. Psychiatry.* 163(4), 716-723.
- Kessler RC, Lane M, Stang PE, Van Brunt DL. (2009). **The prevalence and workplace costs of adult attention deficit hyperactivity disorder in a large manufacturing firm.** *Psychol. Med.* 39:137–147.
- Koda K, Ago Y, Cong Y, Kita Y, Takuma K, & Matsuda T. (2010). **Effects of acute and chronic administration of atomoxetine and methylphenidate on extracellular levels of noradrenaline, dopamine and serotonin in the prefrontal cortex and striatum of mice.** *J. Neurochem.* 114(1), 259-270.
- Koga K, Descalzi G, Chen T, Ko HG, Lu J, Li S, et al. (2015). **Coexistence of two forms of LTP in ACC provides a synaptic mechanism for the interactions between anxiety and chronic pain.** *Neuron.* 85, 377–389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.021>.
- Koga K, Descalzi G, Chen T, Ko HG, Lu J, Li S, et al. (2015). **Coexistence of two forms of LTP in ACC provides a synaptic mechanism for the interactions between anxiety and chronic pain.** *Neuron.* 85, 377–389.
- Koga K, Li X, Chen T, Steenland HW, Descalzi G, & Zhuo M. (2010). **In vivo whole-cell patch-clamp recording of sensory synaptic responses of cingulate pyramidal neurons to noxious mechanical stimuli in adult mice.** *Mol. Pain.* 6, 62.
- Konofal E, Lecendreux M, Cortese S. (2010). **Sleep and ADHD.** *Sleep Med.* 11 (7), 652–658.
- Konrad K, Neufang S, Hanisch C, Fink GR, Herpertz-Dahlmann B. (2006). **Dysfunctional attentional networks in children with attention deficit/hyperactivity disorder: evidence from an event-related functional magnetic resonance imaging study.** *Biol. Psychiatry.* 59(7):643-651.
- Kooij JJ, Huss M, Asherson P, Akehurst R, Beusterien K, French A, et al. (2012). **Distinguishing comorbidity and successful management of adult ADHD.** *J. Atten. Disord.* 16 (5 Suppl), 3S–19S.
- Kooij SJ, Bejerot S, Blackwell A, Caci H, Casas-Brugue M, Carpentier PJ, et al. (2010). **European consensus statement on diagnosis and treatment of adult ADHD: the European Network Adult ADHD.** *BMC. Psychiatry.* 10, 67.
- Kostrzewa RM, Brus R, Kalbfleisch JH, Perry KW, & Fuller RW. (1994). **Proposed animal model of attention deficit hyperactivity disorder.** *Brain. Res. Bull.* 34(2), 161-167.
- Kostrzewa RM, Kostrzewa JP, Kostrzewa RA, Nowak P, Brus R. (2008). **Pharmacological models of ADHD.** *J. Neural. Transm.* 115:287–298.
- Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K. (2000). **Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of**

- methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography.** *Neurosci. Lett.* 285:107–110.
- Krettek JE, Price JL. (1977). **Projections from the amygdaloid complex to the cerebral cortex and thalamus in the rat and cat.** *J. Comp. Neurol.* 172(4), 687-722; <https://doi.org/10.1002/cne.901720408>.
- Kumakura K, Nomura H, Toyoda T, Hashikawa K, Noguchi T, Takeda K, et al. (2010). **Hyperactivity in novel environment with increased dopamine and impaired novelty preference in apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-deficient mice.** *Neurosci. Res.* 66, 313–320. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2009.12.003>.
- Kuroda K, Yamada S, Tanaka M, Iizuka M, Yano H, Mori D, et al. (2011). **Behavioral alterations associated with targeted disruption of exons 2 and 3 of the *Disc1* gene in the mouse.** *Human molecular genetics.* 20(23), 4666-4683.
- Kurtz TW, & Morris Jr RC. (1987). **Biological variability in Wistar-Kyoto rats. Implications for research with the spontaneously hypertensive rat.** *Hypertension.* 10(1), 127-131.
- Kustanovich V, Merriman B, McGough J, McCracken JT, Smalley SL, Nelson SF. (2003). **Biased paternal transmission of SNAP-25 risk alleles in attention-deficit hyperactivity disorder.** *Mol. Psychiatry.* 8:309–315.
- Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, Christensen AP, Zhang DS, Woolf CJ, & Corey DP. (2006). **TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction.** *Neuron.* 50(2), 277-289.
- LaHoste GJ, Swanson JM, Wigal SB, Glabe C, Wigal T, King N, et al. (1996). **Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder.** *Mol. Psychiatry.* 1:121–124.
- Lambe EK, Olausson P, Horst NK, Taylor JR, & Aghajanian GK. (2005). **Hypocretin and nicotine excite the same thalamocortical synapses in prefrontal cortex: correlation with improved attention in rat.** *J. Neurosci.* 25, 5225-5229.
- Lapirot O, Melin C, Modolo A, Nicolas C, Messaoudi Y, Monconduit L, et al. (2011). **Tonic and phasic descending dopaminergic controls of nociceptive transmission in the medullary dorsal horn.** *Pain.* 52: 1821–1831.
- Lapiz-Bluhm MDS, Bondi CO, Doyen J, Rodriguez GA, Bédard-Arana T, Morilak DA. (2008). **Behavioural assays to model cognitive and affective dimensions of depression and anxiety in rats.** *J. Neuroendocrinol.* 20, 1115–1137.
- Latremoliere A, Woolf CJ. (2009). **Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity.** *J. Pain.* 10: 895 – 926.
- LeDoux JE. (2000). **Emotion circuits in the brain.** *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 155–184.
- Lee B, Tumu P, Paul IA. (2002). **Effects of LP-BM5 murine leukemia virus infection on errors and response time in a two-choice serial reaction time task in C57BL/6 mice.** *Brain. Res.* 948, 1–7.
- Lee MA, Walker RW, Hildreth TJ, Prentice WM. (2006). **A survey of pain in idiopathic Parkinson's disease.** *J. Pain. Symptom. Manage.* 32:462–9.

- Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P, et al. (2013). **Object recognition test in mice.** *Nat. Prot.* 8(12), 2531.
- Leknes S, Tracey I. (2008). **A common neurobiology for pain and pleasure.** *Nat. Rev. Neurosci.* 9(4): 314 – 20.
- Leo D, Sorrentino E, Volpicelli F, Eyman M, Greco D, Viggiano D, et al. (2003). **Altered midbrain dopaminergic neurotransmission during development in an animal model of ADHD.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27:661–66.
- Levin ED, Rezvani AH. (2002). **Nicotinic treatment for cognitive dysfunction.** *Curr. Drug Targets. CNS. Neurol. Disord.* 1:423–431.
- Levine JD, Gordon NC, Fields HL. (1978). **The mechanism of placebo analgesia.** *Lancet.* 23; 2(8091): 654 – 7.
- Li XY, Ko HG, Chen T, Descalzi G, Koga K, Wang H, et al. (2010). **Alleviating neuropathic pain hypersensitivity by inhibiting PKM ζ in the anterior cingulate cortex.** *Science.* 330, 1400–1404.
- Lim DK, Ito Y, Hoskins B, Rockhold RW, Ho IK. (1989). **Comparative studies of muscarinic and dopamine receptors in three strains of rat.** *Eur. J. Pharmacol.* 165:279–287.
- Lin CS. (2014). **Brain signature of chronic orofacial pain: a systematic review and meta-analysis on neuroimaging research of trigeminal neuropathic pain and temporomandibular joint disorders.** *Plos One.* 9 (4): e94300: 1 – 13.
- Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, Wisborg K, Henriksen TB, Rodriguez A, et al. (2003). **Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence.** *Am. J. Psychiatry.* 160:1028–1040.
- Linssen AM, Sambeth A, Vuurman EF, & Riedel WJ. (2013). **Cognitive effects of methylphenidate in healthy volunteers: A review of single dose studies.** *The International Journal of Neuropsychopharmacology.* 17, 961–977.
- Linthorst AC, De Lang H, De Jong W, Versteeg DH. (1991). **Effect of the dopamine D₂ receptor agonist quinpirole on the in vivo release of dopamine in the caudate nucleus of hypertensive rats.** *Eur. J. Pharmacol.* 201:125–133.
- Losier BJ, McGrath PJ, Klein RM. (1996). **Error patterns on the continuous performance test in non-medicated and medicated samples of children with and without ADHD: a meta-analytic review.** *J. Child Psychol. Psychiatry.* 37, 971–987.
- Lou HC, Henriksen L, Bruhn P, Borner H, BNielsen J. (1989). **Striatal dysfunction in attention deficit and hyperkinetic disorder.** *Archives of Neurology.* 46, 48-52; <http://dx.doi.org/10.1077/19870747>.
- Lou HC. (1996). **Etiology and pathogenesis of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): significance of prematurity and perinatal hypoxic-haemodynamic encephalopathy.** *Acta. Paediatr.* 85:1266–1271.
- Loupe PS, Zhou X, Davies MI, Schroeder SR, Tessel RE, & Lunte SM. (2002). **Fixed ratio discrimination training increases in vivo striatal dopamine in neonatal 6-OHDA-lesioned rats.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 74(1), 61-71.

- Lubow RE, & Josman ZE. (1993). **Latent inhibition deficits in hyperactive children.** *Child Psychology & Psychiatry & Allied Disciplines.* 34(6), 959-973; <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1993.tb01101.x>.
- Lubow RE, Braunstein-Bercovitz H, Blumenthal O, Kaplan O, & Toren P. (2005). **Latent inhibition and asymmetrical visual-spatial attention in children with ADHD.** *Child Neuropsychology.* 11(5), 445-457.
- Lubow RE, Braunstein-Bercovitz H, Blumenthal O, Kaplan O, Toren P. (2005). **Latent inhibition and asymmetrical visual-spatial attention in children with ADHD.** *Child Neuropsychol.* 11, 445-457.
- Ludolph AG, Kassubek J, Schmeck K, Glaser C, Wunderlich A, Buck AK, et al. (2008). **Dopaminergic dysfunction in attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), differences between pharmacologically treated and never treated young adults: a 3, 4-dihydroxy-6-[18F] fluorophenyl-L-alanine PET study.** *Neuroimage.* 41(3), 718-727.
- Luthman J, Fredriksson A, Lewander T, Jonsson G, & Archer T. (1989). **Effects of d-amphetamine and methylphenidate on hyperactivity produced by neonatal 6-hydroxydopamine treatment.** *Psychopharmacology.* 99, 550-557.
- Luthman J, Friedemann MN, Hoffer BJ, & Gerhardt GA. (1997). **In vivo electrochemical measurements of serotonin clearance in rat striatum: effects of neonatal 6-hydroxydopamine-induced serotonin hyperinnervation and serotonin uptake inhibitors.** *J. Neural. Transm.* 104, 379-397, <https://doi.org/10.1007/bf01277658>.
- Mackintosh NJ. (1975). **A theory of attention: variations in the associability of stimuli with reinforcement.** *Psychol. Rev.* 82, 276-298.
- Madisen L, Mao T, Koch H, Zhuo JM, Berenyi A, Fujisawa S, et al. (2012). **A toolbox of Cre-dependent optogenetic transgenic mice for light-induced activation and silencing.** *Nat. Neurosci.* 15(5), 793.
- Magnusson JE, & Fisher K. (2000). **The involvement of dopamine in nociception: The role of D 1 and D 2 receptors in the dorsolateral striatum.** *Brain. Res.* 855(2), 260-266; [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02396-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02396-3).
- Makris N, Buka SL, Biederman J, Papadimitriou GM, Hodge SM, Valera EM, et al. (2007). **Attention and executive systems abnormalities in adults with childhood ADHD: a DT-MRI study of connections.** *Cereb. Cortex.* 18, 1210-1220, [https://doi.org/10.1093/cercor/bhm156\(2008\)](https://doi.org/10.1093/cercor/bhm156(2008)).
- Maltezos S, Horder J, Coghlan S, Skirrow C, O’Gorman R, Lavender TJ, et al. (2014). **Glutamate/glutamine and neuronal integrity in adults with ADHD: a proton MRS study.** *Transl. Psychiatry.* 4, e373.
- Mao AR, Findling RL. (2014). **Comorbidities in adult attention-deficit/hyperactivity disorder: a practical guide to diagnosis in primary care.** *Postgrad. Med.* 126 (5), 42-51.
- Martinez-Raga J, Ferreros A, Knecht C, de Alvaro R, Carabal E. (2017). **Attention deficit hyperactivity disorder medication use: factors involved in prescribing, safety aspects and outcomes.** *Ther. Adv. Drug Saf.* 8 (3), 87-99.

- Matsuo N, Tanda K, Nakanishi K, Yamasaki N, Toyama K, Takao K, et al. (2009). **Comprehensive behavioral phenotyping of ryanodine receptor type3 (RyR3) knockout mice: Decreased social contact duration in two social interaction tests.** *Front. Behav. Neurosci.* 3, 3.
- Matsuoka Y, Furuyashiki T, Yamada K, Nagai T, Bito H, Tanaka Y, et al. (2005). **Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 16066–16071. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0504908102>.
- Mayberg HS, Brannan SK, Tekell JL, Silva A, Mahurin RK, McGinnis S, et al. (2000). **Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: Serial changes and relationship to clinical response.** *Biol. Psychiatry.* 48: 830–843.
- Mayberg HS, Liotti M, Brannan SK, McGinnis S, Mahurin RK, Jerabek PA, et al. (1999). **Reciprocal limbic-cortical function and negative mood: converging PET findings in depression and normal sadness.** *Am. J. Psychiatry.* 156:675-682.
- McDonald MP, Wong R, Goldstein G, Weintraub B, Cheng SY, Crawley JN. (1998). **Hyperactivity and learning deficits in transgenic mice bearing a human mutant thyroid hormone beta1 receptor gene.** *Learn. Mem.* 5:289–301.
- Medalla M & Barbas H. (2012). **The anterior cingulate cortex may enhance inhibition of lateral prefrontal cortex via m2 cholinergic receptors at dual synaptic sites.** *J. Neurosci.* 32, 15611–15625.
- Mehta MA, Goodyer IM, & Sahakian BJ. (2004). **Methylphenidate improves working memory and set-shifting in AD/HD: relationships to baseline memory capacity.** *J. Child. Psychology. Psychiatry.* 45(2), 293-305.
- Merskey H, Albe-Fessard DG, Bonica JJ, Carmon A, Dubner R, Kerr FWL, et al. (1979). **Pain terms: a list with definitions and notes on usage.** Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *Pain.* 6:249.
- Mick E, Biederman J, Faraone SV, Sayer J, Kleinman S. (2002). **Case-control study of attention deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 41:378–385.
- Mifflin KA, Kerr BJ. (2014). **The transition from acute to chronic pain: understanding how different biological systems interact.** *Can. J. Anesth/J. Can. Anesth.* 61: 112 – 22.
- Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Jones J. (1998). **Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings.** *J. Clin. Child. Psychol.* 27:352–358.
- Mill J, Curran S, Kent L, Gould A, Hockett L, Richards S, et al. (2002). **Association study of a SNAP-25 microsatellite and attention deficit hyperactivity disorder.** *Am. J. Med. Genet.* 114:269–271.
- Mill J. (2007). **Rodent models: utility for candidate gene studies in human attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD).** *J. Neurosci. Met.* 166(2), 294-305.
- Millan MJ. (2002). **Descending control of pain.** *Prog. Neurobiol.* 66: 355–474.

- Mobini S, Body S, Ho MY, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM. (2002). **Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement.** *Psychopharmacology (Berl)*. 160:290–298.
- Moran MM, McAlexander MA, Szallasi A. (2011). **Transient receptor potential channels as therapeutic targets.** *Nat. Rev. Drug. Discov.* 10(8): 601 – 20.
- Moser MB, Moser EI, Wultz B, Sagvolden T. (1988). **Component analyses differentiate between exploratory behaviour of spontaneously hypertensive rats and Wistar Kyoto rats in a two compartment free-exploration open field.** *Scand. J. Psychol.* 29:200–206.
- Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW. (1994). **AMPA-induced excitotoxic lesions of the basal forebrain: a significant role for the cortical cholinergic system in attentional function.** *J. Neurosci.* 14:2313–2326.
- Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW. (1996). **The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task.** *Cereb. Cortex.* 6:470–481.
- Narita M, Matsushima Y, Niikura K, Narita M, Takagi S, Nakahara K, et al. (2010). **Implication of dopaminergic projection from the ventral tegmental area to the anterior cingulate cortex in μ -opioid induced place preference.** *Addict. Biol.* 15(4): 434 – 47.
- Navarra R, Graf R, Huang Y, Logue S, Comery T, Hughes Z, & Day M. (2008). **Effects of atomoxetine and methylphenidate on attention and impulsivity in the 5-choice serial reaction time test.** *Prog. NeuroPsychopharmac. Biol Psychiatry.* 32(1), 34-41.
- Navratilova E, Porreca F. (2014). **Reward and motivation in pain and pain relief.** *Nat. Neurosci.* 17(10): 1304 – 12.
- Naylor H, Halliday R, & Callaway E. (1985). **The effect of methylphenidate on information processing.** *Psychopharmacology.* 86(1-2), 90-95.
- Nee DE, Wager TD, Jonides J. (2007). **Interference resolution: insights from a meta-analysis of neuroimaging tasks.** *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 7(1):1-17.
- Nemeth CL, Paine TA, Rittiner JE, Béguin C, Carroll FI, Roth BL, et al. (2010). **Role of kappa-opioid receptors in the effects of salvinorin A and ketamine on attention in rats.** *Psychopharmacology.* 210, 263-274. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-010-1834-7>.
- Nemoda Z, Angyal N, Tarnok Z, Gadoros J, Sasvari-Szekely M. (2009). **Carboxylesterase 1 gene polymorphism and methylphenidate response in ADHD.** *Neuropharmacology.* 57:731–733.
- Niculescu R, Petcu C, Cordeanu A, Fabritius K, Schlumpf M, Krebs R, et al. **Environmental exposure to lead, but not other neurotoxic metals, relates to core elements of ADHD in Romanian children: performance and questionnaire data.** *Environ. Res.* 110:476–483 (2010).

- Nicolson SE, Caplan JP, Williams DE, & Stern TA. (2009). **Comorbid pain, depression, and anxiety: multifaceted pathology allows for multifaceted treatment.** *Harvard review of psychiatry.* 17(6), 407-420.
- Nigg J, Nikolas M, Burt SA. (2010). **Measured gene-by-environment interaction in relation to attention-deficit/hyperactivity disorder.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 49:863–873.
- Nigg JT, Krottnerus GM, Martel MM, Nikolas M, Cavanagh K, Karmaus W, et al. (2008). **Low blood lead levels associated with clinically diagnosed attention-deficit/hyperactivity disorder and mediated by weak cognitive control.** *Biol. Psychiatry.* 63:325–331.
- Nigg JT. (1999). **The ADHD response-inhibition deficit as measured by the stop task: replication with DSM-IV combined type, extension, and qualification.** *J. Abnorm. Child. Psychol.* 27(5):393-402; <http://dx.doi.org/10.1023/A:1021980002473>.
- Nigg JT. (2006). **What causes ADHD? Understanding what goes wrong and why.** Guilford, New York, USA.
- Nijmeijer JS, Minderaa RB, Buitelaar JK, Mulligan A, Hartman CA, & Hoekstra PJ. (2008). **Attention-deficit/hyperactivity disorder and social dysfunctioning.** *Cli. Psychology. Rev.* 28(4), 692-708.
- Nikolas MA, Burt SA. (2010). **Genetic and environmental influences on ADHD symptom dimensions of inattention and hyperactivity: a meta-analysis.** *J. Abnorm. Psychol.* 119:1–17.
- Nilius B, Owsianik G. (2011). **The transient receptor potential family of ion channels.** *Genome. Biol.* 12(3): 218.
- Nixon DW. (1975). **Letter: use of L-dopa to relieve pain from bone metastases.** *N. Engl. J. Med.;* 292:647.
- Nowak P, Bortel A, Dabrowska J, Oswiecimska J, Drosik M, Kwiecinski A, et al. (2007). **Amphetamine and mCPP Effects on Dopamine and Serotonin Striatum in vivo Microdialysates in an Animal Model of Hyperactivity.** *Neurotoxicity research.* 11(2), 131-144.
- O'Brien DE, Brenner DS, Gutmann DH, and Gereau RWIV. (2013). **Assessment of pain and itch behavior in a mouse model of neurofibromatosis type 1.** *J. Pain.* 14, 628–637. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2013.01.770>.
- Okamoto K & Aoki K. (1963). **Development of a strain of spontaneously hypertensive rats.** *Jpn. Circ. J.* 27, 282–293.
- Orduna V, Valencia-Torres L, Bouzas A. (2009). **DRL performance of spontaneously hypertensive rats: dissociation of timing and inhibition of responses.** *Behav. Brain. Res.* 201:158–165.
- Ossipov MH, Morimura K, Porreca F. (2014). **Descending pain modulation and chronification of pain.** *Curr. Opin. Support. Palliat. Care.* 8(2): 143 – 51.

- Ouakil D, Ramoz N, Lepagnol-Bestel AM, Gorwood P, and Simonneau M. (2011). **Neurobiology of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder.** *Pediatric Research.* 69 (5):2.
- Overtoom CCE, Verbaten MN, Kemner C, Kenemans JL, Van Engeland H, Buitelaar JK, et al. (2003). **Effects of methylphenidate, desipramine, and L-dopa on attention and inhibition in children with attention deficit hyperactivity disorder.** *Behav. Brain. Res.* 145, 7–15 (2003).
- Parasuraman R, Warm JS, & See JE. (1998). **Brain systems and vigilance**, in: Parasuraman R. (eds.). **The Attentive Brain.** MIT Press, Cambridge, Massachusetts. 221–256.
- Parisi P, Verrotti A, Paolino MC, Ferretti A, Raucci U, Moavero R, et al. (2014). **Headache and attention deficit and hyperactivity disorder in children: common condition with complex relation and disabling consequences.** *Epilepsy & Behavior.* 32, 72-75.
- Patel S, Stolerman IP, Asherson P, Sluyter F. (2006). **Attentional performance of C57BL/6 and DBA/2 mice in the 5-choice serial reaction time task.** *Behav. Brain. Res.* 170:197–203; <http://dx.doi.org/j.bbr.2006.02.019>.
- Patro N, Shrivastava M, Tripathi S, Patro IK. (2009). **S100 β upregulation: a possible mechanism of deltamethrin toxicity and motor coordination deficits.** *Neurotoxicol. Teratol.* 31, 169-176, <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2008.12.001>.
- Pattij T, Janssen MC, Schepers I, Gonzalez-Cuevas G, De Vries TJ, Schoffelmeer AN. (2007). **Effects of the cannabinoid CB(1) receptor antagonist rimonabant on distinct measures of impulsive behavior in rats.** *Psychopharmacology (Berl).* 193:85–96; <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-007-0773-4>.
- Paus T. (2005). **Mapping brain maturation and cognitive development during adolescence.** *Trends. Cogn. Sci.* 9, 60–68.
- Paxinos G, Franklin KBJ. (2001). **The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates**, 2nd edition. Academic Press, San Diego, California, USA. pp. 216.
- Paz R, Barsness B, Martenson T, Tanner D, Allan AM. (2007). **Behavioral teratogenicity induced by nonforced maternal nicotine consumption.** *Neuropsychopharmacology.* 32:693–699.
- Pelissier T, Laurido C, Hernandez A, Constandil L, Eschalier A. (2006). **Biphasic effect of apomorphine on rat nociception and effect of dopamine D2 receptor antagonists.** *Eur. J. Pharmacol.* 546: 40–47.
- Peña-Oliver Y, Buchman VL, Dalley JW, Robbins TW, Schumann G, Ripley TL, et al. (2012). **Deletion of alpha-synuclein decreases impulsivity in mice.** *Genes. Brain. Behav.* 11, 137–146. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-183X.2011.00758.x>.
- Pertovaara A. (2006). **Noradrenergic pain modulation.** *Prog. Neurobiol.* 80: 53–83.
- Petersen SE, Posner MI. (2012). **The attention system of the human brain: 20 years after.** *Annu. Rev. Neurosci.* 35:73-89; <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150525>.
- Pineda DA, Palacio LG, Puerta IC, Merchan V, Arango CP, Galvis AY, et al. **Environmental influences that affect attention deficit/hyperactivity disorder: study of a genetic isolate.** *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry.* 16:337–346 (2007).

- Pollier F, Sarre S, Aguerre S, Ebinger G, Mormede P, Michotte Y, Chaouloff F. (2000). **Serotonin reuptake inhibition by citalopram in rat strains differing for their emotionality.** *Neuropsychopharmacology*. 22:64–76.
- Potter AS, Schaubhut G, Shipman M. (2014). **Targeting the nicotinic cholinergic system to treat attention-deficit/hyperactivity disorder: rationale and progress to date.** *CNS. Drugs*. 28 (12), 1103–1113.
- Price TJ, Cervero F, Gold MS, Hammond DL, Prescott SA. (2009). **Chloride regulation in the pain pathway.** *Brain. Res. Rev.* 60(1): 149 – 70.
- Purper-Ouakil D, Ramoz N, Lepagnol-Bestel AM, Gorwood P, Simonneau M. (2011). **Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder.** *Pediatrics. Res.* 69 (5 Pt 2), 69R–76R.
- Purper-Ouakil D, Wohl M, Orejarena S, Cortese S, Boni C, Asch M, et al. (2008). **Pharmacogenetics of methylphenidate response in attention deficit/ hyperactivity disorder: association with the dopamine transporter gene (SLC6A3).** *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 147B:1425–1430.
- Purvis KL, & Tannock R. (2000). **Phonological processing, not inhibitory control, differentiates ADHD and reading disability.** *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry.* 39(4), 485-494; <http://dx.doi.org/10.1097/00004583-200004000-00018>.
- Qu C, King T, Okun A, Lai J, Fields HL, Porreca F. (2011). **Lesion of the rostral anterior cingulate cortex eliminates the aversiveness of spontaneous neuropathic pain following partial or complete axotomy.** *Pain.* 152: 1641-1648.
- Quist JF, Barr CL, Schachar R, Roberts W, Malone M, Tannock R, et al. (2000). **Evidence for the serotonin HTR2A receptor gene as a susceptibility factor in attention deficit hyperactivity disorder (ADHD).** *Mol. Psychiatry.* 5:537–541.
- Raggio DJ. (1999). **Visuomotor perception in children with attention deficit hyperactivity disorder combined type.** *Am. J. Occup. Ther.* 88:448–450.
- Reja V, Goodchild AK, Phillips JK, Pilowsky PM. (2002). **Tyrosine hydroxylase gene expression in ventrolateral medulla oblongata of WKY and SHR: a quantitative real-time polymerase chain reaction study.** *Auton. Neurosci.* 98:79–84.
- Reyes S, Mitrofanis J. (2008). **Patterns of Fos expression in the spinal cord and periaqueductal grey matter of 6OHDA-lesioned rats.** *Int. J. Neurosci.* 118: 1053–1079.
- Rhodes SM, Coghill DR, & Matthews K. (2005). **Neuropsychological functioning in stimulant-naive boys with hyperkinetic disorder.** *Psy. Med.* 35(8), 1109-1120.
- Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Julvez J, Grimalt JO, Sunyer J. **Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social behavior at 4 years of age.** *Environ. Health. Perspect.* 115:447–450 (2007).
- Rice F, Thapar A. (2010). **Estimating the relative contributions of maternal genetic, paternal genetic and intrauterine factors to offspring birth weight and head circumference.** *Early. Hum. Dev.* 86:425–432.

- Richardson SA, Tizabi Y. (1994). **Hyperactivity in the offspring of nicotine-treated rats: role of the mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic pathways.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 47:331–337.
- Riordan HJ, Flashman LA, Saykin AJ, Frutiger SA, Carroll KE, & Huey L. (1999). **Neuropsychological correlates of methylphenidate treatment in adult ADHD with and without depression.** *Archives of Clinical Neuropsychology.* 14(2), 217-233.
- Rittenhouse PA, Lopez-Rubalcava C, Stanwood GD, & Lucki I. (2002). **Amplified behavioral and endocrine responses to forced swim stress in the Wistar-Kyoto rat.** *Psychoneuroendocrinology.* 27, 303–18.
- Robbins T. (2002). **The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry.** *Psychopharmacology.* 163, 362-380.
- Robbins TW, Everitt BJ, Marston HM, Wilkinson J, Jones GH, Page KJ. (1989). **Comparative effects of ibotenic acid- and quisqualic acid-induced lesions of the substantia innominata on attentional function in the rat: further implications for the role of the cholinergic neurons of the nucleus basalis in cognitive processes.** *Behav. Brain. Res.* 35:221–240.
- Roessner V, Banaschewski T, Fillmer-Otte A, Becker A, Albrecht B, Uebel H, et al. (2008). **Color perception deficits in co-existing attention-deficit/hyperactivity disorder and chronic tic disorders.** *Journal of neural transmission.* 115(2), 235-239.
- Rogers RD, Baunez C, Everitt BJ, Robbins TW. (2001). **Lesions of the medial and lateral striatum in the rat produce differential deficits in attentional performance.** *Behav. Neurosci.* 115:799–811.
- Rollman GB, Abdel-Shaheed J, Gillespie JM, & Jones KS. (2004). **Does past pain influence current pain: Biological and psychosocial models of sex differences.** *Eur. J. Pain.* 8(5), 427-433; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.03.002>.
- Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, & Hutz MH. (2002). **Further evidence for the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and the dopamine- β -hydroxylase gene.** *Am. J. Med. Genetics.* 114(2), 154-158.
- Romberg C, Mattson MP, Mughal MR, Bussey TJ, Saksida LM. (2011). **Impaired attention in the 3xTgAD mouse model of Alzheimer's disease: rescue by donepezil (Aricept).** *J. Neurosci.* 31: 3500–3507; <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5242-10.2011>.
- Rommelse NN, Altink ME, Oosterlaan J, Beem L, Buschgens CJ, Buitelaar J, et al. (2008). **Speed, variability, and timing of motor output in ADHD: which measures are useful for endophenotypic research?** *Behav. Genet.* 38:121–132.
- Rostain AL. (2008). **Attention-deficit/hyperactivity disorder in adults: evidence-based recommendations for management.** *Postgrad. Med.* 120 (3), 27–38.
- Rosvold HE, Mirsky AF, Sarason I, Bransome EDJr, & Beck LH. (1956). **A continuous performance test of brain damage.** *Journal of Consulting Psychology.* 20(5), 343-350; <http://dx.doi.org/10.1037/h0043220>.
- Rowland NE. (2007). **Food or fluid restriction in common laboratory animals: balancing welfare considerations with scientific inquiry.** *Comparative medicine.* 572, 149-60.

- Rubia K, Cubillo A, Smith AB, Woolley J, Heyman I, Brammer MJ. (2010). **Disorder specific dysfunction in right inferior prefrontal cortex during two inhibition tasks in boys with attention-deficit hyperactivity disorder compared to boys with obsessive-compulsive disorder.** *Hum. Brain. Mapp.* 31(2): 287-299.
- Rubia K, Halari R, Cubillo A, Smith AB, Mohammad AM, Brammer M, Taylor E. (2011). **Methylphenidate normalizes fronto-striatal underactivation during interference inhibition in medication-naive boys with attention-deficit hyperactivity disorder.** *Neuropsychopharmacology.* 36(8): 1575-1586.
- Rubia K, Halari R, Smith AB, Mohammad M, Scott S, & Brammer MJ. (2009). **Shared and disorder specific prefrontal abnormalities in boys with pure attention deficit/hyperactivity disorder compared to boys with pure CD during interference inhibition and attention allocation.** *J. Child. Psychol. Psychiatry.* 50, 669–678, <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2008.02022.x>.
- Rubia K, Halari R, Smith AB, Mohammad M, Scott S, Brammer MJ. (2009). **Shared and disorder-specific prefrontal abnormalities in boys with pure attention-deficit/hyperactivity disorder compared to boys with pure CD during interference inhibition and attention allocation.** *J Child Psychol Psychiatry.* 50(6): 669-678.
- Rubia K, Overmeyer S, Taylor E, Brammer M, Williams SC, Simmons A, Bullmore ET. (1999). **Hypofrontality in attention deficit hyperactivity disorder during higher-order motor control: a study with functional MRI.** *Am. J. Psychiatry.* 156:891–896.
- Rubia K, Smith AB, Brammer MJ, & Taylor E. (2003). **Right inferior prefrontal cortex mediates response inhibition while mesial prefrontal cortex is responsible for error detection.** *Neuroimage.* 20(1), 351-358.
- Rubinstein M, Phillips TJ, Bunzow JR, Falzone TL, Dziewczapolski G, Zhang G, et al. (1997). **Mice lacking dopamine D4 receptors are supersensitive to ethanol, cocaine, and methamphetamine.** *Cell.* 90:991–1001.
- Russell VA, & Wiggins TM. (2000). **Increased glutamate-stimulated norepinephrine release from prefrontal cortex slices of spontaneously hypertensive rats.** *Metab. Brain. Dis.* 15(4), 297-304.
- Russell VA, Sagvolden T, Johansen EB. (2005). **Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder.** *Behav. Brain. Funct.* 1:9.
- Russell VA. (2000). **The nucleus accumbens motor-limbic interface of the spontaneously hypertensive rat as studied in vitro by the superfusion slice technique.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24, 133–136.
- Russell VA. (2007). **Neurobiology of animal models of attention-deficit hyperactivity disorder.** *J. Neurosci. Methods.* 161:185–198.
- Rutter M, Sonuga-Barke EJ. (2010). **Conclusions: overview of findings from the era study, inferences, and research implications.** *Monogr. Soc. Res. Child. Dev.* 75:212– 229.
- Saab CY. (2012). **Pain-related changes in the brain: diagnostic and therapeutic potentials.** *Trends. Neurosci.* 35(10): 629 – 37.

- Saade' NE, Jabbur SJ. (2008). **Nociceptive behavior in animal models for peripheral neuropathy: spinal and supraspinal mechanisms.** *Prog. Neurobiol.* 86:22–47.
- Sagvolden T, Aase H, Zeiner P, Berger D. (1998). **Altered reinforcement mechanisms in attention deficit/ hyperactivity disorder.** *Behav. Brain. Res.* 94:61–71.
- Sagvolden T, Metzger MA, Schiorbeck HK, Rugland AL, Spinnangr I, Sagvolden G. (1992). **The spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of childhood hyperactivity (ADHD): changed reactivity to reinforcers and to psychomotor stimulants.** *Behav. Neural. Biol.* 58:103–112.
- Sagvolden T, Russell VA, Aase H, Johansen EB, Farshbaf M. (2005). **Rodent models of attention deficit/hyperactivity disorder.** *Biol Psychiatry.* 57:1239–1247.
- Sagvolden T. (2000). **Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD).** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24:31–39.
- Sagvolden T. (2006). **The alpha-2A adrenoceptor agonist guanfacine improves sustained attention and reduces overactivity and impulsiveness in an animal model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD).** *Behav. Brain. Funct.* 2:41.
- Sanabria F, Killeen PR. (2008). **Evidence for impulsivity in the spontaneously hypertensive rat drawn from complementary response-withholding tasks.** *Behav. Brain. Funct.* 4:7.
- Sandkuhler J. (2007). **Understanding LTP in pain pathways.** *Mol. Pain.* 3, 9.
- Schachar R, & Logan GD. (1990). **Impulsivity and inhibitory control in normal development and childhood psychopathology.** *Dev. Psychol.* 26(5), 710-720; <http://dx.doi.org/10.1037/0012-1649.26.5.710>.
- Schachar R, Tannock R, Marriott M, Logan GD. (1995). **Deficient inhibitory control and attention deficit hyperactivity disorder.** *J. Abnorm. Child. Psychol.* 23:411–437; <http://dx.doi.org/10.1007/BF01447206>.
- Scherder EJ, Rommelse NN, Brøring T, Faraone SV, Sergeant JA. (2007). **Somatosensory functioning and experienced pain in ADHD-families: a pilot study.** *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 12:461–9.
- Scherder EJ, Rommelse NN, Broring T, Faraone SV, Sergeant JA. (2008). **Somatosensory functioning and experienced pain in ADHD-families: a pilot study.** *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 12, 461–469.
- Schneider F, Baldauf K, Wetzell W & Reymann KG. (2015). **Effects of methylphenidate on the behavior of male 5xFAD mice.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 128, 68–77, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.11.006>.
- Schwartz MD, Kilduff TS. (2015). **The neurobiology of sleep and wakefulness.** *Psychiatr. Clin. N. Am.* 38 (4), 615–644.
- Schweitzer JB, Faber TL, Grafton ST, Tune LE, Hoffman JM, Kilts CD. (2000). **Alterations in the functional anatomy of working memory in adult attention deficit hyperactivity disorder.** *Am. J. Psychiatry.* 157:278–280.

- Schweitzer JB, Lee DO, Hanford RB, Zink CF, Ely TD, Tagamets MA, et al. (2004). **Effect of Methylphenidate on Executive Functioning in Adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Normalization of Behavior but Not Related Brain Activity.** *Bio. Psychiatry.* 56:597–606.
- Searle AJ. (1966). **New mutants, Coloboma.** *Mouse News Letters.* 2, 35, 27.
- Segerdahl AR, Mezue M, Okell TW, Farrar JT, & Tracey I. (2015). **The dorsal posterior insula subserves a fundamental role in human pain.** *Nat. Neurosci.* 18, 499–500.
- Seidman LJ, Valera EM, Makris N. (2005). **Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 57:1263–1272.
- Sellmeijer J, Mathis V, Hugel S, Li XH, Song Q, Chen QY, et al. (2018). **Hyperactivity of anterior cingulate cortex areas 24a/24b drives chronic pain-induced anxiodepressive-like consequences.** *J. Neurosci.* 3195-17.
- Senapati AK, Huntington PJ, & Peng YB. (2005). **Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli is decreased by electrical stimulation of the primary motor cortex.** *Brain. Res.* 1036(1-2), 173-179.
- Sergeant JA, Geurts H, Huijbregts S, Scheres A, Oosterlaan J. (2003). **The top and the bottom of ADHD: a neuropsychological perspective.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27:583–592.
- Sessle, BJ. (2011). **Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain.** *Int. Rev. Neurobiol.* 97: 179 – 206.
- Shang Y, & Filizola M. (2015). **Opioid receptors: structural and mechanistic insights into pharmacology and signaling.** *Eur. J. Pharmacology.* 763, 206-213.
- Shankaranarayana RaoBS, & Raju TR. (2004). **The Golgi techniques for staining neurons.** in: Raju TR, Kutty BM, Sathyaprabha TN, Shankaranarayana RaoBS (Eds). *Brain and behavior.* NIMHANS, Bangalore, 108-111.
- Sharp SI, McQuillin A, Marks M, Hunt SP, Stanford SC, Lydall GJ, et al. (2014). **Genetic association of the tachykinin receptor 1 TACR1 gene in bipolar disorder, attention deficit hyperactivity disorder, and the alcohol dependence syndrome.** *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 165B (4), 373–380.
- Shaw P, Eckstrand K, Sharp W, Blumenthal J, Lerch JP, Greenstein DEEA, et al. (2007). **Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(49), 19649-19654.
- Shaywitz BA, Klopfer JH, Yager RD, Gordon JW. (1976a). **Paradoxical response to amphetamine in developing rats treated with 6-hydroxydopamine.** *Nature.* 261:153–155.
- Shaywitz BA, Yager RD, Klopfer JH. (1976b). **Selective brain dopamine depletion in developing rats: an experimental model of minimal brain dysfunction.** *Science.* 191:305–308.
- Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Ikeda K, Yamamoto H, et al. (2004). **Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in**

- vivo microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters.** *Neuropsychopharmacology*. 29:1790–1799.
- Shen RY, Choong KC. (2006). **Different adaptations in ventral tegmental area dopamine neurons in control and ethanol exposed rats after methylphenidate treatment.** *Biol. Psychiatry*. 59:635–642.
- Shi M, Qi WJ, Gao G, Wang JY, & Luo F. (2010). **Increased thermal and mechanical nociceptive thresholds in rats with depressive-like behaviors.** *Brain. Res.* 1353, 225–233.
- Siesser WB, Zhao J, Miller LR, Cheng SY, McDonald MP. (2006). **Transgenic mice expressing a human mutant beta1 thyroid receptor are hyperactive, impulsive, and inattentive.** *Genes. Brain. Behav.* 5:282–297.
- Silbergeld EK, Goldberg AM. (1974). **Lead-induced behavioral dysfunction: an animal model of hyperactivity.** *Exp. Neurol.* 42:146–157.
- Silbergeld EK, Goldberg AM. (1975). **Pharmacological and neurochemical investigations of lead induced hyperactivity.** *Neuropharmacology*. 14:431–444.
- Simmonds DJ, Pekar JJ, Mostofsky SH. (2008). **Meta-analysis of Go/No-go tasks demonstrating that fMRI activation associated with response inhibition is task-dependent.** *Neuropsychologia*. 46(1): 224–232.
- Singer T, Seymour B, O'doherty J, Kaube H, Dolan RJ, & Frith CD. (2004). **Empathy for pain involves the affective but not sensory components of pain.** *Science*. 303, 1157–1162.
- Snitselaar MA, Smits MG, & Spijker J. (2016). **Prevalence of restless legs syndrome in adult ADHD and its subtypes.** *Behavioral sleep medicine*. 14(5), 480–488.
- Sogabe S, Yagasaki Y, Onozawa K, Kawakami Y. (2013). **Mesocortical dopamine system modulates mechanical nociceptive responses recorded in the rat prefrontal cortex.** *BMC. Neurosci.* 14:65–75.
- Solanto MV. (1998). **Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration.** *Behav. Brain. Res.* 94:127–152.
- Sontag TA, Tucha O, Walitza S, Lange KW. (2010). **Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a critical review.** *Atten. Defic. Hyperact. Disord.* 2, 1–20. <http://dx.doi.org/10.1007/s12402-010-0019-x>.
- Sora I, Wichems C, Takahashi N, Li XF, Zeng Z, Revay R, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR. (1998). **Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95:7699–7704.
- Speiser Z, Shved A, Gitter S. (1983). **Effect of propranolol treatment in pregnant rats on motor activity and avoidance learning of the offspring.** *Psychopharmacology (Berl)*. 79:148–154.
- Spooren WP, Vassout A, Neijt HC, Kuhn R, Gasparini F, Roux S, et al. (2000). **Anxiolytic-like effects of the prototypical metabotropic glutamate receptor 5 antagonist 2-**

- methyl-6-(phenylethynyl) pyridine in rodents.** *J. Pharma. Exper. Therap.* 295(3), 1267-1275.
- Sprich S, Biederman J, Crawford MH, Mundy E, Faraone SV. (2000). **Adoptive and biological families of children and adolescents with ADHD.** *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 39:1432–1437.
- Stachowiak MK, Bruno JP, Snyder AM, Stricker EM, & Zigmond MJ. (1984). **Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats.** *Brain. Res.* 291(1), 164-167.
- Stanford C, & Tannock R. (2012). **Behavioral neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and its treatment** (Eds Vol. 9). *Springer Science & Business Media.*
- Sternat T, Katzman MA. (2016). **Neurobiology of hedonic tone: the relationship between treatment-resistant depression, attention-deficit hyperactivity disorder, and substance abuse.** *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 12, 2149–2164.
- Stocker SD, Muldoon MF, Sved AF. (2003). **Blunted fenfluramine-evoked prolactin secretion in hypertensive rats.** *Hypertension.* 42:719–724.
- Strang-Karlsson S, Raikkonen K, Pesonen AK, Kajantie E, Paavonen EJ, Lahti J, et al. (2008). **Very low birth weight and behavioral symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in young adulthood: the Helsinki study of very-low-birth-weight adults.** *Am. J. Psychiatry.* 165:1345–1353.
- Stray LL, Kristensen Ø, Lomeland M, Skorstad M, Stray T, & Tønnessen FE. (2013). **Motor regulation problems and pain in adults diagnosed with ADHD.** *Behavioral and Brain Functions.* 9(1), 18.
- Streissguth AP, Sampson PD, Olson HC, Bookstein FL, Barr HM, Scott M, et al. (1994). **Maternal drinking during pregnancy: attention and short-term memory in 14-year-old offspring – a longitudinal prospective study.** *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 18:202–218.
- Stuhec M, Munda B, Svab V, Locatelli I. (2015). **Comparative efficacy and acceptability of atomoxetine, lisdexamfetamine, bupropion and methylphenidate in treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: a metaanalysis with focus on bupropion.** *J. Affect. Disord.* 178, 149–159.
- Subcommittee on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, Steering Committee on Quality Improvement and Management, Wolraich M, Brown L, Brown RT, DuPaul G, et al. (2011). **ADHD: clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, and treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder in children and adolescents.** *Pediatrics.* 128 (5), 1007–1022.
- Sulzer D, Sonders MS, Poulsen NW, Galli A. (2005). **Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review.** *Prog. Neurobiol.* 75: 406–433.
- Sutherland KR, Alsop B, McNaughton N, Hyland BI, Tripp G, Wickens JR. (2009). **Sensitivity to delay of reinforcement in two animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD).** *Behav. Brain. Res.* 205:372–376.

- Swanson JM, Kinsbourne M, Nigg J, Lanphear B, Stefanatos GA, Volkow N, et al. (2007). **Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: brain imaging, molecular genetic and environmental factors and the dopamine hypothesis.** *Neuropsychol. Rev.* 7:39–59.
- Szobot CM, Roman T, Hutz MH, Genro JP, Shih MC, Hoexter MQ, et al. (2011). **Molecular imaging genetics of methylphenidate response in ADHD and substance use comorbidity.** *Synapse.* 65:154–159.
- Talbot JD, Marrett S, Evans AC, Meyer E, Bushnell MC, & Duncan GH. (1991). **Multiple representations of pain in human cerebral cortex.** *Science.* 251(4999), 1355-1358.
- Talge NM, Neal C, Glover V. (2007). **Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why ?.** *J. Child. Psychol. Psychiatry.* 48:245–261.
- Taniguchi W, Nakatsuka T, Miyazaki N, Yamada H, Takeda D, Fujita T, et al. (2011). **In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord.** *Pain.* 152:95–105.
- Tassorelli C, Armentero MT, Greco R, Fancellu R, Sandrini G, Nappi G, et al. (2007) **Behavioral responses and Fos activation following painful stimuli in a rodent model of Parkinson's disease.** *Brain. Res.* 1176: 53–61.
- Teicher MH, Anderson CM, Polcari A, Glod CA, Maas LC, & Renshaw PF. (2000). **Functional deficits in basal ganglia of children with attention-deficit/hyperactivity disorder shown with functional magnetic resonance imaging relaxometry.** *Nat. Med.* 6(4), 470.
- Thanos PK, Ivanov I, Robinson JK, Michaelides M, Wang GJ, Swanson JM, et al. (2010). **Dissociation between spontaneously hypertensive (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats in baseline performance and methylphenidate response on measures of attention, impulsivity and hyperactivity in a visual stimulus position discrimination task.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 94:374–379.
- Thapar A, Langley K, Fowler T, Rice F, Turic D, Whittinger N, et al. (2005). **Catechol O-methyltransferase gene variant and birth weight predict early-onset antisocial behavior in children with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Archives of general psychiatry.* 62(11), 1275-1278.
- Thomas M, Rostain A, Prevatt F. (2013). **ADHD diagnosis and treatment in college students and young adults.** *Adolesc. Med. State Art Rev.* 24 (3), 659–679.
- Thompson CC, Potter GB. (2000). **Thyroid hormone action in neural development.** *Cereb. Cortex.* 10:939–945.
- Todd RD, Lobos EA, Sun LW, Neuman RJ. (2003). **Mutational analysis of the nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit gene in attention deficit/hyperactivity disorder: evidence for association of an intronic polymorphism with attention problems.** *Mol. Psychiatry.* 8:103–108.
- Tovote P, Fadok JP & Luthi A. (2015). **Neuronal circuits for fear and anxiety.** *Nat. Rev. Neurosci.* 16, 317–331.

- Treister R, Eisenberg E, Demeter N, & Pud D. (2015). **Alterations in pain response are partially reversed by methylphenidate (Ritalin) in adults with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD).** *Pain Practice.* 15(1), 4-11.
- Treister R, Lang M, Klein MM, & Oaklander AL. (2013). **Non-invasive Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) of the Motor Cortex for Neuropathic Pain-At the Tipping Point?.** *Rambam Maimonides medical journal.* 4(4), e0023; <http://dx.doi.org/10.5041/RMMJ.10130>.
- Tripp G, Wickens JR. (2009). **Neurobiology of ADHD.** *Neuropharmacology.* 57: 579–89.
- Trueman RC, Dunnett SB, Jones L, Brooks SP. (2012). **Five choice serial reaction time performance in the HdhQ92 mouse model of Huntington's disease.** *Brain. Res. Bull.* 88, 163-170; <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.10.019>.
- Turner DC, Blackwell AD, Dowson JH, McLean A, & Sahakian BJ. (2005). **Neurocognitive effects of methylphenidate in adult attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Psychopharmacology.* 178(2-3), 286-295.
- Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B. (2003). **Do rats have a prefrontal cortex?** *Behav. Brain. Res.* 146(1), 3-17.
- Vaidya CJ, Austin G, Kirkorian G, Austin G, Kirkorian G, Ridlehuber HW, et al. (1998). **Selective effects of methylphenidate in attention deficit hyperactivity disorder: a functional magnetic resonance study.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95:14494–14499.
- Valera EM, Faraone SV, Murray KE, Seidman LJ. (2007). **Meta-analysis of structural imaging findings in attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Biol. Psychiatry.* 61:1361–1369.
- van den Bergh FS, Bloemarts E, Chan JS, Groenink L, Olivier B, Oosting RS. (2006). **Spontaneously hypertensive rats do not predict symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder.** *Pharmacol. Biochem. Behav.* 83:380–390.
- van Egmond-Fröhlich AW, Weghuber D, & de Zwaan M. (2012). **Association of symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder with physical activity, media time, and food intake in children and adolescents.** *PLoS One.* 7(11), e49781.
- van Harmelen AL, Hauber K, Gunther Moor B, Spinhoven P, Boon AE, Crone EA, et al. (2014). **Childhood emotional maltreatment severity is associated with dorsal medial prefrontal cortex responsivity to social exclusion in young adults.** *PLoS One.* Jan 8; 9(1): e85107.
- Vance AL, Maruff P, & Barnett R. (2003). **Attention deficit hyperactivity disorder, combined type: better executive function performance with longer-term psychostimulant medication.** *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry.* 37(5), 570-576.
- Vaughan B, Kratochvil CJ. (2012). **Pharmacotherapy of pediatric attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Child Adolesc. Psychiatr. Clin. N. Am.* 21 (4), 941–955.

- Verster JC, Bekker EM, Kooij JS, Buitelaar JK, Verbaten MN, Volkerts ER, & Olivier B. (2010). **Methylphenidate significantly improves declarative memory functioning of adults with ADHD.** *Psychopharmacology*. 212(2), 277-281.
- Vogt BA, & Paxinos G. (2014). **Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies.** *Brain Structure and Function*. 219(1), 185-192.
- Vogt BA, Berger GR, Derbyshire SWJ. (2003). **Structural and functional dichotomy of human midcingulate cortex.** *Eur. J. Neurosci*. 18: 3134–3144.
- Vogt BA. (2005). **Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus.** *Nat. Rev. Neurosci*. 6, 533–544.
- Volkow ND, Wang GJ, Newcorn J, Telang F, Solanto MV, Fowler JS, et al. (2007). **Depressed dopamine activity in caudate and preliminary evidence of limbic involvement in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Archives of general psychiatry*. 64(8), 932-940.
- Wager TD, Rilling JK, Smith EE, Sokolik A, Casey KL, Davidson RJ, et al. (2004). **Placebo-induced changes in fMRI in the anticipation and experience of pain.** *Science*. 303: 1162–1167.
- Wang Y, Kakizaki T, Sakagami H, Saito K, Ebihara S, Kato M, et al. (2009). **Fluorescent labeling of both GABAergic and glycinergic neurons in vesicular GABA transporter (VGAT)-venus transgenic mouse.** *Neuroscience*. 164: 1031–1043.
- Watanabe Y, Fujita M, Ito Y, Okada T, Kusuoka H, Nishimura T. (1997). **Brain dopamine transporter in spontaneously hypertensive rats.** *J. Nucl. Med*. 38:470–474.
- Weiner I. (1990). **Neural substrates of latent inhibition: the switching model.** *Psychol. Bull*. 108, 442–461.
- Whelan R, Conrod PJ, Poline JB, Lourdusamy A, Banaschewski T, Barker G. (2012). **Adolescent impulsivity phenotypes characterized by distinct brain networks.** *Nat. Neurosci*. 15:920–925; <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3092>.
- Wilens TE, Vitulano M, Upadhyaya H, Adamson J, Sawtelle R, Utzinger L, et al. (2008). **Cigarette smoking associated with attention deficit hyperactivity disorder.** *J. Pediatr*. 153 (3):414–419.
- Wilkinson RT. (1963). **Interaction of noise with knowledge of results and sleep deprivation.** *Journal of Experimental Psychology*. 66 (4) (1963), pp. 332-337; <http://dx.doi.org/10.1037/h0044161>.
- Wilkinson, R. T. Interaction of noise with knowledge of results and sleep deprivation. *J. Exp. Psychol*. 66, 332–337 (1963).
- Williams NM, Zaharieva I, Martin A, Langley K, Mantripragada K, Fossdal R, et al. (2010). **Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyperactivity disorder: a genome-wide analysis.** *Lancet*. 376: 1401–1408.
- Wilson MC. (2000). **Coloboma mouse mutant as an animal model of hyperkinesia and attention deficit hyperactivity disorder.** *Neurosci. Biobehav. Rev*. 24:51–57.
- Wilson RC, Vacek T, Lanier DL, & Dewsbury DA. (1976). **Open-field behavior in muroid rodents.** *Behav Biology*. 17(4), 495-506.

- Winstanley CA, Eagle DM, & Robbins TW. (2006). **Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: Translation between clinical and preclinical studies.** *Clin. Psychol. Rev.* 26, 379–395.
- Winstanley CA, Theobald DE, Cardinal RN, Robbins TW. (2004). **Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice.** *J. Neurosci.* 24:4718–4722.
- Winstanley CA. (2011). **The utility of rat models of impulsivity in developing pharmacotherapies for impulse control disorders.** *Br. J. Pharmacol.* 164, 1301–1321. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01323.x>.
- Winstanley, C. A., Eagle, D. M. & Robbins, T. W. Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin. Psychol. Rev.* 26, 379–395, <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2006.01.001> (2006).
- Wolff N, Rubia K, Knopf H, Hölling H, Martini J, Ehrlich S, & Roessner V. (2016). **Reduced pain perception in children and adolescents with ADHD is normalized by methylphenidate.** *Child and adolescent psychiatry and mental health.* 10(1), 24.
- Wood PB, Schweinhardt P, Jaeger E, Schweinhardt P, Jaeger E, Dagher A, et al. (2007). **Fibromyalgia patients show an abnormal dopamine response to pain.** *Eur. J. Neurosci.* 2007; 25:3576–82.
- Wood PB. (2008). **Role of central dopamine in pain and analgesia.** *Expert Review of Neurotherapeutics.* 8(5), 781-797; <http://dx.doi.org/10.1586/14737175.8.5.781>.
- Woolf CJ, Ma Q. (2007). **Nociceptors—noxious stimulus detectors.** *Neuron.* 55: 353 – 64.
- Woolf CJ. (2011). **Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain.** *Pain.* 152(3 Suppl): S2 – 15.
- Wu SX, Wang W, Li H, Wang YY, Feng YP, Li YQ. (2010). **The synaptic connectivity that underlies the noxious transmission and modulation within the superficial dorsal horn of the spinal cord.** *Prog. Neurobiol.* 91:38–54.
- Wultz B, Sagvolden T, Moser EI, Moser MB. (1990). **The spontaneously hypertensive rat as an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate on exploratory behavior.** *Behav. Neural. Biol.* 53:88–102.
- Wyss JM, Fisk G, van Groen T. (1992). **Impaired learning and memory in mature spontaneously hypertensive rats.** *Brain. Res.* 592:135–140.
- Xu C, Shen RY. (2001). **Amphetamine normalizes the electrical activity of dopamine neurons in the ventral tegmental area following prenatal ethanol exposure.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297:746–752.
- Yamamura H, Iwata K, Tsuboi Y, Toda K, Kitajima K, Shimizu N, et al. **Morphological and electrophysiological properties of ACCx nociceptive neurons in rats.** *Brain. Res.* 735, 83–92 (1996).
- Yamashita M, Sakakibara Y, Hall FS, Numachi Y, Yoshida S, Kobayashi H, et al. (2013). **Impaired cliff avoidance reaction in dopamine transporter knockout mice.** *Psychopharmacology.* 227, 741-749.

- Yochman A, Parush S, Ornoy A. (2004). **Responses of preschool children with and without ADHD to sensory events in daily life.** *Am. J. Occup. Ther.* 58:294–302.
- Yoshida S, Numachi Y, Matsuoka H, Sato M. (1998). **Impairment of cliff avoidance reaction induced by subchronic methamphetamine administration and restraint stress: comparison between two inbred strains of rats.** *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 22, 1023–1032. [http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846\(98\)00050-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846(98)00050-5).
- Yoshimura S, Okamoto Y, Onoda K, Matsunaga M, Ueda K, Suzuki S, et al. (2010). **Rostral anterior cingulate cortex activity mediates the relationship between the depressive symptoms and the medial prefrontal cortex activity.** *J. Affect. Disord.* 122: 76-85.
- Yoshino A, Okamoto Y, Onoda K, Yoshimura S, Kunisato Y, Demoto Y, et al. (2010). **Sadness enhances the experience of pain via neural activation in the anterior cingulate cortex and amygdala: an fMRI study.** *Neuroimage.* 50, 1194–1201.
- Yu T, Guo M, Garza J, Rendon S, Sun XL, Zhang W, Lu XY. (2011). **Cognitive and neural correlates of depression-like behaviour in socially defeated mice: an animal model of depression with cognitive dysfunction.** *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 14:303-317.
- Zaman J, Vlaeyen JW, Van Oudenhove L, Wiech K, Van Diest I. (2015). **Associative fear learning and perceptual discrimination: A perceptual pathway in the development of chronic pain.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 51: 118 – 125.
- Zehle S, Bock J, Jezierski G, Gruss M, & Braun K. (2007). **Methylphenidate treatment recovers stress-induced elevated dendritic spine densities in the rodent dorsal anterior cingulate cortex.** *Dev. Neurobio.* 67(14), 1891-1900.
- Zhang F, Wang LP, Brauner M, Liewald JF, Kay K, Watzke N, et al. (2007). **Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry.** *Nat.* 446(7136), 633.
- Zhang K, Davids E, Tarazi FI, Baldessarini RJ. (2002). **Effects of dopamine D4 receptor-selective antagonists on motor hyperactivity in rats with neonatal 6-hydroxydopamine lesions.** *Psychopharmacology (Berl).* 161:100–106.
- Zhang K, Tarazi FI, Baldessarini R.J. (2001). **Role of dopamine D(4) receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats.** *Neuropsychopharmacology.* 25, 624–632.
- Zhu J, Reith ME. (2008). **Role of the dopamine transporter in the action of psychostimulants, nicotine, and other drugs of abuse.** *CNS. Neurol. Disord. Drug Targets.* 7 (5), 393–409.
- Zhuo M, Gebhart GF. (1997). **Biphasic modulation of spinal nociceptive transmission from the medullary raphe nuclei in the rat.** *J. Neurophysiol.* 78, 746–758.
- Zhuo M. (2008). **Cortical excitation and chronic pain.** *Trends. Neurosci.* 31, 199–207.
- Zhuo M. (2008). **Cortical excitation and chronic pain.** *Trends. Neurosci.* 31, 199–207.
- Zhuo M. (2014). **Long-term potentiation in the anterior cingulate cortex and chronic pain.** *Phil. Trans. R. Soc. B* 369, 20130146.
- Zimering RT, Burrig RG, Donovick PJ. (1982). **Effects of prenatal and continued lead exposure on activity levels in the mouse.** *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 4:9–14.