



**HAL**  
open science

# Implication de la sérotonine dans l'expression de troubles moteurs et neuropsychocomportementaux dans la maladie de Parkinson

Mathilde Millot

► **To cite this version:**

Mathilde Millot. Implication de la sérotonine dans l'expression de troubles moteurs et neuropsychocomportementaux dans la maladie de Parkinson. Neurosciences. Université de Lyon, 2019. Français. NNT : 2019LYSE1100 . tel-02557799

**HAL Id: tel-02557799**

**<https://theses.hal.science/tel-02557799>**

Submitted on 29 Apr 2020

**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.



N°d'ordre NNT : 2019LYSE1100

**THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON**  
opérée au sein de  
**l'Université Claude Bernard Lyon 1**

**Ecole Doctorale N° 476**  
**(Ecole doctorale Neurosciences et Cognition)**

**Spécialité de doctorat : Neurosciences**

Soutenue publiquement le 01/07/2019, par :

---

**Mathilde Millot**

---

**Implication de la sérotonine dans  
l'expression de troubles moteurs et  
neuropsychocomportementaux dans la  
maladie de Parkinson**

---

Devant le jury composé de :

Pr. Luc Zimmer	Université Lyon 1	Examineur
Pr. Kathy Dujardin	Université de Lille 2	Rapporteuse
Pr. Philippe De Deurwaerdère	Université de Bordeaux	Rapporteur
Dr. Véronique Sgambato	Université de Lyon 1	Directrice de thèse

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

**M. le Professeur Frédéric FLEURY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Directeur : M. le Professeur G. RODE

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Faculté d'Odontologie

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Directeur : M. X. PERROT

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Directeur : M. F. DE MARCHI

Département Biologie

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Département Chimie Biochimie

Directeur : Mme C. FELIX

Département GEP

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Département Informatique

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Département Mathématiques

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Département Mécanique

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Département Physique

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Polytech Lyon

Directeur : M. le Professeur E. PERRIN

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Directeur : M. G. PIGNAULT

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. N. LEBOISNE

## Remerciements

Tout au long de ma thèse j'ai eu l'opportunité de côtoyer des personnes formidables que je tenais à remercier car elles ont toutes, de près ou de loin, joué un rôle dans ce travail de thèse.

Je souhaite tout d'abord remercier les membres du jury d'avoir évalué mon travail et donné la possibilité de soutenir cette thèse. Merci à **Kathy Dujardin** et **Philippe De Deurwaerdère** d'avoir accepté d'être rapporteurs ainsi qu'à **Luc Zimmer** pour avoir présidé cette soutenance.

Je tiens à remercier **Véronique Sgambato** pour m'avoir donnée l'opportunité de réaliser une thèse sur le sujet qui me passionne. Merci de m'avoir encadrée et fait confiance durant ces 4 années et permis de travailler avec autonomie. Grâce à ce projet j'ai eu la possibilité d'apprendre différentes techniques d'études ce qui pour moi était essentiel et m'a maintenue en haleine pendant toute ma thèse. Même si le rythme était soutenu, ce que j'ai apprécié, j'ai eu la possibilité de présenter mon travail à de nombreuses reprises. Merci pour votre aide et vos encouragements tout au long de ma thèse.

Merci à l'équipe des ganglions de la base pour vos retours sur mes travaux lors de nos réunions, **Léon Tremblay, Benjamin Pasquereau, Emmanuel Broussolle**. Merci à Léon pour m'avoir intégrée dans cette équipe et de m'avoir donnée la possibilité de participer à de nombreux congrès.

Je souhaite également exprimer ma gratitude envers **Stéphane Thobois**, merci pour votre écoute, votre soutien et votre aide durant ma thèse et pour la suite.

Ma thèse m'a conduite à de très nombreuses reprises au CERMEP où j'ai eu la chance de découvrir des personnes remarquables. Un merci très spécial à **Franck Lavenne**, ta bonne humeur et nos discussions enjouées m'ont été d'un bénéfice inestimable durant toute ma thèse.

Le planning très chargé n'aurait pas pu être mieux géré que par **Véronique Berthier** et la disponibilité de **Jérôme Redouté** m'a été d'une grande aide.

Et bien sûr, merci aux chimistes, particulièrement à **Didier Le Bars** pour sa bonne humeur. Merci à tous car sans vous nous n'aurions pas pu exploser le score du nombre de TEP réalisées !!

Le quotidien au laboratoire n'aurait pas pu être si agréable sans un super groupe. **Sandra**, nous avons passé de nombreux moments ensemble en TEP ou encore au microscope. Tu as été à l'écoute dans les moments heureux comme dans les moments de doutes. Et tu es une grande adversaire au BAC !

**Jean-luc** et **Fidji**, vous m'avez tellement aidé, merci pour votre soutien. Vous m'avez beaucoup appris et j'ai eu un immense plaisir à travailler à vos côtés.

**Fabrice**, le pro de la mécanique, nos discussions me permettaient de m'évader mais aussi de m'instruire, ça va me manquer, alors, merci !!

Merci à **Serge**, pour ton aide technique qui heureusement était toujours présente.

Oh **Maude** !! Comment aurai-je fait sans toi ! Tu m'as formée durant mon stage de M2. Tu aurais pu t'arrêter là mais tu as persisté pour mon plus grand plaisir. Ta présence au quotidien a tellement été importante pour moi tant au niveau professionnel que personnel. Tu as su me remotiver et me soutenir dans les moments difficiles. Tu m'as

permis de donner le meilleur de moi-même en m'incitant à aller toujours plus loin. Ton savoir scientifique est toujours source d'inspiration. Alors pour tous les moments que l'on a passé ensemble et que l'on passera encore après, MERCI.

Comment se serait déroulée ma thèse sans le soutien irréfutable de mes amis. **Isaure et Charlotte** votre présence a été inestimable ! Nos soirées sportives, nos voyages, nos repas italiens... Merci d'être toujours là ! **Eva, Alexia et Mélodie**, heureusement que vous étiez là aussi. Les soirées et les instants partagés ensemble m'ont aidé à tenir, tout au long de ce parcours semé d'embûches. Merci à ma colocataire de bureau, Eva, car sans toi le temps aurait paru bien long. Un muffin et ça repart ! Merci à **Stéphane, Victor et Achille** pour votre bonne humeur et votre présence. **Elise**, merci pour ton aide très précieuse j'ai beaucoup appris et j'ai eu grand plaisir à travailler avec toi.

Un merci ne serait pas suffisant pour exprimer ma gratitude envers ma famille. Particulièrement, mes **parents**, ma **sœur Laure, Guillaume** et notre petit bonheur **Alice**, qui ont su m'accompagner tout au long de ce travail. Votre soutien infailible m'a permis d'arriver là où j'en suis aujourd'hui, je serai bien perdue sans vous ! Vous avez su être présents et à l'écoute dans tous les moments de doute pour me remotiver mais aussi dans les moments de joie. Un immense merci !!

Et enfin, **Vivien**. Tu es présent à chaque instant, tu es un vrai soutien pour moi. Tu sais comment me faire rire, me rassurer en quelques mots et me montrer ce qui est vraiment important. Merci de m'avoir épaulée surtout au cours de ces derniers mois un peu moins faciles. Que notre aventure continue....

*Je dédie cette thèse à ma famille, essentielle à mes yeux*

« Un problème sans solution est un problème mal  
posé » (Albert Einstein)

« Je ne recule que pour prendre mon élan »  
(Frédérique Dard)

*A la mémoire de mes grands-parents...*

# Résumé

La maladie de Parkinson (MP) se caractérise par une dégénérescence progressive et irréversible des neurones dopaminergiques de la substance noire induisant une perte de dopamine (DA) dans les structures cibles. Lorsque cette perte DA se situe entre 60 % et 80 %, les patients présentent des symptômes moteurs (rigidité, tremblement, akinésie) et non-moteurs très variés (dépression, anxiété, apathie). Ces derniers apparaissent avant et/ou en même temps que les symptômes moteurs. La dopathérapie permet de compenser certains symptômes, mais tous ne sont pas sensibles à cette médication.

Parallèlement à la dégénérescence DA, le système sérotoninergique (5-HT) serait aussi altéré de façon précoce dans la maladie. Cette dégénérescence est liée par l'expression de symptômes moteurs et non-moteurs. Néanmoins, aucun lien causal n'a été mis en évidence entre cette lésion 5-HT et la symptomatologie parkinsonienne.

Ainsi, il était primordial de déterminer le rôle de la 5-HT dans 1) l'expression des troubles moteurs et non-moteurs 2) dans la réponse au traitement sérotoninergique et dopaminergique. Nous avons utilisé un nouveau modèle animal primate ayant une lésion 5-HT (via la MDMA) puis une lésion DA (via le MPTP). Ce modèle nous permet de mettre en évidence l'impact d'une lésion 5-HT précoce dans la symptomatologie. Des approches comportementales, pharmacologiques, d'imagerie et de neuroanatomie ont été utilisées.

La lésion 5-HT a induit un trouble anxieux chez les animaux lésés à la MDMA, qui ne sont pas contrecarrés avec un traitement sérotoninergique (antidépresseur). Cette lésion a également induit une sévérité et une progression plus rapide des symptômes moteurs induits par la lésion DA.

---

**Mots clés:** Maladie de Parkinson, dopamine, sérotonine, MPTP, MDMA, fluoxétine, pramipexole, symptômes moteurs et non-moteurs, anxiété



# Summary

## **Impact of a serotonergic lesion on the expression of motor and neuropsychiatric symptoms**

Parkinson's disease (PD) is characterized by a progressive and irreversible degeneration of dopaminergic (DA) neurons localized in the substantia nigra, leading to a loss of dopamine within the target structures. When the loss of DA reaches 60 to 80 %, PD patients develop a wide range of motor (rigidity, tremor, akinesia for example) and non-motor (depression, anxiety, apathy for example) symptoms. Dopatherapy allows the reduction of symptoms expression. But some motor and non-motor symptoms are not counteracted by those DA drugs.

In addition to DA degeneration, patients present an early serotonergic (5-HT) lesion. This lesion is linked to the severity of some motor and non-motor symptoms. However, there is no causal link established between 5-HT lesion and parkinsonian symptoms.

Therefore, it was essential to determine the role of 5-HT 1) in the expression of motor and non-motor symptoms 2) and in the response of DA and 5-HT treatments. For that, we used a new monkey model of PD, exhibiting a 5-HT lesion (with MDMA "ecstasy") followed by a DA lesion (with MPTP). This model allowed us to evaluate the impact of an early 5-HT lesion on parkinsonian symptoms. We used different approaches: PET imaging, pharmacology, behavioral and neuroanatomy.

The MDMA-driven early 5-HT lesion induced an anxious-like behavior on MDMA treated monkeys. This behavioral modification was not counteracted by 5-HT drugs (antidepressant). This MDMA lesion has also increased the severity and the progression of parkinsonian symptoms induced by DA lesion with MPTP.

---

**Key word:** Parkinson's disease, dopamine, serotonin, MPTP, MDMA, fluoxetine, pramipexole, motor and non-motor symptoms, anxiety

---

Intitulé et adresse du laboratoire:

Institut des Sciences Cognitives Marc Jeannerod (UMR 5229) Equipe physiopathologie des ganglions de la base- 67 Boulevard Pinel, 69675 Bron Cedex.

## Table des matières

RESUME.....	7
SUMMARY.....	8
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	13
LISTE DES ABREVIATIONS .....	18
PREAMBULE .....	19
<b>CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>24</b>
<b>CHAPITRE 1 : LA MALADIE DE PARKINSON.....</b>	<b>25</b>
I.    Description neuropathologique de la maladie de Parkinson .....	26
A.    Anatomopathologie .....	26
B.    Dégénérescence dopaminergique.....	30
1.    Description de l'atteinte dopaminergique .....	30
2.    Lien anatomo-fonctionnel avec les symptômes .....	35
C.    Dégénérescence sérotoninergique .....	38
1.    Description de l'atteinte sérotoninergique.....	38
2.    Lien anatomo-fonctionnel avec les symptômes .....	42
D.    Mécanismes de dégénérescence .....	44
E.    Hypothèse de Braak.....	47
F.    Facteurs de risques .....	49
II.    Exposé clinique de la maladie de Parkinson.....	51
A.    Les symptômes moteurs .....	54
B.    Les symptômes non-moteurs.....	59
III.   Traitements .....	65
A.    Traitements médicamenteux .....	65
B.    Traitements chirurgicaux .....	68
C.    Autres approches .....	71

## **CHAPITRE 2 : GANGLIONS DE LA BASE, MODULATION DOPAMINERGIQUE ET SEROTONINERGIQUE** ..... 74

I.	Organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base.....	74
A.	Voies directe, indirecte et hyperdirecte.....	75
B.	Circuits parallèles .....	78
II.	Modulation dopaminergique et sérotoninergique.....	81
A.	Le système dopaminergique .....	81
B.	Le système sérotoninergique.....	82
C.	La balance dopamine et sérotonine .....	85
III.	Modèles animaux de la maladie de Parkinson .....	90
A.	Modèles génétiques .....	91
B.	Modèles pharmacologiques.....	92
C.	Modèles neurotoxiques.....	92
1.	Modèle 6-OHDA.....	93
2.	Modèle MPTP.....	95
3.	Modèle de lésions mixtes .....	99
	<b>OBJECTIFS DE THESE</b> .....	101
	<b>SYNTHESE DES RESULTATS</b> .....	105
	<b>ARTICLE 1</b> .....	126
	<b>ARTICLE 2</b> .....	163
	<b>TRAVAIL EXPERIMENTAL (ARTICLE 3)</b> .....	186
I.	Rappel du contexte.....	187
II.	Etude d'un traitement chronique au pramipexole chez les animaux MDMA/MPTP .....	188
A.	Choix de la dose .....	188
B.	Effets comportementaux du pramipexole sur la tâche.....	190

C.	Effets du pramipexole sur les marqueurs dopaminergiques et sérotoninergiques .....	193
III.	Effets comportementaux du pramipexole en spontané.....	196
A.	Effet anti-parkinsonien .....	196
B.	Effet sur l'activité en cage .....	198
	<b>DISCUSSION GENERALE</b> .....	200
I.	Avantages et limites du modèle MDMA/MPTP .....	201
II.	Effets d'une lésion MDMA .....	204
A.	Effets aigus de l'administration de MDMA .....	204
B.	Conséquences lésionnelles de l'administration de MDMA .....	205
C.	Effets comportementaux de l'administration de MDMA .....	207
D.	Conséquences d'un traitement à la fluoxétine.....	208
III.	Effets d'une lésion mixte MDMA/MPTP .....	211
A.	Effets lésionnels du MPTP .....	211
B.	Impact de la lésion MDMA/MPTP sur la symptomatologie parkinsonienne .....	213
IV.	Effets du pramipexole chez l'animal parkinsonien MDMA/MPTP .....	216
A.	Impact du pramipexole en TEP .....	216
B.	Impact du pramipexole sur l'activité motrice.....	218
C.	Impact du pramipexole sur les troubles psycho-comportementaux.....	220
V.	Conclusion et perspectives .....	222

<b>ANNEXES</b> .....	225
<b>ARTICLE 4</b> .....	227
<b>LISTES DES COMMUNICATIONS</b> .....	238
COMMUNICATIONS ORALES .....	239
COMMUNICATIONS AFFICHÉES.....	239
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	241

## Table des illustrations

<b>Figure 1</b> : Prévisions du nombre de patients pouvant développer la MP en France entre 2010-2030. (Santé publique France 2015).....	25
<b>Figure 2</b> : Illustration des corps de Lewy dans les neurones de la substance noire.....	27
<b>Figure 3</b> : Coloration des neurones de la substance noire qui disparaît chez le sujet parkinsonien.....	28
<b>Figure 4</b> : Différentes techniques d'imagerie utilisées pour caractériser la maladie de Parkinson. ....	30
<b>Figure 5</b> : Illustration des projections dopaminergiques cérébrales.....	31
<b>Figure 6</b> : Images SPECT (DAT) montrant une réduction selon un gradient postéro-antérieur et une asymétrie hémisphérique au niveau du striatum chez un patient parkinsonien (Brooks and Pavese, 2011). ....	32
<b>Figure 7</b> : Illustration de l'évolution des lésions striatales dopaminergiques par TEP et SPECT (adaptée de Politis et al., 2014).....	33
<b>Figure 8</b> : Evolution du marquage des transporteurs dopaminergiques au cours de la MP en TEP (adaptée de Kuramoto., 2013).....	34
<b>Figure 9</b> : Schématisation des symptômes associés à une hypodopaminergie ou à une hyperdopaminergie (Tremblay et al., 2015).....	37
<b>Figure 10</b> : Projection massive du système sérotoninergique ayant pour origine les noyaux du raphé.....	38
<b>Figure 11</b> : Représentation de la voie de la synthèse de la sérotonine et des différents acteurs sérotoninergiques pré- et post-synaptique.....	39
<b>Figure 12</b> : Imagerie TEP montrant le marquage du transporteur de la sérotonine au niveau du striatum chez un sujet sain (gauche) et un patient parkinsonien (droite) .....	41

<b>Figure 13</b> : Mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale dans la maladie de Parkinson.....	45
<b>Figure 14</b> : Progression de la neurodégénérescence ascendante (Braak, 2003).....	47
<b>Figure 15</b> : Les six étapes de la maladie de Parkinson selon Braak (Braak et al., 2004). 48	
<b>Figure 16</b> : Illustration des différents symptômes moteurs et non-moteurs observés chez les patients parkinsoniens. ....	51
<b>Figure 17</b> : Schéma de l'ordre d'apparition des symptômes en fonction des étapes décrites par Braak et les différentes phases de la maladie (adapté de Poewe, 2017).....	53
<b>Figure 18</b> : Liste non exhaustive des symptômes non-moteurs.....	59
<b>Figure 19</b> : Tableau des traitements dopaminergiques possibles dans le cadre de la maladie de Parkinson.....	65
<b>Figure 20</b> : Illustration d'une synapse dopaminergique.....	66
<b>Figure 21</b> : Tableaux des traitements non dopaminergiques des symptômes moteurs (gauche) et non-moteurs (droite).....	68
<b>Figure 22</b> : Stimulation cérébrale profonde dans le noyau sous-thalamique.....	69
<b>Figure 23</b> : Résumé des différentes approches thérapeutiques possibles dans la MP.....	73
<b>Figure 24</b> : Coupe frontale montrant les différentes structures cérébrales des ganglions de la base.....	74
<b>Figure 25</b> : Schéma de l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base en voies directe, indirecte et hyperdirecte chez le sujet sain.....	75
<b>Figure 26</b> : Schéma de l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base en voies directe, indirecte et hyperdirecte chez le patient parkinsonien. ....	77
<b>Figure 27</b> : Organisation des ganglions de la base en circuits parallèles (Alexander, 1986).....	79

<b>Figure 28</b> : Organisation des connexions striato-nigro-striatales (Haber et al., 2016)...	80
<b>Figure 29</b> : Schématisation des 3 voies dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale et de la substance noire <i>pars compacta</i> .....	81
<b>Figure 30</b> : Schématisation des projections efférentes et afférentes du noyau raphé (partie dorsale et médiane).....	83
<b>Figure 31</b> : Proportion des modèles animaux utilisés pour l'étude de la MP (de 1990 à 2018) (Konnova et al., 2018).....	90
<b>Figure 32</b> : Réduction massive des neurones dopaminergiques dans l'hémisphère injecté (droit) comparé à l'hémisphère sans injection (gauche) chez le rat (adaptée de Grealish et al., 2010).....	93
<b>Figure 33</b> : Mécanismes d'action du MPTP (Dauer et al., 2003). .....	95
<b>Figure 34</b> : Réduction nette du marquage de l'innervation dopaminergique par injection de MPTP (droite) par rapport au contrôle (gauche) chez le primate non humain (Blesa et al., 2012).....	96
<b>Figure 35</b> : Principe d'action de la MDMA sur la libération sérotoninergique.....	100
<b>Figure 36</b> : Mise en situation de la tâche comportementale d'approche et d'évitement. ....	106
<b>Figure 37</b> : Types d'images présentées durant la tâche d'approche et d'évitement selon les différents domaines et leurs associations. ....	106
<b>Figure 38</b> : Bloc de choix.....	108
<b>Figure 39</b> : Bloc impératif, contexte appétitif.....	108
<b>Figure 40</b> : Bloc impératif, contexte aversif. ....	109
<b>Figure 41</b> : Design temporel de la tâche.....	110
<b>Figure 42</b> : Différents types d'erreurs.....	110



<b>Figure 43</b> : Taux de réussite lors de la tâche d'approche et d'évitement dans la condition contrôle (« baseline ») et après lésion MDMA (post-MDMA) selon les différents contextes (n =6).....	114
<b>Figure 44</b> : Corrélations entre les réponses prématurées en contexte aversif et la fixation du DASB dans l'hippocampe et le cortex cingulaire antérieur (ACC).....	115
<b>Figure 45</b> : Graphiques des performances journalières en condition contrôle, sous fluoxétine (FLX) et sous fluoxétine après lésion MDMA (MDMA-FLX).....	116
<b>Figure 46</b> : Graphique et images TEP décrivant la réduction du marquage Pe2i après la lésion MDMA seule et la lésion MDMA/MPTP (n =5). .....	119
<b>Figure 47</b> : Evolution du score moteur pour chaque singe (à gauche) puis pour chaque groupe (à droite) au cours du temps. Le pic moteur est le score moteur maximal atteint. ....	121
<b>Figure 48</b> : Evolution du score moteur d'hypokinésie, du tremblement et de la posture du bras au cours du temps.....	122
<b>Figure 49</b> : Variation du taux de réussite selon le contexte et les doses de pramipexole. ....	189
<b>Figure 50</b> : Taux d'omissions et de réponses prématurées selon les contextes.....	190
<b>Figure 51</b> : Représentation schématique du protocole de pramipexole chronique. ....	191
<b>Figure 52</b> : Impact du traitement chronique au pramipexole après une double lésion MDMA/MPTP (n = 5).....	192
<b>Figure 53</b> : Variations du potentiel de liaison du raclopride au cours du protocole pramipexole (n = 6).....	193

<b>Figure 54</b> : Images TEP montrant le marquage du [ <sup>11</sup> C]Raclopride BP <sub>ND</sub> après lésion MDMA (à gauche), après la double lésion (au milieu) puis sous traitement PPX (à droite) (n= 6).....	194
<b>Figure 55</b> : Histogramme montrant la variation du marquage du traceur [ <sup>11</sup> C]SB207145 après lésion MDMA (gris foncé), lésion MDMA/MPTP (gris clair) puis sous traitement PPX (bleu) (n =6).....	195
<b>Figure 56</b> : Effet anti-parkinsonien du pramipexole sur le score moteur (gauche) et sur l'activité spontanée (droite).....	197
<b>Figure 57</b> : Modulation de l'activité en cage 3h après injection de pramipexole.....	199

## Liste des abréviations

5-HT : sérotonine

6-OHDA : 6-hydroxydopamine

ATV : aire tegmentale ventrale

DA : dopamine

ISRS : inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine

MDMA : 3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine

MP : maladie de Parkinson

MPTP : 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine

NST : noyau sous-thalamique

SERT : transporteur de la sérotonine

SN : substance noire (SNc *pars compacta* ; SNr *pars reticulata*)

TEP : tomographie par émissions de positons

# **PREAMBULE**

La maladie de Parkinson idiopathique (MP) est la conséquence de la dégénérescence progressive et irréversible des neurones dopaminergiques de la substance noire. Elle entraîne une altération de la neurotransmission dopaminergique dans les structures de projections tels que les ganglions de la base ou encore le cortex cérébral. Les patients venant consulter dès l'apparition des premiers symptômes moteurs possèdent déjà une perte d'environ 60 % à 80 % de neurones dopaminergiques. Cela sous-entend que la pathologie progresse de façon silencieuse dans les premiers stades de la maladie, mais également qu'il existe des mécanismes de compensation empêchant l'expression des symptômes moteurs durant cette période. Actuellement de nombreuses études s'intéressent à la phase dite pré-symptomatique ou prodromique de la maladie. Ces études tentent de définir si d'autres symptômes (tels que les troubles de l'olfaction ou les troubles du sommeil paradoxal) pourraient prédire l'apparition des symptômes moteurs. Il est aussi important de noter que les patients peuvent présenter une grande variété de symptômes non-moteurs tels que la dépression, l'anxiété, des troubles cognitifs, des douleurs, des hallucinations, etc... . Ces symptômes non-moteurs, qui peuvent apparaître au stade précoce de la maladie ou plus tard, peuvent devenir très handicapants au quotidien, altérant grandement la qualité de vie des patients. L'enjeu médical actuel est de pouvoir répondre au cas par cas pour chaque patient, selon la variété des symptômes moteurs et non-moteurs qui le handicapent.

Les traitements dopaminergiques prescrits suite au diagnostic ont pour but de contrecarrer les symptômes moteurs. Dans les premières années suivant le diagnostic de la maladie, le traitement permet une abolition des symptômes moteurs, cette période est appelée période "lune de miel" ou phase d'équilibre thérapeutique. Cependant, au

bout de quelques années de traitement, les neurodégénérescences progressant, ces traitements ne s'avèrent plus assez efficaces. Les patients entrent dans une phase de complications motrices et non-motrices. L'augmentation des doses de Levodopa ou d'agonistes dopaminergiques, bien que bénéfique, peut engendrer des effets secondaires tels que des dyskinésies (mouvements anormaux involontaires) mais également des troubles non-moteurs tels que des troubles du contrôle des impulsions et des hallucinations. De plus, tous les symptômes moteurs et non-moteurs ne répondent pas à la dopathérapie car ils sont liés à des lésions au sein d'autres systèmes de neurotransmission.

Au fil des années, l'évaluation du système sérotoninergique, par imagerie TEP (tomographie par émission de positons) ou immunohistochimie sur tissus post-mortem, a révélé une atteinte importante (via la modification de l'expression du transporteur (SERT) et des récepteurs sérotoninergiques) chez les patients parkinsoniens, et cela, dès le stade précoce de la maladie. Ces données montrent que l'atteinte sérotoninergique peut participer, au côté de la dégénérescence dopaminergique, à la diversité d'expression des symptômes parkinsoniens. Parmi les modèles animaux de la maladie de Parkinson, aucun modèle ne permet actuellement d'évaluer l'impact de cette atteinte sérotoninergique précoce sur la symptomatologie parkinsonienne.

Mon travail de thèse s'inscrit dans ce contexte de recherche avec pour but d'étudier l'implication causale du système sérotoninergique dans l'expression de troubles neuropsychiatriques mais également dans la symptomatologie parkinsonienne complexe. Ce travail s'appuie sur le développement d'un nouveau modèle animal de la maladie de Parkinson, le singe lésé à la MDMA (ecstasy) puis au MPTP et sur l'utilisation

d'approches méthodologiques complémentaires telles que l'évaluation comportementale, l'imagerie, la pharmacologie et enfin l'immunohistochimie.

Nous aborderons dans un premier temps l'anatomopathologie de la maladie de Parkinson, en insistant sur les différentes dégénérescences, principalement dopaminergique et sérotoninergique puis nous aborderons rapidement les mécanismes impliqués dans ces neurodégénérescences. Nous poursuivrons avec la description de la symptomatologie parkinsonienne tant au niveau moteur que non-moteur, puis par les traitements possibles.

Les atteintes et dysfonctionnements observés dans la maladie de Parkinson touchent un large spectre de système de neurotransmission. C'est pour cela que nous nous attarderons sur les différentes structures impactées et les conséquences des atteintes lésionnelles. Cela nous permettra d'aborder l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base. Bien que la complexité du cerveau nous pousse à prendre en compte la totalité des interactions neuronales possibles, nous nous intéresserons plus particulièrement au système dopaminergique et sérotoninergique et à leur interaction. Cette avant-dernière partie nous permettra de décrire les principaux modèles animaux modélisant la MP.

La deuxième partie de mon manuscrit synthétisera les résultats majeurs obtenus au cours de ma thèse. Le premier article porte sur l'étude de l'impact d'une lésion sérotoninergique précoce, induite par l'administration de MDMA, sur l'expression de symptômes non-moteurs de type neuropsychiatrique et sur l'efficacité d'un traitement sérotoninergique dans ce contexte. Le second article porte sur l'implication causale de l'atteinte du système sérotoninergique par la MDMA dans la symptomatologie motrice chez le singe rendu parkinsonien par intoxication au MPTP. Les derniers résultats

obtenus en fin de thèse portent quant à eux sur l'impact d'un traitement à long terme avec un agoniste dopaminergique sur ces animaux doublement lésés MDMA/MPTP.

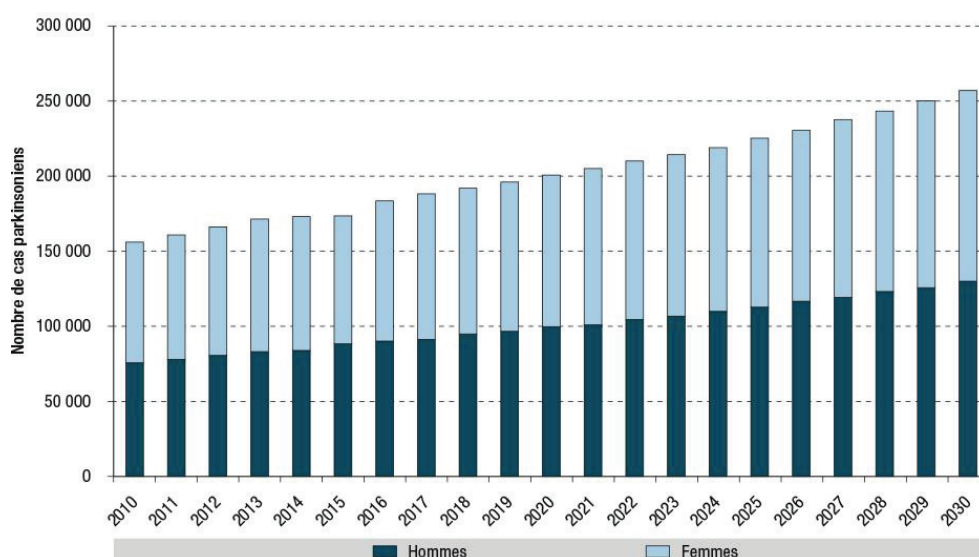
Pour finir, la discussion générale permettra de replacer les avancées majeures de cette thèse dans le contexte actuel de la recherche sur la physiologie de la maladie de Parkinson et de définir quelques perspectives.



# **Contexte bibliographique**

# Chapitre 1 : La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative touchant 6 millions de personnes dans le monde, plus de 200 000 personnes en France et environ 8 000 cas seraient diagnostiqués chaque année (DREES). Ce nombre est en nette augmentation de part le vieillissement de la population et de part le développement d'outils de diagnostics plus précis qui participent également à l'augmentation de la prévalence de cette maladie (Figure 1). C'est la seconde maladie neurodégénérative la plus fréquemment établie après la maladie d'Alzheimer.



**Figure 1 :** Prévisions du nombre de patients pouvant développer la MP en France entre 2010-2030. (Santé publique France 2015)

La MP est le plus souvent diagnostiquée chez des personnes âgées de 60-65 ans avec environ 4 à 5 % d'individus diagnostiqués après 70 ans. Des cas de maladie précoce, avant 50 ans, sont observés chez 10 % des parkinsoniens. La prise en charge des patients, a un coût conséquent pour les familles et la société. L'impact économique

s'élèverait à 13,9 milliards d'euros pour l'année 2010 ce qui n'est pas négligeable. L'enjeu socio-économique ne cesse de grandir, ce qui rend l'étude de la MP particulièrement importante. De plus, la maladie ne s'exprime pas de manière identique selon les patients, elle diffère d'un patient à l'autre rendant encore plus difficile les prises en charge. Cette difficulté peut être limitée grâce à la médecine personnalisée qui prend en compte les facteurs biologiques prédictifs de la progression de la maladie et la réponse aux traitements pour chaque patient. L'enjeu pour la recherche est d'autant plus important que les symptômes et les réponses aux traitements sont différents d'un patient à l'autre. On parle de « maladies de Parkinson ».

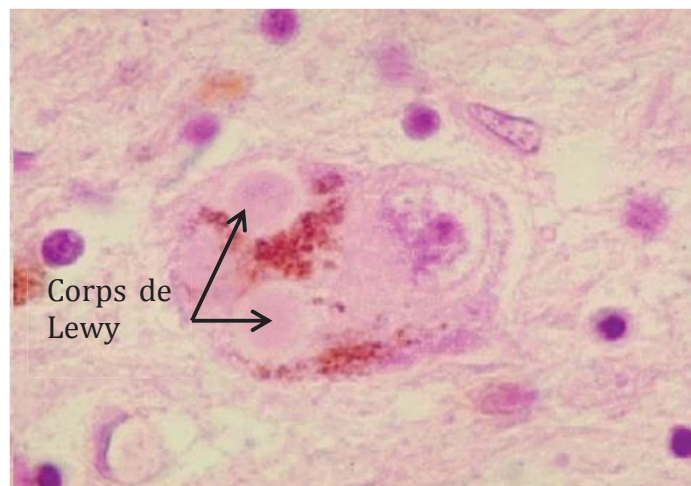
## **I. Description neuropathologique de la maladie de Parkinson**

### **A. Anatomopathologie**

Les symptômes de la MP furent assez rapidement observés, au 16<sup>ième</sup> siècle par Léonard De Vinci qui décrit des troubles moteurs tel que le tremblement. Ces notes étant restées secrètes pendant très longtemps, ses observations n'ont pu être prises en compte par les scientifiques. Trois siècles plus tard, en 1817, la maladie de Parkinson fut détaillée par l'anglais James Parkinson dans un essai court basé sur l'étude de six patients sous le nom de paralysie agitante (« shaking palsy »). Malgré le nombre réduit de patients, il parvint à décrire de façon précise le tremblement et la lenteur des mouvements. L'importance de ces travaux ne sera reconnue qu'en 1872 par le

neurologue Jean-Martin Charcot qui complétera la description de la maladie en y apportant la notion de rigidité et nommera la maladie « maladie de Parkinson ».

Après la description faite par James Parkinson et Jean-Martin Charcot, Friedrich Heinrich Lewy, va approfondir les connaissances de la maladie au niveau moléculaire. C'est en 1912 que ce médecin allemand va décrire pour la première fois des inclusions éosinophiles cytoplasmiques circulaires dans les neurones dopaminergiques du tronc cérébral des patients parkinsoniens. Les corps de Lewy viennent d'être découverts (Figure 2).

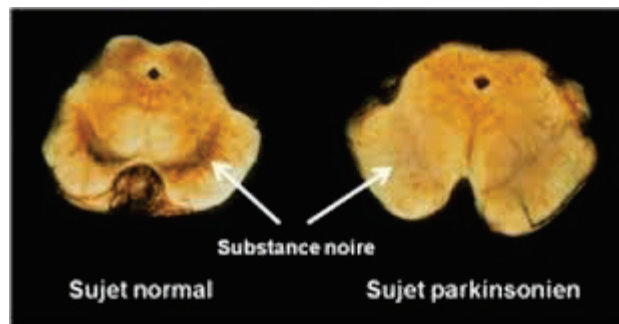


**Figure 2 :** Illustration des corps de Lewy dans les neurones de la substance noire.

Les corps de Lewy résultent d'une agrégation cellulaire composée de protéine  $\alpha$ -synucléine, de neurofilament, de parkine et d'ubiquitine. Très remarquables par leur forme sphérique et entourés d'un halo plus pâle, ces corps de Lewy s'accumulent progressivement dans les neurones, aboutissant à leur dégénérescence.

Quelques années plus tard, en 1919, le neuropathologiste russe Konstantin Tretiakoff décrit au niveau macroscopique une atteinte des neurones

mésenchymateux du locus niger, plus précisément au sein de la substance noire *pars compacta* (SNc). Il compara des coupes du mésencéphale mettant en évidence chez les sujets sains la coloration des neurones de la substance noire, conséquence de la présence de neuromélanine, et une absence de coloration chez les patients parkinsoniens, résultat de la mort neuronale (Figure 3).



**Figure 3 :** Coloration des neurones de la substance noire qui disparaît chez le sujet parkinsonien.

C'est en 1960, grâce aux travaux d'Oleh Hornykiewicz, que l'on découvre la nature dopaminergique de ces neurones. Il montre également que cette dopamine est déficitaire dans le striatum des sujets parkinsoniens.

Aujourd'hui des techniques *in vivo* nous permettent de mieux caractériser l'anatomopathologie de la MP, grâce à l'utilisation de l'IRM (imagerie par résonance magnétique), de la TEP (Tomographie par Emission de Positons) ou encore du SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) (Figure 4).

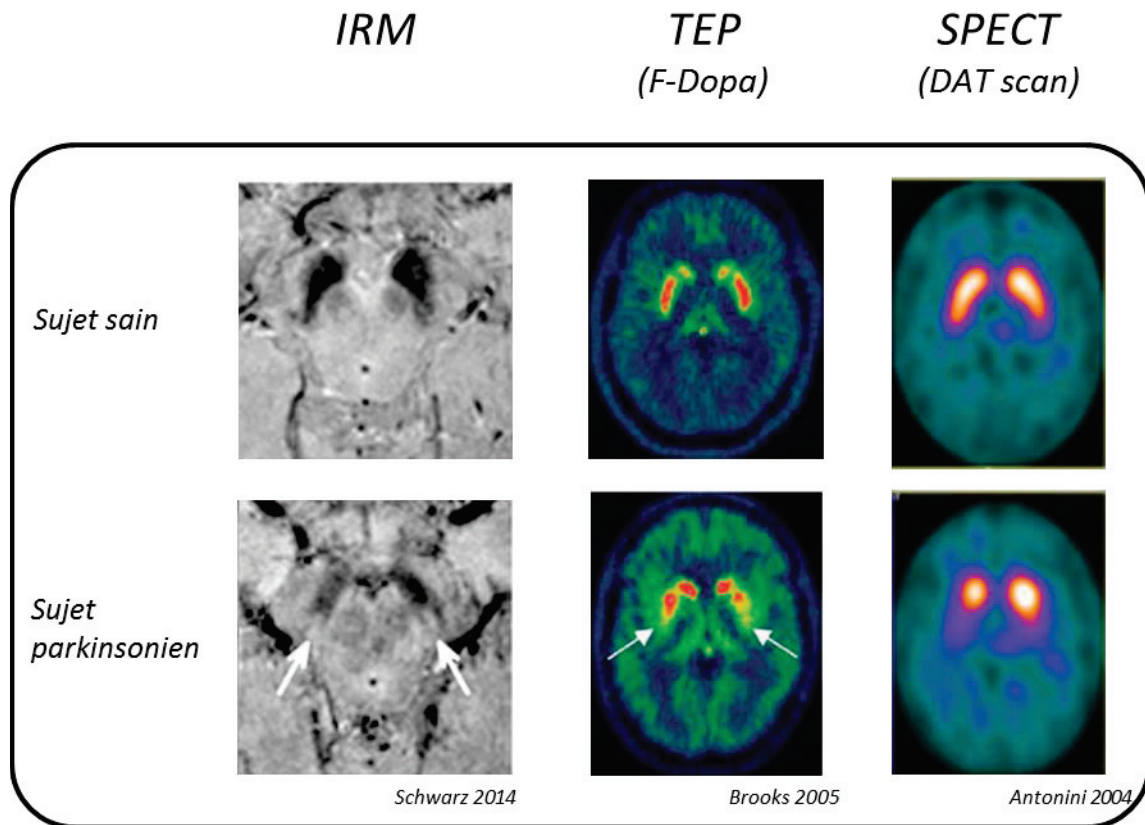
L'IRM permet une étude anatomique des tissus mous, des articulations et du cerveau entre autres. L'avantage de cette technique, permettant d'obtenir une image très précise (surtout les résolutions à 3 Tesla et plus) des organes internes, est qu'elle

est non invasive. Au niveau cérébral, elle permet d'observer des anomalies vasculaires, des tumeurs et des lésions. Cependant, elle ne rend pas compte de processus biologiques et métaboliques.

La TEP est une technique d'imagerie impliquant l'injection de traceur radioactif émetteur de positons. Le type de traceur sera choisi en fonction de sa capacité à se fixer sur la cible étudiée. Dans la figure 4, le traceur F-Dopa (analogue du précurseur de la dopamine) utilisé, rend compte de l'activité fonctionnelle des neurones dopaminergiques. La résolution spatiale n'est pas aussi précise que l'IRM et bien qu'un agent radioactif soit injecté, cette technique permet une évaluation de l'activité métabolique de nombreuses cibles due au développement des nombreux traceurs. Son utilisation est très importante dans l'évaluation de pathologie, particulièrement dans le cas de dégénérescence progressive comme la MP.

Enfin, la SPECT est aussi basée sur l'injection d'un traceur radioactif permettant de caractériser le métabolisme spécifique dans l'organisme. A l'inverse de la TEP, le traceur sera émetteur d'un seul photon. Un marquage fort traduira une forte activité métabolique. Le DAT scan, présenté dans la figure 4, est un examen qui permet de suivre la densité du transporteur dopaminergique (DAT).

Dans la figure 4, que ce soit par la TEP ou la SPECT, on note que le marquage au niveau du striatum est beaucoup plus faible chez le patient parkinsonien en comparaison du sujet sain. Cela reflète un hypo-métabolisme dopaminergique (réduction du précurseur et du transporteur dopaminergique) dans ces structures.



**Figure 4 :** Différentes techniques d'imagerie utilisées pour caractériser la maladie de Parkinson.

IRM : altération structurelle au niveau de la substance noire. TEP : réduction de la fixation du traceur chez le patient parkinsonien du DAT. SPECT : réduction de l'activité métabolique du transporteur de la dopamine au sein du striatum.

Ces examens restent néanmoins des indications et ne sont pas suffisants pour établir un diagnostic clinique. C'est l'analyse post-mortem qui permet un diagnostic sûr de la maladie de Parkinson.

## B. Dégénérescence dopaminergique

### 1. Description de l'atteinte dopaminergique

A l'état physiologique, le système dopaminergique possède des projections cérébrales très diffuses en provenance de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et la substance noire (SN) (Figure 5). Elles peuvent se séparer en trois grandes voies selon les structures cibles :

- la voie méso-limbique, qui représente les projections de l'ATV vers le noyau accumbens, l'amygdale ou encore l'hippocampe.

- Les projections de la voie nigro-striée prennent leur origine dans la SN *pars compacta* et projettent majoritairement dans le noyau caudé et le putamen.

- La voie méso-corticale représente les projections entre l'ATV et le cortex pré-frontal ventral.

- Enfin, la voie tubéro-infundibulaire ayant pour origine l'hypothalamus, est responsable de la libération de dopamine au sein de l'éminence médiane. Dans ce cas précis, la dopamine jouerait un rôle de neuro-hormone.

Les terminaisons axonales de ces projections expriment différents types de récepteurs dopaminergiques qui sont au nombre de cinq, D<sub>1</sub> à D<sub>5</sub>. Les récepteurs D<sub>1</sub> et D<sub>5</sub> font partis de la famille des récepteurs de type D<sub>1</sub> et ont un effet cellulaire excitateur de part leur association avec une protéine Gs. Ces récepteurs de type D<sub>1</sub>, se localisent principalement dans le striatum (noyau caudé, putamen et striatum ventral), la SN *pars reticulata*, l'amygdale, le cortex frontal et le bulbe olfactif. A l'inverse, les récepteurs D<sub>2/3/4</sub>, composant la famille de type D<sub>2</sub>, sont couplés à la protéine Gi ce qui confèrent à ces récepteurs un effet cellulaire inhibiteur. Ces récepteurs de type D<sub>2</sub> également

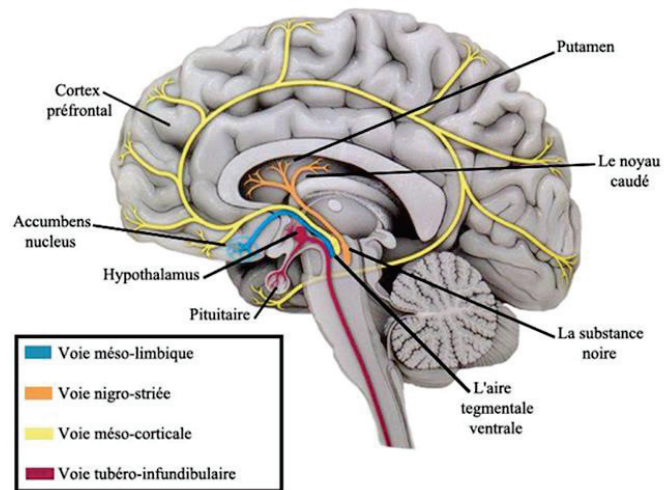
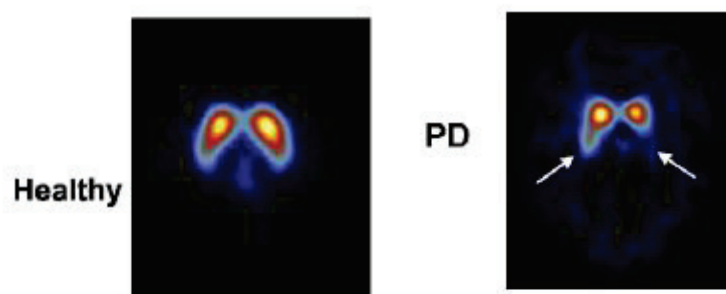


Figure 5 : Illustration des projections dopaminergiques cérébrales (Science magazine).



présents dans le striatum sont aussi localisés dans le globus pallidus, l'amygdale, l'hippocampe et l'hypothalamus entre autres.

Dans la maladie de Parkinson, la neurodégénérescence dopaminergique du mésencéphale est principalement observée dans la substance noire *pars compacta* (région caudale et ventro-latérale). Cette altération va engendrer une réduction des efférences dopaminergiques dans les nombreuses structures cibles, que ce soit au niveau cortical ou sous-cortical, particulièrement au niveau du striatum, cible majeure de l'innervation dopaminergique. Des études post-mortem et d'imagerie montrent que ce déclin dopaminergique se produirait selon un gradient postéro-antérieur avec une asymétrie entre les deux hémisphères (Brooks et Pavese 2011; Ehringer et Hornykiewicz 1998; Kish, Shannak, et Hornykiewicz 1988) (Figure 6).

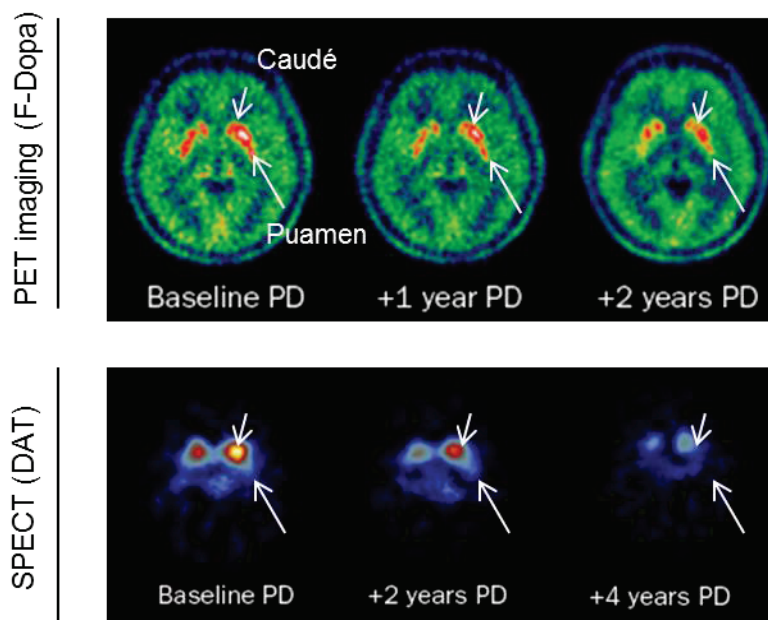


**Figure 6 :** Images SPECT (DAT) montrant une réduction selon un gradient postéro-antérieur et une asymétrie hémisphérique au niveau du striatum chez un patient parkinsonien (Brooks and Pavese, 2011).

Cette dégénérescence serait plus importante dans la substance noire du côté controlatéral de l'hémicorps exprimant les premiers symptômes moteurs (Kempster, Gibb, Stern, & Lees, 1989). On constate également grâce à l'imagerie clinique (TEP et SPECT) que cette lésion est généralement variable entre les structures (Brooks et Pavese 2011; Politis 2014).

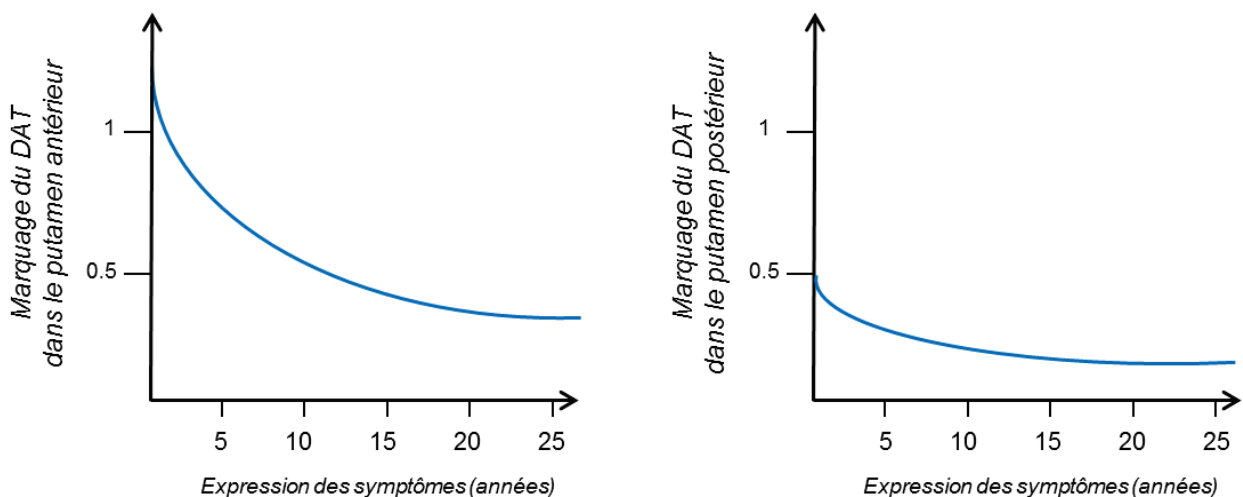
Cette hétérogénéité est particulièrement visible au sein du striatum où l'on observe une hypodopaminergie de 98 % dans le putamen et de 80 % dans le caudé (Kish, Tong, et al., 2008).

Au-delà des lésions striatales, les patients présentent une réduction de l'activité dopaminergique au niveau du locus cœruleus et de l'hypothalamus évoluant au cours de la maladie (Nicola Pavese, Rivero-Bosch, Lewis, Whone, & Brooks, 2011), mais également au niveau des autres structures des ganglions de la base, notamment le noyau sous-thalamique (François et al., 2000). Enfin, les cortex moteur, pré-moteur et pré-frontal (Patricia Gaspar, Duyckaerts, Alvarez, Javoy-Agid, & Berger, 1991) ainsi que l'hippocampe et le cortex cingulaire (Scatton, Javoy-Agid, Rouquier, Dubois, & Agid, 1983) sont également touchés par cette atteinte dopaminergique. Cependant, il semblerait que la voie nigrostriée soit plus impactée dans les stades précoces que la voie mésolimbique (Caminiti et al., 2017).



**Figure 7 :** Illustration de l'évolution des lésions striatales dopaminergiques par TEP et SPECT (adaptée de Politis et al., 2014).

Il est intéressant d'observer que plus la maladie évolue, plus la progression de cette hypodopaminergie ralentit, que l'asymétrie diminue mais que le gradient postéro-antérieur est maintenu (Nandhagopal et al., 2009; Marios Politis, 2014) (Figure 7). D'autres études d'imagerie s'intéressent en détail à la progression de cette neurodégénérescence qui semblerait être non linéaire (Kuramoto et al., 2013; Nandhagopal et al., 2009) mais également différente selon l'hémicorps le plus atteint (Brück et al. 2009) (Figure 8). Par exemple, le putamen présenterait une hypodopaminergie rapide dans les stades précoces de la MP, et ralentie dans les stades avancés.



**Figure 8 :** Evolution du marquage des transporteurs dopaminergiques au cours de la MP en TEP (adaptée de Kuramoto., 2013).

Lorsque la maladie est diagnostiquée, cette perte neuronale dopaminergique serait d'environ 60-70 % (Bezard et al., 2001; Ehringer & Hornykiewicz, 1998; Scherman et al., 1989). Cela sous-entend que la dégénérescence progresse sans atteindre le seuil expression de la triade caractéristique classique, tremblement, rigidité et akinésie. Durant cette phase dite asymptomatique, il existe des mécanismes de

compensation pour contrebalancer ce déficit neuronal (Bezard et Gross 1998; Blesa et al. 2017; Hornykiewicz 1966). Les neurones dopaminergiques ont des propriétés intrinsèques permettant d'adapter la synthèse et la libération de la dopamine. Cela peut se faire par une libération de dopamine au niveau somato-dendritique, une modification de l'action des autorécepteurs pré-synaptiques, une modification de la sensibilité des récepteurs post-synaptiques à court terme ou une modification du nombre de ces récepteurs à long terme. En plus de ces mécanismes, des neurones de nature acétylcholinergique, sérotoninergique et glutamatergique pourraient libérer de la dopamine (Bezard & Gross, 1998). De plus, des études sur un modèle animal de la MP ont mis en avant la possibilité d'un « sprouting » des fibres striatales dopaminergiques (Bezard & Gross, 1998; D. D. Song & Haber, 2000). Ce sprouting correspond à la réorganisation des afférences par bourgeonnement axonal des fibres restantes qui pourront faire office de synapse. Cependant, ces mécanismes de compensation diminueraient au cours du temps, ce qui est cohérent avec le fait que plus la maladie évolue, plus les ressources pour la compensation sont réduites.

## **2. Lien anatomo-fonctionnel avec les symptômes**

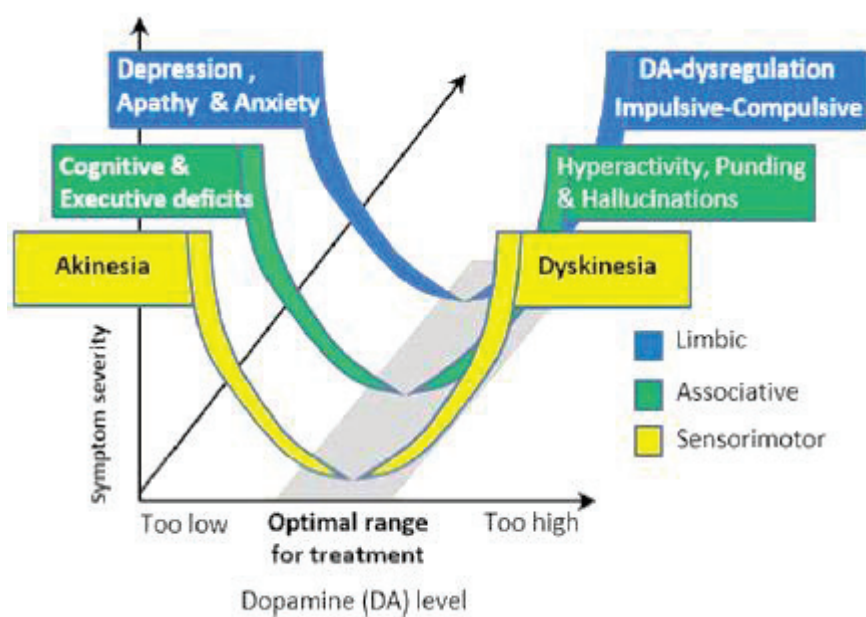
L'altération de la fonction dopaminergique est mise en lien avec l'expression de symptômes moteurs. On voit alors que la sévérité de la rigidité et de la bradykinésie est corrélée avec une réduction des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> au sein du striatum (N. Pavese et al., 2006). Pour d'autres symptômes moteurs tel que le tremblement, les mécanismes mis en cause sont encore mal compris et controversés dans la littérature. Bien que des études mettent en lien le déficit dopaminergique du circuit cérébello-thalamo-cortical avec l'expression des tremblements (Dirkx et al., 2017), d'autres études mettent en cause le système sérotoninergique (Doder, Rabiner, Turjanski, Lees, & Brooks, 2003;

Huot & Fox, 2013; Marios Politis & Niccolini, 2015). De plus, l'ensemble de ces études faites chez l'homme sont des études corrélatives réalisées à un instant t de la maladie. Enfin, l'efficacité de traitement dopaminergique sur le tremblement reste mineure voire absente.

Egalement, ce déficit dopaminergique pourrait être mis en cause dans l'expression de symptômes non-moteurs. Il semblerait que les symptômes dépressifs soient associés à une perte dopaminergique au sein du noyau caudé (Vriend et al., 2014) et que l'anxiété soit corrélée à l'altération dopaminergique du striatum et également de la voie mésolimbique impliquant le thalamus, le cortex cingulaire antérieur, l'amygdale et le striatum ventral (Picillo et al., 2017; Remy, Doder, Lees, Turjanski, & Brooks, 2005; Vriend et al., 2016). Une étude menée par Barone et collaborateurs, montre l'efficacité d'un agoniste dopaminergique (le pramipexole) à contrecarrer les symptômes dépressifs chez les patients, renforçant l'idée d'un lien entre la dopamine et la dépression (P. Barone, 2011). Bien que les mécanismes sous-tendant l'apathie restent encore mal compris, certains éléments seraient en faveur d'une altération de la neurotransmission dopaminergique dans les structures limbiques recevant d'importantes projections dopaminergiques tels que le striatum ventral, l'amygdale ou le cortex préfrontal (Remy et al., 2005; Rodriguez-Oroz et al., 2009a; Thobois et al., 2010). L'impulsivité quant à elle serait liée à une déplétion dopaminergique du circuit mésolimbique, incluant le cortex orbitofrontal, le cortex cingulaire antérieur, l'amygdale ou encore l'hippocampe (Antonelli et Strafella 2014) et a une augmentation de la libération dopaminergique au sein du striatum ventral (Steeves et al., 2009).

Les conséquences de cette lésion dopaminergique se traduisent soit par une hypodopaminergie qui sera plutôt associée à des déficits de type dépression, troubles

exécutifs ou encore akinésie, soit par une hyperdopaminergie, liée à la dopathérapie, associée cette fois à des complications non-motrices tels que des psychoses, des hallucinations ou encore des troubles du contrôle des impulsions (Weintraub, David, Evans, Grant, & Stacy, 2015) ou des complications motrices telles que les dyskinésies (Figure 9). De façon intéressante, les traitements dopaminergiques permettent une réduction des troubles hypodopaminergiques au dépend de l'apparition des troubles hyperdopaminergiques. Ces deux aspects sont souvent vus comme les deux faces d'une même pièce ne dépendant que de la transmission dopaminergique (Leroi et al., 2012; María Sierra, 2015).

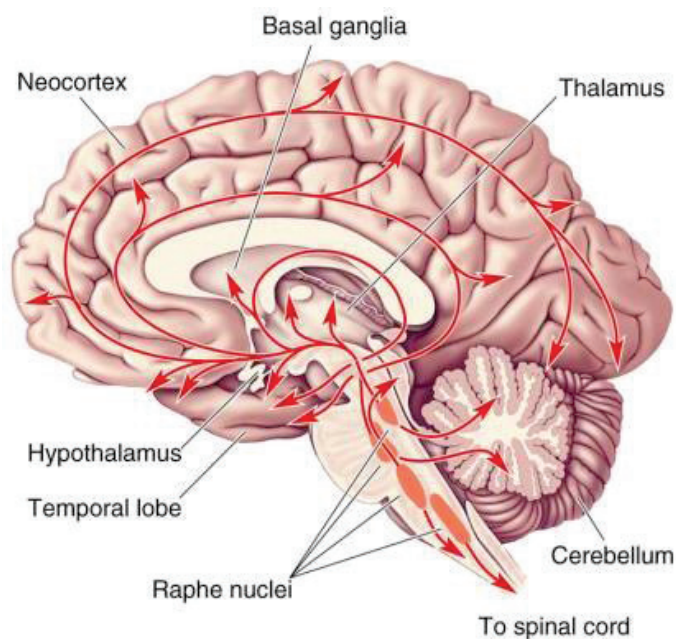


**Figure 9 :** Schématisation des symptômes associés à une hypodopaminergie ou à une hyperdopaminergie (Tremblay et al., 2015).

## C. Dégénérescence sérotoninergique

### 1. Description de l'atteinte sérotoninergique

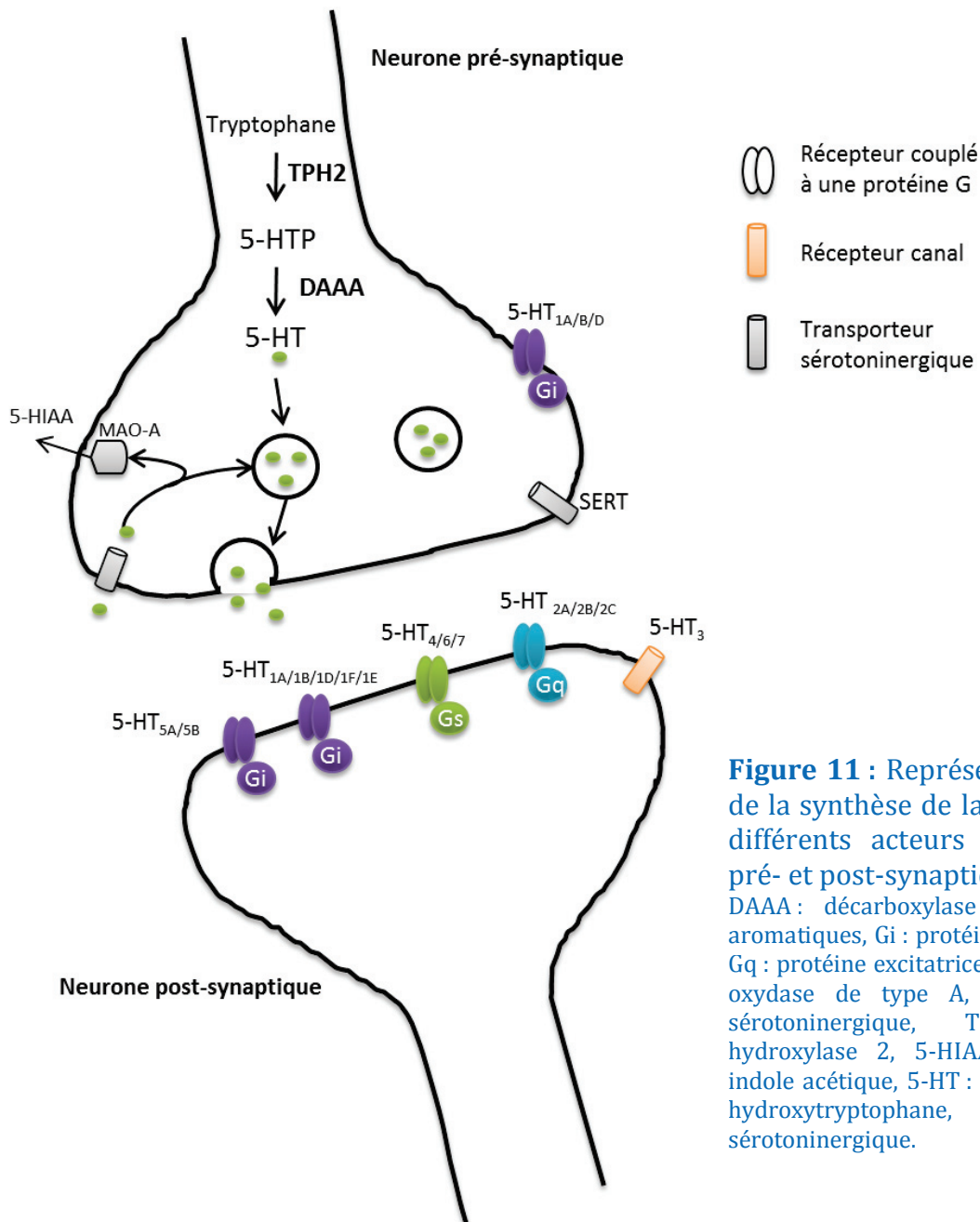
Au vu de l'altération du système dopaminergique, rapidement, l'intégrité des autres systèmes monoaminergiques a été évaluée. La sérotonine a vite attiré l'attention de part sa projection massive issue du noyau raphé dorsal sur les ganglions de la base, régions sous-corticales dont le dysfonctionnement est associé à la MP.



**Figure 10** : Projection massive du système sérotoninergique ayant pour origine les noyaux du raphé.

Dans les années 1990, il a été mis en évidence une perte des neurones sérotoninergiques chez les patients parkinsoniens au sein du noyau raphé dorsal (Paulus & Jellinger, 1991). Depuis, de nombreuses études post-mortem et d'imagerie ont permis de mettre à jour une réduction globale des marqueurs sérotoninergiques. Le système sérotoninergique, très diffus (Figure 10), est composé de nombreux biomarqueurs tels que des récepteurs (14 types), un transporteur (SERT) ou encore une enzyme de synthèse de la sérotonine, la tryptophane hydroxylase 2 (TPH2)

(Di Matteo et al. 2008; Saulin, Savli, et Lanzenberger 2012). Ces marqueurs essentiels dans ce travail méritent un petit rappel physiologique (Figure 11).



**Figure 11 :** Représentation de la voie de la synthèse de la sérotonine et des différents acteurs sérotoninergiques pré- et post-synaptique.

DAAA : décarboxylase des acides aminés aromatiques, Gi : protéine G inhibitrice, Gs et Gq : protéine excitatrice, MAO-A : monoamine oxydase de type A, SERT : transporteur sérotoninergique, TPH2 : tryptophane hydroxylase 2, 5-HIAA : acide 5-hydroxy-indole acétique, 5-HT : sérotonine, 5-HTP : 5-hydroxytryptophane, 5-HT<sub>N</sub> : récepteur sérotoninergique.

La synthèse de la sérotonine va débuter par la transformation du tryptophane en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'action de la tryptophane hydroxylase 2 (TPH2). L'action de la décarboxylase des acides aminés aromatiques (DAAA) transforme le



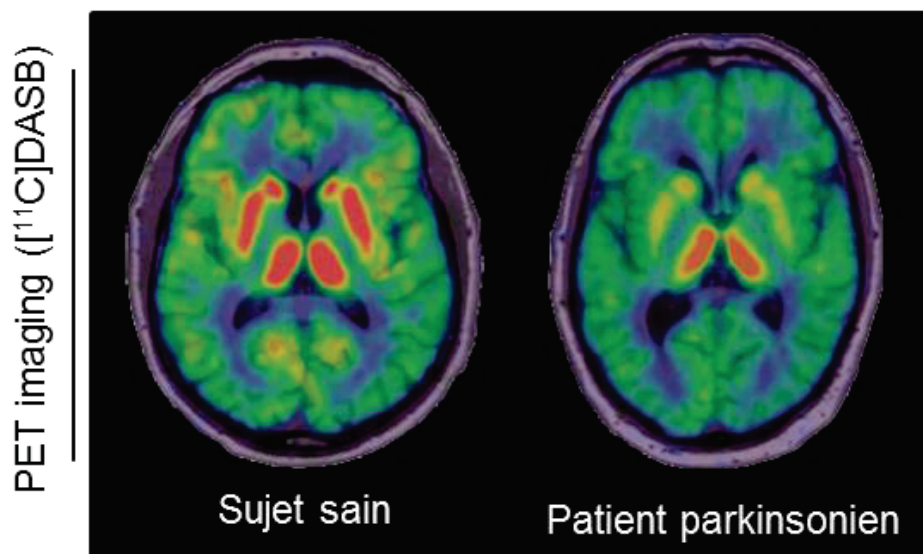
5-HTP en sérotonine (5-HT). Cette dernière sera alors stockée dans des vésicules et pourra être libérée dans la fente synaptique. La sérotonine pourra alors se fixer sur les récepteurs pré- et post-synaptiques conduisant à des activités neuronales excitatrices ou inhibitrices selon la nature du récepteur. Elle sera également recapturée par le transporteur (SERT) pour être de nouveau stockée dans les vésicules ou dégradée en 5-hydroxy-indole acétique (5-HIAA) par la monoamine oxydase de type A (MAO-A).

La majorité des récepteurs post-synaptiques sont liés à des protéines G, inhibitrices (Gi), stimulatrices (Gs) de l'adénylate cyclase ou stimulatrices de la phospholipase C (Gq). Seul le récepteur 5-HT<sub>3</sub>, est un récepteur ionotropique. L'activation de ces récepteurs va moduler de différentes manières la transmission synaptique. De plus, le transporteur est un acteur sérotoninergique essentiel car il est la cible majeure des anti-dépresseurs.

Des études post-mortem marquant le SERT, réalisées chez les patients parkinsoniens, ont montré une perte des neurones sérotoninergiques d'environ 56 % dans le noyau caudé et 30 % dans le putamen, soit le gradient inverse de la dopamine (Kish et al. 2008) et également au sein de l'hypothalamus et du cortex frontal (Scatton et al., 1983).

A l'inverse de la lésion dopaminergique, la lésion sérotoninergique ne semble pas être altérée de façon asymétrique entre les hémisphères (Kerenyi et al., 2003) et se déroulerait selon un gradient antéro-postérieur (du noyau caudé vers le putamen) (Kish, Tong, et al., 2008). Cependant, à l'instar de la lésion dopaminergique, la lésion sérotoninergique ne semble pas progresser de façon linéaire (Marios Politis & Niccolini, 2015).

L'imagerie est une technique essentielle pour pouvoir suivre de façon longitudinale les atteintes neuronales. Ainsi, on constate une altération sérotoninergique, via la réduction du marquage du SERT (Figure 12), dans le caudé, le thalamus, l'hypothalamus et le cortex cingulaire antérieur dans les premiers stades de la maladie. La lésion affecterait dans des stades plus avancés le putamen, l'insula, le cortex cingulaire postérieur et le cortex préfrontal (Pagano & Politis, 2018; Politis & Niccolini, 2015; Politis et al., 2010). De façon très intéressante, l'atteinte du système sérotoninergique dans certaines structures (tels que le raphé, le thalamus et le striatum) serait corrélée avec la durée de la maladie et donc avec la perte progressive des neurones sérotoninergiques (Pagano, Niccolini, Fusar-Poli, & Politis, 2017).



**Figure 12 :** Imagerie TEP montrant le marquage du transporteur de la sérotonine au niveau du striatum chez un sujet sain (gauche) et un patient parkinsonien (droite) (Politis and Niccolini, 2015).

De nombreuses études menées chez l'homme mais aussi chez l'animal (primate non humain et rongeur) ont montré que l'altération sérotoninergique se caractérisait également à travers une altération du marquage des récepteurs (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>3</sub>,

5-HT<sub>4</sub>...) et de la tryptophane hydroxylase 2 (Huot, Fox, et Brotchie 2011; Leal et al. 2019).

Nous avons vu précédemment que des mécanismes de compensation dopaminergiques pouvaient se mettre en place pour contrecarrer le déficit de ce même neurotransmetteur. Des études menées chez le singe suggèrent que des mécanismes compensatoires pourraient également être de nature sérotoninergique (Boulet et al., 2008; P. Gaspar, Febvret, & Colombo, 1993; Mounayar et al., 2007).

## **2. Lien anatomo-fonctionnel avec les symptômes**

Cette atteinte sérotoninergique présente au sein du striatum et du cortex cingulaire antérieur, chez des patients *de novo*, est corrélée à la sévérité de troubles neuropsychiatriques telles que la dépression, l'apathie et l'anxiété (Maillet et al., 2016). Une étude d'imagerie TEP ne fait pas état de cette réduction striatale du SERT chez des patients parkinsoniens dépressifs *de novo* comparés à des sujets contrôles (Strecker et al., 2011). Il est envisageable que cette opposition de résultats soit en partie due aux critères d'inclusions et d'exclusions des patients qui sont différents, et également la sélection mixte des patients sans ou avec médication dopaminergique. Comme nous le verrons par la suite les interactions entre la dopamine et la sérotonine ne sont pas à négliger.

Joling et collaborateurs ont mené une étude sur une cohorte de 127 patients parkinsoniens dans les stades plus avancés de la MP. Ils ont mis en évidence via l'utilisation de la SPECT, une association négative significative entre un niveau élevé d'anxiété et la réduction du marquage sérotoninergique au sein du thalamus (Joling et al. 2018). Egalement, la réduction du transporteur sérotoninergique, étudiée

en TEP, serait plus importante dans le raphé, les ganglions de la base et l'hypothalamus chez des patients souffrant de troubles du sommeil (Marios Politis & Niccolini, 2015; Wilson, Giordano, Turkheimer, Chaudhuri, & Politis, 2018). Alors que les patients souffrant de fatigue présenteraient une dysfonction sérotoninergique plus importante au sein du circuit limbique (Nicola Pavese, Metta, Bose, Chaudhuri, & Brooks, 2010).

Enfin, une étude post-mortem met en évidence que les patients dépressifs présentent une réduction des neurones sérotoninergiques plus importante dans le noyau du raphé (Paulus & Jellinger, 1991).

La modification d'expression des récepteurs va aussi être associée à des troubles développés chez les patients. On voit alors qu'une augmentation des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> dans le cortex temporal est en lien avec des hallucinations visuelles induites par dopathérapie (Ballanger et al. 2010; Huot et al. 2010). Une réduction des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> est plus importante dans les cortex temporal, orbitofrontal et l'amygdale chez les patients parkinsoniens dépressifs (Ballanger et al., 2012).

La sérotonine est souvent associée aux troubles neuropsychiatriques que nous venons de voir. Mais une partie de la littérature s'est aussi intéressée au lien qu'il existait entre le déficit de ce neurotransmetteur et l'expression voire la sévérité de troubles moteurs tels que les tremblements et les dyskinésies. Chez les patients *de novo*, des études d'imagerie révèlent que la réduction thalamique du SERT, est plus importante chez des patients ayant des tremblements modérés voire sévères par rapport à des patients sans tremblements (Caretta et al., 2008) et serait corrélée à la sévérité du tremblement (Qamhawi et al., 2015).

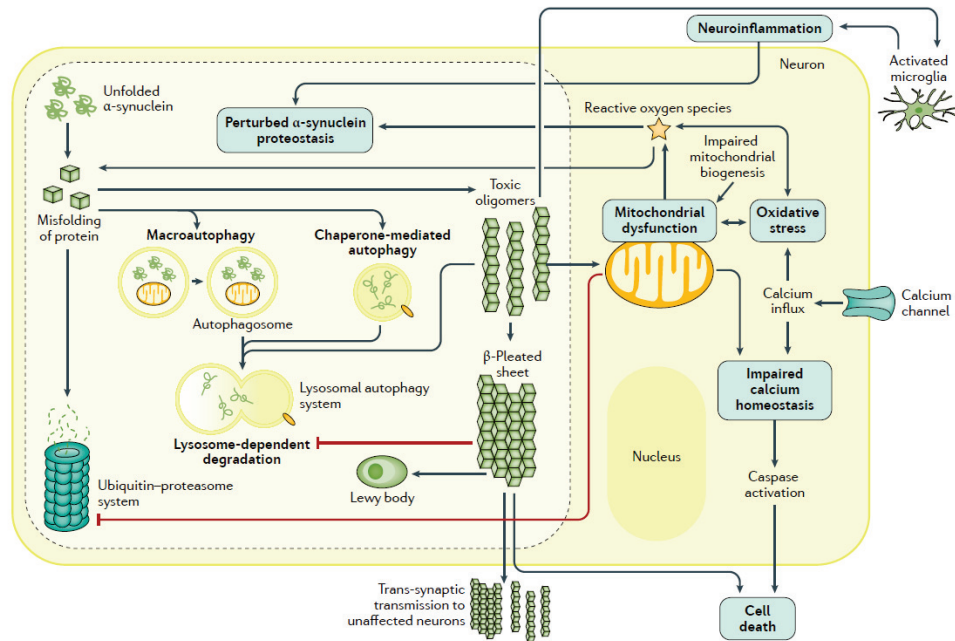
Pour des patients parkinsoniens plus avancés dans la maladie, il semblerait qu'il existe une corrélation entre la réduction du SERT (dans le noyau caudé, le putamen et le noyau du raphé) et la sévérité du tremblement de posture et d'action mais pas du tremblement de repos (Loane et al. 2013). Il semblerait donc que la physiopathologie soit différente selon le type de tremblement développé par les patients. Doder et collaborateurs montrent chez ces patients une corrélation entre la disponibilité des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans le noyau du raphé et la sévérité du tremblement (Doder et al., 2003).

Des travaux récents démontrent une corrélation entre la sévérité du tremblement de repos et le ratio sérotonine (dans le raphé) et dopamine (dans le putamen) (Pasquini et al., 2018). Cependant, la réponse à une médication dopaminergique ne serait pas très claire, ce qui irait dans le sens de l'hypothèse d'une origine sérotoninergique de ce symptôme.

De plus, de nombreuses études pré-cliniques et cliniques impliquent le système sérotoninergique dans l'expression des dyskinésies (Beaudoin-Gobert et al., 2018; Huot & Fox, 2013; Sgambato & Tremblay, 2018).

#### **D. Mécanismes de dégénérescence**

Bien que l'origine exacte de la neurodégénérescence ne soit pas encore totalement établie, de nombreux indices tendent à suggérer un mécanisme d'apoptose (Mattson, 2000; Mattson, Pedersen, Duan, Culmsee, & Camandola, 1999). Nous allons observer que plusieurs phénomènes peuvent être à l'origine de cette apoptose (Figure 13).



**Figure 13:** Mécanismes moléculaires impliqués dans la dégénérescence neuronale dans la maladie de Parkinson (Poewe et al., 2017).

Le stress oxydatif est un mécanisme qui semble jouer un rôle crucial (Jenner, Dexter, Sian, Schapira, & Marsden, 1992). En effet, il est la conséquence d'une accumulation massive de radicaux libres pouvant résulter d'un dysfonctionnement métabolique ou mitochondrial. Le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale, va induire une production de radicaux libres puis une perte de l'homéostasie calcique entraînant un stress oxydatif. Des études post-mortem exposent une réduction de l'activité du complexe I de la chaîne respiratoire chez certains patients (Schapira et al. 1990; Schapira et Gegg 2011).

D'autres études post-mortem chez les patients ainsi que sur des modèles animaux modélisant la MP, montrent des dysfonctionnements des phénomènes d'autophagie traduits par une augmentation des autophagosomes et une réduction des lysosomes dans les neurones dopaminergiques de la substance noire. Il semblerait que la réduction lysosomale soit la cause de l'accumulation d'autophagosomes et également

de la dysfonction du mécanisme de nettoyage lysosome-autophagosome. De nouveau ce dysfonctionnement va occasionner un stress oxydatif conduisant à la mort cellulaire (Dehay et al., 2010). De plus, une forme mutante d'une enzyme lysosomale, la cathepsine D, conduirait à l'agrégation d' $\alpha$ -synucléine (Crabtree et al., 2014).

Depuis les années 1990, l'excès de fer observé dans la substance noire des patients parkinsoniens (Dexter et al., 1991; Hirsch, Brandel, Galle, Javoy-Agid, & Agid, 1991) a permis dans les années suivantes de définir le phénomène de ferroptose. Des études *ex vivo* et *in vivo* chez un modèle animal de la MP ont détaillé le mécanisme de mort cellulaire dépendante du fer (Do Van et al., 2016; Guiney, Adlard, Bush, Finkelstein, & Ayton, 2017). En effet, le fer induirait la production de radicaux hydroxyles et l'oxydation de la dopamine, ce qui contribuerait à un environnement oxydatif favorisant la perte neuronale (pour revue (Guiney et al., 2017)). A noter qu'il existerait aussi un lien entre la ferroptose et l'autophagie. Cette dernière serait un médiateur de l'accumulation de fer (Hou et al., 2016). Enfin, des études *in vitro* ont montré que l' $\alpha$ -synucléine avait une grande affinité avec le fer ce qui accélérerait l'agrégation d' $\alpha$ -synucléine (Guiney et al., 2017). Cette agrégation serait réduite à l'aide de chélateur de fer (aspect que nous développerons dans la partie Traitement).

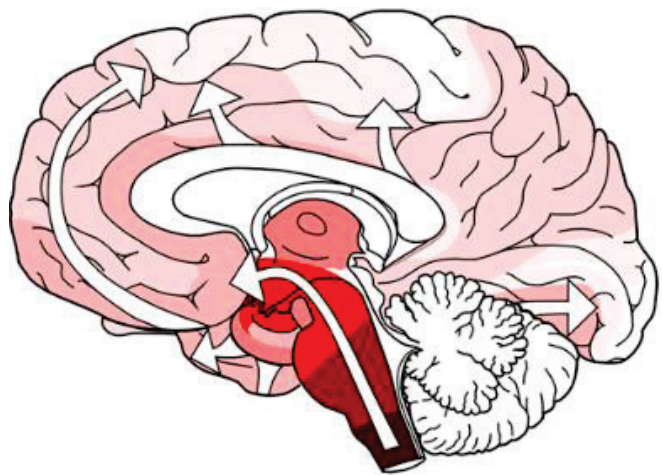
De plus, le dysfonctionnement d'autres éléments serait en faveur de cette mort neuronale. Les réactions de méthylation seraient des processus qui varieraient au cours de la progression de la maladie. Une étude longitudinale très récente suggère une méthylation de l'ADN dynamique et variable selon les thérapies médicamenteuses (Henderson-Smith et al., 2019). Un excès des réactions de méthylation étudiées chez les rongeurs serait lié à une déplétion de la tyrosine hydroxylase et la dégénérescence au sein de la substance noire (Charlton & Mack, 1994).

Tous ces mécanismes complexes ne semblent pas être indépendants les uns des autres, parfois associés ou en cascade, il semblerait que plusieurs phénomènes puissent être responsables des dégénérescences dopaminergique et sérotoninergique (Grosch, Winkler, & Kohl, 2016; Phillipson, 2017; Werner Poewe et al., 2017).

## E. Hypothèse de Braak

Nous avons détaillé les lésions des systèmes dopaminergique et sérotoninergique, cependant, il a été mis en évidence chez les patients une atteinte des systèmes noradrénergique (Patricia Gaspar et al., 1991) et cholinergique ( revue Perez-Lloret & Barrantes, 2016).

D'importantes questions subsistent. Quels sont les systèmes touchés en premier et comment les lésions évoluent-elles au cours la maladie ? Des équipes de recherche s'intéressant à ces questions vont développer une hypothèse. Basée sur des analyses post-mortem des corps de Lewy et les neurites de Lewy chez des patients parkinsoniens, Braak et son équipe suggèrent que ces inclusions des corps de Lewy se font dans des sites spécifiques avec une évolution topographique prédictible. Cette



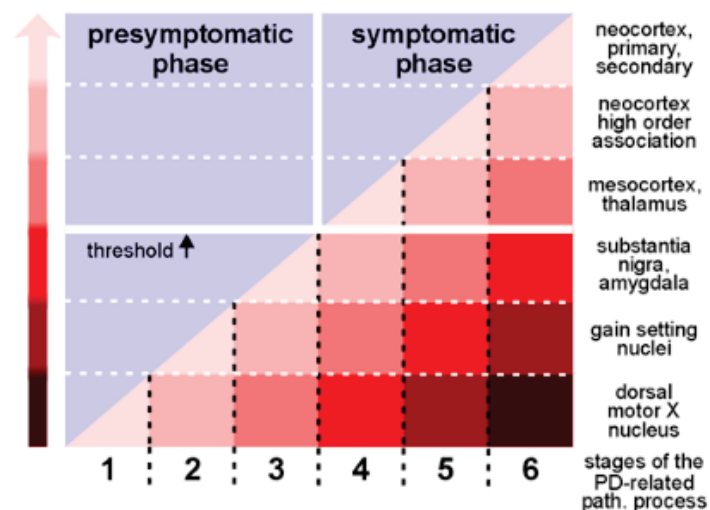
**Figure 14 :** Progression de la neurodégénérescence ascendante (Braak, 2003).

dégénérescence se déroulerait de manière ascendante (Figure 14). Composée de six phases, elle débiterait par l'atteinte du bulbe olfactif et du noyau dorsal du nerf vague puis dans le locus coeruleus, le raphé, la substance noire et le noyau de Meynert, pour



atteindre tout le cortex par la suite. Ainsi, les systèmes noradrénergique, sérotoninergique, dopaminergique et cholinergique seraient altérés dans un ordre défini.

Cette hypothèse de lésion ascendante de Braak correspond particulièrement bien aux symptômes moteurs et non-moteurs développés par les patients mais met également en exergue la possibilité d'expression de symptômes non-moteurs lors de la phase pré-symptomatique (trouble de l'olfaction ou dépression par exemple) en amont des symptômes moteurs de la phase dite symptomatique motrice (Figure 15) (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke, & Del Tredici, 2004).



**Figure 15** : Les six étapes de la maladie de Parkinson selon Braak (Braak et al., 2004).

Cependant, des études d'imagerie et de mécanismes métaboliques montrent par exemple une dysfonction corticale plus précoce que ce que prédit Braak ou encore une préservation fonctionnelle du locus coeruleus même dans des stades très avancés de la MP (Brooks, 2010). Se pose alors la question des différences individuelles et de la

propagation de la pathologie. Braak expliquerait cette progression par la vulnérabilité de certains types de neurones à développer des corps de Lewy. Les projections neuronales caractérisées par un axone long, fin et peu myélinisé seraient plus susceptibles de dégénérer. Cependant, plusieurs études mettent en avant un processus dit « prion-like », basé sur une propagation de proche en proche d'un neurone à l'autre des protéines d' $\alpha$ -synucléine (Brundin, Ma, & Kordower, 2016; Olanow & Prusiner, 2009; Visanji, Brooks, Hazrati, & Lang, 2013). Bien que parfois réévaluée, l'hypothèse de Braak reste intéressante.

De plus, l'hétérogénéité des atteintes cérébrales et leur progression pourrait expliquer les différents profils symptomatiques des patients.

## **F. Facteurs de risques**

Depuis de nombreuses années, on tente de mettre à jour les origines ou les causes la MP idiopathique. Ce pari très ambitieux est loin d'être gagné. De part les résultats contradictoires, les biais scientifiques, certains facteurs de risques identifiés ne sont pas très convaincants (l'hypertension, le diabète ou encore la consommation d'alcool) (Ascherio & Schwarzschild, 2016). Cependant, d'autres facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques semblent avoir un impact plus plausible sur le développement de la MP.

### ○ **Génétique**

Environ 10 % des cas de la MP seraient d'origine génétique. Depuis environ une quinzaine d'années, des travaux se concentrent sur l'identification de gènes

potentiellement impliqués causant la forme monogénique de la maladie. Actuellement, les mutations des gènes LRRK2 sont attentivement étudiées à l'instar des gènes, PINK1, SNCA (mutation de l' $\alpha$ -synucléine) ou encore Parkin (1 à 18, forme autosomale de la MP). Ce dernier serait plus fréquemment retrouvé dans le cas de parkinson précoce et pourrait être lié à l'expression de certains troubles non-moteurs (Kim & Alcalay, 2017).

- **Environnement**

L'exposition aux métaux lourds semble être impliquée dans le développement de la MP. Comme nous l'avons vu dans les mécanismes de dégénérescence, le fer joue un rôle important mais l'exposition à d'autres métaux tels que l'aluminium ou encore le manganèse, très présents dans l'industrie, peuvent également impacter les mécanismes cellulaires. Il est de même pour l'exposition aux pesticides (herbicides et insecticides) qui augmenterait le risque de développer la MP, résultat à considérer avec précaution car d'autres études mettent en avant une hétérogénéité des cas (van der Mark Marianne et al., 2012). Cependant, récemment, la justice française a reconnu comme maladie professionnelle la MP développée par un agriculteur en contact depuis des années à des pesticides.

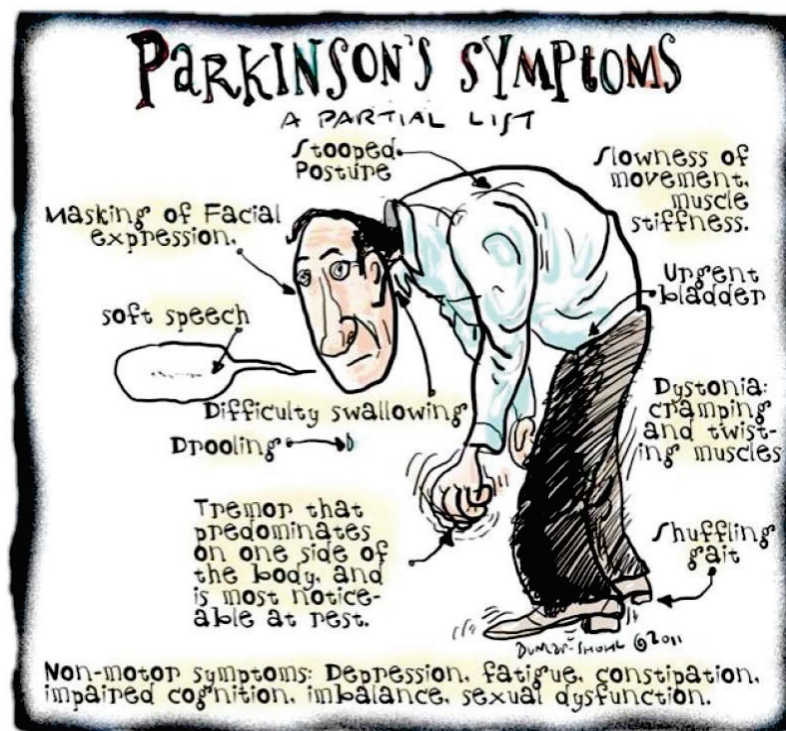
La consommation de drogue de type opiacé ou méthamphétamine est un facteur de risque important (Ascherio & Schwarzschild, 2016). En effet, les conséquences de la consommation d'une forme impure d'héroïne (contenant la toxine MPTP) vont se traduire par une symptomatologie parkinsonienne (Langston, Ballard, Tetrad, & Irwin, 1983). De même la prise d'ecstasy (ou MDMA), pourrait être une des causes de la MP chez les consommateurs (Kish 2003; Kuniyoshi et Jankovic 2003; O'Suilleabhain et Giller 2003).

- **Immunologie**

Depuis ces dernières années, plusieurs éléments donnent un rôle au système immunitaire dans le développement de la maladie, particulièrement des mécanismes auto-immuns (Benkler, Agmon-Levin, et Shoenfeld 2009; De Virgilio et al. 2016). La mise en place de processus inflammatoire impliquant la microglie ou les astrocytes pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de la MP. La production de facteurs cytotoxiques ou pro-inflammatoires pourrait induire la neurodégénérescence (Liu, Gao, & Hong, 2003).

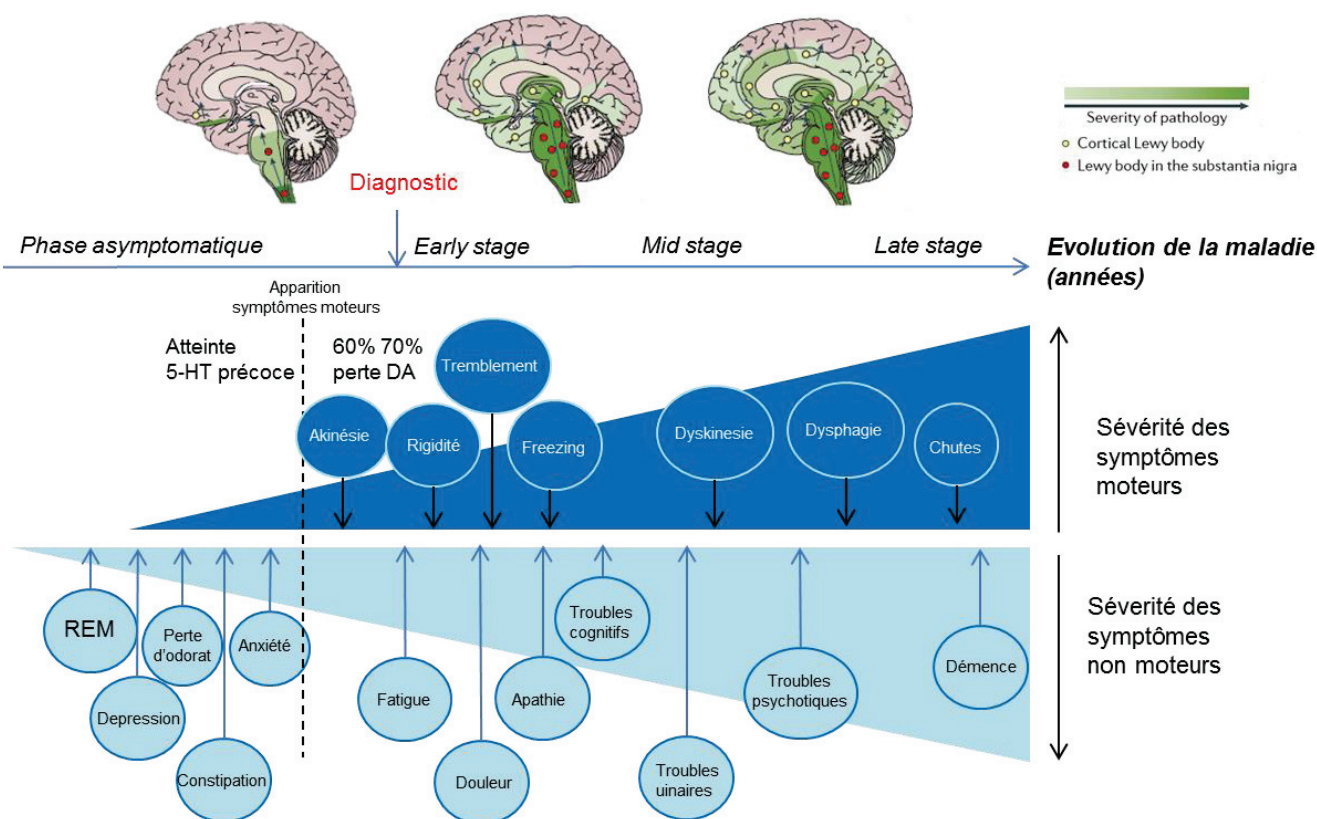
## **II. Exposé clinique de la maladie de Parkinson**

C'est généralement l'apparition des symptômes moteurs qui conduit les patients à consulter un neurologue. Une évaluation clinique précise est nécessaire mais peut parfois s'avérer difficile selon les cas et malheureusement de nombreux symptômes, moteurs et non-moteurs, sont difficiles à évaluer et à traiter (Figure 16).



**Figure 16 :** Illustration des différents symptômes moteurs et non-moteurs observés chez les patients parkinsoniens.

Les échelles de cotations peuvent varier selon les pays mais la MDS-l'UPDRS (Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale) reste l'échelle la plus fréquemment utilisée (Goetz et al., 2008). Elle permet une analyse qualitative et quantitative des symptômes en tenant compte des symptômes moteurs et non-moteurs. Elle permet également d'évaluer la progression de la maladie. D'autres échelles, développées spécifiquement pour la MP, tels que PDQ-39 (Parkinson's disease questionnaire), PDQL (Parkinson's disease Life questionnaire) (Opara, Broła, Leonardi, & Błaszczyk, 2012) permettent d'estimer l'impact de la maladie sur la qualité de vie des patients. La LARS (Lille Apathy Rating Scale) permet une évaluation encore plus spécifique de l'apathie (Dujardin, Sockeel, Carette, Delliaux, & Defebvre, 2013; Dujardin, Sockeel, Delliaux, Destée, & Defebvre, 2008). Comme nous l'avons précédemment vu, l'imagerie pourra appuyer le diagnostic clinique. De nombreuses études s'attachent à mettre en place des diagnostics précoces de la maladie basés sur les premiers symptômes observés (pas uniquement moteur) à l'aide de modèle prédictif (Schrag, Anastasiou, Ambler, Noyce, & Walters, 2018) ou d'imagerie clinique (Strafella et al., 2018, 2017).



**Figure 17 :** Schéma de l'ordre d'apparition des symptômes en fonction des étapes décrites par Braak et les différentes phases de la maladie (adapté de Poewe, 2017).

Comme la figure 17 nous le montre, les nombreux symptômes moteurs ou non-moteurs, s'expriment à différents stades de la maladie, ce qui est en lien avec l'évolution des atteintes neuronales. La phase asymptotique est caractérisée par l'expression de troubles non-moteurs telles que la dépression, l'anxiété ou encore la perte de l'odorat. Durant cette phase, l'atteinte lésionnelle du système sérotoninergique se déroulerait de façon anticipée à la lésion du système dopaminergique. Lorsque la perte neuronale dopaminergique se situera entre 60 % et 80 %, les premiers symptômes moteurs de la triade seront observés chez les patients. Ce stade précoce de la maladie est également caractérisé par l'expression de troubles non-moteurs (apathie, fatigue, douleur). Puis, la dégénérescence dopaminergique progressant, les déficits moteurs se feront de plus en plus présents, avec notamment des dyskinesies et à des stades très avancés, à des

chutes. Egalement, les troubles cognitifs se feront plus présents, ainsi que les troubles psychotiques et végétatifs. Dans les stades très avancés, les patients peuvent développer des démences. Cependant, quelle que soit la nature du symptôme, la sévérité d'expression ne fera que croître avec le temps, ce qui nécessite une régulière adaptation du traitement proposé au patient.

## **A. Les symptômes moteurs**

Lorsque l'on parle de la MP, les premiers symptômes moteurs que nous avons en tête sont ceux de la triade motrice composée du tremblement de repos, de la rigidité et de l'akinésie/bradykinésie (Rodriguez-Oroz et al., 2009b). Cependant, comme nous venons de le voir, les patients peuvent présenter beaucoup d'autres types de symptômes moteurs impactant tout autant leur quotidien (Figure 17).

### **Le tremblement**

Le tremblement de repos est un mouvement lent involontaire, de faible amplitude et régulier, d'environ 4-6 Hz. Il est observé au niveau des extrémités des membres mais peut s'étendre à d'autres parties du corps. Présent de façon unilatérale au début de maladie, le tremblement peut se propager et devenir bilatéral en lien avec l'évolution de la dégénérescence neuronale. C'est l'un des premiers symptômes qui est perçu par le patient mais également par son entourage c'est pourquoi il est souvent dissimulé. Ce trouble moteur visible peut parfois être associé à une incapacité d'action et se révèle être particulièrement mal vécu par certains patients. Il est d'autant plus exprimé chez ceux ayant un profil dit « trembleur ». Les patients expriment différents types de tremblements (action, repos, re-emergent, posture, tremblement essentiel)

bien que le tremblement de repos soit le plus présent (Jankovic, 2018; Pasquini et al., 2018). Dès les premiers stades de la maladie, l'imagerie SPECT permet de mettre en lien le tremblement et le dysfonctionnement du système sérotoninergique au sein du raphé (Doder et al., 2003; Jellinger, 1999; Pasquini et al., 2018; Qamhawi et al., 2015), lien qui est d'autant plus important que la pathologie progresse (Pagano et al., 2017). Il est également intéressant de savoir que ces patients « trembleurs » ont une perte dopaminergique plus faible que les autres dans des structures cérébrales tels que le noyau caudé et le putamen (Loane et al. 2013). Ce symptôme dont la pathophysiologie reste encore mal comprise, est au centre d'études considérant une modification des interactions entre les ganglions de la base et le circuit cerebello-thalamo-cortical (Helmich, 2018).

Le traitement de ce symptôme reste un enjeu majeur dans la prise en charge des patients. L'efficacité non totale des traitements dopaminergiques (Lévodopa ou agoniste) rendent ce symptôme difficile à traiter.

### **La rigidité**

Elle se traduit par la contraction continue des muscles et une résistance à la mobilisation du membre altérant la réalisation d'un mouvement. Principalement observée au niveau des muscles fléchisseurs des membres, des genoux mais aussi du cou, de la tête et des épaules, elle est caractérisée par une diminution du ballant de la main, de l'avant-bras ou de l'ensemble du membre supérieur (Dujardin et Defebvre 2007). Cette hypertonie extrapyramidale est associée au phénomène de roue dentée défini par un mouvement passif des membres qui se détendent par à-coups. La rigidité est également qualifiée de « rigidité en tuyau de plomb » car après la manipulation du



médecin lors de l'examen, le membre conserve sa position. Le médecin peut également détecter chez des patients via la manœuvre de Froment, une augmentation de la rigidité lorsque ce dernier applique un mouvement passif du poignet alors qu'il est demandé au patient de réaliser des mouvements continus de l'autre main. La rigidité peut être majorée par des facteurs tels que la fatigue ou le froid mais n'est plus présente lors du sommeil. L'expression de ce trouble, variable entre les patients, peut engendrer des douleurs dans les membres touchés, des déformations posturales et participerait à l'instabilité posturale.

### **Akinésie/ bradykinésie**

Ces symptômes sont définis par une réduction de la motricité volontaire et automatique. Il faut faire la distinction entre l'akinésie proprement dite définie par un défaut d'initiation de l'action, sans présence de paralysie et la bradykinésie qui est définie par une lenteur dans l'exécution d'une action motrice et enfin l'hypokinésie décrite par la réduction de l'amplitude du mouvement. Ces déficits moteurs bien que moins visible que le tremblement, sont particulièrement handicapants car ils touchent tous les gestes volontaires aussi bien les petits gestes du quotidien (écrire, se brosser les dents, cuisiner ...) que des mouvements plus généralisés (sortir d'une voiture, se lever d'une chaise...) ou encore la déglutition et la parole (dysarthrie).

### **La posture et démarche**

Les patients présentent régulièrement des troubles de la posture et de la marche. Ces symptômes sont regroupés sous le nom de PIGD (Postural Instability and Gait Disorder) et caractérisés par une posture courbée avec la tête basse penchée en avant et une instabilité posturale qui se manifeste plus tardivement. Ces altérations de l'équilibre

entraînent des chutes de plus en plus fréquentes avec l'avancée de la maladie et altèrent fortement la marche, particulièrement au démarrage mais aussi la réalisation de demi-tour ou l'évitement d'obstacles. Ces troubles de l'équilibre peuvent aussi venir d'une atteinte osseuse et/ou ligamentaire (Rabin, 2016). Dans des cas très avancés, on trouve chez des patients le syndrome de Pisa qui correspond à une flexion latérale du tronc (Paolo Barone, Santangelo, Amboni, Pellecchia, & Vitale, 2016). La démarche est également altérée ce qui se traduit par une festination (petits pas) et une immobilité des bras lors de la marche. Le plus souvent en effet, les bras sont fléchis et collés au corps.

### **Dystonie**

La dystonie est caractérisée par des contractions musculaires involontaires se traduisant par des postures anormales au niveau des mains, des pieds (Ashour, Tintner, et Jankovic 2005). Elle peut être observée dans les stades précoces de la maladie, chez les patients sans médication, au lever du patient ou lors de période dite OFF (sans médication). Ce symptôme parfois précédant les symptômes de la triade peut aussi être la conséquence d'un traitement dopaminergique tel que la Lévodopa ou encore apparaître à la suite d'une stimulation cérébrale profonde (Tolosa & Compta, 2006).

### **Freezing**

Lorsque les mouvements s'interrompent en cours de réalisation et de façon brutale on parle de « freezing » ou d'enrayage moteur. Son apparition peut être très précoce au cours de la maladie. En effet, chez les patients récemment diagnostiqués, le « freezing » se manifeste par exemple lors de la marche et pourrait être un marqueur de la progression de la maladie (Delval et al., 2016).

### Autres symptômes moteurs

En plus de ces symptômes moteurs, d'autres troubles peuvent apparaître au cours de la MP. Ainsi, les patients peuvent avoir un besoin irrésistible de bouger les jambes ce que l'on appelle le syndrome des jambes sans repos, qui est présent environ chez 30 % des patients. A un niveau plus large d'altérations motrices volontaires et dans des stades avancés, on observe une hypomimie (diminution des mimiques faciales) ainsi qu'une amimie (perte d'expression des émotions sur le visage). La parole peut aussi être touchée avec une diminution du timbre de voix (hypophonie), une palilalie (répétition de mots) et un bégaiement. Enfin, le patient peut développer une micrographie (diminution de la taille de l'écriture) rendant l'écriture illisible.

Les patients ne développent pas obligatoirement tous ces symptômes, cependant l'association de différents symptômes varie selon le patient. La classification de différents profils se ferait en quatre sous types basés sur les symptômes développés: un profil dit « trembleur dominant » qui toucherait 70 % des patients en début de maladie, un profil « akinéto-rigide dominant » qui représenterait un tiers des patients dans les stades plus avancés, un profil « PIDG dominant » (Postural Instability and Gait Difficulty) (Fereshtehnejad & Postuma, 2017; Thenganatt & Jankovic, 2014) et enfin un profil « mixte ». Ce dernier rassemble les patients qui développent un tremblement dominant et qui vont également exprimer d'autres symptômes comme la rigidité et la bradykinésie au cours de la progression de la maladie.

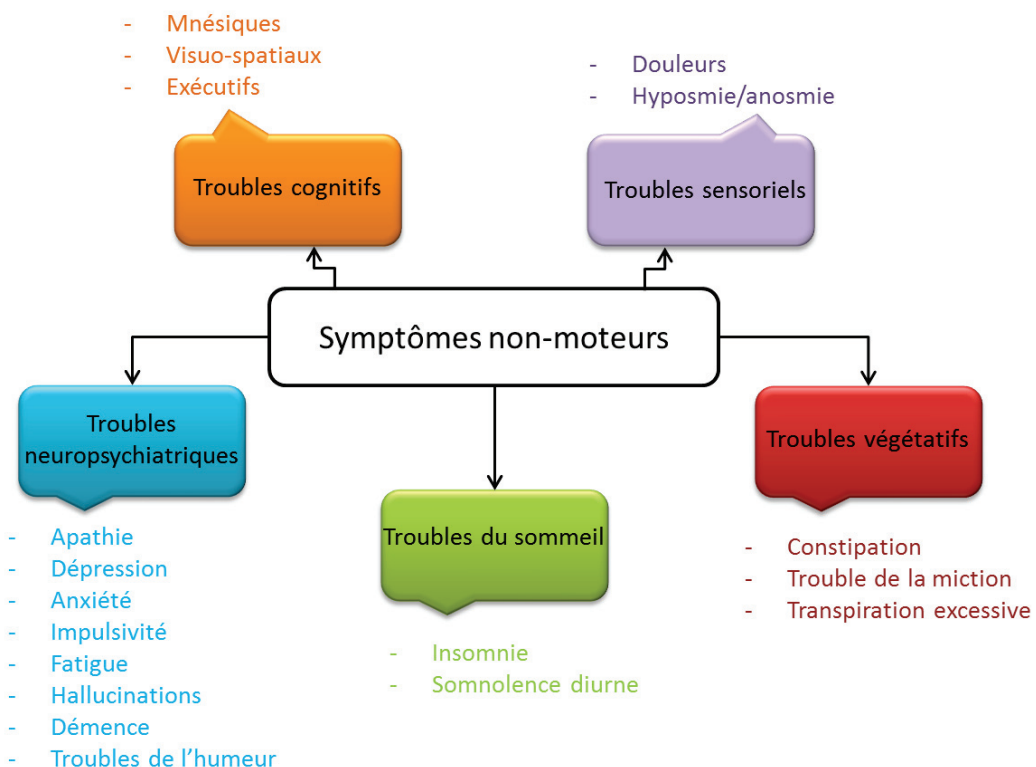
Il existe entre le profil « trembleur » et « akinéto-rigide » des atteintes anatomofonctionnelles différentes (Guan et al., 2017). Les profils akineto-rigides présentent une perte neuronale plus importante dans la substance noire *pars compacta* que les profils

trembleurs (Paulus & Jellinger, 1991) et ont une corrélation entre la sévérité des symptômes et la perte dopaminergique du putamen postérieur (Jellinger, 1999).

## B. Les symptômes non-moteurs

Les symptômes non-moteurs exprimés par les patients sont très nombreux et peuvent être de plusieurs types (Barone et al., 2009; W. Poewe, 2008). En effet, les patients présentent tant des troubles neuropsychiatriques, cognitifs, sensoriels, troubles du sommeil que des troubles végétatifs (Figure 18). Ils affectent grandement la qualité de vie des patients jusqu'à être parfois handicapants. Ils ne sont pas systématiquement tous exprimés et leur degré d'expression reste variable selon les patients.

La nature très différente de ces troubles nous laisse entendre une atteinte neurologique variable. Certains troubles peuvent apparaître en amont des symptômes moteurs (Figure 17).



**Figure 18** : Liste non exhaustive des symptômes non-moteurs.

## Dépression

La dépression est un symptôme fréquent (environ 50 %) (Barone et al., 2009; Zhuo et al., 2017) parfois mal évaluée dû au recouvrement avec d'autres symptômes. Elle est souvent confondue avec l'apathie et fréquemment associée à des troubles anxieux. Il est maintenant bien connu que la sérotonine joue un rôle majeur dans le développement de la dépression et l'utilisation des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) a déjà fait ses preuves. De plus des études d'imagerie utilisant le radiotracteur DASB (fixant le transporteur de la sérotonine, SERT) montrent une augmentation de la fixation du traceur dans l'insula, le thalamus et le striatum, suggérant une augmentation du SERT comparé aux sujets contrôles ainsi que dans les structures limbiques comparé aux patients parkinsoniens sans troubles dépressifs (Pagano et al., 2017, p. 201). Cependant, une réduction du marquage DASB dans le cortex cingulaire antérieur (Maillet et al., 2016) serait corrélée à la sévérité de la dépression. La dépression est également corrélée à une réduction des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans les structures limbiques (Ballanger et al. 2012). La seule étude post-mortem disponible à ce jour met en avant une réduction des cellules sérotoninergiques dans le raphé dorsal chez les patients dépressifs par rapport aux patients non dépressifs (Jellinger et Paulus 1992). La sérotonine ne serait pas l'unique neurotransmetteur impliqué dans ce symptôme. En effet, la réduction de la dopamine au sein du noyau caudé serait en lien avec le symptôme dépressif développé chez les patients. Ce lien serait d'autant plus fort chez les patients en début de maladie (Vriend et al., 2014).

## **Apathie**

C'est un des symptômes non-moteurs le plus rapporté par les patients (15 % à 70 % selon les études et les échelles utilisées) (Barone et al., 2009) et découvert rapidement dans la description de la MP (Prange et al., 2018). Décrite par une perte d'initiative associée à une réduction de la motivation, elle est souvent associée à la dépression (30 %), à l'anhédonie, à la fatigue mais peut aussi se développer seule (12 %) (D'Iorio et al., 2017; Dujardin et al., 2014; Santangelo et al., 2013). Elle est sensible à la Lévodopa, aux agonistes dopaminergiques ou à la stimulation cérébrale profonde du noyau sous-thalamique (Castrìoto, Thobois, Carnicella, Maillet, & Krack, 2016). Dans les stades plus avancés, l'apathie est corrélée aux troubles cognitifs et peut être associée à une démence. A ces stades, la médication dopaminergique reste peu concluante ce qui suggère une implication de circuits non-dopaminergiques (Dujardin et al., 2007).

Des études mettent en avant une réduction de la connectivité des circuits cortico-limbiques ou encore des circuits de la récompense impliquant le cortex préfrontal, l'amygdale et le noyau accumbens. Lorsque l'apathie est associée à la dépression, les dysfonctions neuronales sont plutôt présentes au niveau du cortex cingulaire subgénéral (hyperactivité) et le cortex cingulaire antérieur / cortex dorsolatéral préfrontal (hypoactivité). Les ganglions de la base jouent un rôle important dû aux efférences dopaminergiques (Levy & Dubois, 2006; Pagonabarraga, Kulisevsky, Strafella, & Krack, 2015). L'apathie est également en lien avec des déficits du système sérotoninergique. Elle est corrélée à la perte 5-HT du noyau caudé et du cortex orbito-frontal chez les patients parkinsoniens *de novo* (Maillet et al., 2016)

## **Anxiété**

Ce symptôme neuropsychiatrique fréquent (environ 34 %) est souvent mal pris en charge. De plus, le trouble anxieux peut être détecté de manière très différente selon les différentes échelles d'évaluation. Les troubles anxieux comprennent plusieurs sous-catégories. On parle alors des troubles paniques, des phobies sociales, des phobies spécifiques (peur de tomber par exemple) ou encore une anxiété généralisée. La qualité de vie des patients est très impactée, pouvant les conduire à s'isoler (D'Iorio et al., 2017; Leentjens et al., 2011; Pontone et al., 2009). La co-morbidité avec la dépression est d'environ 40 %.

L'anxiété peut se manifester très précocement dans le développement de la maladie et la sévérité est corrélée avec la sévérité sérotoninergique lésionnelle au sein du cortex cingulaire antérieur chez les patients *de novo* (Maillet et al., 2016). Egalement chez ces patients *de novo*, la sévérité de l'anxiété pourrait être liée à une réduction de l'activité dopaminergique au sein du noyau caudé (Picillo et al., 2017).

## **Troubles cognitifs**

Ces troubles cognitifs s'expriment selon un spectre de gravité large, allant d'une expression modérée au développement d'une démence. Ils sont nombreux et de différentes natures, ce qui est en lien avec la variabilité du pattern lésionnel. On peut donc distinguer des troubles visuo-spatiaux, mnésiques (mémoire de travail, mémoire épisodique et mémoire procédurale) ou encore attentionnels. On peut également observer une réduction de la flexibilité cognitive limitant la capacité à élaborer un plan d'action ou encore à avoir un comportement dirigé vers un but. Il faut noter que ce déclin cognitif est d'autant plus rapide chez les patients ayant un profil akinéto-rigide

plutôt que ceux ayant un profil trembleur (Wojtala et al., 2019). De plus, il semblerait que les patients ayant des épisodes dépressifs majeurs présenteraient des déficits cognitifs plus rapidement.

### **Troubles du sommeil**

Très souvent rapportés par les patients (jusqu'à 60 %), ils peuvent être présents lors de la phase asymptomatique. Ils peuvent être la conséquence de mouvements anormaux (dystonie), d'insomnies, de rêves agités et évoluent avec la progression des troubles moteurs. De nouveau, ce trouble est en lien avec la dégénérescence du système sérotoninergique dans le raphé, les ganglions de la base ainsi que l'hypothalamus (Wilson et al., 2018).

### **Autres**

D'autres symptômes non-moteurs sont particulièrement présents durant la phase asymptomatique. En plus des troubles du sommeil, le trouble de l'olfaction est rapporté chez plus de 90 % des patients et la constipation chez 75 % des patients. Par la suite ils peuvent développer de manière très handicapante des symptômes de fatigue, des douleurs et troubles sensitifs (crampes, engourdissement...) en lien avec la réduction de la mobilité. Des déformations articulaires également, peuvent conduire à des douleurs. A un niveau plus avancé de la maladie, les patients peuvent présenter des hallucinations visuelles (entre 22 % et 38 %), auditives (22 % et 48 %), olfactives (environ 10 %) et tactile (< 10 %) (Frei & Truong, 2017). Dans un autre registre, le contrôle des émotions est altéré induisant dans la majorité des cas une hyperémotivité.

Les troubles impulsifs peuvent être fréquemment observés particulièrement à la suite de traitements dopaminergiques (Weintraub D, Koester J, Potenza MN, & et al,



2010). Les patients peuvent développer des troubles de nature différente : achat compulsif, augmentation anormale de la prise alimentaire, jeux d'argent,...

Tous ces symptômes moteurs et non-moteurs doivent être évalués de manière très précise et régulière afin d'adapter le traitement du patient. Par ailleurs, l'âge auquel se fait le diagnostic serait un facteur important dans la progression des différents symptômes (Prange et al., 2019)

### III. Traitements

L'évolution de la maladie, variable selon les patients, suit le plus souvent les mêmes étapes évolutives : la période « lune de miel » (vie quotidienne relativement peu impactée par la maladie), la période des complications motrices sur le quotidien (travail, conduite...) et enfin la perte d'autonomie (marche, mouvement anormaux...). Le suivi médical joue alors un enjeu majeur pour l'adaptation des traitements afin de permettre aux patients d'avoir un impact le plus faible possible sur leur quotidien. Différents traitements sont possibles, c'est ce que nous allons développer dans cette partie.

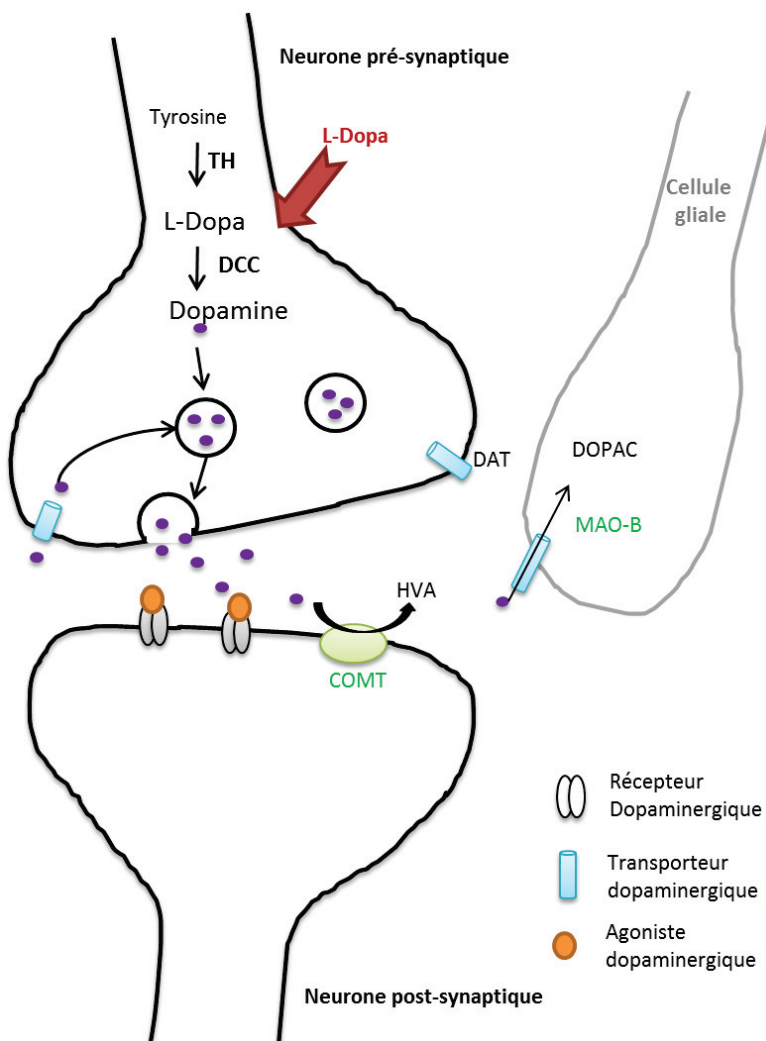
#### A. Traitements médicamenteux

Dans les années 90, des chercheurs montrent une diminution du taux de dopamine dans le striatum et la substance noire des patients parkinsoniens, structures que l'on sait impliquées dans la symptomatologie (Ehringer & Hornykiewicz, 1998). Les traitements peuvent être de deux types : ceux permettant une production endogène de dopamine et ceux modifiant le métabolisme dopaminergique (Figure 19).

Mécanismes d'action	Molécules	Médicaments
Production exogène de dopamine	- L-Dopa + Bensérazide	<i>Modopar</i>
	- L-Dopa + Carbidopa	<i>Sinemet</i>
Agonistes	-Ropinirole	<i>Requip</i>
	-Pramipexole	<i>Sifrol</i>
	-Bromocriptine	<i>Parlodel</i>
	-Apomorphine	<i>Apokinon</i>
Inhibiteur MAO-B	-Sélégiline	<i>Déprényl</i>
	-Rasagiline	<i>Ostrasel</i>
Inhibiteur de la COMT	- Entacapone	<i>Comtan</i>

**Figure 19 :** Tableau des traitements dopaminergiques possibles dans le cadre de la maladie de Parkinson.

Le premier traitement mis en place est basé sur la dopathérapie, la 3,4-dihydroxyphénylalanine (Lévodopa ou L-Dopa) fait son apparition (Birkmayer & Hornykiewicz, 1961). C'est un précurseur de la dopamine pouvant traverser la barrière hémato-encéphalique. Au niveau cérébral, la L-Dopa sera décarboxylée en dopamine sous l'action de la dopa-décarboxylase (Figure 20). Elle sera dans un premier temps administrée par voie sanguine puis par voie orale en association avec des inhibiteurs de la décarboxylase périphérique pour éviter sa dégradation avant d'atteindre le système nerveux central. Des inhibiteurs de l'enzyme monoamine oxydase-B (IMAOB) et de la cathécol-O-méthyltransférase (ICOMT) vont inhiber, via le catabolisme des monoamines, le métabolisme dopaminergique.



**Figure 20 :** Illustration d'une synapse dopaminergique.

DAT : transporteur dopaminergique, DCC : dopa décarboxylase COMT : cathécol-O-méthyltransférase, HVA : acide homovanillique, MAO-B : monoamine oxydase B

Par la suite, des agonistes dopaminergiques sont développés, par exemple, l'apomorphine et le pramipexole (Li et al., 2018). Ils agissent directement sur les récepteurs dopaminergiques (majoritairement D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>). Différents modes d'administration sont possibles, par voie orale, via une pompe (seringue électrique programmable portable permettant la libération du produit en continu), via un stylo à apomorphine ou une sonde placée directement au niveau de l'intestin grêle délivrant un gel contenant les différentes molécules (levodopa-carbidopa). Une étude pilote est menée pour tester l'impact de la méthode d'infusion intestinale sur les troubles du sommeil qui sont grandement altérés chez les patients (De Fabregues, Ferré, Romero, Quintana, & Álvarez-Sabin, 2018).

Au cours de la progression de la MP, le traitement va devoir être adapté spécifiquement pour chaque patient, afin de compenser la progression de perte dopaminergique. Cela implique deux conséquences. La première, une fluctuation des effets bénéfiques de la dopathérapie. Les patients vont présenter une phase dite « on » durant laquelle les symptômes moteurs seront bien contrôlés et une phase dite « off » durant laquelle les symptômes parkinsoniens réapparaissent. La seconde, l'augmentation des doses médicamenteuses va engendrer de nombreux effets secondaires. Par exemple, il est bien connu que le traitement L-Dopa induit plus de dyskinésies que les agonistes dopaminergique qui eux peuvent entraîner d'autres complications (Pagano et al. 2017). Enfin, nous avons vu que beaucoup de symptômes moteurs et non-moteurs ne répondent pas à la dopathérapie.

Des médicaments non dopaminergiques ciblant les systèmes sérotoninergique, glutamatergique, cholinergique, adrénergique, opioïde et adénosine peuvent être utilisés pour le traitement de certains symptômes moteurs et non-moteurs (Figure 21) (Freitas et Fox 2016; O’Gorman Tuura, Baumann, et Baumann-Vogel 2018; Schapira 2009; Schapira et al. 2006).

	Mécanismes d'action	Traitement symptômes moteurs		Mécanismes d'action	Traitement symptômes non moteurs
Sérotoninergique	- 5-HT1A agoniste/alpha adrenergique recepteur - 5-HT1A/5-HT1B agonistes combinés	<i>Buspirone</i> <i>Eltoprazine</i>	Sérotoninergique	- 5-HT2A inverse agoniste - 5-HT6/5-HT2A antagoniste	<i>Pimavanserin</i> <i>SYN120</i>
Cholinergique	- nAChR agoniste	<i>NP002</i>	Cholinergique	- cholinesterase inhibitor  - acetylcholineesterase inhibitor	<i>Rivastigmine</i> <i>Donepezil</i> <i>Pyridostigmine</i>
Adrénérgerique	- noradrenergique reuptake inhibitor	<i>Methylphenidate</i>	Adrénérgerique	- alpha 1 agoniste	<i>Midadrine</i>
Glutamatergique	- NMDA antagonist - mGluR5 antagonist	<i>ADS-5102</i> <i>Amantadine</i> <i>Memantine</i> <i>Mavoglurant</i> <i>Dipraglurant</i>	Glutamatergique	- NMDA receptot antagonist	<i>Memantine</i>
Opioides			Opioides	- opioid antagonist -opioides analgsic	<i>Naltrexone</i> <i>Oxycodone-Naloxone</i>
Adénosine	- A2R antagonist	<i>Istradefylline</i>			
Canaux ioniques/calciq	- inhibiteur des canaux ioniques/calciq	<i>Safinamide</i>			

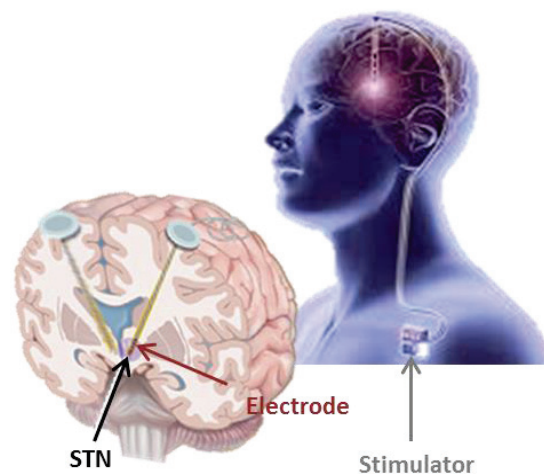
**Figure 21 :** Tableaux des traitements non dopaminergiques des symptômes moteurs (gauche) et non-moteurs (droite).

## B. Traitements chirurgicaux

Ce sont dans les années 1930 que sont réalisées les premières chirurgies visant à supprimer l’influx nerveux entre le cortex et la moelle épinière, malheureusement le bénéfice clinique attendu chez les patients parkinsoniens n’est pas au rendez-vous. Quelques années plus tard, la chirurgie stéréotaxique fait son apparition, elle permet des

lésions précises des structures cibles. Bien que les thalamotomies ou les pallidotomies via radio-fréquence permettent des améliorations cliniques au niveau du tremblement ou des dyskinésies, ces lésions irréversibles engendrent des effets secondaires (De Bie, Schuurman, Esselink, Bosch, & Speelman, 2002).

Une technique chirurgicale développée par le Professeur Alim-Louis Benabid dans les années 1990, appelée stimulation cérébrale profonde, consiste à insérer des électrodes (généralement en bilatéral) dans le noyau sous-thalamique (STN) le plus souvent ou le pallidum interne (Benabid, Chabardes, Mitrofanis, & Pollak, 2009; Pollak et al., 1993). Ces électrodes reliées à un stimulateur (sous cutané dans la région sous-clavière) délivrent un courant électrique de haute fréquence et de façon continue (Figure 22). Ce courant va agir sur les symptômes moteurs tel que le tremblement et les symptômes neuropsychiatriques tel que le trouble du contrôle des impulsions (Abbes et al., 2018; Benabid et al., 2009).



**Figure 22 :** Stimulation cérébrale profonde dans le noyau sous-thalamique.

Cette technique permet aux patients parkinsoniens de retrouver une meilleure qualité de vie, cependant les critères d'inclusions sont très précis et tous les patients ne

sont pas éligibles à ce traitement chirurgical. Il faut noter que les patients réduisent d'environ 60 % les traitements dopaminergiques (type L-Dopa), ce qui réduit en partie les effets indésirables de ces derniers. Comme tout traitement, des effets secondaires, conséquents à la localisation des électrodes ou à l'intensité du courant, peuvent être observés chez certains patients. Une modification des paramètres de l'appareil peut supprimer ces effets, cependant les électrodes doivent parfois être retirées.

A un stade plus préliminaire, des chercheurs tentent une approche de neuroprotection à l'aide de la lumière proche infrarouge (Johnstone, Moro, Stone, Benabid, & Mitrofanis, 2016). Le dispositif est très semblable à celui de la stimulation cérébrale profonde et permettrait de concentrer une lumière infrarouge dans une zone spécifique à l'aide d'une fibre optique. Des études pré-cliniques très prometteuses montrent une amélioration des capacités motrices, voire même un retour desdites capacités, associée à un arrêt de la dégénérescence neuronale (Darlot et al., 2016; Moro et al., 2016).

L'impact de la stimulation cérébrale profonde est d'autant plus important qu'elle est utilisée dans le cadre d'autres pathologies du mouvement tels que les tremblements essentiels, le syndrome de Gilles de la Tourette, la dépression majeure, les troubles bipolaires, les TOCS (Graat, Figeet, et Denys 2017) ou encore pour traiter l'obésité (Dupré et al. 2015). A l'échelle mondiale, plus de 160 000 patients ont pu bénéficier de cette technique, majoritairement pour la MP et d'autres troubles du mouvement (Lozano & Gross, 2017).

Avec le développement des techniques, certaines méthodes de chirurgie fonctionnelle ont été améliorées, c'est le cas de la thalamotomie. L'utilisation d'ultrasons

focalisés sous guidage IRM est une technique chirurgicale lésionnelle utilisée pour les tremblements essentiels et adaptée pour les patients parkinsoniens de type trembleur ayant une réponse limitée aux traitements et qui ne sont pas candidats à la stimulation cérébrale profonde (patient trop âgé et/ou présentant des troubles cognitifs et neuropsychiatriques trop importants). Elle consiste à chauffer le tissu cérébral d'une zone spécifique (55°C) par des ultrasons focalisés (rayon gamma) afin de léser cette dernière. Dans la MP, c'est le thalamus qui est ciblé, les patients présentent une réduction du tremblement persistant jusqu'à 2 ans après la lésion (Bond et al., 2017; J. W. Chang et al., 2018). Cela améliore de façon significative la qualité de vie des patients (Witjas et al., 2015). C'est une chirurgie non-invasive (Bond et al., 2017) qui permet de préserver les tissus avoisinants, cependant elle est irréversible et peut engendrer des effets secondaires persistants (trouble de l'élocution). Des études en cours utilisent le noyau sous-thalamique comme nouvelle cible de traitement.

### **C. Autres approches**

Les nouvelles approches de traitement se concentrent plutôt au niveau cellulaire. On peut voir un développement de la thérapie génique, permettant l'expression spécifique d'une protéine neuronale (Bartus, Weinberg, & Samulski, 2014), de l'immunothérapie (George & Brundin, 2015) et de la transplantation cellulaire (Marios Politis & Lindvall, 2012). A ce jour, ces approches manquent encore d'efficacité mais donnent des résultats encourageants.

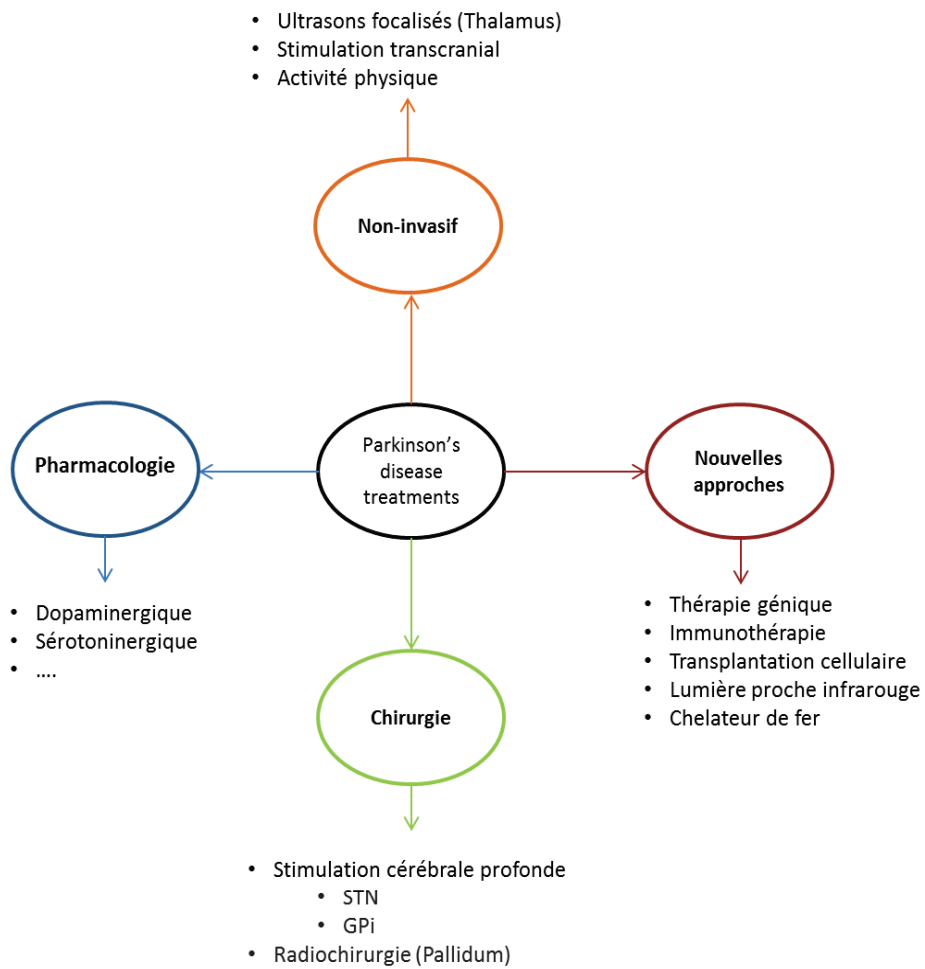
Comme nous l'avons vu dans le paragraphe abordant les causes de la MP, une surcharge de fer dans la substance noire peut conduire à la mort cellulaire. Une



molécule, la défériprone, est développée pour redistribuer le fer des zones surchargées vers les zones qui ont besoin de fer et ce, uniquement au niveau cérébral. Le traitement par chélateur de fer est encore au stade du développement et la prescription de ce médicament n'est pas encore autorisée dans le cadre de la MP. Cependant, les effets sur les modèles animaux de la MP ainsi que les résultats d'essais cliniques sont encourageants (Devos et al. 2014; Do Van et al. 2016). Le bénéfice moteur dépendrait du stade de progression de la maladie auquel le traitement est débuté ainsi que la durée minimum de traitement pour avoir des effets persistants (Cabantchik, Munnich, Youdim, & Devos, 2013; Devos et al., 2014).

Au-delà des traitements pharmacologiques standards ou chirurgicaux, certaines études se sont intéressées à d'autres éléments pouvant améliorer la qualité de vie des patients. La mise en activité des patients semble être une bonne approche pour compléter ces traitements. Cela passe par la kinésithérapie (Tomlinson et al., 2012), la marche, le Tai-Chi (R. Song et al., 2017)... des activités qui permettent aux patients d'entretenir leurs fonctions motrices et cognitives malgré la progression de la maladie et également de garder des contacts sociaux et de ne pas s'isoler. Il faut noter que très souvent, les médecins suggèrent aux patients des séances régulières chez un kinésithérapeute.

De nombreux traitements sont déjà mis en place et d'autres techniques sont en cours de développement pour permettre aux patients d'avoir une meilleure qualité de vie (Figure 23). La réponse aux traitements (médicamenteux ou autres) peut être très variable entre les patients, c'est pour cela qu'il est très important d'avoir une approche personnalisée pour chaque patient.



**Figure 23 :** Résumé des différentes approches thérapeutiques possibles dans la MP.

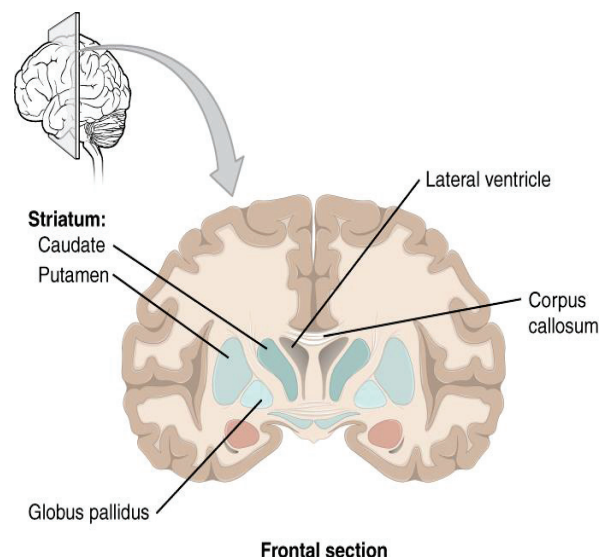
# Chapitre 2 : Ganglions de la base, modulation dopaminergique et sérotoninergique

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

Jusqu'aux années 1990, le rôle des ganglions de la base dans les fonctions motrices s'était dessiné à l'aide des maladies neurodégénératives tels la MP, la Chorée de Huntington ou encore le syndrome de Gilles de la Tourette. A partir de 1990, le rôle des ganglions de la base est passé d'un rôle de contrôle du mouvement pur à un rôle plus large et complexe de contrôle du comportement impliquant des fonctions motrices, associatives et limbiques. Les ganglions de la base seraient donc impliqués dans les comportements dirigés vers un but, dans la motivation, la cognition...

Les ganglions de la base sont composés des structures suivantes (Figure 24):

- Le noyau caudé
- Le putamen
- Le striatum ventral
- Le globus pallidus (interne et externe)
- Le noyau sous-thalamique
- La substance noire (*pars compacta* et *pars reticulata*)

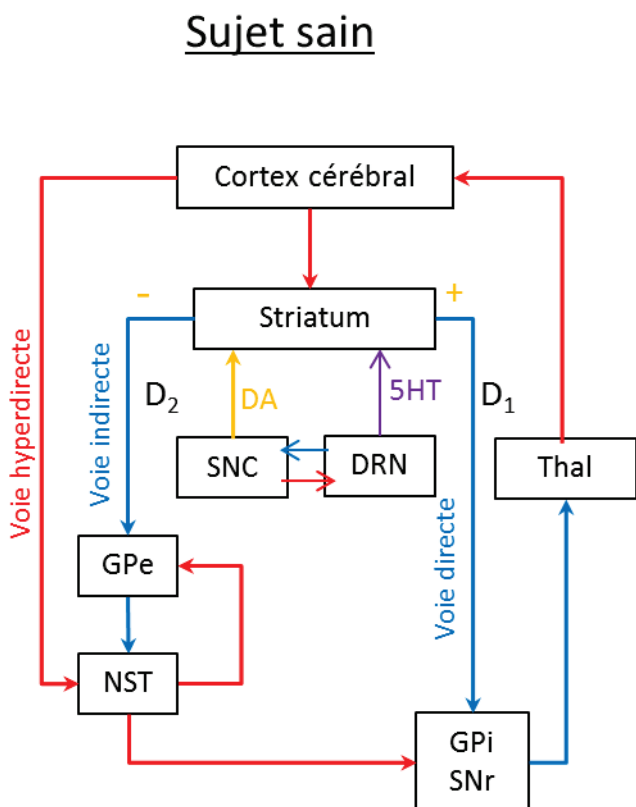


**Figure 24 :** Coupe frontale montrant les différentes structures cérébrales des ganglions de la base.

Nous allons présenter l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base et les circuits fonctionnels.

## A. Voies directe, indirecte et hyperdirecte

Le striatum est la voie d'entrée principale de l'information corticale dans les ganglions de la base. Les neurones efférents du striatum sont de nature GABAergique, et se projettent sur les structures de sorties des ganglions de la base, de façon directe via le globus pallidus interne (GPi) et la substance noire *pars reticulata* (SNr) ou de façon indirecte via le globus pallidus externe (GPe) et le noyau sous-thalamique (NST). On va alors parler de voie directe et voie indirecte (Mink, 1996; Nambu, Takada, Inase, & Tokuno, 1996; Obeso et al., 2000; Rodriguez-Oroz et al., 2009a) (Figure 25). Ces voies se distinguent de part leurs projections mais également par leurs contenus en peptides et en récepteurs (Graybiel 1990; Parent, Bouchard, et Smith 1984).



**Figure 25** : Schéma de l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base en voies directe, indirecte et hyperdirecte chez le sujet sain.

Les flèches rouges indiquent des projections excitatrices et les flèches bleues des projections inhibitrices.

DA : dopamine, 5-HT : sérotonine, DRN : noyau raphé dorsal, GPe/GPi : globus pallidus externe et interne, NST : noyau sous-thalamiques ; Thal : thalamus, SNC : substance noire pars compacta, SNr : substance noire pars reticulata, D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> : récepteurs dopaminergiques. +/- : modulation dopaminergique. (adapté d'Obeso et al., 2000 et Reed et al., 2013)

La voie directe est composée de neurones épineux moyens GABAergiques projetant du striatum vers GPi et la SNr, qui expriment les récepteurs dopaminergiques D<sub>1</sub> et la dynorphine. Ils vont agir de façon inhibitrice sur ces structures grâce à l'action excitatrice de la dopamine. D'un point de vue moteur, cette voie facilitera le mouvement.

La voie indirecte, elle, est composée de neurones épineux moyens GABAergiques exprimant les récepteurs D<sub>2</sub> et l'enképhaline. Ils ont un rôle excitateur de part l'action inhibitrice de la dopamine. D'un point de vue moteur, cette voie inhibera le mouvement.

Enfin, la voie hyperdirecte représente les projections directes entre le cortex et le noyau sous-thalamique. Cette voie cortico-sous-thalamique est une voie rapide et excitatrice. Elle permettrait un contrôle spatial et temporel de l'action.

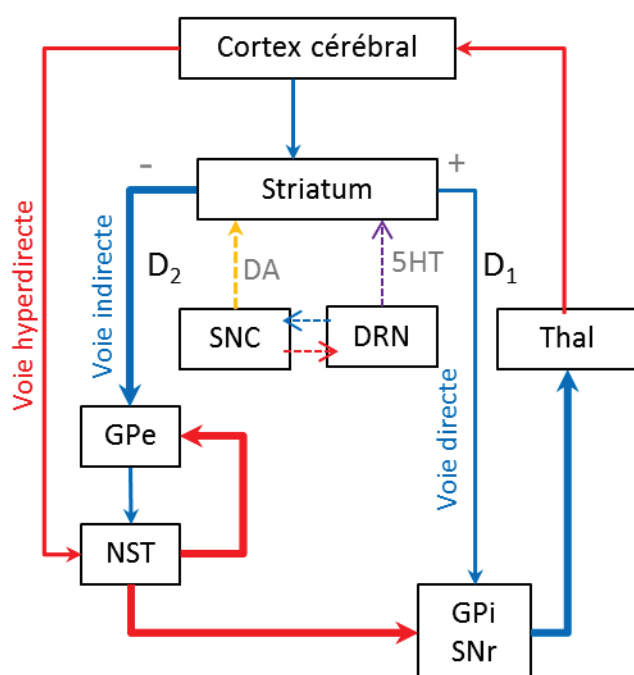
Les ganglions de la base reçoivent également une innervation sérotoninergique extrêmement dense. Ces projections issues du noyau raphé dorsal, augmentent la libération de sérotonine au sein du striatum ce qui va favoriser la libération de dopamine des terminaisons neuronales dopaminergiques (Reed, Nijhout, & Best, 2013). A noter que la partie rostrale du noyau raphé dorsal envoie des projections à la SN et que les parties caudales et centrales reçoivent des projections du SN. Ces projections efférentes et afférentes co-expriment et libèrent différents neurotransmetteurs (5-HT, DA, GABA, glutamate et des neuropeptides) (Philippe De Deurwaerdère & Di Giovanni, 2017).

L'exécution motrice proviendrait de l'équilibre entre la voie directe et indirecte. En effet, la voie directe aurait un effet facilitateur du mouvement à l'inverse de la voie indirecte qui aurait un rôle inhibiteur du mouvement moteur. Ceci a été démontré qu'un modèle animal de la maladie de Parkinson par optogénétique (Kravitz et al., 2010). Chez

un sujet sain, que ce soit par un effet direct de la SNc ou indirect du noyau raphé dorsal, l'équilibre entre ces voies directe et indirecte est médié par la dopamine.

De façon intuitive, on comprend qu'un déséquilibre entre ces différentes voies va engendrer des déficits que l'on retrouve dans la MP (Figure 26). La dégénérescence dopaminergique de la SNc va engendrer une réduction du taux de dopamine striatale qui va impacter l'équilibre des voies directes et indirectes au profit d'une sur-activation de la voie indirecte et d'une hypoactivation de la voie directe (Obeso et al. 2000). Ainsi, les récepteurs dopaminergiques seraient moins activés conduisant à une réduction de l'effet excitateur de la voie directe et une réduction de l'inhibition de la voie indirecte. De nouveau, la sérotonine qui est aussi affectée dans la MP va voir ses taux diminuer. Cela va impacter la libération de sérotonine dans les régions cibles comme le striatum et la SN.

### Patient Parkinsonien



**Figure 26** : Schéma de l'organisation anatomo-fonctionnelle des ganglions de la base en voies directe, indirecte et hyperdirecte chez le patient parkinsonien.

Les flèches rouges indiquent des projections excitatrices et les flèches bleues des projections inhibitrices. L'épaisseur des flèches montre les voies qui sont hyperactivées.

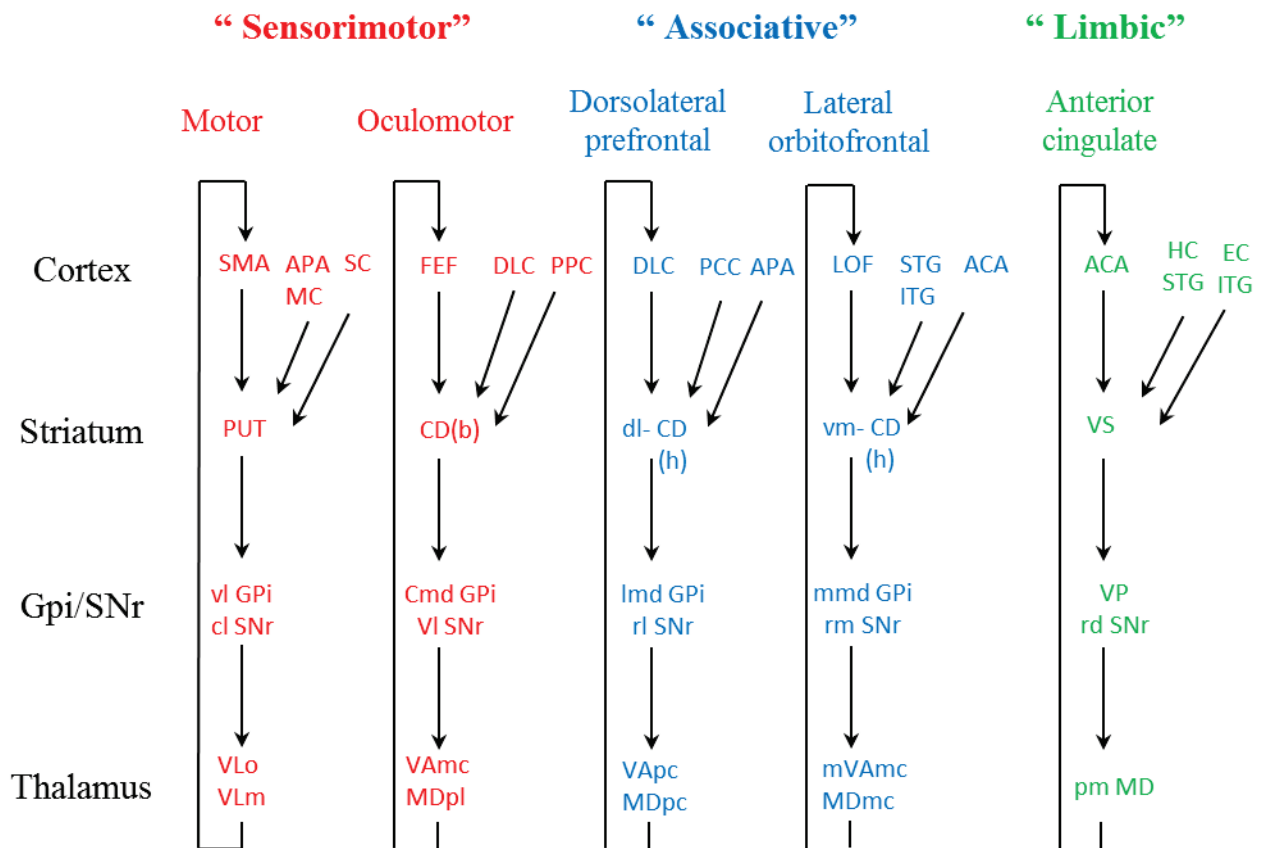
DA : dopamine, 5-HT : sérotonine, DRN : noyau raphé dorsal, GPe/GPi : globus pallidus externe et interne, NST : noyau sous-thalamique ; Thal : thalamus, SNC : substance noire pars compacta, SNr : substance noire pars reticulata, D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> : récepteurs dopaminergiques. (adapté d'Obeso et al., 2000 et Reed et al., 2013).

La sur-inhibition du GPe conduirait à une désinhibition du NST et enfin à une augmentation des neurones du GPi et de la SNr. On notera donc qu'une excitation des structures de sortie est associée à une inhibition du système moteur ce qui va conduire à l'expression des déficits moteurs parkinsoniens que nous connaissons.

## B. Circuits parallèles

Cette organisation en circuit parallèles développée par Alexander, DeLong et Strick (Alexander, DeLong, & Strick, 1986) décrit cinq circuits en boucles basés sur le même profil d'organisation topographique : une origine corticale projetant sur le striatum avec une sortie au niveau du globus pallidus interne (GPi) et la substance noire *pars reticulata* (SNr) finissant par une connexion au thalamus, ce dernier projetant à son tour sur le cortex. Ils sont ainsi présentés (Figure 27):

- Boucle sensorimotrice : composée d'une boucle motrice et oculomotrice, qui seraient impliquées dans le contrôle exécutif moteur.
- Boucle associative : une boucle préfrontale dorsolatérale et une orbitofrontale latérale, impliquées dans les processus cognitifs précédant l'exécution du mouvement.
- Boucle limbique : une boucle cingulaire antérieure qui est impliquée dans les processus motivationnels.



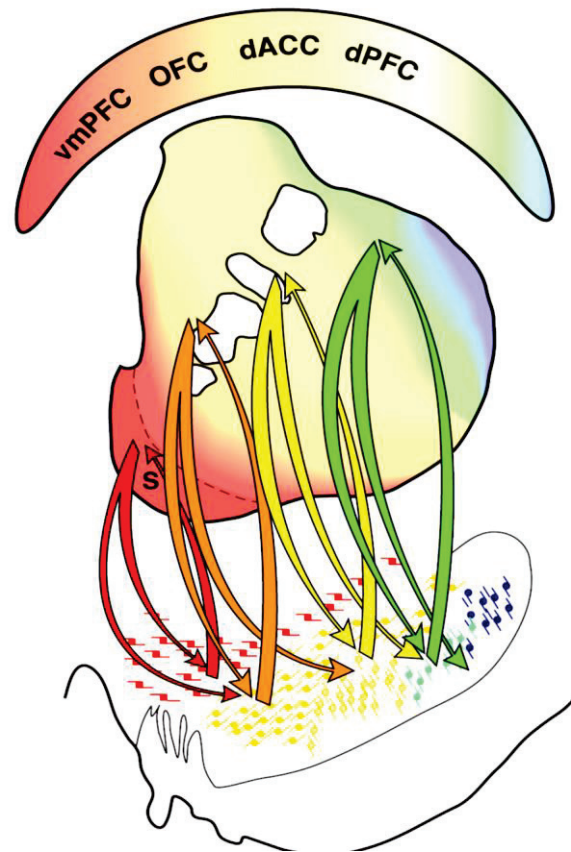
**Figure 27 :** Organisation des ganglions de la base en circuits parallèles (Alexander, 1986).  
 ACA : aire cingulaire antérieure, APA : aire pariétale antérieure, CD : noyau caudé, DLC : cortex préfrontal dorsolatéral, EC : cortex entorhinal, FEF : aire oculomotrice frontale, HC : cortex hippocampique, ITG : gyrus temporal inférieur, LOF : cortex orbitofrontal antérieur, MC : cortex moteur, PPC : cortex pariétal postérieur, PUT : putamen, SC : cortex sensoriel, SMA : aire motrice supplémentaire, STG : gyrus temporal supérieur, VS : striatum ventral. b : body, c : caudal, d : dorsal, h : head, l : latéral, m : médian, r : rostral, v : ventral. Pour les sous-territoires thalamique ; MDmc : medialis dorsalis pars magnocellularis, MDpc : medialis dorsalis pars parvocellularis, MDpl : medial dorsalis pars paralamellaris, VAmc : ventralis anterior pars magnocellularis, VApc : ventralis anterior pars parvocellularis, VLm : ventralis lateralis pars medialis, Vlo : ventralis lateralis pars oralis

Cette architecture positionne le striatum en position d'entrée principale de l'information corticale. Les sous-territoires striataux sont impliqués dans les différentes boucles de façon très distincte, ce qui laisse paraître une ségrégation du traitement de l'information. Ce modèle rend bien compte de l'implication des ganglions de la base dans des processus moteurs, cognitifs et motivationnels (Haber, 2003; Tremblay, Worbe, Thobois, Sgambato-Faure, & Féger, 2015). La neuromodulation de ces circuits chez l'animal permet de modéliser des dysfonctionnements moteurs et/ou comportementaux



(Saga et al., 2017; Sgambato-Faure, Worbe, Epinat, Féger, & Tremblay, 2016; Worbe et al., 2009, 2013).

L'existence de transfert d'informations entre les différents circuits a été démontré lors de la découverte de projections nigro-striées et striato-nigrales. On constate alors une transmission de l'information des structures de sortie via le thalamus vers les aires corticales impliquées dans les différentes fonctions et également des projections feedback and forward (Haber, 2016; McFarland & Haber, 2002). De plus, l'implication des ganglions de la base dans les comportements complexes de type comportement dirigé vers un but implique une convergence des informations (Haber, 2003, 2016).



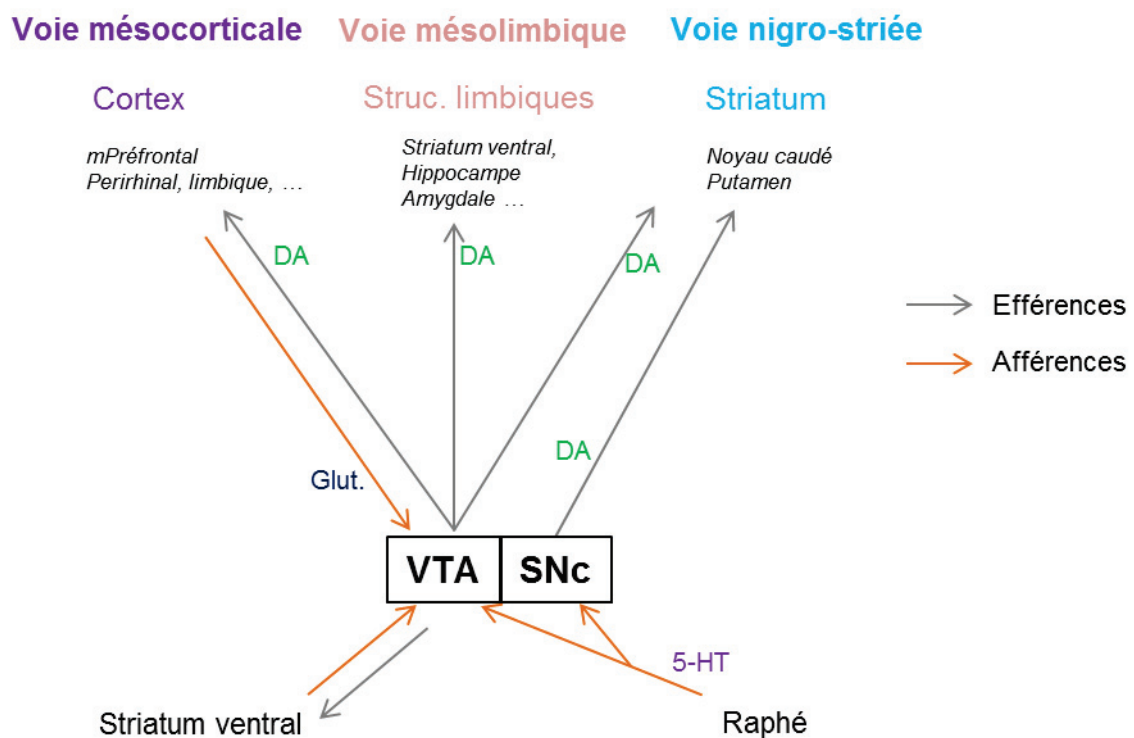
**Figure 28 :** Organisation des connexions striato-nigro-striatales (Haber et al., 2016).

Ces modèles nous montrent qu'il existe des relations complexes entre les différentes structures cérébrales et que les neurotransmetteurs présents dans ces structures jouent un rôle majeur dans la physiologie et physiopathologie des ganglions de la base. De nombreuses études cliniques et pré-cliniques se sont intéressées à la balance dopamine/sérotonine.

## II. Modulation dopaminergique et sérotoninergique

### A. Le système dopaminergique

Bien que les neurones dopaminergiques ne représentent que 1 % de la population neuronale totale (3 000 000 chez le singe et 6 000 000 chez l'homme) la dopamine impacte de nombreuses structures. Les neurones, dont les corps cellulaires sont présents dans la substance noire et dans l'aire tegmentale ventrale (ATV), vont se projeter dans les aires corticales, limbiques et striatales et représenter ainsi les voies mésocorticales, mésolimbiques et nigro-striée respectivement (Figure 29) (Bjorklund and Dunnett, 2007).



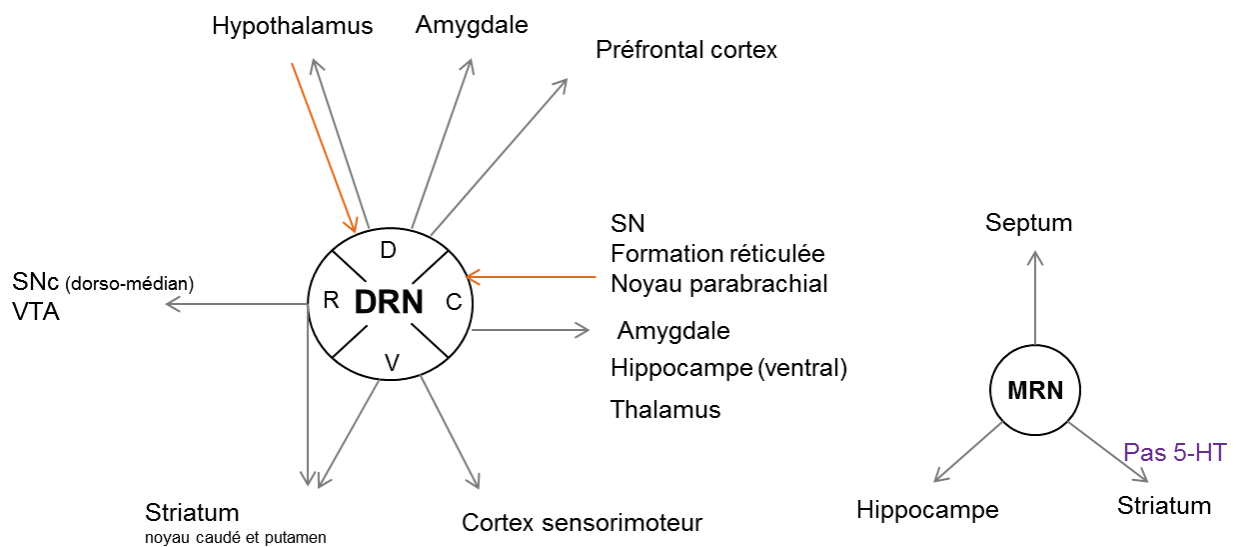
**Figure 29 :** Schématisation des 3 voies dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale et de la substance noire *pars compacta*.  
DA : dopamine, 5-HT : sérotonine

C'est cette dernière voie qui est particulièrement étudiée dans la MP, car, ce sont ces neurones dopaminergiques qui sont les plus touchés par la dégénérescence. Il faut mentionner que ces projections présentent une topographie particulière qui est associée à des caractéristiques électrophysiologiques et métaboliques différentes. Des études d'immunohistochimie et d'optogénétique montrent que ces neurones co-expriment et libèrent en plus de la dopamine, du GABA, du glutamate, de l'oxyde nitrique et des neuropeptides (Philippe De Deurwaerdère & Di Giovanni, 2017).

Les afférences sont également distinguables par leur nature métabolique (GABAergique, glutamatergique, cholinergique) et leur origine.

## **B. Le système sérotoninergique**

Les corps cellulaires sérotoninergiques sont localisés dans les noyaux du raphé mésencéphalique qui peut se scinder en 2 sous territoires : le raphé dorsal (DRN) et le raphé médian (MRN). Cette partie médiane représente uniquement 5 % des neurones du raphé et ses projections sur le striatum ne sembleraient pas être de nature sérotoninergique (Jacobs & Azmitia, 1992). L'étude des données post-mortem immunohistochimiques chez l'homme et l'animal expose la large diffusion cérébrale sérotoninergique (Figure 30).



**Figure 30 :** Schématisation des projections efférentes et afférentes du noyau raphé (partie dorsale et médiane).

DRN : noyau raphé dorsal, MRN : noyau raphé médian, SN : substance noire, VTA : aire tegmentale ventrale. C : caudal, D : dorsal, R : rostral, V : ventral.

Chez l'homme et le primate non-humain, la substance noire est la structure la plus innervée par la sérotonine. Certaines études montrent qu'il n'y aurait pas de différence concernant la densité de l'innervation sérotoninergique entre la SNC et la SNr.

Le striatum est une structure qui n'est pas innervée de manière homogène par la sérotonine. Chez l'homme, les régions possédant une grande densité d'innervation sont la zone ventrale du noyau caudé et le putamen. A l'inverse, les parties dorsales sembleraient moins innervées. De plus, chez le singe, l'innervation du striatum semble se réduire selon un gradient rostro-caudal. Les parties rostrales présentent une innervation dense, à l'opposé des parties caudales. Il en est de même lorsque l'on observe l'axe dorso-ventral avec une densité élevée de fibres et de terminaisons sérotoninergiques pour les parties ventrales et une densité plus faible pour les parties dorsales (Parent, Wallman, Gagnon, & Parent, 2011).

A l'instar des neurones dopaminergiques, les neurones sérotoninergiques co-expriment différents neurotransmetteurs incluant le glutamate, le GABA ainsi que l'oxyde nitrique et des neuropeptides.

Des données d'autoradiographie et d'immunohistochimie ciblant les différents marqueurs sérotoninergiques (sérotonine, SERT, activité de la tryptophane hydroxylase 2) montrent que des corps cellulaires sérotoninergiques innervent des neurones dopaminergiques dans certaines régions. C'est le cas au niveau de la substance noire *pars compacta*, l'aire tegmentale ventrale, le striatum et l'amygdale. De plus, la microscopie électronique met en évidence dans la substance noire (*pars compacta* et *pars reticulata*) et l'ATV des connexions entre les terminaisons sérotoninergiques et des dendrites dopaminergiques mais également non dopaminergiques.

Enfin, la distribution des récepteurs et transporteurs sérotoninergiques dans les régions dopaminergiques joue un grand rôle dans cette interaction dopamine/sérotonine (Philippe De Deurwaerdère & Di Giovanni, 2017). Des études combinant électrophysiologie et pharmacologie, montrent que l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS), comme la fluoxétine ou le citalopram, va engendrer une inhibition de l'activité dopaminergique au sein de l'ATV mais pas de la substance noire (Di Matteo, Di Giovanni, Di Mascio, & Esposito, 1998; Prisco & Esposito, 1995). Comme nous allons le voir par la suite, selon la structure observée, l'impact de la sérotonine sur l'activité dopaminergique ne sera pas le même.

Au vu de la topographie des projections, des connexions des terminaisons sérotoninergiques et des neurones dopaminergiques, nous comprenons bien que ces deux neurotransmetteurs interagissent de façon importante. C'est ce que nous allons développer par la suite.

### **C. La balance dopamine et sérotonine**

De très nombreuses études se sont attachées à comprendre et à définir la relation fonctionnelle entre ces deux neurotransmetteurs, ce qui n'est pas tâche facile. En effet, cette littérature dense utilisant différentes méthodes d'analyse soutient l'hypothèse d'une action sérotoninergique directe ou indirecte sur la fonction dopaminergique. La compréhension des mécanismes neurobiologiques intracellulaires est nécessaire pour comprendre la régulation de ces deux neurotransmetteurs pour évaluer au mieux l'efficacité de traitement. La modification de ces interactions peut engendrer l'apparition de pathologies/troubles neuropsychiatriques ou des traits de caractères impulsifs par exemple (Dalley & Roiser, 2012).

Des analyses post-mortem chez le rat confirment que les tissus contenant de la dopamine étaient le plus souvent ceux contenant également de la sérotonine (Fitoussi, Dells-Hagedorn, & De Deurwaerdère, 2013). Cependant, la variation des neurotransmetteurs dans les mêmes régions n'est pas toujours rapportée et est même parfois contredite dans certaines études. D'autres études mettent en avant le turnover dopaminergique dans le striatum suite à une lésion 5-HT (Giambalvo & Snodgrass, 1978). Plusieurs études d'immunohistologie divergent quant à l'impact de la sérotonine

sur l'activité neuronale dopaminergique au sein du striatum et de régions corticales (pour revue De Deurwaerdère et Di Giovanni 2017).

L'utilisation de l'électrophysiologie a permis d'évaluer la neuromodulation sérotoninergique sur l'activité dopaminergique. Plusieurs études chez le rat mettent en évidence des projections entre le noyau raphé (dorsal), la substance noire et l'ATV. Ces projections seraient associées à une activité inhibitrice de la sérotonine sur les neurones de ces deux structures (Dray, Gonye, Oakley, & Tanner, 1976; Gervais & Rouillard, 2000). Cette inhibition peut être le résultat d'activation de récepteurs sérotoninergiques ou dopaminergiques (D<sub>2</sub>) ou d'une inhibition de transmission glutamatergique (plus présente dans l'ATV).

Dans certaines conditions cette activité neuronale pourrait être excitatrice. Cela peut s'expliquer par différents éléments. Certaines projections du noyau raphé ne sont pas toutes médiées par la sérotonine et co-expriment d'autres neurotransmetteurs, particulièrement le glutamate qui est un neurotransmetteur excitateur. L'utilisation d'agonistes ou antagonistes de ces récepteurs montre que l'activation de certains récepteurs sérotoninergiques va engendrer une modulation d'autres neurotransmetteurs tel que le GABA, qui lui est un neurotransmetteur inhibiteur (Philippe De Deurwaerdère & Di Giovanni, 2017; Huot et al., 2011). De plus, des travaux *in vitro* et *in vivo* menés chez le rat confirment cette activation excitatrice de la sérotonine sur la dopamine striatale, de la substance noire ou encore de l'ATV. A noter que cette modulation sérotoninergique serait concentration-dépendante (Belleruche & Bradford, 1980; Navailles & De Deurwaerdère, 2011). Il est également connu que l'intégration de la sérotonine au sein du neurone dopaminergique va engendrer une

libération de dopamine dans la synapse consécutive à l'inversion du transporteur dopaminergique. Cet effet sera restreint avec des bloqueurs de la recapture.

La microdialyse est une technique qui permet de suivre les modulations neurobiologiques avec ou sans ajout d'agent pharmacologique. Par exemple, chez le rongeur, *in vivo*, on observe une augmentation du taux de dopamine extracellulaire à la suite d'une injection de sérotonine exogène au niveau du noyau accumbens, du striatum ou du cortex. Les effets sont bien entendus dépendant de la localisation de l'injection et la concentration.

Chez le rongeur traité à la 5,7-DHT, présentant donc une déplétion sérotoninergique, l'analyse électrophysiologique montre une modification de l'activité dopaminergique. La modification des interactions dopamine/sérotonine au sein de certaines structures serait en lien avec différentes pathologies ou avec l'efficacité de traitement particulier.

Nous savons que dans la MP, les lésions sérotoninergiques et dopaminergiques ne sont pas identiques quantitativement selon les structures (par exemple : le putamen et le noyau caudé) et qu'elles progressent dans le temps. Les patients présentent donc des diminutions de ces neurotransmetteurs dans les structures d'origine (SN et raphé) impactant la transmission au niveau des structures cibles, avec un fort impact au sein du striatum. Ces modifications vont avoir des conséquences sur la balance dopamine/sérotonine et donc perturber l'équilibre de base. On observe donc lors des traitements pharmacologiques comme la L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-Dopa) ou encore des antidépresseurs des effets secondaires ou une efficacité moins importante.



Les patients traités à la L-Dopa présentent des effets secondaires telles que des dyskinésies. De nombreux travaux ont mis en avant l'implication de la sérotonine dans ce processus. Il est connu que les neurones sérotoninergiques peuvent métaboliser la L-dopa en dopamine dans le raphé (Arai, Karasawa, Geffard, Nagatsu, & Nagatsu, 1994), le striatum et la substance noire *pars reticulata* (Yamada et al., 2007) ce qui en parallèle va induire une réduction de la fonction sérotoninergique (Navailles, Bioulac, Gross, & De Deurwaerdère, 2011). Il a été montré grâce à la microdialyse que la L-Dopa induisait une libération de dopamine et de sérotonine variable dépendante des régions (Migueluez et al., 2016; Navailles, Bioulac, Gross, & De Deurwaerdère, 2010). C'est cette libération de dopamine via les neurones sérotoninergiques qui est à l'origine de ces dyskinésies (M. Carta & Bezard, 2011; Manolo Carta & Tronci, 2014; Navailles & De Deurwaerdère, 2012; Marios Politis et al., 2014). Cela va également dans le sens des études faites chez les rats parkinsoniens chez lesquels la destruction des fibres sérotoninergiques supprime l'effet dyskinétique (Shin, Garcia, Winkler, Björklund, & Carta, 2012; Shin, Tronci, & Carta, 2012). En accord avec ces données, l'implantation de cellules sérotoninergiques à un stade avancé de la dégénérescence dopaminergique va augmenter l'effet dyskinétique de la L-Dopa (Marios Politis, Wu, Loane, Quinn, et al., 2010). Il semblerait que la densité d'innervation dopaminergique et sérotoninergique au sein du striatum serait un facteur dans le développement des dyskinésies (Carlsson et al., 2009). Une étude très récente utilisant la méthode DREADD (Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug, elle permet de stimuler ou détruire de manière sélective des neurones) chez des rats ayant des greffes de neurones dopaminergiques montre que les mécanismes responsables des dyskinésies se réduiraient par l'activation

de la cAMP ou par l'activation des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>6</sub> (Aldrin-Kirk et al., 2016).

Chez le singe rendu parkinsonien, on observe une abolition des dyskinésies induites par la L-Dopa suite à la lésion des fibres sérotoninergiques (Beaudoin-Gobert et al. 2015). La sévérité de ces dyskinésies est corrélée à une augmentation de la densité de transporteur sérotoninergique dans le striatum ventral et le cortex cingulaire antérieur (Beaudoin-Gobert et al., 2018).

Dans le même registre, les études cliniques mettent en avant chez les patients parkinsoniens ayant des dyskinésies, suite à un traitement L-dopa, une forte augmentation des terminaisons sérotoninergiques au sein du putamen, ce qui déséquilibre le ratio des terminaisons dopaminergiques et sérotoninergiques (Pagano et al., 2017; Rylander et al., 2010).

Comme nous l'avons vu précédemment, les patients présentent une modulation du transporteur sérotoninergique et/ ou des récepteurs. Cette variation (augmentation ou diminution) est corrélée avec la sévérité de symptômes non-moteurs, telles que l'apathie, l'anxiété, la fatigue et la dépression (Huot & Fox, 2013; Maillet et al., 2016; Pagano & Politis, 2018; M. Politis, Wu, Loane, Turkheimer, et al., 2010; Marios Politis & Niccolini, 2015). Il est intéressant de voir que des agents pharmacologiques tels que des antidépresseurs peuvent moduler le système dopaminergique. Plusieurs études chez le rat s'intéressent à l'effet d'antidépresseur sérotoninergique sur le système dopaminergique. Les mécanismes d'action des antidépresseurs semblent moduler par une augmentation (Di Matteo, Di Mascio, Di Giovanni, & Esposito, 2000) ou une diminution (Ichikawa & Meltzer, 1995) la libération de dopamine particulièrement dans

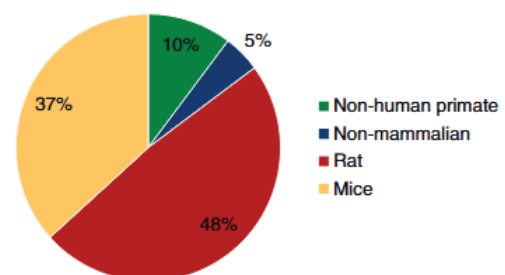
le noyau accumbens et le striatum, ce qui participerait à l'action de ces traitements. Ces résultats, très variables d'une étude à l'autre sont en grande partie dus à la nature de l'agent pharmacologique (plus ou moins spécifique de la sérotonine) mais également au protocole suivi (D'Aquila, Collu, Gessa, & Serra, 2000; Philippe De Deurwaerdère & Di Giovanni, 2017).

Le cerveau est un organe complexe qui est en perpétuel adaptation afin de maintenir un équilibre. Il ne faut pas oublier que dans la MP, les atteintes noradrénergique et cholinergique peuvent jouer un rôle dans ce déséquilibre. Ces lésions, non évaluées dans ce travail, ne seront pas décrites.

### III. Modèles animaux de la maladie de Parkinson

Bien que les études cliniques nous apportent beaucoup de connaissances sur les symptômes, l'évolution de la maladie ou les corrélations entre lésions et symptômes, il y a encore beaucoup d'aspects qui restent incompris. Le modèle animal a permis et permet toujours de mieux appréhender les différents aspects de la maladie qui ne peuvent pas l'être chez les patients. Le but étant toujours de faire le lien entre les données d'expérimentation animale et les données cliniques afin d'identifier les causes et les origines responsables de ces dégénérescences et bien sûr de trouver les cibles et les traitements les plus adaptés.

Actuellement, différentes espèces animales sont étudiées pour modéliser la MP (Figure 31). De la première manifestation à



**Figure 31 :** Proportion des modèles animaux utilisés pour l'étude de la MP (de 1990 à 2018) (Konnova et al., 2018).

l'expression des symptômes complexes en tenant compte de la progression au cours du temps, ces modèles évoluent au fil du temps et des connaissances acquises (Blesa, Phani, Jackson-Lewis, & Przedborski, 2012). Ils peuvent se diviser en 3 catégories : les modèles génétiques, les modèles pharmacologiques et les modèles neurotoxiques.

### **A. Modèles génétiques**

Depuis la découverte du gène SNCA (encodant la protéine  $\alpha$ -synucléine) (Polymeropoulos et al., 1997), impliqué dans la forme familiale de Parkinson (environ 10 %), de nombreuses études se sont intéressées à l'aspect génétique et aux mutations potentiellement associées à la MP. Ainsi de nombreux modèles animaux ont été développés soit avec des lignées transgéniques, soit par transfections virales. Spécifiquement chez la souris et le rat, des lignées transgéniques exprimant des mutations sur le gène SNCA, PARKIN, PINK ou encore LRRK2 permettent une étude des dysfonctions neuronales et des agrégations d' $\alpha$ -synucléine mais malheureusement, ces modèles ne reproduisent pas aussi bien la déplétion dopaminergique et les déficits moteurs attendus. Cependant, certains modèles de souris transgéniques pour l' $\alpha$ -synucléine présentent une déplétion dopaminergique non progressive, des déficits moteurs tels que la bradykinésie et des troubles non-moteurs comme une perte olfactive (Blesa et al., 2012).

Des études chez le singe, utilisant des vecteurs viraux pour une surexpression de la protéine  $\alpha$ -synucléine, génèrent une accumulation de cette protéine entraînant une déplétion dopaminergique accompagnée de quelques troubles moteurs. Le modèle génétique ne permet pas d'avoir une expression de symptômes moteurs aussi développée que l'on peut le voir chez les patients mais il permet d'une part une

agrégation  $\alpha$ -synucléique et d'autre part une déplétion dopaminergique (Koprach et al., 2018).

## **B. Modèles pharmacologiques**

Dans un contexte où les études cherchaient à développer rapidement des médicaments contre les symptômes parkinsoniens, des études se sont intéressées à un modèle pharmacologique sans lésion. On voit alors l'utilisation de l'halopéridol et de la réserpine. Le premier, un antagoniste  $D_2$ , permet un état cataleptique, reversé par injection de L-Dopa. Cependant, l'éloignement tant au niveau lésionnel que symptomatologique rend ce modèle limité pour étudier les mécanismes physiopathologiques de la MP. La réserpine quant à elle, induit un épuisement des stocks monoaminergiques (dopamine, sérotonine et noradrénaline) et rend mieux compte d'un profil parkinsonien induisant les déficits moteurs de la triade de façon transitoire (Hamadjida, Frouni, Kwan, & Huot, 2018). Dans les deux cas, les molécules n'induisent pas de dégénérescence neuronale. Bien que ces modifications transitoires soient assez éloignées de ce qui se produit sur le long terme chez les patients, elles peuvent tout de même apporter des informations sur les interactions entre les systèmes de transmission et leurs impact sur le comportement moteur et non-moteur.

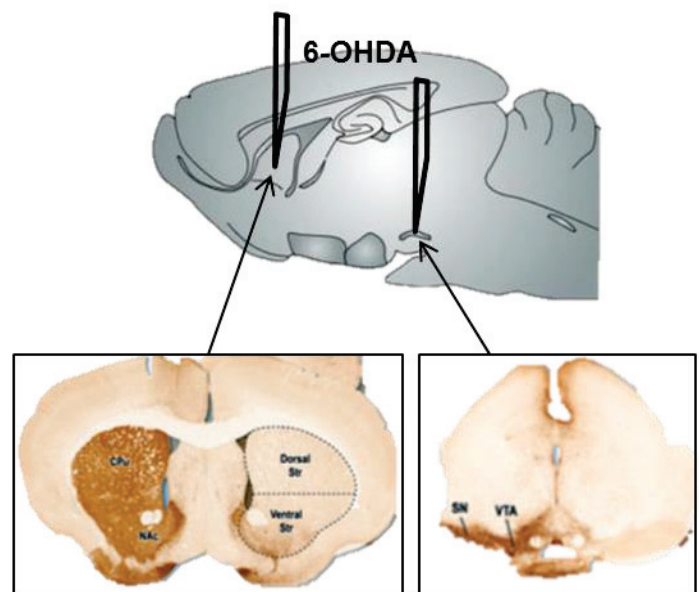
## **C. Modèles neurotoxiques**

La première neurotoxine utilisée fut la molécule 6-hydroxydopamine (6-OHDA), suivie de la neurotoxine 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) découverte lors de la fabrication d'une forme impure d'héroïne (mépéridine) qui a induit des déficits moteurs chez les consommateurs (Langston et al., 1983). La 5, 7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) est une toxine qui induit une déplétion

sérotoninergique importante, elle est le plus souvent utilisée chez le rongeur mais certaines études chez le singe marmoset ont été menées. Cependant, il semblerait que les effets de cette toxine soient moins conséquents que la 6-OHDA. Ces dernières années, l'identification des facteurs de risques de la MP s'affine. Les pesticides (Rotenone) et herbicides (Paraquat) semblent jouer un rôle, c'est pourquoi ces molécules sont utilisées comme neurotoxines modélisant la MP. A l'inverse du MPTP et de la 6-OHDA, ces molécules permettent une agrégation d' $\alpha$ -synucléine mais la neurodégénérescence dopaminergique et les symptômes moteurs découlants ne sont pas aussi marqués qu'avec les deux autres toxines citées (Konnova et Swanberg 2018). C'est pourquoi nous allons décrire en détail les modèles 6-OHDA et MPTP.

### 1. Modèle 6-OHDA

Le 6-OHDA est une molécule analogue de la dopamine et de la noradrénaline, produite de façon endogène. Pour induire une neurotoxicité spécifique du système dopaminergique, elle est co-administrée avec un inhibiteur sélectif de la recapture de noradrénaline. Ne passant pas la barrière hémato-encéphalique, les injections doivent se faire de façon intra-cérébrales. La fixation de la molécule sur les



**Figure 32 :** Réduction massive des neurones dopaminergiques dans l'hémisphère injecté (droit) comparé à l'hémisphère sans injection (gauche) chez le rat (adaptée de Grealish et al., 2010).

transporteurs dopaminergiques va conduire à un stress oxydatif qui inhibe le complexe I

de la chaîne respiratoire mitochondriale et produit des radicaux superoxydes entre autres. Cette réaction médiée par le fer peut être contrecarrée par l'utilisation de chélateur de fer.

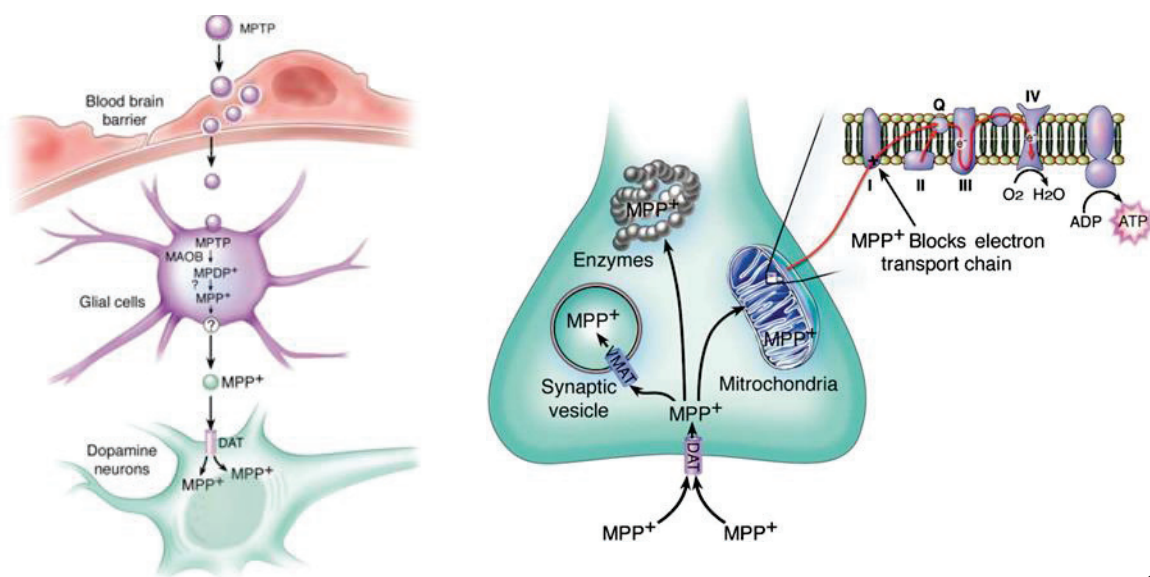
Cette neurotoxine est majoritairement utilisée chez les rongeurs bien que l'effet sur les primates soit aussi possible, mais cela implique des protocoles beaucoup plus contraignants et lourds pour l'animal. Les injections peuvent se faire de manière unilatérale ou bilatérale. A noter que l'injection unilatérale est d'autant plus intéressante qu'elle permet d'induire un hémiparkinsonisme et que les risques de mortalité sont moins élevés. De plus, selon le site d'injection (SN ou striatum), le processus neurodégénératif se produit de manière antérograde ou rétrograde respectivement, ce qui permet également de modéliser une lésion plus ou moins importante (totale ou partielle). Enfin, la symptomatologie développée par les animaux dépend de la quantité de 6-OHDA injectée et donc de la sévérité de la lésion. Le plus souvent, les lésions dopaminergiques sont autour de 90 % et engendrent des déficits moteurs tels que l'akinésie, la rigidité, le tremblement ou encore des troubles de rotation (Cenci, Whishaw, & Schallert, 2002; Hamadjida et al., 2018; Konnova & Swanberg, 2018).

Les symptômes non-moteurs sont moins évalués, cependant, certaines études montrent que les rongeurs traités au 6-OHDA présentent des modifications comportementales impactant la motivation (Drui et al., 2014) ou induisant des comportements de type dépressif ou anxieux (Bonito-Oliva, Masini, & Fisone, 2014; Ferrazzo et al., 2019).

## 2. Modèle MPTP

Découverte par accident lors de la production artisanale d'héroïne dans les années 1980, le MPTP est sûrement la molécule la plus utilisée dans le cadre d'étude de la MP. Cette neurotoxine utilisée chez la souris et le primate non-humain n'est pas efficace chez le rat. Elle traverse la barrière hémato-encéphalique grâce à sa nature lipophile et son effet varie selon le mode d'injection (intrapéritonéale ou intramusculaire), le protocole (aigu ou chronique) et les doses.

Le MPTP va être capté par les cellules gliales et les neurones sérotoninergiques qui vont le transformer en MPDP<sup>+</sup> (1-méthyl-4-phenyl-2,3-dihydropyridium) par une monoamine oxydase-D (MAO-B) avant d'être oxydé en MPP<sup>+</sup> (1-méthyl-4-phenylpyridium), le métabolite actif. Le MPP<sup>+</sup> sera alors internalisé dans les neurones dopaminergiques via le transporteur dopaminergique (DAT) et va s'accumuler dans le cytoplasme et les vésicules. De nouveau le complexe I mitochondrial va être impliqué, le MPP<sup>+</sup> va le bloquer, conduisant au stress oxydatif, une réduction de production d'ATP causant une neuroinflammation et la mort neuronale (Figure 33) (Dauer et Przedborski 2003).

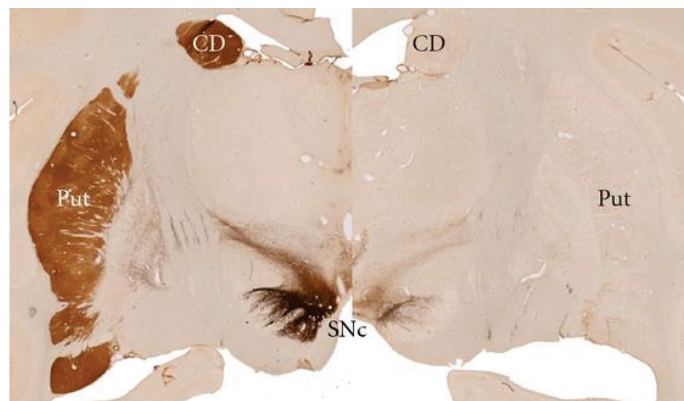


**Figure 33** : Mécanismes d'action du MPTP (Dauer et al., 2003).



Chez la souris les injections aiguës induisent une dégénérescence dopaminergique sans inclusion d' $\alpha$ -synucléine, responsable de troubles moteurs. Il est intéressant de voir qu'un traitement chronique engendre une déplétion dopaminergique progressive, une neuroinflammation ainsi que des inclusions  $\alpha$ -synucléiques, mais ce modèle ne permet pas l'expression de troubles moteurs. Chez la souris les doses utilisées sont très élevées aux alentours de 20mg/kg (soit 30 fois supérieur à la dose chez le primate non-humain). De plus, il est intéressant de voir l'effet sur un modèle plus proche de l'homme d'un point de vue phylogénique.

Le MPTP est le modèle « gold standard » de la MP chez le singe (Figure 34). Comme pour la souris, les traitements peuvent être aigus ou chroniques engendrant une différence dans la sévérité/persistance de la symptomatologie parkinsonienne. Un protocole chronique implique



**Figure 34 :** Réduction nette du marquage de l'innervation dopaminergique par injection de MPTP (droite) par rapport au contrôle (gauche) chez le primate non humain (Blesa et al., 2012). CD: noyau caudé, Put: putamen, SNc: substance noire *pars compacta*.

des injections quotidiennes sur 4 jours (4 mg/kg/injection) induisant une perte dopaminergique rapide et sévère ce qui a pour conséquence une expression stable des symptômes même après l'arrêt des injections. A l'inverse, un protocole aigu implique des doses plus faibles (environ 0.4 mg/kg/injection). Un protocole progressif est composé d'injections espacées de 2 à 3 jours sur plusieurs mois (0.5 à 2.5 mg/kg/injection) et induit une déplétion dopaminergique plus progressive (Schneider & Kovelowski, 1990). Le protocole semi-progressif est étalé sur une période

plus courte (0.15 à 0.5 mg/kg/injection) avec des injections 3 à 4 fois par semaine. Enfin, un protocole intermédiaire requiert des injections quotidiennes, durant une période de quinze à vingt jours (0.2 mg/kg/injection).

Une des critiques de ce modèle était que la perte dopaminergique consécutive au MPTP ne s'étendait pas au-delà du système dopaminergique nigrostriatal. Cependant, de nombreuses études démontrent des lésions autres et un pattern de lésion très proche de celui développé par les patients parkinsoniens (Masilamoni & Smith, 2018; Pifl, Schingnitz, & Hornykiewicz, 1991). En effet, cette toxine induit une dégénérescence dopaminergique selon un gradient caudo-rostral dans le striatum et également des lésions au niveau du globus pallidus, du noyau sous-thalamique et du cortex cérébral. De plus, les études pré-cliniques, montrent une modification du système sérotoninergique à la suite de l'injection de MPTP, ce qui pourrait être associé aux phénomènes de compensations présents chez les patients parkinsoniens en début de maladie. Enfin, l'injection chronique de faible dose de MPTP réduit l'innervation cholinergique de façon similaire à ce qui est observé chez les patients parkinsoniens.

Même si les singes étudiés proviennent de différentes espèces (marmoset, singe écureuil, babouin et macaque), tous présentent une rigidité, une posture courbée et une akinésie/bradykinésie dans les premiers stades d'intoxication (G. Porras, Li, & Bezard, 2012). Selon l'espèce, nous pouvons également observer un tremblement de repos (Bergman et al., 1998) ou d'action (Hantraye et al., 1993). Il est intéressant de voir que selon les protocoles, particulièrement les progressifs, on observe une récupération spontanée des symptômes moteurs après l'arrêt de l'intoxication ce qui n'est pas le cas pour les protocoles sévères donnant des animaux restant symptomatiques (Beaudoin-Gobert et al., 2015). Au vu de ces observations, il semblerait que les animaux pouvant

récupérer des symptômes soient plus représentatifs des patients en début de maladie et les singes symptomatiques soient plus représentatifs des stades avancés de la maladie.

Les animaux, dits récupérés, ne présentent plus de symptômes moteurs, cependant la dégénérescence dopaminergique est toujours présente même si elle reste modérée (Franke et al., 2016; Mounayar et al., 2007). Cela peut s'expliquer par des phénomènes de compensation mis en place par les neurones restants (Bezard & Gross, 1998). Cette récupération motrice n'est bien évidemment pas observée chez les patients qui eux ont une déplétion dopaminergique progressive et continue associée à une aggravation des symptômes au cours de l'évolution. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, les patients passent par une phase asymptomatique et il est largement envisageable que des mécanismes similaires de compensation se mettent en place à cette période. En effet, il a été mis en évidence chez les singes MPTP une augmentation des fibres dopaminergiques et sérotoninergiques accompagnée d'une augmentation de ces neurotransmetteurs chez les singes récupérés et non pas chez les singes symptomatiques (Ballanger et al., 2016; Boulet et al., 2008; Mounayar et al., 2007).

Au-delà des symptômes moteurs, quelques études se sont intéressées à l'expression de déficits non-moteurs. On voit alors que le sommeil pourrait être altéré de même que des capacités cognitives, stratégiques et visuo-spatiales (Pessiglione, Guehl, Hirsch, Féger, & Tremblay, 2004; Pessiglione, Guehl, Jan, et al., 2004).

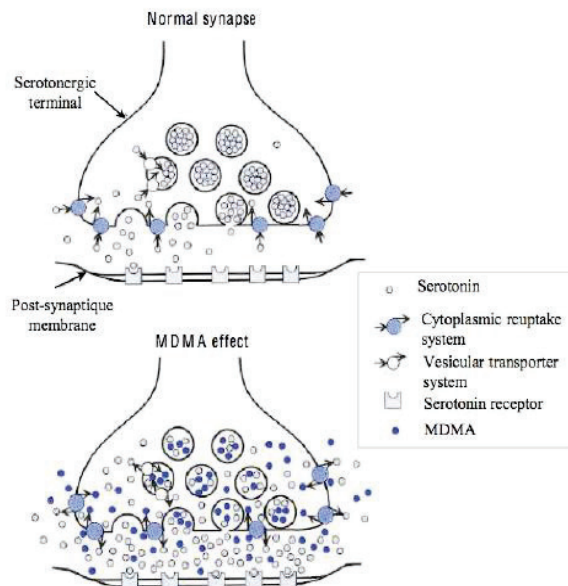
### 3. Modèle de lésions mixtes

Cette bibliographie met à jour une lacune quant à l'étude des troubles neuropsychiatriques de type dépressif ou anxieux, mais également le besoin de développer de nouveaux modèles permettant d'explorer les fonctions motrices et non-motrices qui ne sont pas dopa sensibles.

Pour parvenir à ce but, les modèles rongeurs combinent des lésions de différente nature. On voit alors une lésion dopaminergique associée à des lésions noradrénergique ou sérotoninergique. La lésion noradrénergique sera produite avec l'utilisation de la N-(2-chloroéthyl)-N-éthyl-2-bromobenzylamine (DSP-4) et la lésion sérotoninergique via l'utilisation de la 4-Chloro-L-phénylalanine (pCPA) (Delaville, Navailles, & Benazzouz, 2012; Faggiani, Delaville, & Benazzouz, 2015).

A ce jour, seulement deux études chez le singe ont utilisés une combinaison de deux lésions, dopaminergique et sérotoninergique, pour évaluer leur impact sur les dyskinésies et l'efficacité de traitement dopaminergique (Beaudoin-Gobert et al., 2015, 2018; Iravani, Jackson, Kuoppamäki, Smith, & Jenner, 2003). La lésion dopaminergique est réalisée à l'aide du MPTP quant à la lésion sérotoninergique, le 3,4-méthylène-dioxyméthamphétamine (MDMA), principe actif de l'ecstasy, est utilisé.

La lésion MDMA a déjà été utilisée sur d'autres modèles animaux (rongeurs, babouins, macaques) (Green, Mehan, Elliott, O'Shea, & Colado, 2003; Ricaurte, Forno, et al., 1988; Ricaurte, Yuan, & McCann, 2000). La fixation de la molécule sur les transporteurs ou les récepteurs (grande affinité avec les récepteurs 5-HT<sub>2</sub>) va engendrer une libération aiguë et massive de sérotonine dans la fente synaptique inhibant la recapture pré-synaptique et l'activation des monoamines oxydases induisant une neurotoxicité cellulaire (Figure 35).



**Figure 35 :** Principe d'action de la MDMA sur la libération sérotoninergique.

Le modèle primate est un modèle très intéressant que ce soit par les similitudes avec l'homme (Parent et al., 2011), la lésion anatomique ou la symptomatologie développée par ces animaux car il nous permet de comprendre de mieux en mieux la MP (Blesa, Trigo-Damas, Del Rey, & Obeso, 2018).

# **Objectifs de thèse**

Comme nous l'avons décrit dans l'introduction la lésion du système dopaminergique seule n'explique pas tous les symptômes développés par les patients. D'une part, certains symptômes ne répondent pas à la dopathérapie. D'autre part, des lésions extra-nigrales prennent place au cours de l'évolution de la maladie et peuvent être impliquées dans la symptomatologie parkinsonienne.

Ces lésions affectent différents systèmes de neurotransmission dont le système sérotoninergique qui nous intéresse particulièrement. Bien que la progression de la dégénérescence sérotoninergique soit peu caractérisée chez les patients, de nombreuses études d'imagerie montrent une altération de ce système à un stade avancé de la maladie mais également à un stade précoce chez les patients *de novo*. Ces données sont en accord avec la théorie de Braak qui stipule, par le biais de l'analyse de la présence des corps de Lewy dans le cerveau de patients parkinsoniens, que différentes régions puissent être touchées avant la substance noire, ce qui serait le cas du noyau du raphé. L'altération sérotoninergique observée tant au niveau du noyau raphé dorsal que dans les structures de projections jouerait un rôle dans l'expression de la symptomatologie parkinsonienne. De plus, nous savons que la sérotonine est impliquée dans l'expression de troubles neuropsychiatriques (dépression, anxiété), troubles également présents dans la maladie de Parkinson.

La majorité des modèles animaux modélise la maladie de Parkinson, uniquement avec une lésion dopaminergique avec un intérêt particulier pour le développement des déficits moteurs. Cependant, la complexité de la symptomatologie parkinsonienne et des lésions chez l'homme nous conduisent à réévaluer ce modèle animal. L'amélioration des modèles expérimentaux nous permettra dans un premier temps d'évaluer des symptômes non-moteurs, actuellement sous-estimés, et dans un second temps d'estimer

l'implication respective des différents systèmes touchés. Notre modèle expérimental va s'orienter autour de l'implication du système sérotoninergique.

A ce jour, aucune étude n'a étudié l'effet de la combinaison d'une lésion sérotoninergique précoce suivie d'une lésion dopaminergique sur la symptomatologie parkinsonienne. De même, il n'existe pas d'études chez le primate non-humain qui confronte l'état d'innervation des systèmes dopaminergique et sérotoninergique et l'efficacité d'agents pharmacologiques ciblant les systèmes sérotoninergiques et dopaminergiques.

C'est dans ce contexte que s'inscrit mon projet de thèse. Nous avons choisi de concentrer notre travail sur les questions suivantes :

- La lésion MDMA induit-elle des symptômes non-moteurs de nature psychiatriques et si oui, est-il possible de les contrecarrer avec des agents pharmacologiques classiquement utilisés chez l'homme ?
- Une lésion précoce des fibres sérotoninergiques à la MDMA a-t-elle des répercussions sur la symptomatologie parkinsonienne induite par le MPTP ?
- Un traitement chronique avec un agoniste dopaminergique peut-il engendrer des troubles psycho-comportementaux et induire une plasticité cérébrale ?

Pour répondre à ces questions, nous avons utilisé différentes approches :

- **une approche lésionnelle** : l'utilisation des agents MDMA et MPTP nous a permis de léser respectivement les systèmes sérotoninergique et dopaminergique.
- **une approche par imagerie TEP** : cette technique a permis l'étude des deux systèmes neuronaux ciblés via l'utilisation de différents radiotraceurs :



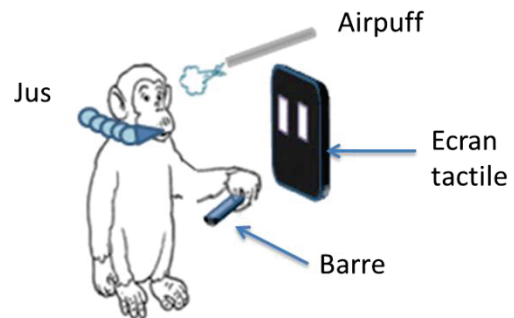
sérotoninergiques (DASB pour le transporteur SERT et le SB207145 pour le récepteur 5-HT<sub>4</sub>) et dopaminergiques (Pe2i pour le transporteur DAT, le Raclopride pour les récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>, et le SCH23390 pour le récepteur D<sub>1</sub>).

- **une approche pharmacologique** : avec des traitements chroniques ou aigus avec un agent sérotoninergique, la fluoxétine (un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine, ISRS) et un traitement chronique au pramipexole (agoniste dopaminergique des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>).
- **une approche comportementale** : afin de caractériser les altérations motrices et comportementales en condition spontanée mais également lors d'une tâche comportementale.
- **une approche immunohistochimique** : permettant de caractériser l'intégrité des afférences sérotoninergique et dopaminergique en fin de protocole.

# **Synthèse des résultats**

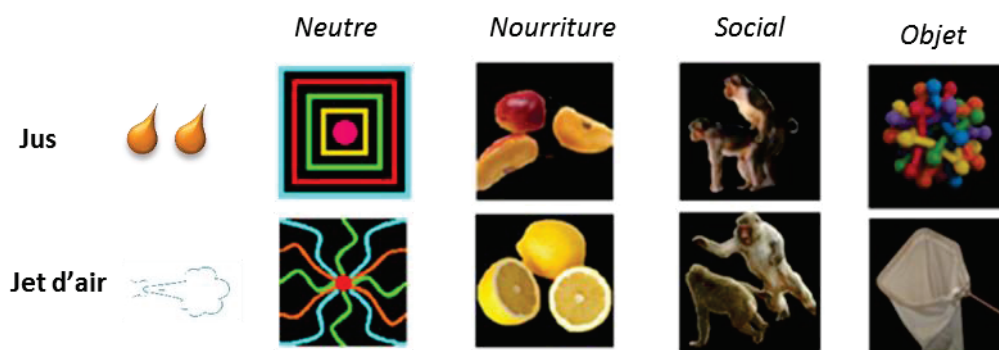
Avant de présenter la synthèse des résultats de chaque étude, nous allons décrire la tâche comportementale d'approche et d'évitement utilisée dans nos travaux.

Pour effectuer cette tâche comportementale, l'animal est assis dans une chaise face à un écran tactile. Afin de débiter la tâche ainsi que pour tous les essais, l'animal doit maintenir sa main sur la barre qui est devant lui. Il pourra alors recevoir deux types de conséquences en fonction de ses réponses : soit du jus qui est considéré comme une conséquence positive et donc une récompense ; soit un jet d'air au niveau du visage qui est plutôt considéré comme une conséquence négative voire une punition (Figure 36).



**Figure 36 :** Mise en situation de la tâche comportementale d'approche et d'évitement.

Durant cette tâche différentes images sont présentées à l'animal (Figure 37). Elles seront toujours associées à la même conséquence (jus ou jet d'air), et peuvent être catégorisées en différents domaines : neutre, nourriture, social et objet.



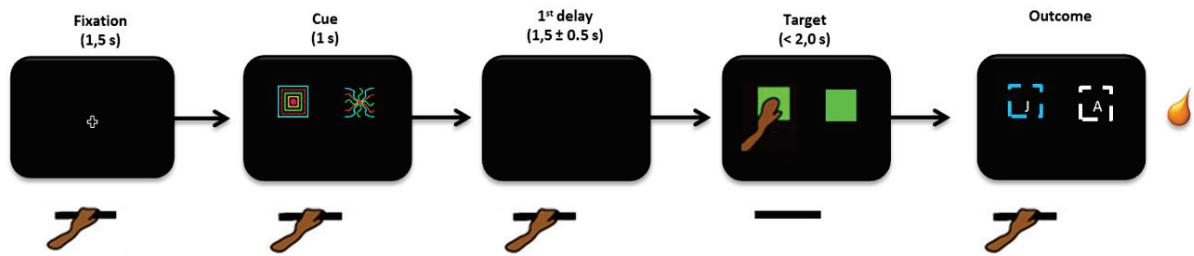
**Figure 37 :** Types d'images présentées durant la tâche d'approche et d'évitement selon les différents domaines et leurs associations.

La mise en place de ces différents domaines avait pour but de voir si l'animal avait une modification des performances selon le domaine présenté (temps de réaction et de mouvement, réduction des erreurs). Cependant aucune différence de ce genre n'a été observée. Les images ayant une connotation positive seront associées à l'obtention de jus par le singe alors que les images ayant une connotation négative (filet ou menace) seront plutôt associées au jet d'air. A noter qu'après une période d'apprentissage (entre trois et six mois), ces associations image/conséquences sont parfaitement connues par l'animal.

Ces images sont présentées dans deux types de blocs différents, un bloc de choix et un bloc impératif. Quel que soit le type de bloc, il y a une présentation randomisée de trois domaines différents au cours du bloc.

Un essai se déroule toujours de la manière suivante : la main de l'animal sur la barre va engendrer le début de l'essai signifié par un point de fixation qui sera suivi de la présentation de l'image. Après un délai court, deux cibles apparaissent, l'animal doit alors sélectionner la cible de son choix ce qui conduira à sa conséquence. Le nombre d'essais dans les blocs peut varier selon l'animal.

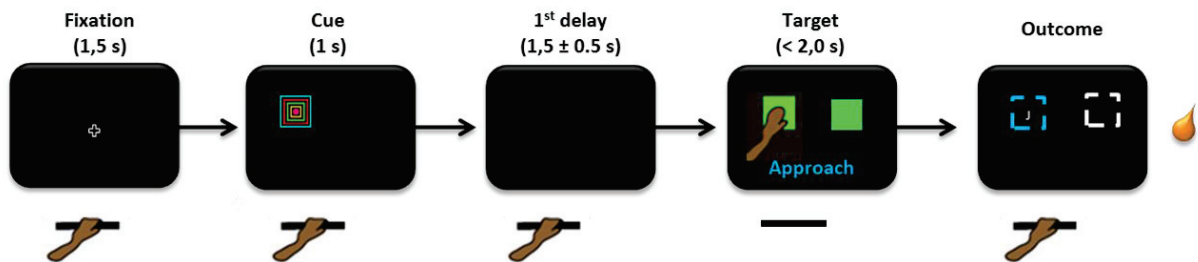
Pour le bloc de choix, deux images sont présentées simultanément durant les 40 ou 30 essais. L'animal doit sélectionner la cible qui se situe au même emplacement que l'image associée au jus afin d'obtenir la récompense (Figure 38). Dans ce bloc, on pourra observer la motivation de l'animal à l'état de base. Dans la grande majorité des cas, l'animal va sélectionner la cible délivrant le jus.



**Figure 38** : Bloc de choix.

Dans ce contexte, l'image du carré de gauche est associée au jus, l'animal sélectionne la cible de gauche pour obtenir le jus. Cue : image, Target : cible, Outcome : conséquence

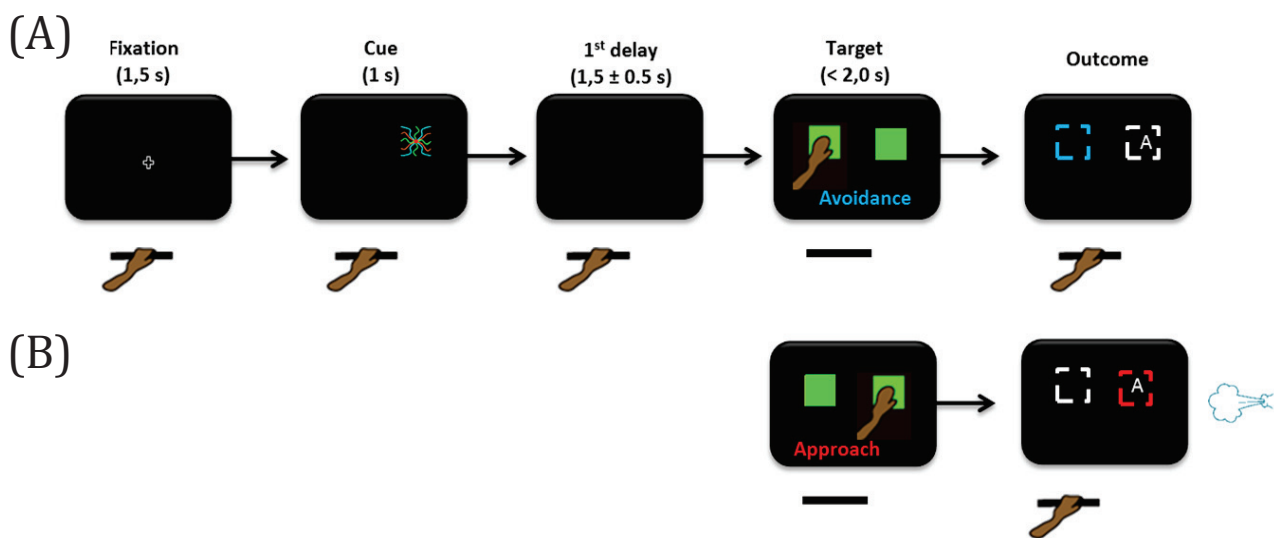
Pour le bloc impératif, une seule image est présentée mais deux contextes sont possibles durant les 50 ou 35 essais (le nombre d'essais va varier selon l'animal). Pour le contexte appétitif, seule la cible associée au jus est présentée et de la même façon que pour le bloc de choix, l'animal sélectionne la cible correspondante à l'emplacement de l'image (Figure 39). Si l'animal choisit la cible opposée à l'image, il n'obtiendra rien, ni jus ni jet d'air. Ce contexte impératif positif nous renseigne sur la motivation de l'animal.



**Figure 39** : Bloc impératif, contexte appétitif.

De la même façon que pour le choix, l'animal doit sélectionner la cible qui se situe au même emplacement que l'image associée au jus pour obtenir ce dernier. La sélection de la cible opposée est sans conséquences.

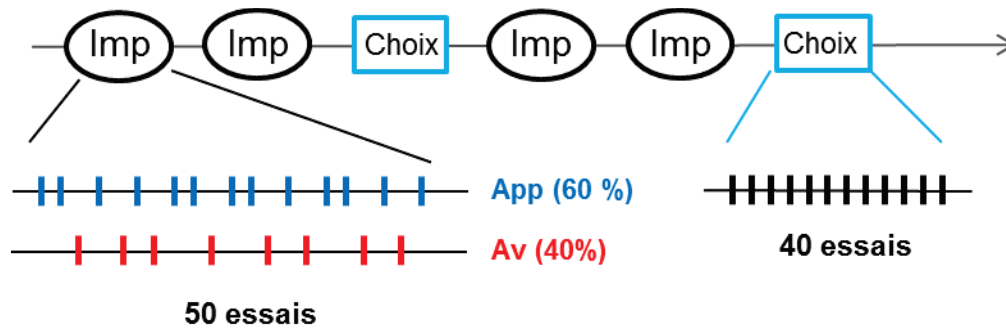
Pour le contexte aversif, seule l'image associée au jet d'air est présentée. L'animal pourra éviter le jet d'air en choisissant la cible située à l'opposé de l'image (Figure 40 A). S'il sélectionne la cible située au même emplacement que l'image (comportement d'approche), il recevra un jet d'air (Figure 40 B). Ce contexte-ci, nous permettra d'avoir des informations sur un état anxieux éventuel de l'animal et son anticipation aversive (sa crainte de recevoir le jet d'air).



**Figure 40 :** Bloc impératif, contexte aversif.

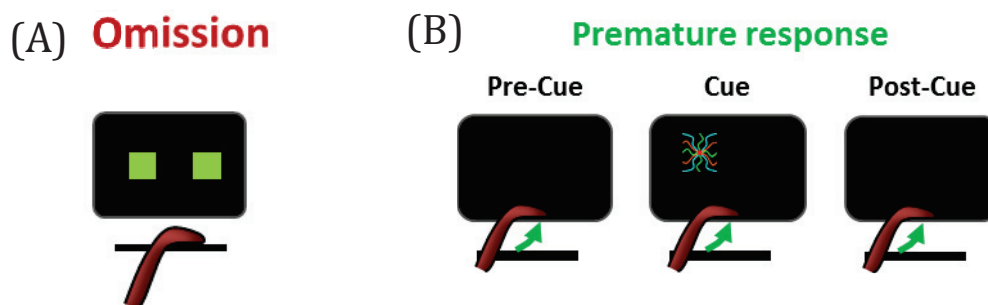
(A) L'animal sélectionne la cible opposée à l'emplacement de l'image, il évite le jet d'air, sans obtenir de jus. (B) Si l'animal approche la cible située au même emplacement que l'image il recevra un jet d'air.

Une session de travail consiste en la répétition de deux blocs impératifs suivis d'un bloc de choix (Figure 41). La tâche se termine lorsque l'animal produit plus de 50 % d'erreurs sur un bloc. Au sein d'un bloc impératif, 60 % des essais présentés seront appétitifs et 40 % seront aversifs. L'animal sait qu'un essai appétitif sera systématiquement présenté après un essai aversif. En revanche, il est possible d'avoir deux essais appétitifs à la suite, qui seront obligatoirement suivis d'un essai aversif.



**Figure 41** : Design temporel de la tâche.  
 Imp : bloc impératif, choix : bloc de choix. App : essai appétitif, Av : essai aversif.

Au cours de la tâche, l'animal peut produire des erreurs. Par exemple, s'il laisse sa main sur la barre et ne répond pas aux essais présentés, on parlera d'omission (Figure 42 A). Selon le contexte, cela peut être l'indice d'un désengagement de la tâche ou d'une perte de motivation. L'autre type d'erreur correspond à un retrait précoc de la main dans le décompte temporel de la tâche (Figure 42 B). On parlera alors de réponse prématurée. Cette réponse peut survenir avant, pendant et après la présentation de l'image. Dans un contexte appétitif, ces erreurs seraient associées à une grande motivation. Alors que dans un contexte aversif, elles indiqueraient plutôt un désengagement dû à un comportement anxieux.



**Figure 42** : Différents types d'erreurs.  
 (A) omission, l'animal ne répond pas (B) réponse prématurée aux différents instants

Cette tâche comportementale nous permettra donc d'évaluer différents types de comportements chez nos animaux. La réalisation quotidienne de ce travail nous permettra un suivi précis de l'impact des lésions et des traitements.

Ainsi nous allons poursuivre avec la synthèse des résultats des trois études faites au cours de cette thèse.



## **Article 1: MDMA administration induces an anxious-like behavior in non-human primates.**

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative touchant le système dopaminergique. Cette altération au sein de la substance noire conduirait à l'apparition de la triade motrice que nous connaissons, le tremblement, la rigidité et l'akinésie. Cependant, de nombreuses études montrent que les patients peuvent également développer des troubles cognitifs et neuropsychiatriques et ce très tôt dans la progression de la maladie (Chaudhuri & Schapira, 2009). De plus, des études post-mortem et d'imagerie révèlent une lésion du système sérotoninergique dans les stades très précoces de la maladie (Braak et al., 2003; Jellinger & Paulus, 1992). De récents travaux révèlent qu'il existe une corrélation entre la lésion sérotoninergique et la sévérité de la dépression, de l'anxiété et de l'apathie chez les patients parkinsoniens (Joling et al., 2018; Maillet et al., 2016). De façon générale, ces symptômes peuvent être pris en charge à l'aide de traitement monoaminergique que ce soit des inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) ou des inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO) (Beaudoin-Gobert & Sgambato-Faure, 2014). Les modèles animaux chez le rongeur utilisant la fluoxétine (ISRS) mettent en évidence l'efficacité de ce traitement sur les comportements de types anxieux et dépressifs. A ce jour, très peu d'études chez le primate non-humain ont été réalisées.

Toutes ces données nous montrent bien l'importance de la sérotonine dans le développement de troubles neuropsychiatriques et également le rôle que ce neurotransmetteur peut jouer dans la prise en charge du traitement. Le but de cette

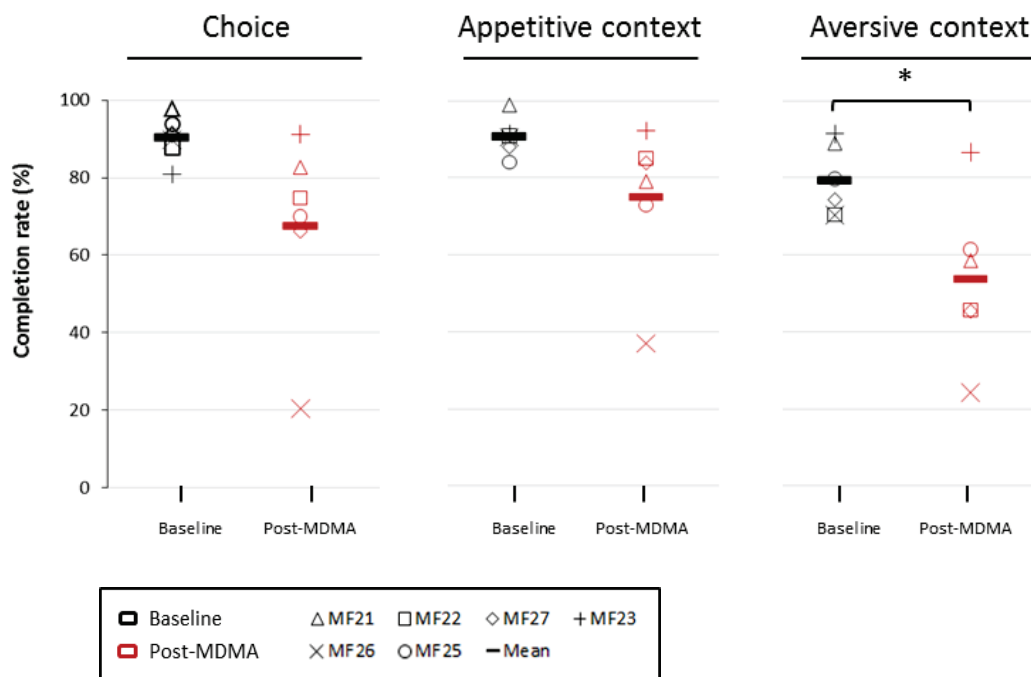
étude a été de tester l'impact d'une lésion sérotoninergique sur l'apparition des troubles de nature neuropsychiatrique et de tester l'efficacité de la fluoxétine sur les comportements de type anxieux. Nous avons donc examiné l'effet de ce traitement avant et après lésion sérotoninergique (en absence de lésion dopaminergique afin de modéliser le stade très précoce de la maladie et pour ne pas avoir de facteur confondant) et évalué la modulation du comportement de type anxieux à l'aide d'une tâche comportementale d'approche et d'évitement. A noter que le traitement fluoxétine était réalisé selon un protocole aigu (1 injection par semaine sur 4 semaines) ou un protocole chronique (1 injection par jour sur 21 jours consécutifs) en sachant que chaque animal a reçu le même protocole de lésion sérotoninergique via l'utilisation de la MDMA. Pour cette étude nous avons évalué plusieurs paramètres en commençant par l'impact d'une lésion sérotoninergique puis par l'efficacité d'un traitement fluoxétine aigu et chronique avant et après cette lésion.

### *1.1 Impact de la lésion sérotoninergique*

Avant d'aborder l'effet comportemental de la lésion, nous avons vérifié l'impact de la MDMA injectée sur l'intégrité du système sérotoninergique (injection 2 fois par jour sur 4 jours consécutifs). Grâce à l'utilisation de l'imagerie TEP avec le traceur DASB (fixant le transporteur de la sérotonine), nous observons une nette diminution de ces transporteurs après lésion dans les régions striatales mais également au niveau de régions corticales et sous-corticales, ce qui avait déjà été montré chez le singe (Ricaurte, Forno, et al., 1988)

Cette altération sérotoninergique est associée à une altération comportementale détectée au travers des performances des animaux réalisées durant les différentes

tâches. La tâche de choix nous permettra de connaître la motivation de l'animal à l'état basal. La tâche d'approche et d'évitement, plaçant l'animal dans un contexte positif et négatif, nous permettra d'évaluer des comportements de type anxieux, apathiques ou à l'inverse une grande motivation. L'évaluation du comportement durant ces différentes tâches peut se faire sur différents critères : le nombre d'essais réussi, par jour ou durant les sessions (pourcentage du taux de réussite) ou par les différents types d'erreurs. Les omissions, l'animal laisse passer l'essai sans répondre et les réponses prématurées qui correspondent à un relâchement précoce de la barre de détection de la main.



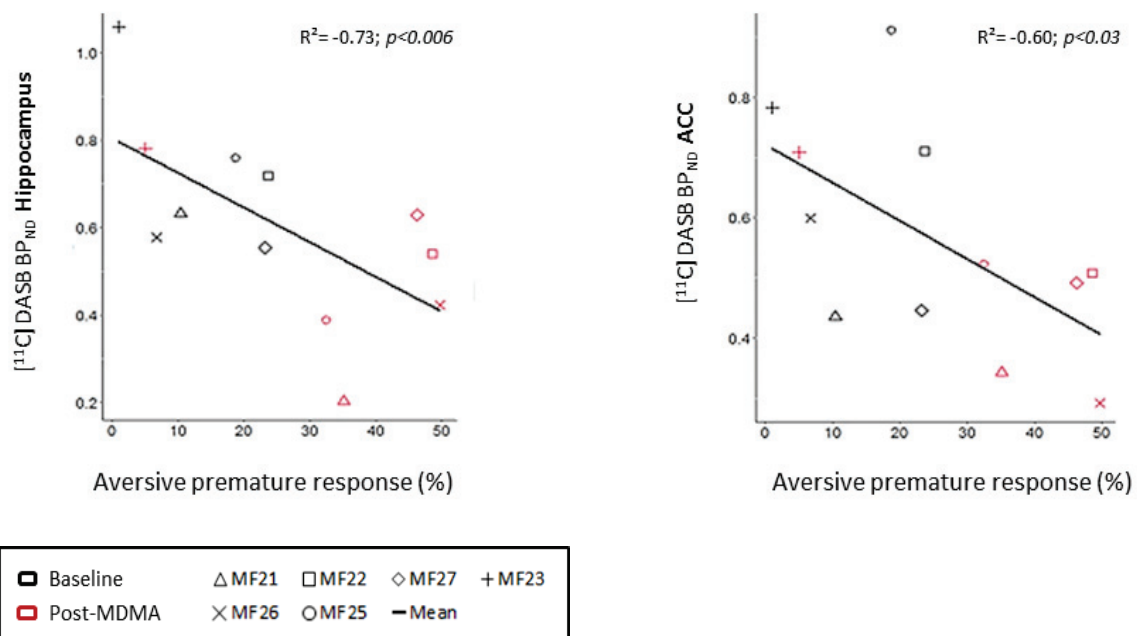
**Figure 43 :** Taux de réussite lors de la tâche d'approche et d'évitement dans la condition contrôlée (« baseline ») et après lésion MDMA (post-MDMA) selon les différents contextes (n=6).

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  par rapport à la condition contrôlée. Anova et Bonferroni post-hoc.

Lorsque l'on s'intéresse aux performances générales (nombre d'essais journaliers réalisés) nous constatons qu'après lésion MDMA, les performances diminuent de façon conséquente. L'analyse du comportement dans les différents contextes de cette tâche montre une altération des performances uniquement dans le contexte aversif avec une

diminution des essais réussis par session pour tous les animaux par rapport à la condition contrôle (Figure 43). Les animaux développent un phénotype anxieux après la lésion MDMA. Les performances dans le contexte de choix ou le contexte appétitif ne sont quant à elles pas impactées par la lésion sérotoninergique (dans la majorité des cas).

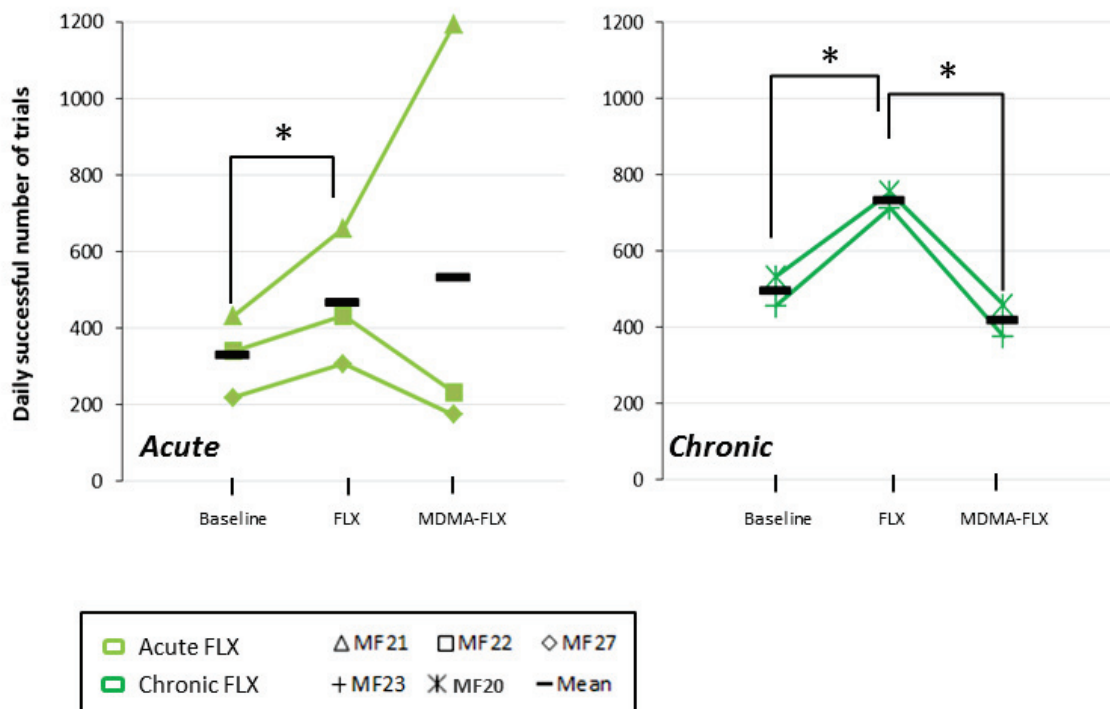
Au vu de ces résultats, nous avons analysé si la dénervation sérotoninergique dans des régions particulières pouvait sous-tendre ce phénotype anxieux. Nous avons mis en évidence des corrélations négatives entre le taux de réponse prématurée et la fixation du radiotracer DASB dans les régions suivantes, l'hippocampe, le putamen antérieur et le cortex cingulaire antérieur (Figure 44). De plus, on notera que plus la lésion sérotoninergique est importante, plus le comportement de type anxieux est important.



**Figure 44 :** Corrélations entre les réponses prématurées en contexte aversif et la fixation du DASB dans l'hippocampe et le cortex cingulaire antérieur (ACC). Symbole noir : condition contrôle, symbole rouge : après lésion MDMA.

## 1.2 Efficacité d'un traitement à la fluoxétine avant et après une lésion sérotoninergique

Comme nous l'avons précisé précédemment, nous avons analysé l'impact d'un traitement à la fluoxétine selon un protocole aigu (n = 3 singes, 4 mg/kg, une injection par semaine sur 4 semaines) et chronique (n = 3 singes, 2 mg/kg/jours sur 21 jours), cela avant et après la lésion sérotoninergique. Nous nous sommes intéressés cette fois au taux de réussite journalier avant la lésion sérotoninergique. Quel que soit le type de traitement, aigu ou chronique, les animaux présentent une amélioration des performances traduite par une augmentation significative du nombre d'essai journalier par rapport aux performances contrôles. Pour les animaux ayant un traitement chronique, on observe également une augmentation du taux de réussite dans le contexte aversif (cf Article 1, Figure 4A). Après lésion des fibres sérotoninergiques, quatre singes



**Figure 45 :** Graphiques des performances journalières en condition contrôlée, sous fluoxétine (FLX) et sous fluoxétine après lésion MDMA (MDMA-FLX). Traitement fluoxétine aigu (vert clair) et chronique (vert foncé)

sur cinq ont un retour de leurs performances au niveau contrôle (Figure 45).

Nous constatons qu'un animal ayant reçu un traitement à la fluoxétine aigu a une réponse qui va dans le sens inverse des autres singes. Il présente des performances largement supérieures après MDMA en comparaison de ces performances en contrôle et même sous fluoxétine avant MDMA. Ce résultat pourrait s'expliquer par une atteinte différente du système sérotoninergique ou une repousse des fibres en réponse à la MDMA. Néanmoins, à cette étape du protocole, il n'était pas possible de sacrifier les animaux pour réaliser des analyses post-mortem.

En conclusion de cette première partie, nous avons montré que la lésion des fibres sérotoninergiques, particulièrement dans l'hippocampe, le cortex cingulaire antérieur et le putamen antérieur, est associée à l'apparition d'un comportement anxieux chez tous nos animaux. Ces données sont en accord avec celles de la littérature, comme nous le verrons plus tard dans la discussion générale. Concernant le traitement à la fluoxétine, nous avons démontré que ce traitement permet une amélioration des performances dans le contexte aversif de la tâche comportementale mais que cet effet bénéfique est perdu après une lésion des fibres sérotoninergiques. Donc le degré d'occupation de cet ISRS joue un rôle majeur dans l'efficacité de la réponse thérapeutique, efficacité qui va nettement décroître après la lésion des fibres sérotoninergiques. Nous aborderons également ce point dans la discussion générale.

## **Article 2: Prior MDMA administration aggravates MPTP-induced parkinsonism in non-human primates.**

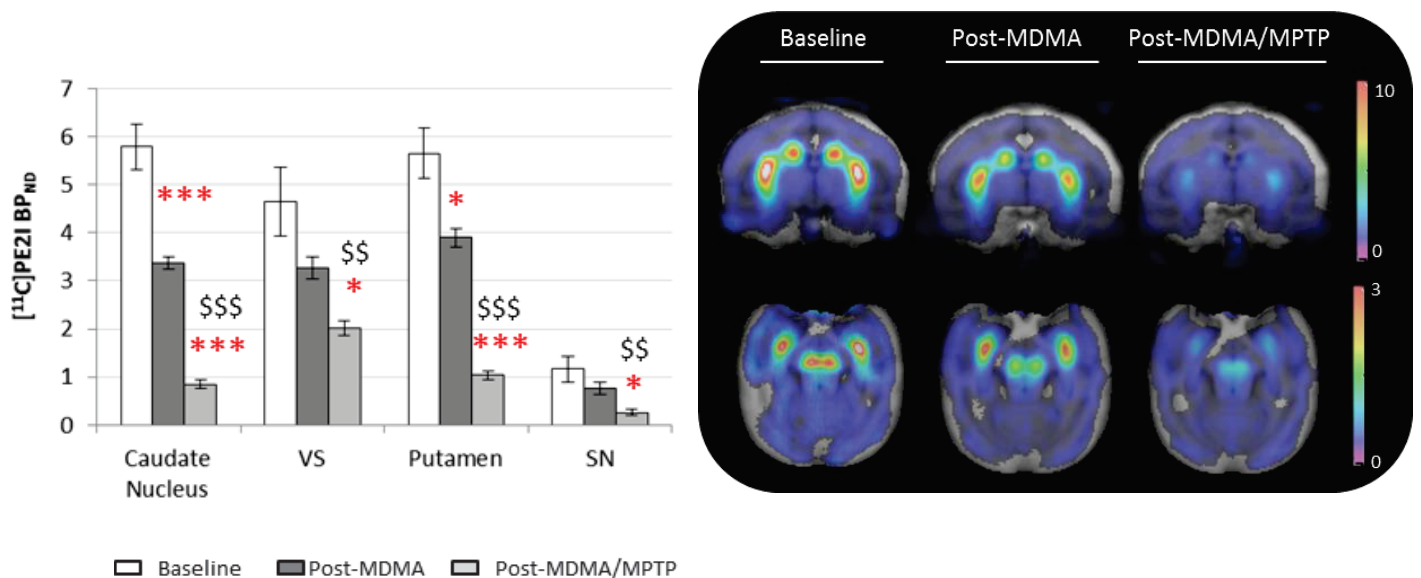
Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés aux répercussions de cette lésion sérotoninergique précoce sur la symptomatologie parkinsonienne induite par la lésion dopaminergique au MPTP. Des études clinique et pré-clinique mettent en évidence un lien entre la dégénérescence sérotoninergique et l'expression de symptômes moteurs. On voit ainsi que chez les patients parkinsoniens, il existe une corrélation entre la lésion sérotoninergique et la sévérité du tremblement (Doder et al., 2003). Cependant, il est ardu de dissocier l'implication des deux neurotransmetteurs sérotoninergique et dopaminergique dans l'expression de ces symptômes.

Aujourd'hui, il est difficile de connaître le décours temporel de cette lésion sérotoninergique. A notre connaissance, une seule étude d'imagerie a suivi sur une période de trois ans la dégénérescence de la sérotonine via la diminution du marquage du SERT qui serait d'environ 4.7% dans le raphé par an chez les patients en début de maladie (Nicola Pavese et al., 2011). D'après l'hypothèse de Braak, cette altération débiterait avant la dégénérescence dopaminergique. A ce jour aucune étude n'a évalué l'impact de cette lésion précoce sur la symptomatologie parkinsonienne. Notre objectif est de déterminer si cette lésion sérotoninergique précoce peut impacter l'évolution ou/et la sévérité des symptômes induits par la lésion du système dopaminergique avec la toxine MPTP. Il est important de noter que la lésion sérotoninergique précoce n'a pas eu d'impact sur le plan moteur. Le score moteur de chaque animal a été évalué à l'aide de l'échelle de Schneider and Kovelowski avant, pendant et après l'intoxication au MPTP et ce jusqu'à la récupération des symptômes moteurs. Cette échelle nous permet de

quantifier différents items comme l'activité spontanée, la rigidité, le tremblement ou encore la prise alimentaire. Plus l'animal aura un score élevé, plus il sera symptomatique. Nous allons voir que deux résultats majeurs ressortent de ce travail.

### 1.1 Impact de la MDMA et du MPTP sur l'intégrité des systèmes sérotoninergique et dopaminergique

La lésion du système sérotoninergique a été induite à l'aide de la MDMA (ou ecstasy). Comme attendu, les fibres sérotoninergiques sont atteintes majoritairement mais de façon surprenante, nous avons constaté qu'à la suite de cette lésion MDMA, le système dopaminergique était également touché. On observe en effet une baisse de la fixation du traceur Pe2i après lésion MDMA, qui s'effondre par la suite après lésion MPTP (Figure 46).



**Figure 46 :** Graphique et images TEP décrivant la réduction du marquage Pe2i après la lésion MDMA seule et la lésion MDMA/MPTP (n =5).

\* p< 0.05, \*\* p<0.01, \*\*\*p<0.001 par rapport à la condition contrôle. \$\$ p<0.01, \$\$\$p<0.001 par rapport à la condition post-MDMA. L'échelle de couleurs représente le taux de marquage (le rouge indique un marquage fort alors que le violet indique un marquage faible)



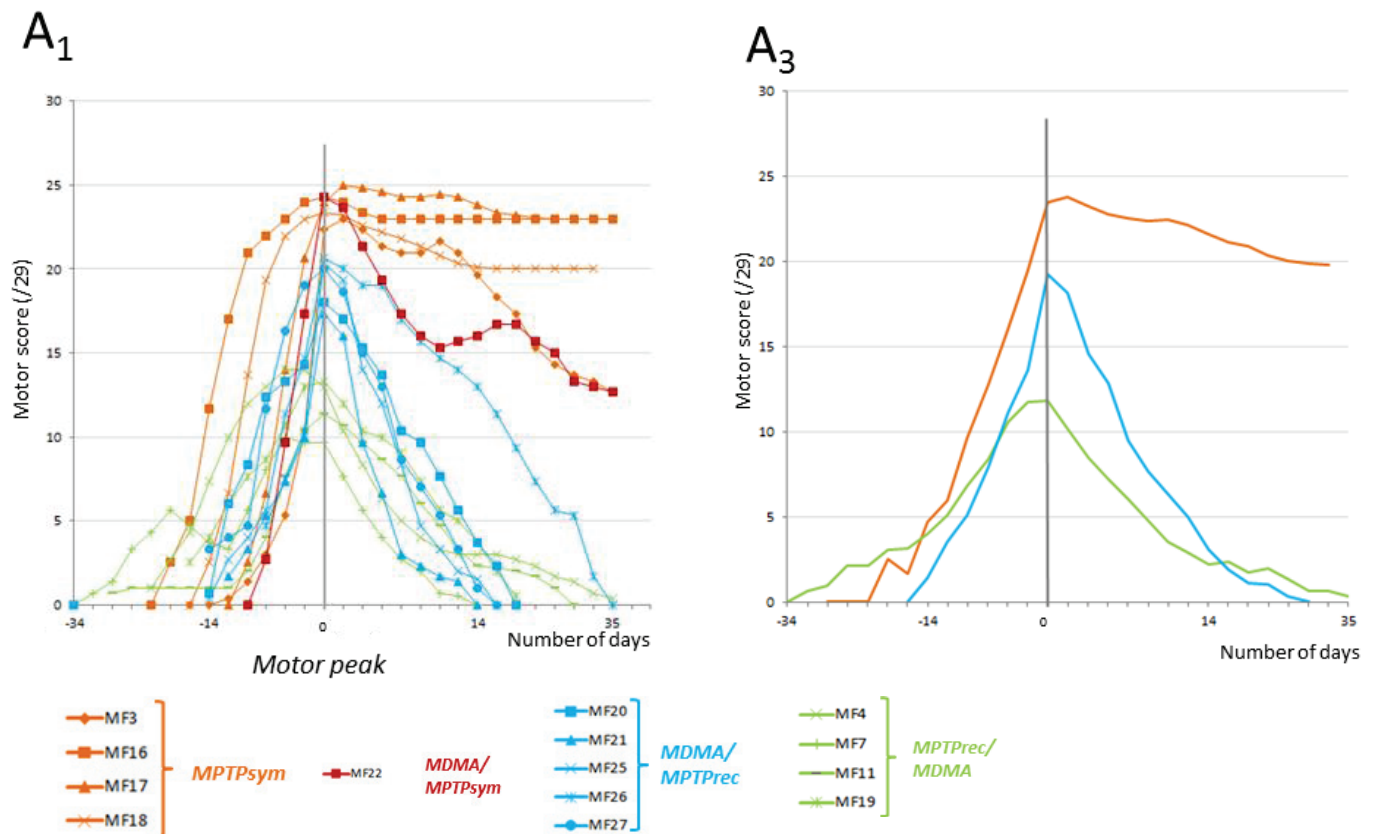
Cette réduction du marquage est particulièrement notable dans le noyau caudé, le striatum ventral, le putamen ainsi que dans la substance noire (Figure 46). Ces résultats seront discutés plus loin dans la discussion générale.

### *1.2 Impact de la lésion sérotoninergique précoce sur l'évolution et la sévérité des symptômes moteurs induits par MPTP*

Nous avons comparé l'évolution ainsi que la sévérité des symptômes développés par les singes de trois groupes expérimentaux. Les singes du groupe « MPTPrec », présentent une lésion MPTP modérée uniquement et ne possèdent plus de symptômes moteurs après une période de récupération, ils sont dits récupérés. Ils sont nommés en tant que groupe MPTPrec/MDMA dans les figures, car une lésion MDMA sera faite plus tard, bien après l'évaluation motrice. Les singes du groupe « MPTPsymp », ont une lésion MPTP sévère et ils présentent des symptômes moteurs persistants, ils sont dits symptomatiques. Enfin, les singes du groupe « MDMA/MPTPrec », ces animaux présentent une lésion MDMA précoce puis une lésion MPTP modérée, ils n'exprimeront plus de symptômes moteurs à long terme, ils sont dits récupérés (à l'exception d'un animal, nous en discuterons par la suite).

Dans un premier temps, nous constatons que le score moteur général est différent pour chaque groupe. De façon intéressante, la progression du score moteur parkinsonien pour les singes ayant la double lésion se situe entre ceux obtenus par les singes des groupes MPTPrec et MPTPsymp (Figure 47, courbes bleues). De plus, le temps entre l'apparition du premier symptôme moteur et le pic moteur est plus court pour les animaux MDMA/MPTPrec par rapport aux autres, la progression des symptômes semble évoluer plus rapidement (Figure 47).

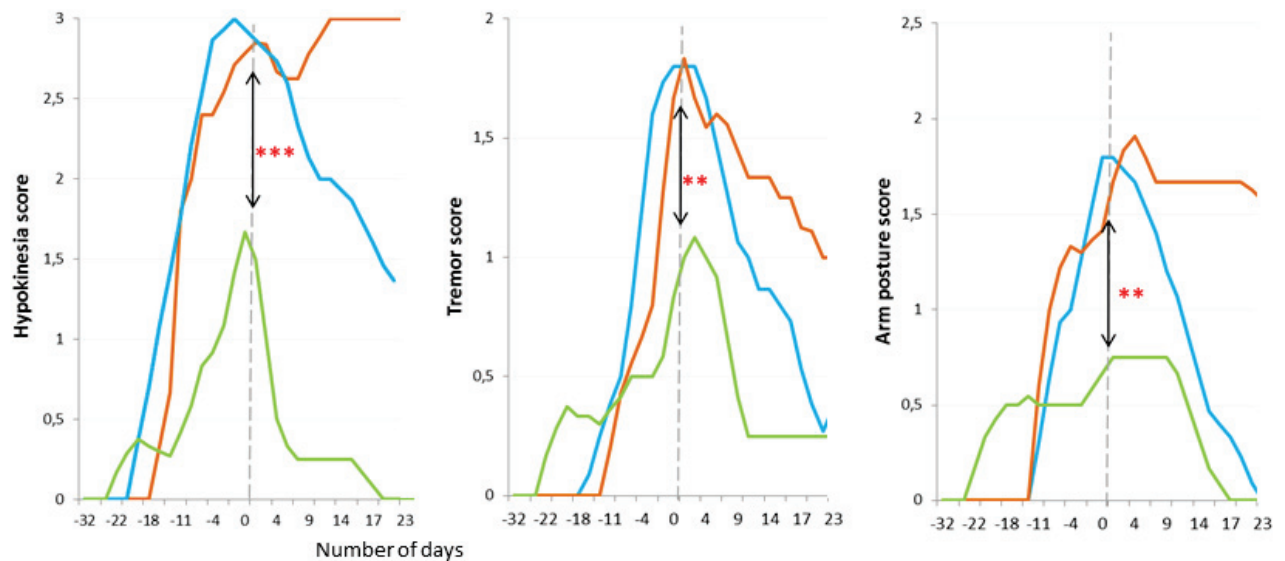
De plus, ces animaux présentent une sévérité motrice plus importante que les animaux MPTPrec au pic moteur (Figure 47).



**Figure 47 :** Evolution du score moteur pour chaque singe (à gauche) puis pour chaque groupe (à droite) au cours du temps. Le pic moteur est le score moteur maximal atteint. A1 : score détaillé par singe. A3 : Score moyenné pour chaque groupe.

Dans un second temps, l'analyse détaillée des différents symptômes développés par les animaux, suggère que la lésion sérotoninergique impacte de manière plus importante certains symptômes. Pour des symptômes touchant l'activité spontanée (hypokinésie, mouvements des bras, et mouvements spontanés des yeux), le tremblement ou encore la posture, les singes MDMA/MPTPrec présentent un profil de progression très semblable à celui des singes MPTPsym, tant au niveau de l'évolution

que de la sévérité. On note également une différence significative entre ce groupe doublement lésé et les singes MPTPrec au pic moteur (Figure 48).



**Figure 48 :** Evolution du score moteur d'hypokinésie, du tremblement et de la posture du bras au cours du temps.

(courbe orange : MPTPrec, courbe verte : MPTPrec, courbe bleue : MDMA/MPTPrec). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ . Jour 0 : pic moteur

A l'inverse nous observons que pour le score de bradykinésie, de freezing ou encore de rigidité, les singes MDMA/MPTPrec ont un profil plus proche des singes MPTPrec et significativement différent du groupe MPTPrec au pic moteur.

L'analyse plus poussée de l'aire sous la courbe, indice de la sévérité et de la progression des symptômes, nous permet de voir une sévérité plus importante concernant l'activité spontanée de nos singes doublement lésés en comparaison des singes MPTPrec.

Cette sévérité plus importante et ce décours temporel d'apparition des symptômes plus rapide chez les singes MDMA/MPTPrec suggèrent bien une implication du système sérotoninergique dans l'expression de certains troubles moteurs, particulièrement le tremblement que l'on sait lié au déficit sérotoninergique. Il est donc

très intéressant de voir que la sévérité de ce symptôme est bien modulée selon les différents groupes de singes. L'activité spontanée et les troubles posturaux sont également plus touchés pour les animaux doublement lésés. Nous discuterons ce point par la suite dans la discussion générale.

Au vu de ces résultats nous constatons qu'une lésion sérotoninergique précoce n'empêche pas l'effet lésionnel du MPTP. Au contraire, elle augmente son effet sur la sévérité et l'évolution du parkinsonisme induit par le MPTP, et cela de façon plus spécifique sur certains symptômes. La variation de progression et de sévérité entre les différents groupes est donc en lien avec la sévérité des lésions mais également le type de lésion (sérotoninergique et dopaminergique). Ces résultats sont à confronter aux différents profils qui existent chez les patients parkinsoniens : trembleur et akinéto-rigide, chez lesquels les lésions de ces deux systèmes ne sont pas identiques (Qamhawi et al., 2015). Nous discuterons de l'ensemble de ces résultats dans la discussion générale.

### **Article 3: Impact of pramipexole treatment on double lesioned monkeys. (travail expérimental en cours)**

Enfin dans une dernière partie, nous avons étudié l'impact d'un traitement chronique au pramipexole sur ces animaux doublement lésés MDMA/MPTP. En effet, les agonistes dopaminergiques sont régulièrement prescrits chez les patients parkinsoniens, c'est le cas du pramipexole. Seul ou en association avec la L-Dopa, il aurait une efficacité sur la symptomatologie motrice mais aussi sur les symptômes non-moteurs comme la dépression. Cependant, de nombreux effets secondaires sont développés chez les patients pouvant être des troubles impulsifs, des hallucinations ou encore des dyskinésies. Les études pré-cliniques utilisant le pramipexole se situent toujours dans un contexte de lésion dopaminergique unique. Cependant, les patients parkinsoniens présentent également des altérations du système sérotoninergique. Nous avons donc voulu tester l'impact d'un traitement au pramipexole sur ces animaux doublement lésés.

Dans un premier temps, nous avons mis au point la dose à utiliser. En effet, aucune étude publiée n'a utilisé le pramipexole chez le singe parkinsonien. Ensuite nous avons procédé au traitement chronique sur 6 semaines consécutives. Nous avons réalisé un suivi longitudinal du système dopaminergique et sérotoninergique par imagerie TEP. Ces résultats TEP nous montrent que la fixation du raclopride diminue sous pramipexole. Nous avons également constaté une influence de ce traitement chronique sur le marquage du radiotracer SB 207145, fixant les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>. L'évaluation de ces récepteurs était importante à suivre car ils sont impliqués dans des comportements anxieux et apathiques.

Lorsque nous observons les performances des animaux lors de la tâche comportementale nous constatons des modifications du comportement. Les animaux présentent des diminutions de performances exclusivement dans le contexte aversif. La motivation ne semblerait pas altérée comme cela est démontré par les performances observées en condition de choix et dans le contexte appétitif.

Pour compléter ces données, nous avons évalué l'activité spontanée de chaque animal. Cela a permis de mettre en évidence deux résultats très intéressants. Premièrement, le pramipexole à la dose choisie a induit chez un des animaux présentant encore des symptômes moteurs après la lésion MDMA/MPTP, un effet anti-parkinsonien. Ce dernier s'est traduit par une diminution du score moteur et une augmentation de l'activité spontanée dès le début du traitement. Deuxièmement, pour les animaux asymptomatiques, ayant récupéré de leurs symptômes moteurs, le pramipexole a induit une augmentation de l'activité spontanée, pour atteindre un pic d'effet du traitement, suivi d'une phase de plateau puis d'une diminution.

Ces données préliminaires nécessitent des investigations supplémentaires avant d'être publiées. Il serait nécessaire de réaliser un groupe traité uniquement au MPTP et au pramipexole afin de pouvoir comparer ces données avec le groupe doublement lésé. Cela permettra de déterminer l'impact de la lésion MDMA précoce et le rôle de la sérotonine dans l'expression de ce trouble psycho-comportemental et la modification de l'activité spontanée induite par le traitement chronique au pramipexole. Est-ce que cette activité en cage sera toujours augmentée ? Est-ce que les animaux auront un profil de type anxieux aussi marqué ?

# ARTICLE 1

# **MDMA administration induces an anxious-like behavior in non-human primates**

Mathilde Millot<sup>1</sup>, Guillaume Drui<sup>1</sup>, Yosuke Saga<sup>1</sup>, Elise Météreau<sup>1</sup>, Sandra Duperrier<sup>1</sup>, Léon Tremblay<sup>1</sup>, Véronique Sgambato<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Univ Lyon, CNRS, Institut des Sciences Cognitives Marc Jeannerod UMR 5229, F-69675, Bron, France.

\*Corresponding author.

## **Summary**

Serotonin dysfunction has been linked to anxiety disorders. Most therapeutic approaches rely on the use of selective serotonin reuptake inhibitors, such as fluoxetine (or “Prozac”). However, only half of the patients respond to these treatments. The aim of this non-human primate study was twofold: first, investigate the brain regions whose serotonin injury is causally related to anxiety and second, identify the determinants of fluoxetine efficacy. Monkeys received fluoxetine before and after administration of 3,4-methylenedioxy-N-methamphetamine (MDMA, or “ecstasy”), known to lesion serotonergic fibers. We combined behavioural assessment, PET imaging, and serotonin transporter polymorphism. Macaque monkeys displayed an enhanced anxious-like behavior after MDMA. They exhibited a significantly lower rate of completion and higher rate of escape behavior in the aversive context of an approach-avoidance behavioral task. In addition, the more severe serotonergic lesion in the anterior putamen, anterior cingulate cortex and hippocampus, the higher the anxious behavior. All monkeys were La carriers for the serotonin transporter polymorphism and treatment with fluoxetine decreased anxiety only when serotonergic fibers within this cortico-limbic network were not injured. These findings demonstrate that both severity of



anxious-like behavior and efficacy of fluoxetine treatment depend on the integrity of the serotonergic projection to cortico-limbic circuits involving the anterior putamen, the anterior cingulate cortex and the hippocampus in non-human primates. They further highlight the risk for illicit drug users to develop anxiety disorders.

**Keywords**

Anxiety, Serotonin, Fluoxetine, Ecstasy, Neuropsychiatric symptoms, Serotonin transporter polymorphism.

## Introduction

Anxiety disorders are the most prevalent psychiatric disorders and are associated with a high burden of illness. Specific phobias are the most common, followed by panic disorder, with or without agoraphobia (PDA), social phobia (also called social anxiety disorder SAD) and generalized anxiety disorder (GAD).<sup>1</sup> Obsessive-compulsive disorder (OCD) and post-traumatic disorder (PTSD) were formerly included in the anxiety disorders, but have now been placed in other chapters in the fifth edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM-5). By contrast the group of anxiety disorders has been expanded to include separation anxiety disorder (specific for children), selective mutism and illness anxiety disorder (formerly called hypochondriasis). The current understanding of the etiology of anxiety disorders includes an interaction of psychosocial factors and a genetic vulnerability. Specific biomarkers of anxiety disorders have yet to be identified.

Numerous studies performed in both animals and humans have evidenced a link between serotonin (5-HT) and anxiety. Genetic polymorphisms in the serotonergic genes are closely linked to anxiety disorders.<sup>2</sup> In particular, there is a functional polymorphism located in the serotonin transporter (SERT) promoter region, called 5-HTTLPR and consisting of an insertion/deletion of a 44 base pairs, which affects SERT.<sup>2-4</sup> The short variant leads to weaker SERT transcription and activity than the long variant.<sup>5-6</sup> And individuals with the short 5-HTTLPR allele have greater anxiety-related personality characteristics.<sup>4</sup> Imaging studies have also evidenced a serotonergic dysfunction in anxiety disorders. A decrease of SERT within the raphe and the temporal lobe correlates with severity of anxiety in patients with panic disorders. Decreasing 5-HT levels by using tryptophan depletion (tryptophan being the serotonin precursor) exacerbates sensitivity to stressors in anxiety disorders.<sup>1,7</sup> Lower levels of serotonin are also associated to anxiety in animal models. Knock out mice for the

serotonin synthesizing enzyme, 5-HT<sub>1A</sub> receptors or SERT display enhanced anxiety-like behaviors.<sup>8-10</sup> In rats, decreased levels of serotonin in the medial PFC, amygdala and hippocampus are associated to anxiety-like behaviors.<sup>11,12</sup> Similarly, high anxious non-human primates (NHP) display low serotonin levels in the amygdalo-hippocampal area.<sup>13,14</sup>

Although correlative, these data on the importance of the serotonin system in the expression of anxiety disorders are to confront with therapeutic ones. Most antidepressant drugs for the treatment of anxiety disorders have effects on the serotonergic system. Numerous studies have shown the efficacy of selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) to counteract anxious-like symptoms in various rodent models.<sup>8</sup> On the contrary, few studies are available in NHP. Fluoxetine reduces self-injurious and stereotypic behavior<sup>15</sup>, cocaine auto-administration<sup>16</sup> and acute MDMA-induced behavioral task<sup>17</sup>. More recently, it has been shown that fluoxetine reverses abnormal behaviors and brain activities in a macaque model of autism spectrum disorder<sup>18</sup>. Altogether, these data reveal that, the specific role of serotonin in the expression of anxiety, and the way SSRI mediate their beneficial role, remain to be investigated, especially in the primate. Indeed, while antidepressants are widely used to treat anxiety disorders, only half of the patients respond to antidepressant treatment and only a third of patients experience a remission of symptoms. The present NHP study aimed therefore at investigating the effects of a serotonergic lesion induced by MDMA or Ecstasy<sup>19</sup> on anxiety and at identifying on what relies the beneficial effect mediated by fluoxetine.

## **Results**

### **The more severe the MDMA lesion, the more anxious the behavior**

In order to lesion the serotonergic system, all monkeys received MDMA (Methods). After MDMA intoxication, we observed a significant decrease of binding of the serotonin transporter ligand, the [<sup>11</sup>C]DASB, within most of the regions of interest (ROIs) (p corrected

for multiple comparisons  $< 0.0035$ ; Fig 1). These regions included both parts of the putamen (anterior and posterior), the thalamus, hippocampus, amygdala, insula, and the prefrontal (PFC, resulting from the combination of the dorsolateral, medial, ventral and orbital frontal cortices), anterior cingulate and temporal cortices. Inside the other ROIs, namely the caudate nucleus (anterior and posterior parts), ventral striatum, pallidum (both external and internal parts) and the raphe nucleus, there were no significant variations of [ $^{11}\text{C}$ ]DASB binding after MDMA compared to baseline.

At the behavioral level, while the percentages of approach and avoidance remained unchanged after serotonin lesion (supplementary Table 1), we evidenced a slump of the number of daily successful trial after MDMA (Fig 2A,  $p=0.048$ ). We then looked at the different tasks (choice and imperative) and contexts (appetitive or aversive). By performing ANOVA analysis (Methods), we found a significant increase of premature responses rate ( $p=0.021$ ) and decrease of the completion rate ( $p=0.015$ ), only in the aversive context of the imperative task, whatever the period analyzed during the task (Fig 2B and Supplementary Table 1). MDMA evoked no significant changes regarding non-initiated choices (NIC), whatever the task or context used (supplementary Table 1).

We then looked for relationships between the severity of the serotonergic lesion and the behavioral markers. We found significant positive correlations between the [ $^{11}\text{C}$ ]DASB binding reductions within the hippocampus ( $p=0.005$ ;  $R^2=0.75$ ) and the anterior putamen ( $p=0.022$ ;  $R^2=0.65$ ) [as well as the thalamus ( $p=0.012$ ;  $R^2=0.69$ ) and the PFC ( $p=0.0102$ ;  $R^2=0.71$ ; data not shown)] and the completion rate (Fig 2C-D). Similarly, we found significant negative correlations between the severity of the serotonergic lesion within the hippocampus ( $p=0.006$ ;  $R^2=-0.73$ ) and the anterior cingulate cortex ( $p=0.038$ ;  $R^2=-0.6$ ) [but

also the thalamus ( $p=0.0358$ ;  $R^2=-0.61$ ) and anterior putamen ( $p=0.0092$ ;  $R^2=-0.71$ ) (data not shown)] and the increased premature responses rate in the aversive condition (Fig 2E-F).

Finally, we investigated whether monkeys displayed different SERT polymorphism (Figure 3). For the 5-HTTLPR region, we found that all monkeys were homozygotes for the long allele. For the 5-HTT rs25531, all monkeys were homozygotes A. So all monkeys displayed the  $L_A$  allele which is associated to high SERT transcription.

### **The anxiolytic action of fluoxetine relies on preserved serotonergic fibers**

In order to use fluoxetine (FLX), a selective serotonergic reuptake inhibitor, as a therapeutic treatment for anxiety, we first assessed its *in vivo* efficacy to bind to the SERT. As expected, systemic injections of FLX (Methods) induced a significant blockade of [ $^{11}C$ ]DASB binding within all ROIs ( $p$  corrected for multiple comparisons  $< 0.0035$ ; Fig 4).

At the behavioral level, while the percentages of approach and avoidance remained unchanged after FLX treatment (supplementary Table 2), we evidenced a significant increase of the number of daily successful trial after FLX whatever the treatment used (acute,  $p=0.040$  or chronic,  $p=0.047$ ) (Fig 5A and B). We then looked at the different tasks (choice and imperative) and contexts (appetitive or aversive). By performing ANOVA analysis (Methods), chronic FLX induced a significant increase of the completion rate ( $p=0.05$ ) only in the aversive context of the imperative task specifically. This increase was evidenced during the second period of the task (Fig 5C and Supplementary Table 2). FLX treatment did not affect the performances during the choice task or during the appetitive context of the imperative task (Supplementary table 2).

After MDMA, we observed an alteration of the beneficial treatment of FLX. We observed a loss of the beneficial effect of FLX in 4 out of 5 monkeys whatever the regimen of treatment used (Fig 5). Only one monkey displayed a persistent increased of daily trials number in response to acute FLX treatment after MDMA (Fig 5A). All other animals (acutely and chronically treated) exhibited a daily trials number which returned to baseline (Fig 5A). Finally, the increased completion rate which was significant during the second period of the aversive imperative task under FLX, was no more evidenced by FLX after MDMA (Fig 5B). We then looked at variations of [ $^{11}\text{C}$ ]DASB  $\text{BP}_{\text{ND}}$  between MDMA and MDMA/FLX states among individuals in the main ROIs (anterior putamen, hippocampus and ACC). For acutely FLX treated animals, 2 out of 3 displayed a lower binding after FLX, the other one displaying the opposite pattern, i.e., an increase. For chronically treated monkeys, the binding either decreased or remained stable or slightly decreased.

## Discussion

The findings reported here raise several important points. First, monkeys exhibited an anxious-like behavior following MDMA-induced lesion of serotonergic fibers in specific cortico-limbic regions. Second, the beneficial effects of fluoxetine to counteract this behavior relied on the integrity of serotonergic fibers (Fig 6).

MDMA led to a decrease of 5-HT terminals (visualized by a decrease of SERT binding) within the hippocampus, amygdala, insula, putamen, thalamus and prefrontal, anterior cingulate and temporal cortices. Our study further demonstrates a causal relationship between serotonergic injury and enhanced anxious-like behavior, the severity of 5-HT lesion within the hippocampus, ACC and anterior putamen correlating with severity of aversive sensibility. Such results involving serotonin depletion in both hippocampus and ACC fits well

with the plethora of studies having highlighted the key role of these brain regions in modulating anxiety disorders.<sup>20</sup> In NHP, brain regions associated with freezing responses and threat are the dorsal ACC, the brainstem (including the raphe), the lateral thalamus and limbic regions (including the anterior hippocampus).<sup>21,22</sup> Models of anxiety and fear in NHP focus on responses to human intruders<sup>23</sup> and low serotonin levels in the amygdalo-hippocampal area are positively correlated with the anxious temperament<sup>13</sup>. High anxious marmosets show also reduced amygdala serotonin levels and smaller volume in the dorsal anterior cingulate cortex<sup>14</sup>. Finally, monkeys with neonatal hippocampal lesion exhibit long-term increased anxiety-like behavior.<sup>24</sup> In monkeys, there is a dense projection originating from the hippocampus that projects to orbital and medial regions of the PFC including areas 24, 25 and 32 (corresponding to the ACC).<sup>25,26</sup> The amygdala and hippocampus are key component of the neuronal circuit predictive of anxious temperament in NHP, with significant heritability of metabolic activity in anxiety-related hippocampal regions.<sup>27</sup> Still in NHP, lesions of the hippocampus lead to abnormal responses to social signals and degradation of social bonds.<sup>28</sup> Monkeys with prenatal hippocampal lesion exhibit enhanced anxiety.<sup>24</sup> At the clinical level, phobic patients have greater activation in response to phobia-related stimuli in the amygdala, insula and the thalamus.<sup>29</sup> Patients with panic disorders also show greater activity in regions like hippocampus, amygdala, cingulate cortex and cognitive behavioral therapy reduces those activations.<sup>29</sup> Patients with PTSD consistently show impairments in the contextual modulation of both fear extinction and enhancement, and vmPFC seems to be particularly deficient. And PTSD patients exhibit a reduced hippocampal volume.<sup>30</sup> The striatum is also consistently implicated in fear conditioning studies in humans.<sup>31</sup> Striatum-amygdala interactions have been observed in avoidance learning during fear conditioning<sup>32</sup> suggesting that the striatum accesses information from the amygdala when decision-making is occurring in a fear-full environment. Despite the key role of the ventral striatum in motivation circuits, the rodent

literature clearly supports a role for the ventral striatum in fear and anxiety related behaviors.<sup>33</sup> For example, the electrical stimulation of the ventral striatum enhances extinction of conditioned fear.<sup>34</sup> The only striatal region whose serotonergic depletion was correlated to the anxious phenotype of our monkeys was the anterior putamen. The involvement of the anterior putamen in cognitive control over automaticity/habit formation, might play a role in the manifestation of the obsessional and compulsive traits. The volume of the putamen correlates with obsessive compulsive characteristics in the healthy population<sup>35</sup> and there is an alteration of grey matter in this region in OCD patients.<sup>36,37</sup> The anterior putamen shows abnormally low volume in PTSD and panic disorder patients<sup>37</sup> and may there be involved, through its connections with the prefrontal cortex, in modulating anxiety disorders.

The second important finding reported here is that there was a beneficial effect of fluoxetine treatment on the behavioral markers of aversive anticipation for the majority of the monkeys. It has been shown that the 5-TTLPR polymorphism (short S or long L allele), as well as the presence of an A/G single nucleotide polymorphism (rs25531) within the SERT promoter, can affect transporter function and treatment outcomes.<sup>2</sup> Interestingly, we found that all our monkeys were La carriers, showing the highest transcription of SERT<sup>38</sup> and the better response to SSRI treatments in GAD.<sup>39,40</sup> Given that the onset of anxiolytic effect of these drugs has a latency of two to four weeks, with a possible initial anxiogenic effect, we have compared acute and chronic (3 weeks) fluoxetine treatments. However, we did not really detect behavioral differences and this might be due to the long half-life of fluoxetine. At the clinical level, long-term administration of serotonin reuptake inhibitors results in an impressive symptom reduction in patients with anxiety disorders, although not all patients achieve an adequate clinic therapeutic response.<sup>41</sup> Serotonin increases and stimulates postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the stress-sensitive limbic regions, dampening down



overactivity of the limbic system and reducing anxiety. Panic disorder is associated with reduced limbic 5-HT<sub>1A</sub> receptor availability, which is counteracted after paroxetine treatment in recovered patients.<sup>42</sup> GAD patients, with heightened anticipatory responses in the pregenual ACC, show the largest decrease in symptoms following venlafaxine treatment.<sup>43</sup> Regarding PTSD, therapies rely on imaginal visualization of the traumatic events and exposure to trauma-related cues that trigger fear responses; the goal being fear extinction. Such repeated exposure is associated with strengthened connectivity of the amygdala with hippocampus and insula, as well as mPFC with insula, and hippocampus with striatum, dorsal cingulate cortex and OFC. As half of PTSD patients do not respond adequately, MDMA is used efficiently as an adjunct during psychotherapy sessions, probably by modifying the encoding of emotional memory, through complex mechanisms involving serotonin release.<sup>44</sup> Animal studies also show a beneficial effect of SSRI treatments to reduce anxious-like behaviors.<sup>45</sup> Acutely, SSRI exposure can exacerbate symptoms of anxiety in both patients<sup>46</sup> and rodents.<sup>47,48</sup> The degree of occupancy of the SERT by SSRI appears to be critical in determining therapeutic response and this could explain why, in our study, one monkey treated by chronic fluoxetine remained anxious (data not shown). There is also potentially a difference between the functional loss of SERT activity and the elimination of serotonin, and the SSRI efficacy.<sup>49</sup> Morphological differences can further be induced at the level of the serotonergic fibers by MDMA or fluoxetine. For example, fluoxetine can increase serotonin-immunoreactivity and this effect depends on serotonin fibers integrity.<sup>50</sup> This might explain why we could observe for some regions and animals a slight increase of DASB binding after fluoxetine treatment.

The last important finding demonstrated here is that fluoxetine effects relied on preserved serotonergic fibers. The fact that SSRI therapeutic effects depend on preserved serotonergic fibers has been demonstrated only in rodents so far. For example, the lesion of

the serotonergic fibers has an impact on the therapeutic action of 5-HT<sub>1A</sub> agonist on fluoxetine induced-anorexia.<sup>51</sup> Fluoxetine has an anti-nociceptive effect that is abolished by serotonergic lesion.<sup>52</sup> Anxiolytic and antidepressant effects of vagus nerve stimulation and sertraline (an SSRI) are also both abolished by 5,7-dihydroxytryptamine lesion.<sup>53</sup> In the same vein, anxious rats display indices of enhanced serotonergic transmission and the pharmacological and acute blockade of this serotonergic transmission, with an inhibitor of the tryptophan hydroxylase, reduces anxiety-like behavior selectively in these rats.<sup>54</sup> Our study evidencing the abolition of the anxiolytic effect of fluoxetine after MDMA-driven 5-HT lesion therefore extends those rodent data to NHP specifically in the field of anxiety. The use of a specific 5-HT toxin, such as the 5,7-dihydroxytryptamine,<sup>55,56</sup> would be extremely useful to address the impact of a selective 5-HT lesion within these cortico-limbic regions on both anxious-like behavior and SSRI impact.

## **Conclusions**

For the first time in NHP, we demonstrate that MDMA-driven 5-HT injury induces an anxious-like behavior, which can be counteracted by fluoxetine treatment only when serotonergic fibers are preserved. Knowing that two cases of MDMA-induced anxiety disorders have been reported after one single MDMA dose,<sup>57,58</sup> these findings strengthen the risk for illicit drug users to develop anxiety disorders.

## **Methods**

### **Ethical statement**

All studies were in accordance with the recommendations of the European Communities Council Directive of 2010 (2010/63/UE) and the French National Committee (2013/113). There were also approved by the local ethical committee CELYNE C2EA.

### **Animals**

For this study, we used seven adult macaque *fascicularis* monkeys. All monkeys weighed between 5 and 8 kg and were aged between 4 and 6 years. Animal experimentation was in accordance with the three R's (Reduction, Refinement and replacement). They were kept in a room with 12 light cycles, 23°C and 50% of humidity.

### **Biological sampling and serotonin transporter polymorphism**

Blood samples were collected by saphenous venipuncture into EDTA-treated vacutainer tubes. Following centrifuging, plasma was harvested and genomic DNA was isolated using the DNeasy Blood & Tissue extraction kit (Qiagen, France).

According to the protocol described by Kraemer and collaborators,<sup>59</sup> the 5-HTTLPR region was amplified from 50 ng of genomic DNA with oligonucleotide primers (strp5, 5'-GGCGTTGCCGCTCTGAATGC-3' and intl, 5'-CAGGGGAGATCCTGGGAGGG-3') in 25 µl PCR reactions using the DNA Taq polymerase KAPA HiFi HotStart and the associated PCR System kit, according to the manufacturer's protocol (Roche, France). Amplifications were performed on a 3 PRIMEG thermocycler (Carlo Erba, France) with one denaturation at 95° C/3min followed by 35 cycles of 98° C/20 sec, 67° C/15 sec, 72° C/30 sec, and a final 5 min extension at 72° C. Amplicons were separated by electrophoresis on 4% agarose gels, and

the short (s, 398bp) and long (l, 419bp) alleles of the 5-HTTLPR were identified by visualization following ethidium bromide staining.

Additionally, according to Trefilov and collaborators,<sup>60</sup> the 5-HTT/Exon 3 region was amplified from 140 ng of genomic DNA with primers (Forward 5'-GGGAGT GAAATTGTCTTTCATCTGCCTC-3' and Reverse 5'-ACCCACCGAGCCCTTCAGTTAC-3') in 50 µl PCR reactions. This was performed to look at the single nucleotide polymorphism rs25531 within the 5-HTTLPR region. Amplifications consisted of one denaturation at 95° C/3min followed by 40 cycles of 98° C/20 sec, 64° C/15 sec, 72° C/30 sec, and a final 5 min extension at 72° C. PCR products were purified on QIAQuick columns (Qiagen, France) and digested with restriction enzyme FokI (New England Biolabs, France) before migration on 2.5% agarose gels. Homozygotes A/A (123bp, 65 bp), G/G (91bp, 65bp and 32bp) or heterozygotes A/G (123bp, 91bp, 65bp, 32bp) were visualized following ethidium bromide staining.

### **MDMA-induced serotonergic lesion**

(±)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine hydrochloride was purchased from Sigma-Aldrich, France. The lesion of serotonergic fibers was performed by MDMA injections (5 mg/kg per injection, subcutaneously), twice daily during four consecutive days as described previously.

<sup>19</sup> Animals were observed during one hour following each injection to report acute behavioral modifications. Behavioral effects induced by MDMA-driven 5-HT lesion were assessed via execution of the behavioral tasks during the two following weeks

### **Fluoxetine treatment**

Six macaque monkeys were treated with Fluoxetine (FLX) (Fluoxetine hydrochloride, Sigma-Aldrich, France). A chronic FLX treatment (2 mg/kg/day i.m. during 21 days) was applied to

three monkeys before and after MDMA. An acute FLX treatment (4 mg/kg i.m., one weekly injection, spaced by one week during four weeks) was applied to three other monkeys again before and after MDMA. For both groups, FLX treatment was started in average fifteen days before MDMA and 1 month minimum after MDMA. FLX effects were investigated four hours after FLX injection for both PET imaging and behavioral analysis.

### **Behavioral tasks**

The tasks consisted of an imperative task (single-cue condition) and of a choice task (dual-cue condition) performed in alternating blocks (supplementary Figure 1). The single-cue condition allowed us to separate pure-reward seeking (approach behavior) and aversive-related behavior (avoidance behavior) thanks to appetitive and aversive contexts. Contrary to the dual-cue condition which informed about the value-based decision-making due to the simultaneity of CSs.

To start a trial, the monkey had to maintain his left hand on the bar composed with an optic fiber. A small dot in the center of the screen served as fixation point and after 1.3 s, it was replaced by 1 (single cue task) or 2 (dual cue task) CSs. They were presented during 1 s, on the right or left side (single cue task) or on both sides (dual cue task) of the touch screen. CSs were associated to appetitive or aversive context or competitive condition. They would obtain an appetitive outcome (apple juice) or aversive outcome (air-puff) as USs, or avoid the USs. CSs had disappeared after a random delay period of 1.5-2.0 s occurred.

After, in both tasks, green squares (square angle of 12°) were presented in both left and right sides of the screen for a maximum of 2.0 sec. During this specific time, the monkey had to select one of the two targets by touching the screen. In single-cue condition, selection of the target in the same position in which the CS has been presented revealed a behavioral approach contrary to the selection of the opposite target revealed a behavioral avoidance. If the

monkeys selected the target at the position where the CS had been shown, either the liquid reward or the air-puff was delivered after a random delay of 1.5–2.0 s. But, if they selected the target at the opposite position where the CS has been shown, nothing happened, they missed out to obtain reward or successfully prevented the air-puff. The targets disappeared as soon as one of them had been selected. In the dual-cue condition, the outcome associated with the CS was delivered according to the selected target position. They have the choice to obtain the positive or the negative outcomes.

To maintain the motivation of the monkeys to perform in the single-cue condition, the aversiveness of the air-puff had to be limited. In this condition, 60% of the trials were appetitive and 40% were aversive. Aversive trials occurred only after appetitive trials, so that aversive trials were not repeated except in the case of error trials after ITI. Thus, in the single-cue condition, the monkeys had a chance to refuse to perform aversive single-cue trials, but they had to complete an aversive trial in order to move on an appetitive trial. Three different errors could occur. First, monkeys released the bar prematurely before appearance of targets; it was classified as premature responses or escape behavior. These responses could be interpreted as *impulsivity* (not being able to wait to give their choice in the goal to obtain reward) when they occurred before the appearance of the trigger (in appetitive trial during the first delay), or as *escape behavior* when facing an aversive CS or when predicting the risk of a negative outcome or an unpleasant event (peri-CS), as we have previously shown.<sup>61</sup> Second, monkeys produced no response during the 2 s of target presentation, it was characterized as non-initiated action (NIA). It could be interpreted as a loss of motivation, a sign of indifference or a behavioral response to threat, excessive risk of a negative outcome or to an unpleasant event.

To control for the possibility that outcomes or contexts were triggered by specific visual features of the CS rather than their learned motivational significance, we used different CS

images that we associated with the same outcomes. In particular, we used 3 different sets of images including abstract fractal images, food images, and social images (monkey faces). Different CS images were presented in groups of 10 trials. The monkeys viewed all sets of images in each sub-block. All the sets of images were well learned by each monkey during several months of training before we initiated the treatment period.

## **PET imaging**

### *Acquisition*

PET and MRI acquisition were performed at the imaging center (CERMEP) under anesthesia. Atropine (0.05 mg/kg intramuscularly) was injected 15 min before anesthesia by zoletil (15 mg/kg intramuscularly). During PET acquisition, animals were continuously perfused with a lactate Ringer's solution via a vein catheter. Moreover, zoletil injection could be necessary to maintain them under anesthesia to the end of the scan. Anatomical MRI acquisition was composed by 3D T<sub>1</sub>-weighted sequence using a 1.5-T Magnetom scanner (Siemens) or a 3-T scanner (due to a replacement of the scanner during the study). The anatomical volume covered the whole brain with 176 planes of 0.6 mm cubic voxels. PET imaging acquisition was performed using a Siemens Biograph mCT/S64 scanner. This scanner had a spatial transverse resolution of 4.4 mm and the attenuation was obtained using a 1-min low-dose CT scan acquired before emission. Images were reconstructed using the Siemens ultraHD PET algorithm (12 iterations, 8 subsets and a zoom factor of 21). Reconstructed volumes were 256 x 256 matrices of 0.398 x 0.398 mm<sup>2</sup> voxels. Briefly, we used the radiotracer [<sup>11</sup>C]DASB as a marker of serotonergic transporter (SERT) density. The cerebellum (excluding the vermis) was used as the reference area to calculate the parametric maps of the non-displaceable binding potentials BP<sub>ND</sub> as in our previous study.<sup>62</sup>

### *Regions of interest*

We used a region-of-interest approach because whole brain analysis requires the use of very conservative corrections for multiple comparisons which are not well adapted for our small group design. Regions of interest (ROIs) were defined on the *Macaca fascicularis* maximum probability atlas. Based on our previous study,<sup>63</sup> we selected as ROIs the caudate nucleus, putamen, ventral striatum (VS), pallidum (GPe and GPi), thalamus, hippocampus, amygdala, insula, prefrontal cortex (PFC, orbitofrontal cortex and dorso-lateral prefrontal cortex), anterior cingulate cortex (ACC, Brodmann areas 24,25 and 32), temporal cortex and the raphe.

### **Behavioral analysis**

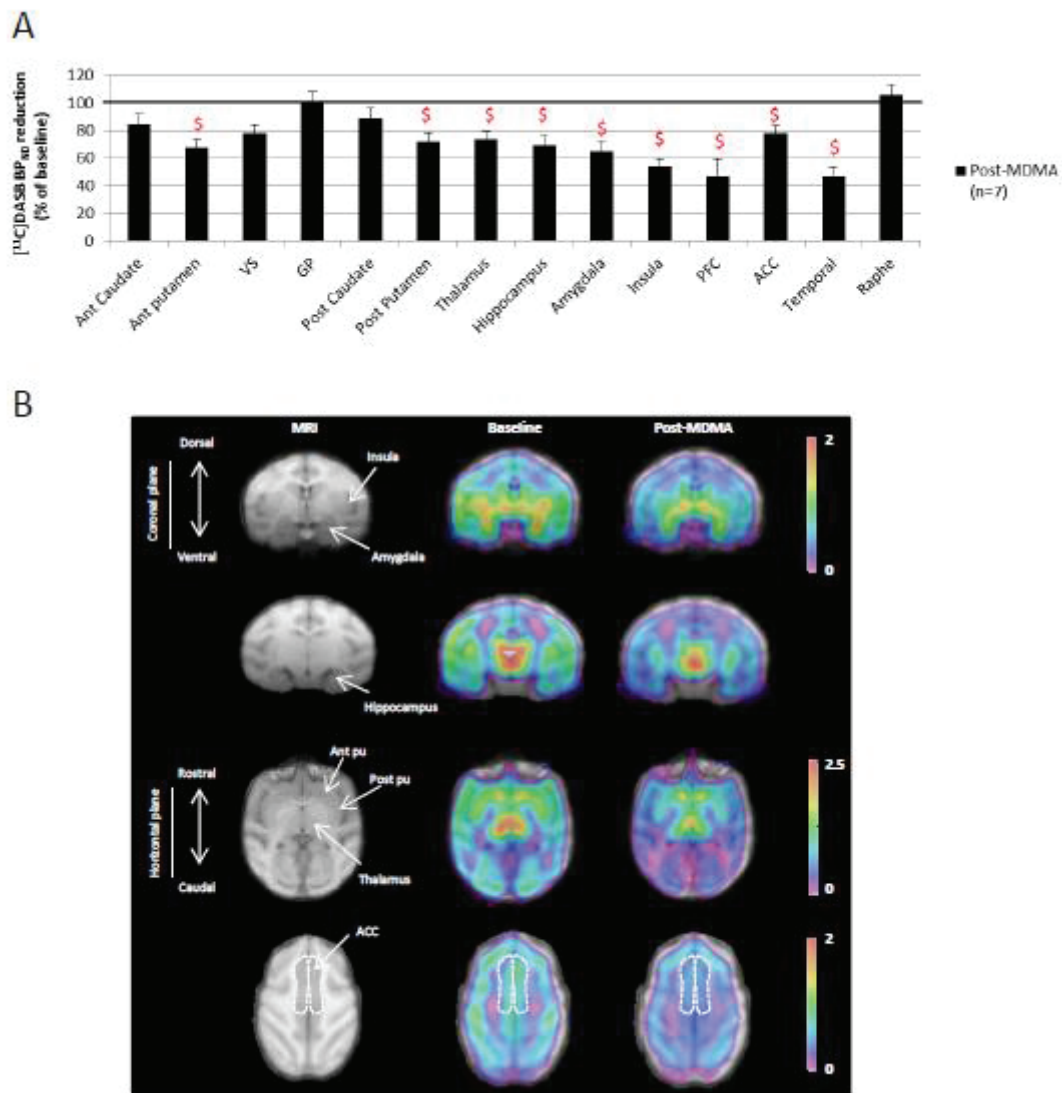
We measured daily successful numbers of trials, the completion rate and error trials rate (premature response and non-initiated action). A successful trial was validated if the monkey touched any target. The completion rate corresponded to the number of complete trials associated to a good response in each condition (choice, appetitive and aversive). For both choice and appetitive conditions, the good response corresponded to the selection of the appetitive target whereas for the aversive condition, the avoidance of aversive target was the correct selection. Post-MDMA behavioral data were assessed the week after MDMA intoxication and FLX data (before and after MDMA) were representatives of the entire treatment (acute n= 4; chronic = 20 days). To evaluate the impact of acute and chronic treatments, we analyzed separately the behavioral performances. Moreover, we divided the work session in 2 equal periods to assess the time effect of FLX treatment.



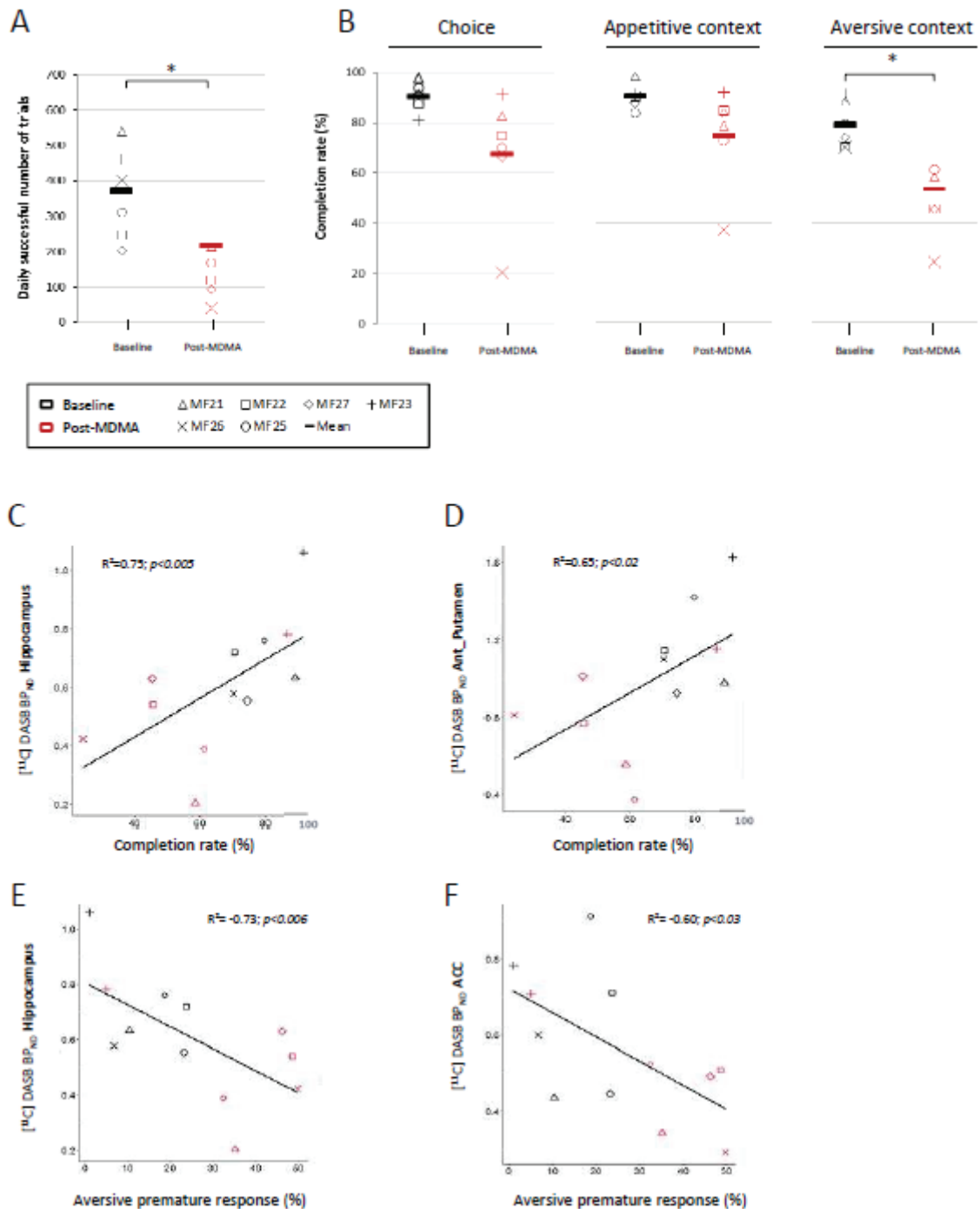
## Statistical analysis

Statistical analyses were performed with R software. Behavioral components were assessed using a two-way analysis of variance (ANOVA). Multiple test were performed, a Bonferroni test should be applied to correct but considering the risk of masking significant effects following the correction due to the low  $n$ , we decided to report also the cases of statistical significance at  $p < 0.05$ . PET [ $^{11}\text{C}$ ]DASB differences between baseline and post-MDMA, baseline and FLX Pre-MDMA were measured using one-way ANOVA. To correct multiple comparisons, we used a  $P$ -value of  $< 0.003$  based on Bonferroni method. Finally, we investigated the relationships of the [ $^{11}\text{C}$ ]DASB  $\text{BP}_{\text{ND}}$  and the performance on the task, as completion rate and aversive premature response, using non-parametric Spearman rank correlation statistics.

## Figures

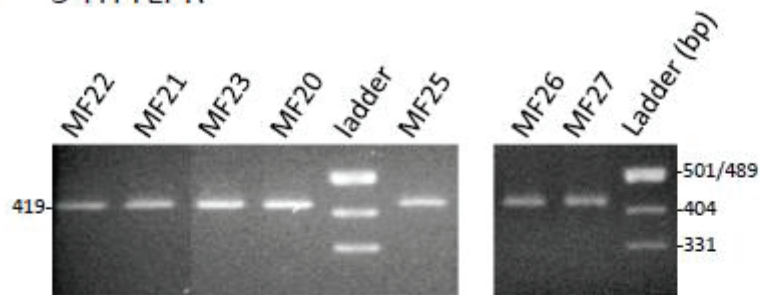


**Figure 1. Impact of MDMA intoxication on [<sup>11</sup>C]DASB PET imaging.** (A) Histogram representing the BP<sub>ND</sub> of [<sup>11</sup>C]DASB in post-MDMA state relative to baseline in brain regions of interest for 7 monkeys. \$ p < 0.0036 to account for multiple comparisons (Wilcoxon signed-rank test). For completeness, trends (p < 0.05, uncorrected) were also reported as \*\*. (B) MRI template (in grey) and [<sup>11</sup>C]DASB PET images (in color) on coronal and horizontal planes in baseline and post-MDMA states (n=7). Colors represent the level of BP<sub>ND</sub> using the cerebellum as the reference region (red indicates high BP<sub>ND</sub> whereas pink indicates low BP<sub>ND</sub> on the scales). ACC, anterior cingulate cortex; Ant, anterior; BP<sub>ND</sub>, non-displaceable binding potential; GP, globus pallidus; PFC, prefrontal cortex; post, posterior; pu, putamen; VS, ventral striatum.

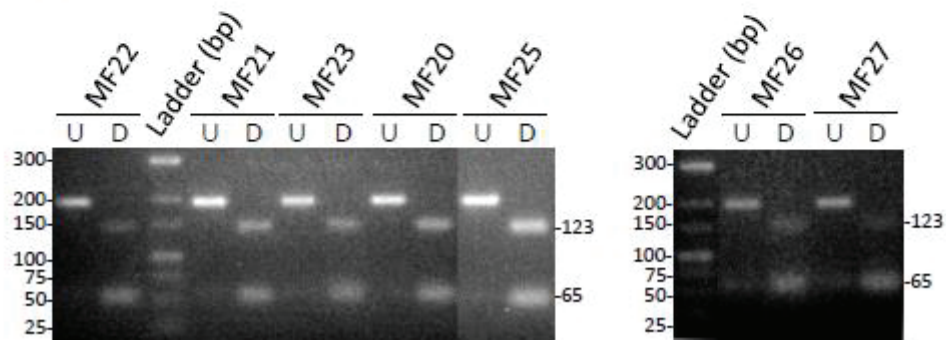


**Figure 2. Behavioral impact of MDMA intoxication.** (A) Daily successful trial number displayed by monkeys ( $n=6$ ) for all tasks (choice or imperative) and contexts (appetitive or aversive) at baseline and post-MDMA states. (B) Premature response rate displayed by the same monkeys ( $n=6$ ) during the choice task and the imperative task with appetitive and aversive contexts. (C-F) Positive or negative correlations found between the completion rate or the premature responses rate and the severity of the serotonergic lesion after MDMA within the hippocampus, the anterior putamen or the anterior cingulate cortex. Each symbol represents a different monkey. The mean is represented by a bar. Black and red symbols correspond to baseline and post-MDMA states, respectively.

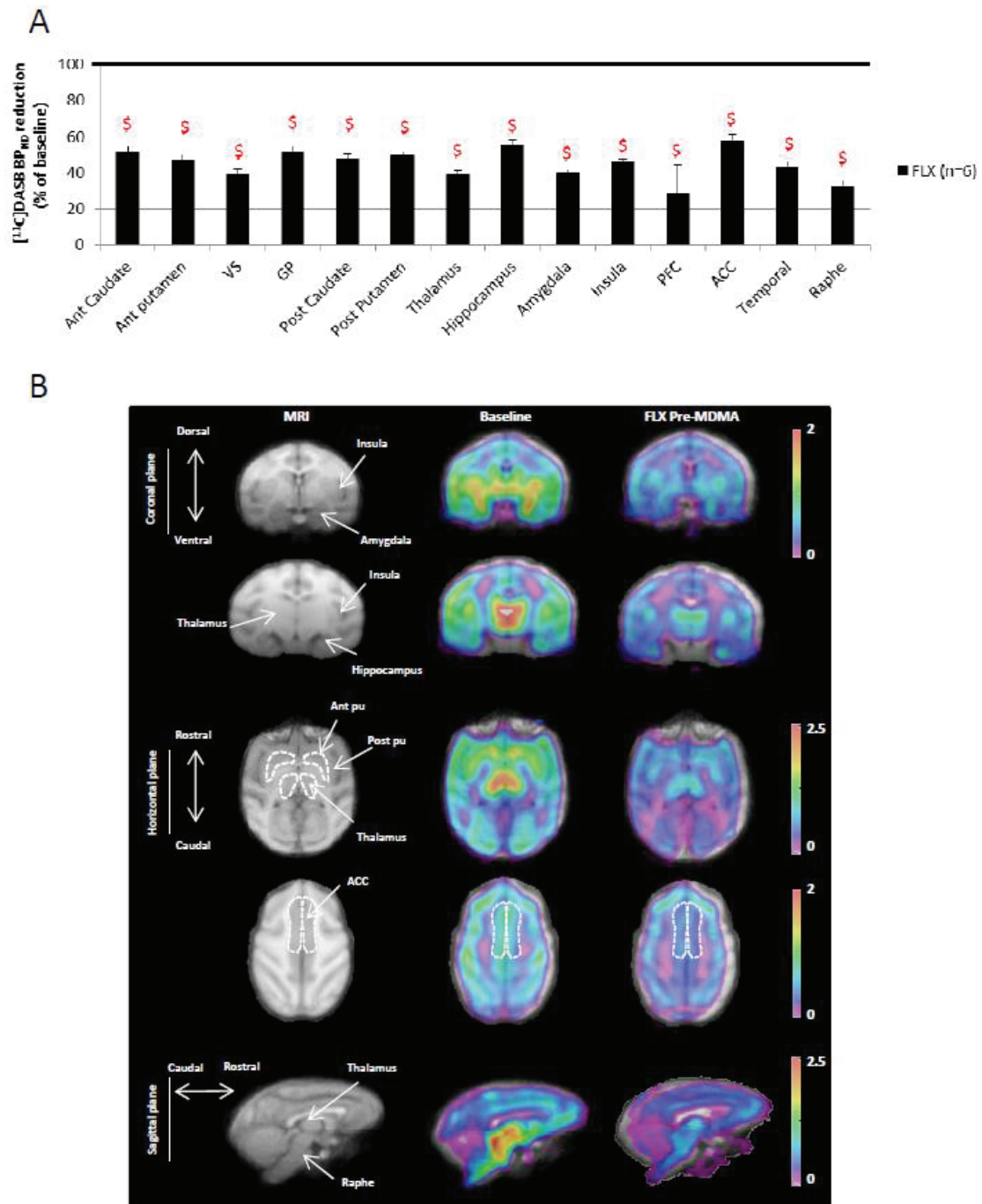
A 5-HTTLPR



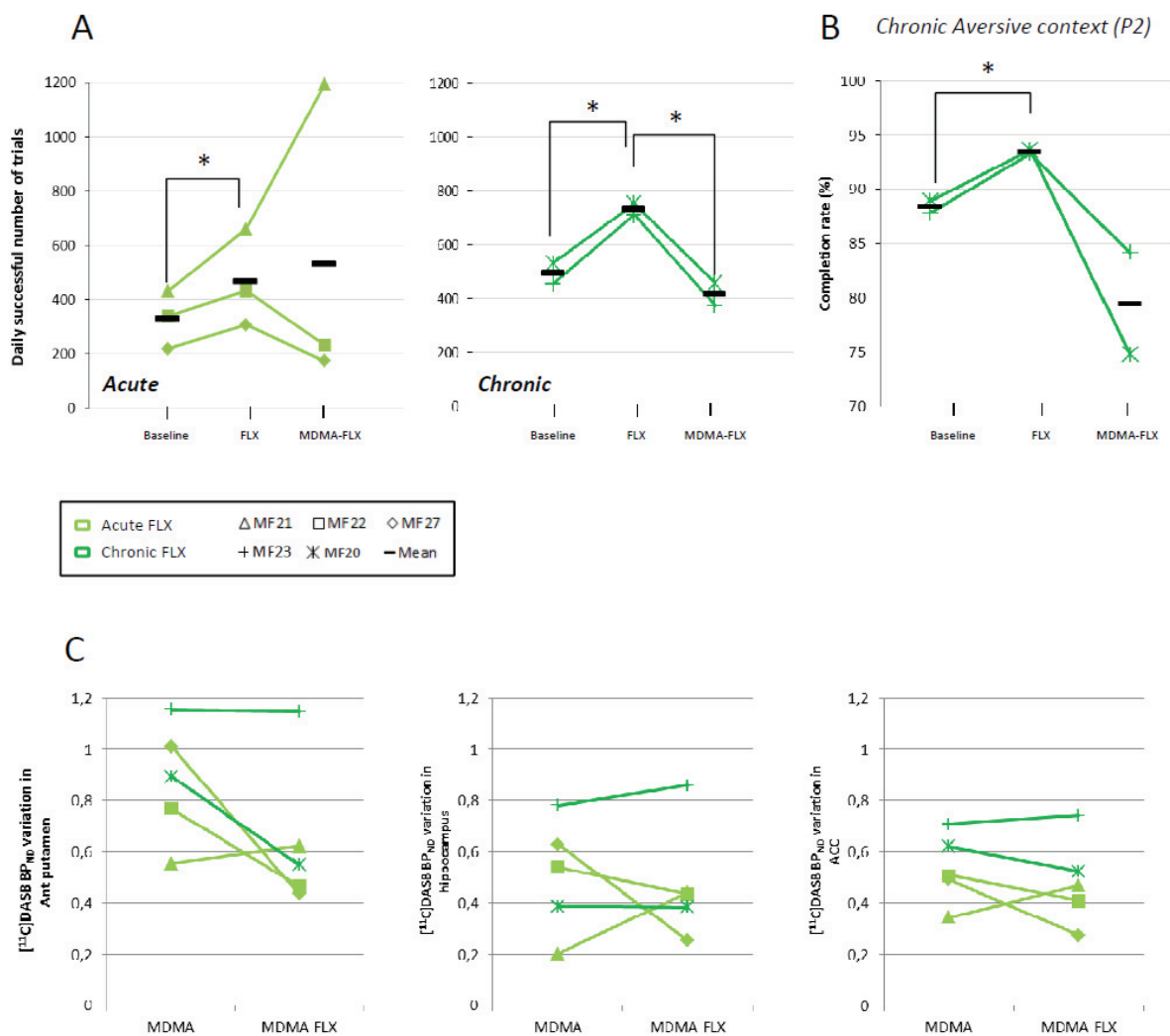
B 5-HTT rs25531



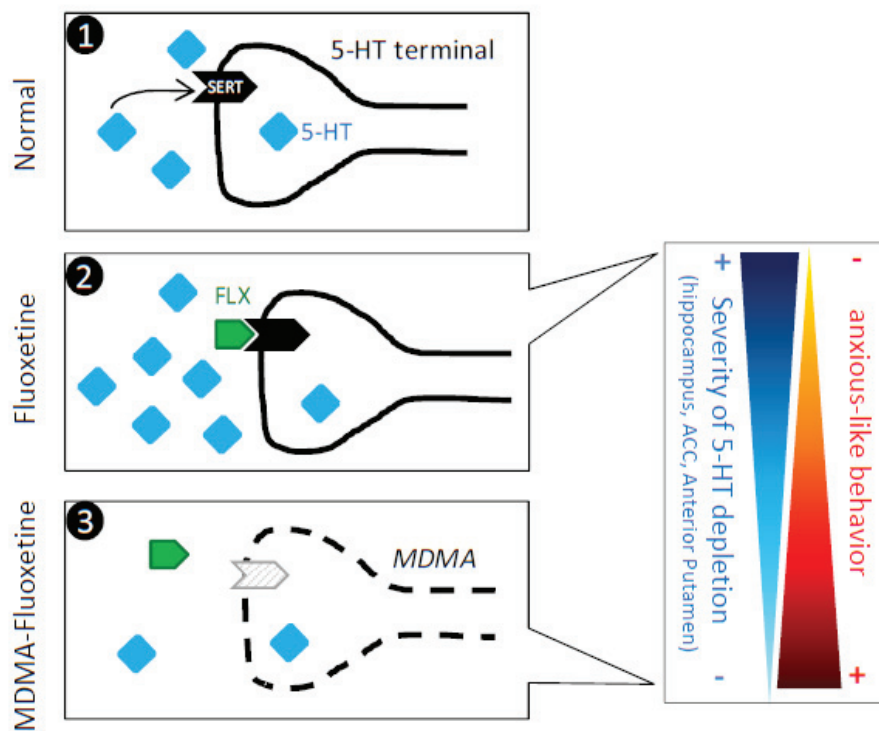
**Figure 3. Serotonergic transporter polymorphism.** (A) 5-HTTLPR polymorphism. (B) 5-HTT rs25531 single nucleotide polymorphism. U, undigested, D, digested.



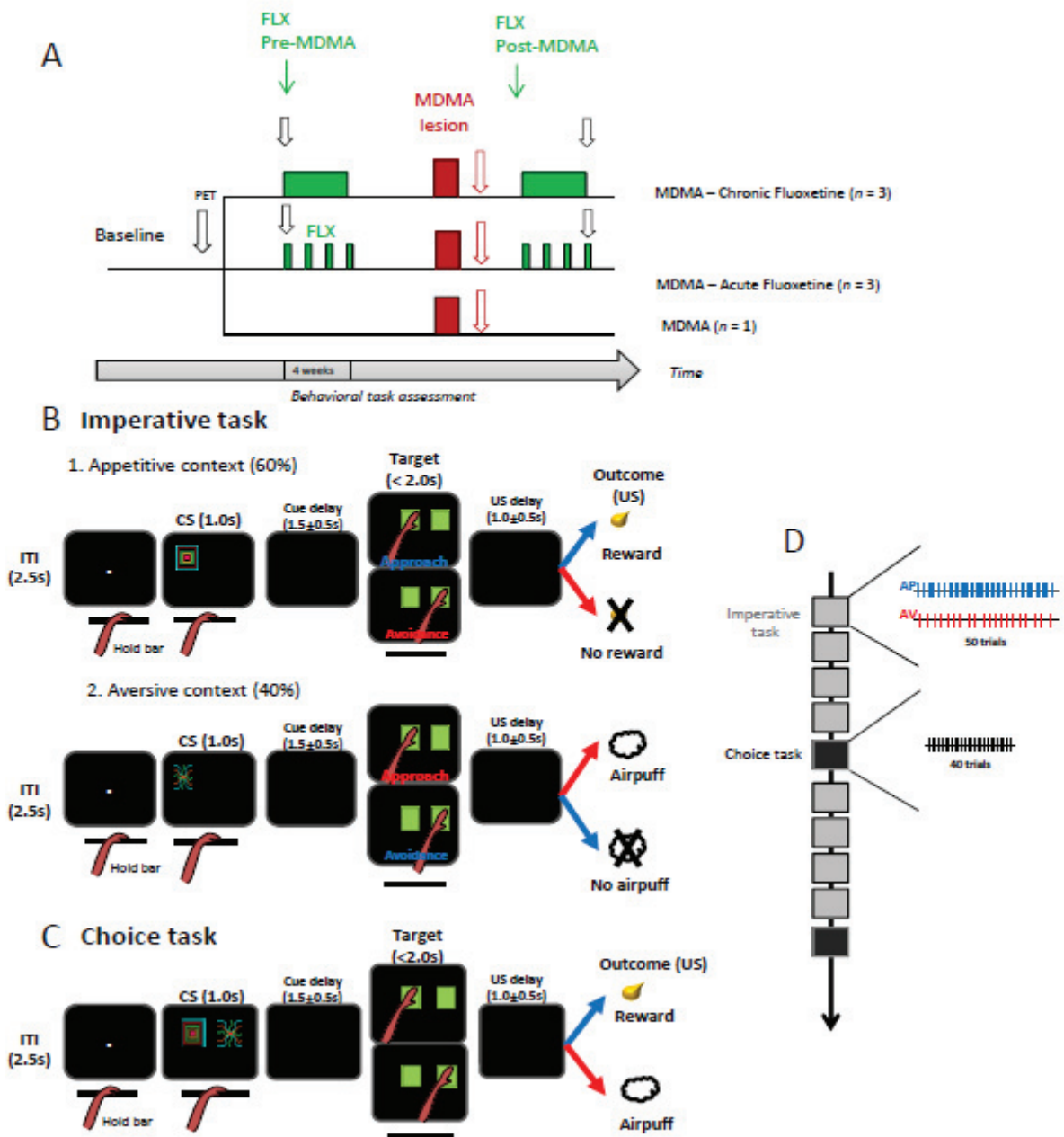
**Figure 4. Impact of fluoxetine treatment on [<sup>11</sup>C]DASB PET imaging.** (A) Histogram representing the BP<sub>ND</sub> of [<sup>11</sup>C]DASB under fluoxetine (FLX) relative to baseline in brain regions of interest for 6 monkeys. \$ p < 0.0036 to account for multiple comparisons (Wilcoxon signed-rank test). (B) MRI template (in grey) and [<sup>11</sup>C]DASB PET images (in color) on coronal, horizontal and sagittal planes in baseline and under FLX (n=6). Colors represent the level of BP<sub>ND</sub> using the cerebellum as the reference region (red indicates high BP<sub>ND</sub> whereas pink indicates low BP<sub>ND</sub> on the scales). ACC, anterior cingulate cortex; Ant, anterior; BP<sub>ND</sub>, non-displaceable binding potential; GP, globus pallidus; PFC, prefrontal cortex; post, posterior; pu, putamen; VS, ventral striatum.



**Figure 5. Behavioral impact of fluoxetine treatment.** (A) Daily successful trial number for all tasks (choice or imperative) and contexts (appetitive or aversive) for monkeys at baseline and under fluoxetine (acutely; n=3 or chronically; n=2), before and after MDMA. (B) Completion rate exhibited by monkeys during the second period of the aversive context of the imperative task, at baseline and under chronic FLX, before and after MDMA (n=2). (C) [<sup>11</sup>C]DASB BP<sub>ND</sub> variation between MDMA and MDMA-FLX states in the anterior putamen. Each symbol represents a different monkey. Light and dark greens indicate acute and chronic fluoxetine treatments, respectively. FLX, fluoxetine.



**Figure 6. Critical role of serotonergic fibers in mediating fluoxetine effects.** At baseline (1), serotonergic fibers are present and the serotonergic transporter (SERT) allows to reuptake serotonin from the synaptic cleft inside the presynaptic terminal, assuring a buffering of serotonin. Under fluoxetine treatment (2), fluoxetine (FLX) binds to the SERT and therefore favors the maintenance of high serotonin within the synaptic cleft, favoring an anxiolytic state. After MDMA, which destroys serotonergic terminals and leads to very low serotonin within the synaptic cleft, FLX cannot bind to the SERT anymore (3) and therefore compensate for serotonin deprivation. The anxious behavior cannot be counteracted by FLX treatment as SERT are no more expressed by surrounding serotonergic fibers. The 5-HT innervation of key brain regions, such as the anterior putamen, the hippocampus, the thalamus and the ACC, is critically linked to anxious manifestations and may therefore be detrimental to mediate the beneficial or adverse effects to fluoxetine.



**Supplementary Figure 1. Study design and behavioral tasks.** (A) Experimental flowchart illustrating study design, fluoxetine treatments (acute or chronic), MDMA intoxication and group assignments. PET scans (arrows) were performed at baseline and post-MDMA states, as well as under fluoxetine (after the first injection before MDMA intoxication and at the end of the treatment after MDMA). (B) Imperative task with both appetitive and aversive contexts. (C) Choice task. (D) Constitution of a behavioral session, grey and black squares representing a 50 trials-block of imperative task and a 40 trials-block.



	Baseline (n = 6)	Post-MDMA (n = 6)
Approach (App)	92.0 (± 3.3)	85.8 (± 2.8)
Avoidance (Av)	52.06 (± 0.4)	48.54 (± 2.0)
Daily completion	370.2 (± 48.5)	216 (± 77.3) *
Completion rate (App)	90.6 (± 1.8)	75.0 (± 7.3)
Completion rate (Av)	79.2 (± 3.4)	53.6 (± 7.8) *
Completion rate(Choice)	90.2(±2.1)	67.6(±9.2)
Premature response (App)	5.7 (± 2.1)	20.9 (± 6.0)
Premature response (Av)	14.0 (± 8.6)	36.2 (± 15.4) *
Premature response (Choice)	3.3(±1.2)	20.5 (± 8.0)
NIC (App)	1.6 (± 0.8)	3.5 (± 1.6)
NIC (Av)	5.2 (± 7.7)	9.4 (± 6.3)
NIC (Choice)	1.0 (± 1.0)	4.6 (± 2.0)

**Supplementary Table 1. Behavioral measures for the choice and the imperative tasks at baseline and post-MDMA states.** Data are expressed in percentage and indicate mean ± SEM for 6 monkeys. App, appetitive context of the imperative task; Av, aversive context of the imperative task; NIC, non-initiated choice. \* p <0.05 versus baseline.

	Baseline (n = 3)	Acute		Baseline (n = 2)	Chronic		
		FLX (n = 3)	MDMA-FLX (n = 3)		FLX (n = 2)	MDMA-FLX (n = 2)	
Approach (App)	97.3 (±0.9)	96.7(±1.1)	89.8(±3.0)	90.0(±9.0)	91.6(±6.5)	96.2(±1.5)	
Avoidance (Av)	63.2(±8.0)	63.5(±7.0)	48.0(±1.5)	51.0(±2.0)	50.2(±0.1)	50.2(±1.2)	
Daily completion	329.0(±50.0)	466.0(± 84.8) *	532.1(± 269)	493.3(±27.1)	732.1(± 14.4) *	416.2(± 29.1) <sup>§</sup>	
Completion rate (App)	91.1(±1.8)	91.3(±2.5)	90.2(±1.8)	91.8(±1.0)	90.1(±1.4)	82.2(±1.3)	
	P2	91.8(±2.6)	95.6(±1.6)	86.4(±3.4)	92.1(±2.6)	94.7(±1.0)	93.0(±2.6)
Completion rate (Av)	70.3(±5.4)	77.7(±2.7)	68.0(±5.1)	83.9(±0.4)	78.5(±0.6)	63.3(±1.3)	
	P2	69.2(±9.9)	85.1(±6.1)	56.8(±19.1)	88.4(±0.4)	93.5(±0.1) *	79.4(±3.3)
Completion rate(Choice)	89.0(±3.6)	93.3(±2.2)	91.0(±3.7)	88.6(±5.5)	90.2(±58.1)	96.0(±1.0)	
Premature response (App)	8.4(±1.8)	7.7(±2.1)	7.5(±1.5)	3.4(±1.4)	7.2(±0.5)	15.6(±0.8)	
	P2	7.7(±2.5)	3.4(±0.8)	10.8(±4.3)	2.4(±1.3)	2.2(±1.2)	4.5(±1.5)
Premature response (Av)	25.5(±4.4)	18.9(±2.8)	25.6(±4.8)	4.7(±1.9)	13.5(±1.3)	27.6(±0.8)	
	P2	27.2(±8.7)	12.2(±5.1)	39.7(±19.3)	4.1(±2.0)	2.7(±1.7)	9.2(±1.0)
Premature response (Choice)	7.8(±4.0)	3.1(±1.6)	3.4(±1.8)	2.0(±1.0)	1.1(±1.0)	1.2(±0.1)	
NIC (App)	0.4(±0.03)	0.5(±0.2)	0.5(±0.4)	2.3(±0.2)	0.8(±0.2)	1.8(±0.5)	
	P2	0.4(±0.2)	0.4(±0.3)	1.0(±0.8)	0.5(±0.3)	0.3(±0.2)	2.4(±1.0)
NIC (Av)	3.9(±1.0)	3.1(±0.7)	5.9(±3.0)	8.6(±1.1)	5.9(±0.2)	7.5(±2.0)	
	P2	3.0(±1.5)	2.4(±1.0)	3.1(±1.7)	2.5(±1.2)	1.6(±0.3)	11.3(±4.2)
NIC (Choice)	0.2(±0.2)	0.4(±0.2)	0.3(±0.2)	0.2(±0.04)	0.5(±0.1)	1.7(±1.0)	

**Supplementary Table 2. Behavioral measures for the choice and the imperative tasks at baseline and under fluoxetine, before and after MDMA.** Data are expressed in percentage and indicate mean ± SEM for 3 (for acute FLX) and 2 (for chronic FLX) monkeys. App, appetitive context of the imperative task; Av, aversive context of the imperative task; NIC, non-initiated choice; FLX, fluoxetine. \* p <0.05 versus baseline, <sup>§</sup> p <0.05 versus FLX.

## References

1. Bandelow B, Michaelis S, Wedekind D. Treatment of anxiety disorders. *Dialogues Clin Neurosci.* 19(2):93-107. (2017).
2. Helton SG, Lohoff FW. Serotonin pathway polymorphisms and the treatment of major depressive disorder and anxiety disorders. *Pharmacogenomics.* 2015; 16(5):541-53.
3. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Müller CR, Hamer DH, Murphy DL. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science.* 1996; 274(5292):1527-31.
4. Lesch KP, Meyer J, Glatz K, Flügge G, Hinney A, Hebebrand J, Klauck SM, Poustka A, Poustka F, Bengel D, Mössner R, Riederer P, Heils A. The 5-HT transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) in evolutionary perspective: alternative biallelic variation in rhesus monkeys. *J Neural Transm (Vienna).* 1997; 104(11-12):1259-66.
5. Heils A, Teufel A, Petri S, et al. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996; 66: 2621-4.
6. Heils A, Mossner R, Lesch KP. The human serotonin transporter gene polymorphism: basic research and clinical implications. *J Neural Transm* 1997; 104: 1005-14.
7. Bandelow B, Baldwin D, Abelli M, Altamura C, Dell'Osso B, Domschke K, Fineberg NA, Grünblatt E, Jarema M, Maron E, Nutt D, Pini S, Vaghi MM, Wichniak A, Zai G, Riederer P. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD - a consensus statement. Part I: Neuroimaging and genetics. *World J Biol Psychiatry.* 2016; 17(5):321-65.
8. Beaudoin-Gobert M, Sgambato-Faure V. Serotonergic pharmacology in animal models: from behavioral disorders to dyskinesia. *Neuropharmacology.* 2014; 81:15-30.

9. Waider J, Araragi N, Gutknecht L, Lesch KP. Tryptophan hydroxylase-2 (TPH2) in disorders of cognitive control and emotion regulation: a perspective. *Psychoneuroendocrinology*. 2011; 36(3):393-405.
10. Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, Blier P, Mendelsohn M, Mann JJ, Brunner D, Hen R. Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(24):14476-81.
11. Carvalho MC, Albrechet-Souza L, Masson S, Brandão ML. Changes in the biogenic amine content of the prefrontal cortex, amygdala, dorsal hippocampus, and nucleus accumbens of rats submitted to single and repeated sessions of the elevated plus-maze test. *Braz J Med Biol Res*. 2005; 38(12):1857-66.
12. Tu W, Cook A, Scholl JL, Mears M, Watt MJ, Renner KJ, Forster GL. Serotonin in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behavior during amphetamine withdrawal. *Neuroscience*. 2014; 281:35-43.
13. Oler JA, Fox AS, Shelton SE, Christian BT, Murali D, Oakes TR, Davidson RJ, Kalin NH. Serotonin transporter availability in the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis predicts anxious temperament and brain glucose metabolic activity. *J Neurosci*. 2009; 29(32):9961-6.
14. Mikheenko Y, Shiba Y, Sawiak S, Braesicke K, Cockcroft G, Clarke H, Roberts AC. Serotonergic, brain volume and attentional correlates of trait anxiety in primates. *Neuropsychopharmacology*. 2015; 40(6):1395-404.
15. Fontenot MB, Musso MW, McFatter RM, Anderson GM. Dose-finding study of fluoxetine and venlafaxine for the treatment of self-injurious and stereotypic behavior in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2009; 48(2):176-84.

16. Howell LL, Carroll FI, Votaw JR, Goodman MM, Kimmel HL. Effects of combined dopamine and serotonin transporter inhibitors on cocaine self-administration in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 320(2):757-65.
17. Fantegrossi WE, Bauzo RM, Manvich DM, Morales JC, Votaw JR, Goodman MM, Howell LL. Role of dopamine transporters in the behavioral effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in nonhuman primates. *Psychopharmacology (Berl).* 2009; 205(2):337-47.
18. Tu Z, Zhao H, Li B, Yan S, Wang L, Tang Y, Li Z, Bai D, Li C, Lin Y, Li Y, Liu J, Xu H, Guo X, Jiang YH, Zhang YQ, Li XJ. CRISPR/Cas9-mediated disruption of SHANK3 in monkey leads to drug-treatable autism-like symptoms. *Hum Mol Genet.* 2019; 28(4):561-571.
19. Ricaurte GA, Yuan J, McCann UD. (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy')-induced serotonin neurotoxicity: studies in animals. *Neuropsychobiology* 2000; 42: 5–10.
20. Milad MR, Quirk GJ. Fear extinction as a model for translational neuroscience: ten years of progress. *Annu Rev Psychol.* 2012; 63:129-51.
21. Kalin NH, Shelton SE, Fox AS, Oakes TR, Davidson RJ. Brain regions associated with the expression and contextual regulation of anxiety in primates. *Biol Psychiatry.* 58(10):796-804. (2005).
22. Kalin NH. Mechanisms underlying the early risk to develop anxiety and depression: A translational approach. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2017; 27(6):543-553. 2017.

23. Fox AS, Kalin NH. A translational neuroscience approach to understanding the development of social anxiety disorder and its pathophysiology. *Am J Psychiatry*. 2014;171(11):1162-73.
24. Raper J, Wilson M, Sanchez M, Payne C, Bachevalier J. Increased anxiety-like behaviors, but blunted cortisol stress response after neonatal hippocampal lesions in monkeys. *Psychoneuroendocrinology*. 2017; 76:57-66.
25. Godsil BP, Kiss JP, Spedding M, Jay TM. The hippocampal-prefrontal pathway: the weak link in psychiatric disorders? *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013; 23(10):1165-81.
26. Barbas H, Blatt GJ. Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. *Hippocampus*. 1995; 5(6):511-33.
27. Oler JA, Fox AS, Shelton SE, Rogers J, Dyer TD, Davidson RJ, Shelledy W, Oakes TR, Blangero J, Kalin NH. Amygdalar and hippocampal substrates of anxious temperament differ in their heritability. *Nature*. 2010; 466(7308):864-8.
28. Allsop SA, Vander Weele CM, Wichmann R, Tye KM. Optogenetic insights on the relationship between anxiety-related behaviors and social deficits. *Front Behav Neurosci*. 2014; 8:241.
29. Greco JA, Liberzon I. Neuroimaging of Fear-Associated Learning. *Neuropsychopharmacology*. 2016; 41(1):320-34.
30. Kitayama N, Vaccarino V, Kutner M, Weiss P, Bremner JD. Magnetic resonance imaging (MRI) measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord*. 2005; 88(1):79-86.

31. Fullana MA, Harrison BJ, Soriano-Mas C, Vervliet B, Cardoner N, Àvila-Parcet A, Radua J. Neural signatures of human fear conditioning: an updated and extended meta-analysis of fMRI studies. *Mol Psychiatry*. 2016; 21(4):500-8.
32. Delgado MR, Jou RL, Ledoux JE, Phelps EA. Avoiding negative outcomes: tracking the mechanisms of avoidance learning in humans during fear conditioning. *Front Behav Neurosci*. 2009; 3:33.
33. Gunaydin LA, Kreitzer AC. Cortico-Basal Ganglia Circuit Function in Psychiatric Disease. *Annu Rev Physiol*. 2016; 78:327-50.
34. Rodriguez-Romaguera J, Do Monte FH, Quirk GJ. Deep brain stimulation of the ventral striatum enhances extinction of conditioned fear. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(22):8764-9.
35. Kubota Y, Sato W, Kochiyama T, Uono S, Yoshimura S, Sawada R, Sakihama M, Toichi M. Putamen volume correlates with obsessive compulsive characteristics in healthy population. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2016; 249:97-104.
36. Rotge JY, Langbour N, Guehl D, Bioulac B, Jaafari N, Allard M, Aouizerate B, Burbaud P. Gray matter alterations in obsessive-compulsive disorder: an anatomic likelihood estimation meta-analysis. *Neuropsychopharmacology*. 2010; 35(3):686-91.
37. Radua J, van den Heuvel OA, Surguladze S, Mataix-Cols D. Meta-analytical comparison of voxel-based morphometry studies in obsessive-compulsive disorder vs other anxiety disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2010; 67(7):701-11.

38. Hu XZ, Rush AJ, Charney D et al. Association between a functional serotonin transporter promoter polymorphism and citalopram treatment in adult outpatients with major depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 2007; 64(7), 783–792.
39. Lenze EJ, Goate AM, Nowotny P et al. Relation of serotonin transporter genetic variation to efficacy of escitalopram for generalized anxiety disorder in older adults. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2010; 30(6), 672–677.
40. Lohoff FW, Narasimhan S, Rickels K. Interaction between polymorphisms in serotonin transporter (SLC6A4) and serotonin receptor 2A (HTR2A) genes predict treatment response to venlafaxine XR in generalized anxiety disorder. *Pharmacogenomics J.* 2013; 13(5), 464–469.
41. Maron E, Nutt D. Biological predictors of pharmacological therapy in anxiety disorders. *Dialogues Clin Neurosci.* 2015; 17(3):305-17.
42. Nash JR, Sargent PA, Rabiner EA, Hood SD, Argyropoulos SV, Potokar JP, Grasby PM, Nutt DJ. Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in people with panic disorder: positron emission tomography study. *Br J Psychiatry.* 2008; 193(3):229-34.
43. Nitschke JB, Sarinopoulos I, Oathes DJ, Johnstone T, Whalen PJ, Davidson RJ, Kalin NH. Anticipatory activation in the amygdala and anterior cingulate in generalized anxiety disorder and prediction of treatment response. *Am J Psychiatry.* 2009; 166(3):302-10.
44. Feduccia AA, Mithoefer MC. MDMA-assisted psychotherapy for PTSD: Are memory reconsolidation and fear extinction underlying mechanisms? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2018 ; 84(Pt A):221-228.



45. Inoue T, Kitaichi Y, Koyama T. SSRIs and conditioned fear. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011; 35(8):1810-9.
46. Gorman JM, Liebowitz MR, Fyer AJ, Goetz D, Campeas RB, Fyer MR, Davies SO, Klein DF. An open trial of fluoxetine in the treatment of panic attacks. *J Clin Psychopharmacol*. 1987; 7(5):329-32.
47. Belzung C. The genetic basis of the pharmacological effects of anxiolytics: a review based on rodent models. *Behav Pharmacol*. 2001; 12(6-7):451-60.
48. Mombereau C, Gur TL, Onksen J, Blendy JA. Differential effects of acute and repeated citalopram in mouse models of anxiety and depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2010; 13(3):321-34.
49. Montañez S, Daws LC, Gould GG, Frazer A. Serotonin (5-HT) transporter (SERT) function after graded destruction of serotonergic neurons. *J Neurochem*. 2003; 87(4):861-7.
50. Campos B, Rivetti C, Kress T, Barata C, Dircksen H. Depressing Antidepressant: Fluoxetine Affects Serotonin Neurons Causing Adverse Reproductive Responses in *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol*. 2016; 50(11):6000-7.
51. Currie PJ, Coscina DV, Fletcher PJ. Reversal of fenfluramine and fluoxetine anorexia by 8-OH-DPAT is attenuated following raphe injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Res*. 1998; 800(1):62-8.
52. Nayebi AR, Hassanpour M, Rezazadeh H. Effect of chronic and acute administration of fluoxetine and its additive effect with morphine on the behavioural response in the formalin test in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2001; 53(2):219-25.

53. Furmaga H, Shah A, Frazer A. Serotonergic and noradrenergic pathways are required for the anxiolytic-like and antidepressant-like behavioral effects of repeated vagal nerve stimulation in rats. *Biol Psychiatry*. 2011; 70(10):937-45.
54. Näslund J, Studer E, Pettersson R, Hagsäter M, Nilsson S, Nissbrandt H, Eriksson E. Differences in Anxiety-Like Behavior within a Batch of Wistar Rats Are Associated with Differences in Serotonergic Transmission, Enhanced by Acute SRI Administration, and Abolished By Serotonin Depletion. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015; 18(8).
55. Caillé S, Stinus L, Espejo EF, De Deurwaerdère P, Spampinato U, Koob GF. Inhibition of 5-HT neurotransmission increases clonidine protective effects on naloxone-induced conditioned place aversion in morphine-dependent rats. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28(2):276-83.
56. Man MS, Dalley JW, Roberts AC. Opposing effects of 5,7-DHT infusions into the orbitofrontal cortex and amygdala on flexible responding. *Cereb Cortex*. 2010; 20(7):1668-75.
57. McCann UD, Ricaurte GA. MDMA ("ecstasy") and panic disorder: induction by a single dose. *Biol Psychiatry*. 1992; 32(10):950-3.
58. Kaplan K, Kurtz F, Serafini K. Substance-induced anxiety disorder after one dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine: a case report. *J Med Case Rep*. 2018; 12(1):142.
59. Kraemer GW, Moore CF, Newman TK, Barr CS, Schneider ML. Moderate level fetal alcohol exposure and serotonin transporter gene promoter polymorphism affect neonatal temperament and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in monkeys. *Biol Psychiatry*. 2008; 63(3):317-24.

60. Trefilov A, Krawczak M, Berard J, Schmidtke J. DNA sequence polymorphisms in genes involved in the regulation of dopamine and serotonin metabolism in rhesus macaques. *Electrophoresis*. 1999; 20(8):1771-7.
61. Saga Y, Richard A, Sgambato-Faure V, Hoshi E, Tobler PN, Tremblay L. Ventral Pallidum Encodes Contextual Information and Controls Aversive Behaviors. *Cereb Cortex*. 2017; 27(4):2528-2543.
62. Beaudoin-Gobert M, Epinat J, Météreau E, Duperrier S, Neumane S, Ballanger B, Lavenne F, Liger F, Tourvielle C, Bonnefoi F, Costes N, Bars DL, Broussolle E, Thobois S, Tremblay L, Sgambato-Faure V. Behavioural impact of a double dopaminergic and serotonergic lesion in the non-human primate. *Brain*. 2015; 138(Pt 9):2632-47.
63. Météreau E, Beaudoin-Gobert M, Duperrier S, Thobois S, Tremblay L, Sgambato-Faure V. Diffusion tensor imaging marks dopaminergic and serotonergic lesions in the Parkinsonian monkey. *Mov Disord*. 2018; 33(2):298-309.

# **ARTICLE 2**

# **Prior MDMA administration aggravates MPTP-induced parkinsonism in non-human primates**

Mathilde Millot, MSc<sup>1</sup>, Yosuke Saga, PhD<sup>1</sup>, Sandra Duperrier, BTEC, HND<sup>1</sup>, Elise Météreau, PhD<sup>1</sup>, Maude Beaudoin-Gobert, PhD,<sup>1</sup> Véronique Sgambato, PhD<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup> Univ Lyon, CNRS, Institut des Sciences Cognitives *Marc Jeannerod* UMR 5229, F-69675, Bron, France.

\* **Corresponding author:** Véronique Sgambato, CNRS UMR 5229 Institut des Sciences Cognitives *Marc Jeannerod*, Université de Lyon 1, 67 boulevard Pinel, 69 675 Bron cedex, FRANCE. Telephone: 11 33 4 37 91 12 49. Email address: veronique.sgambato@inserm.fr

**Word count:** 3090

**Running title:** Prior MDMA boosts MPTP-driven parkinsonism

**Keywords:** Parkinson's disease, Ecstasy, Tremor, Postural deformities, Monkey

**Financial disclosure/conflict of interest:** None

**Funding sources:** This work was supported by grants from Fondation de France (00060911). This work was performed within the framework of the LabEx CORTEX (ANR-11-LABX-0042) of Lyon University. V.S. is supported by INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale).

## Abstract

**Background:** Serotonergic neurons degenerate early in Parkinson's disease. **Objectives:** The aim of this study was to investigate the causal role of this early serotonin injury on motor symptomatology. **Methods:** Monkeys were pretreated with 3,4-methylenedioxy-N-methamphetamine (MDMA, or "ecstasy"), known to lesion serotonergic fibers, before being administered 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). We combined behavioural assessment, PET imaging, and immunohistochemistry. **Results:** Unexpectedly, we found that MDMA injured preferentially the serotonergic nerve terminals but also affected the dopaminergic system, which then was drastically lesioned by subsequent MPTP. Strikingly, prior MDMA administration aggravated MPTP-induced parkinsonism. Monkeys with early MDMA lesions developed parkinsonian deficits more rapidly and more severely. Interestingly, not all symptoms were impacted. Bradykinesia, rigidity and freezing were not affected by early MDMA lesions, whereas spontaneous activities, tremor and abnormal posture were significantly aggravated. **Conclusion:** Altogether, these data demonstrate that prior MDMA lesions boosted MPTP-induced parkinsonism and highlight the risk for illicit drug users to develop parkinsonism.

## Introduction

It is widely known that Parkinson's disease (PD) is characterized by the degeneration of dopaminergic (DA) neurons in the substantia nigra pars compacta resulting in motor symptoms.<sup>1</sup> However, the neurodegenerative process affects other neurotransmission systems such as the serotonergic (5-HT) system in raphe nuclei.<sup>2-4</sup> Correlations have been found between the alteration of the 5-HT system and the expression of tremor or dyskinesia.<sup>5</sup> This 5-HT dysfunction within the brain also plays a role in non-motor manifestations such as depression, fatigue or rapid-eyes movement sleep disorders.<sup>2</sup> Of note, alterations of the 5-HT system can be detected in *de novo* PD patients and be linked to the expression of psychiatric symptoms.<sup>6,7</sup>

In accordance with Braak's hypothesis, the pathological process which involves alpha-synuclein-immunopositive Lewy neurites and Lewy bodies would affect the raphe before reaching the substantia nigra.<sup>8</sup> Whether this early 5-HT alteration has an impact on the severity of specific symptoms remains to be investigated. To do so, we first damaged the 5-HT system, using 3,4-methylenedioxy-N-methamphetamine (MDMA) before lesioning the DA neurons with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in macaques, the neurotoxicity of these toxins being well known.<sup>9,10</sup> We used PET imaging, behavioural assessment and immunohistochemistry to evaluate: (i) the efficacy of sequential use of MDMA and MPTP to lesion 5-HT and DA systems; and (ii) the impact of this early MDMA-driven lesioning on the severity of MPTP-induced parkinsonism in non-human primates (NHPs).

## Methods

### Ethical statement

All studies were in accordance with the recommendations of the European Communities Council Directive of 2010 (2010/63/UE) and the French National Committee (2013/113). There were also approved by the local ethical committee CELYNE C2EA.

### Animals

We used eighteen male macaque *fascicularis* monkeys (Fig 1A), weighing between 5 and 9 kg, aged between 3 and 6 years, and kept under standard conditions with 12 hour light cycles, 23°C and 50% humidity. Taking into consideration the three R's for animal experimentation, we also utilized some data obtained from a previous study.<sup>11</sup>

### Lesions

The lesioning of 5-HT fibers (and not 5-HT somas) was performed by MDMA injections twice daily for four consecutive days (Fig 1A). All macaque monkeys received the same dose, 5 mg/kg per injection subcutaneously, according to a previous study.<sup>10</sup>

Five months after the pretreatment with MDMA, monkeys received MPTP injections (0.3-0.5 mg/kg i.m.) under light anesthesia (ketamine 0.5 mg/kg, atropine 0.05 mg/kg) on consecutive days (acute protocol; n = 4) or every 4 to 5 days (progressive protocol; n = 10) (Fig 1A). The progressive protocol favors motor recovery while the acute one leads to stable parkinsonism. All monkeys pretreated with MDMA (n=6) received the progressive MPTP protocol (Fig 1A) and were then compared to either MPTPsym monkeys (n=4; monkeys which remained symptomatic and did not receive MDMA) or to MPTPrec monkeys which had received MDMA after their motor recovery (n=4; called MPTPrec/MDMA) (Fig 1A).<sup>11</sup>



## **Parkinsonism**

The severity of parkinsonian symptoms was assessed longitudinally using the rating scale proposed by Schneider and Kovelowski (1990)<sup>12</sup>, which includes several items rated with a maximal total score of 29; the higher the score, the more symptomatic the monkey. Items were clustered into three categories: motor symptoms, spontaneous activities and other symptoms. The motor symptoms were: rigidity (assessed by manipulation), action tremor (arms and legs), freezing, bradykinesia, global posture and arm/foot posture (flexed or dystonic). The spontaneous activities were: arm and eye movements and home-cage activity (hypokinesia). The home-cage activity was measured twice daily using Phenorack (Viewpoint). Other symptoms were: triggered eyes movements and feeding. Vocalization was not assessed due to its absence in the control state.

## **PET imaging**

### *Acquisition*

PET (positron emission tomography) and MRI (magnetic resonance imaging) acquisitions were performed at the imaging center (CERMEP) under anesthesia (atropine 0.05 mg/kg intramuscularly followed 15 min later by zoletil 15 mg/kg intramuscularly).

Anatomical MRI acquisition consisted of a 3D T1-weighted sequence using a 1.5-T Magnetom scanner (Siemens). The anatomical volume covered the whole brain with 176 planes of 0.6mm cubic voxels. PET imaging was performed using either a Siemens CTI Exact HR+ or a Siemens Biograph mCT/S64 scanner (due to a replacement of the scanner during the study; see Supplementary Table 2). The HR+ tomograph had a nominal in-plane resolution of 4.1mm full-width at half-maximum. Tissular and head support 511 keV gamma attenuation was obtained by a 10-min transmission scan of <sup>68</sup>Ge rotating rod sources before emission data acquisition. HR+ emission images were reconstructed with all corrections by a

3D filtered back projection algorithm (Hamming filter; cut-off frequency, 0.5 cycles/pixel) and a zoom factor of three. Reconstructed volumes were 63 slices (2.42-mm thickness, 128 x 128 matrices of 0.32 x 0.32 mm<sup>2</sup> voxels), pixels in 63 2.42-mm spaced planes. The Biograph mCT had a spatial transverse resolution of 4.4 mm. Attenuation was obtained using a 1-min low-dose CT scan acquired before emission. Biograph mCT/S64 emission images were reconstructed using the Siemens ultraHD PET algorithm with 12 iterations, eight subsets and a zoom factor of 21. Reconstructed volumes were 109 slices (2.027-mm thickness, 256 x 256 matrices of 0.398 x 0.398 mm<sup>2</sup> voxels). For both PET scans, dynamic acquisition started with the intravenous injection of radiotracers synthesized in the cyclotron unit at CERMEP. To assess the lesions of 5-HT and DA terminals, the following different tracers were used: [<sup>11</sup>C]DASB (11C-N,N-dimethyl-2-(2-amino-4-cyanophenylthio) benzylamine) for 5-HT transporter binding, [<sup>11</sup>C]PE2I (11C-N-(3-iodoprop-2E-enyl)-2beta-carbomethoxy-3beta-(4-methylphenyl)nortropine) for DA transporter binding and [<sup>18</sup>F]DOPA (18-fluoro-L-DOPA) for studying amino acid decarboxylase activity.

#### *Regions of interest and kinetic modelling*

Individual PET images were registered to their corresponding individual anatomical MRI, which was registered to the M. fascicularis MRI template. Transformations from native PET to individual MRI and individual MRI to template were then concatenated to provide direct (and inverse) affine transformations from PET native spaces to the template space. PET were analyzed by tracer kinetic modelling at a voxel-based level. The parameters computed were the non-displaceable binding potential (BP<sub>ND</sub>) of [<sup>11</sup>C]DASB and [<sup>11</sup>C]PE2I using a simplified reference tissue model. For [<sup>18</sup>F]DOPA, the uptake rate (K<sub>i</sub>, 10<sup>-3</sup>/min) was calculated using frames recording between 30 and 90 min for the linearization and the Patlak graphical analysis. The cerebellum (excluding the vermis) was considered as the reference area for the

two models. Region of interest analysis was conducted using the MAXPROB method to define region delineation as previously.<sup>11</sup>

## **Immunohistochemistry**

### *Tissue preparation*

Monkeys were anesthetized (ketamine at 1mg/kg followed by a lethal dose of pentobarbital), and perfused transcardially with 400 ml of saline (0.9% at 37°C) before 5L of 4% paraformaldehyde (in 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4 at 4°C) followed by 1L of PBS with 5% sucrose. The brains were removed from the skull, rinsed in PBS complemented with 10% sucrose for 1 day and 20% sucrose for further one day. Then, frozen brains were cut into 50- $\mu$ m thick sections coronally on a freezing microtome.

### *Immunostaining*

Free-floating sections were rinsed in Tris-buffered saline (TBS; 0.25 M Tris and 0.25 M NaCl, pH 7.5), incubated for 5 min in TBS containing 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 10% methanol, and then rinsed three times for 10 min each in TBS. After 15-min incubation in 0.2% Triton X-100 in TBS, the sections were rinsed three times in TBS. These were incubated for three days at 4°C with the following primary antibodies: anti-TH 1/5000 mouse monoclonal from Euromedex (catalogue number 22941) and anti-TPH2 1/800 sheep polyclonal from Millipore (catalogue number AB1541). After three rinses in TBS, the sections were then incubated for two hours at room temperature with the corresponding secondary biotinylated antibody (1/500 from Abcys) in TBS. After being washed, the sections were incubated for 90 min at room temperature in avidin-biotin-peroxidase complex solution (final dilution, 1/50; Abcys). The sections were then rinsed twice in TBS and twice in Tris buffer (0.25 M Tris, pH 7.5) for 10 min each, placed in a solution of Tris buffer containing 0.1% 3,3'-diaminobenzidine (DAB; 50 mg/100 ml), and developed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> addition (0.02%). The specificity of the

immunostaining was assessed by omission of the primary antibody from the protocol. After processing, the tissue sections were mounted onto gelatin-coated slides and dehydrated through graded alcohol to xylene for light microscopic examination using a computerized image analyzer (Mercator, ExploraNova).

#### *Soma quantification*

For each animal, TH<sup>+</sup> cells were counted on nine regularly spaced sections encompassing the A8 (peri- and retrorubral area), A9 (substantia nigra pars compacta) and A10 (ventral tegmental area) regions. TPH2<sup>+</sup> cells were also counted throughout five regularly spaced sections covering the antero-posterior extent of the raphe.<sup>11</sup> All counts were estimated after correction by the Abercrombie method.

#### **Statistical analysis**

All statistical analysis was performed using R software. Severity of motor symptoms was compared between groups using an ANOVA and Bonferroni-corrected post hoc tests. Analysis at the motor peak represented the variation at the motor peak and 3 days before and after (ANOVA with repeated measures). For the area under the curve (AUC) analysis, we arbitrarily included scoring data until day 23 for all items of the scale. Statistical analysis was performed using ANOVA. The differences between states (for PET imaging) or groups (for immunohistochemistry) were assessed using the non-parametric Wilcoxon signed-rank test. Linear regressions were used to analyze relationships between behavioural and immunohistochemical data.

## Results

### MDMA, prior to MPTP, affects both 5-HT and DA PET imaging

A double lesion was induced by sequential use of MDMA and MPTP (Fig 1A). We used 5-HT and DA ligands, which allowed us to analyze 5-HT and DA functional changes (Fig 1B). For MDMA/MPTP monkeys (Fig 1B, left part; Fig 1C<sub>1</sub>), [<sup>11</sup>C]DASB BP<sub>ND</sub> was significantly reduced after MDMA in the caudate-putamen, ventral striatum and the thalamus. Despite the lack of a [<sup>11</sup>C]DASB scan after MPTP administration, we assumed that [<sup>11</sup>C]DASB BP<sub>ND</sub> remained stable as we have previously shown that MPTP does not affect [<sup>11</sup>C]DASB BP<sub>ND</sub>.<sup>11</sup> Surprisingly, after MDMA, [<sup>11</sup>C]PE2I BP<sub>ND</sub> (Fig 1B, left part) was significantly diminished in the caudate-putamen and ventral striatum (Fig 1B and 1C<sub>2</sub>), and also had the tendency to diminish in the substantia nigra (Fig 1B). As expected, [<sup>11</sup>C]PE2I BP<sub>ND</sub> then collapsed after MPTP administration (Fig 1B and 1C<sub>2</sub>). For MPTP/MDMA monkeys (Fig 1B, right panel), [<sup>11</sup>C]DASB BP<sub>ND</sub> was not reduced after MPTP, but was reduced after MDMA in both striatal and thalamic regions. [<sup>18</sup>F]DOPA uptake (Fig 1B, right panel) was strongly diminished after MPTP and not further decreased after MDMA as previously shown.<sup>11</sup> Of note, similar results were obtained with [<sup>11</sup>C]PE2I BP<sub>ND</sub> on another subgroup of MPTP<sub>prec</sub>/MDMA monkeys (data not shown and <sup>11</sup>).

### Impact of early MDMA lesions on MPTP-induced parkinsonism

As expected, all monkeys receiving MPTP developed motor symptoms (Figures 2 and 3). However, striking differences were observed between groups, especially when comparing monkeys which received progressive MPTP (all monkeys except the orange ones on Fig 2A<sub>1</sub> and 2A<sub>2</sub>). Indeed, these monkeys which had a prior MDMA lesion (MDMA/MPTP) systematically reached a higher motor score than the MPTP<sub>prec</sub> did (MPTP<sub>prec</sub>/MDMA) (mean maximal motor score  $13.5 \pm 2$ ) in less time (mean time to reach the peak after the start of

MPTP administration: 34, 18 and 20 for MPTP<sub>prec</sub>/MDMA, MDMA/MPTP<sub>prec</sub> and MPTP<sub>sym</sub>, respectively). Of note, one MDMA pre-lesioned monkey which received progressive MPTP administration remained symptomatic (MDMA/MPTP<sub>sym</sub>), a result emphasizing again that parkinsonian symptoms were aggravated by prior MDMA lesioning. When compared to severe parkinsonian monkeys (mean maximal motor score  $24.5 \pm 0.5$ ), MDMA/MPTP monkeys exhibited parkinsonism very rapidly (shorter mean time) even though they had a lower global motor score (mean maximal motor score  $20.2 \pm 1$ ) and the majority of them recovered (except the one in red on Fig 2A<sub>1</sub>) (Fig 2, panels A<sub>1</sub> and A<sub>3</sub>). The progression of motor symptoms was not impacted by the total MPTP dose or the number of injections (data not shown). But, from post-mortem quantification, we found a positive correlation ( $R^2 = 0.42$ ,  $p = 0.016$ ) between TH<sup>+</sup> cell loss and the severity of maximal motor score (Fig 2A<sub>2</sub>), indicating that the stronger the dopaminergic lesion, the more symptomatic the monkey. Of interest, monkeys with an early MDMA lesion exhibited higher maximal motor scores after MPTP, which was associated with a higher percentage of TH<sup>+</sup> cell loss compare to MPTP<sub>prec</sub>/MDMA monkeys. On the contrary, the percentage of TPH<sub>2</sub><sup>+</sup> cell loss in the raphe was not different between MDMA/MPTP and MPTP/MDMA groups (data not shown), indicating that the severity of parkinsonism developed by MDMA/MPTP monkeys is not due to the loss of serotonergic soma.

To evaluate both severity and duration of motor symptoms, we used an area under the curve (AUC) analysis (Fig 2, panel B<sub>1</sub>). MDMA/MPTP<sub>prec</sub> monkeys had more severe and persistent deficits of spontaneous activities ( $p = 0.042$ ) and motor symptoms ( $p = 0.033$ ) compared to MPTP<sub>prec</sub>/MDMA monkeys and, as expected, their motor ( $p = 0.013$ ) and other symptoms ( $p = 0.0002$ ) were less severe than MPTP<sub>sym</sub> monkeys. Interestingly, we observed no difference in spontaneous activities between those two groups ( $p = 0.82$ ). Moreover, among the motor symptoms, we found a positive correlation between the percentage of TH<sup>+</sup> cell loss in A9 and

bradykinesia AUC ( $p = 0.011$ ;  $R^2 = 0.37$ ) (Fig 2, panel B<sub>2</sub>). No other relationships were found (data not shown).

We then looked at each individual symptom at the motor peak (Fig 3 and data not shown). Although MDMA/MPTPrec (blue lines) and MPTPrecsym (orange lines) monkeys received different MPTPrec protocols (Table 1), MDMA/MPTPrec had an equivalent severity score to MPTPrecsym monkeys for hypokinesia (home-cage activity), tremor and arm posture scores. When compared to MPTPrec/MDMA monkeys, MDMA/MPTPrec monkeys reached a higher score for home-cage activity ( $p < 0.001$ ), tremor ( $p < 0.01$ ), arm posture ( $p < 0.01$ ) and posture ( $p = 0.052$ ). Only the arm movement score was significantly different between the MPTPrec/MDMA ( $p < 0.001$ ) and MPTPrecsym ( $p < 0.01$ ) groups. Compared to symptomatic monkeys, MDMA/MPTPrec monkeys had significant smaller bradykinesia ( $p < 0.05$ ), rigidity ( $p < 0.05$ ) and freezing ( $p=0.052$ ) scores. Finally, MPTPrecsym monkeys had higher freezing and posture scores ( $p = 0.05$ ) compared to both MDMA/MPTPrec and MPTPrec/MDMA monkeys (data not shown).

## Discussion

The findings reported here raise several important points. First, prior MDMA lesioning worsened MPTPrec-induced parkinsonism. After MDMA alone, monkeys displayed no motor deficits while they exhibited a slight brain DA loss (but only detected by PET imaging with [<sup>11</sup>C]-PE2I). Of note, once those monkeys received MPTPrec, they exhibited a severity of parkinsonism (and associated DA cell loss) which was intermediate between the moderately- and severely-MPTPrec lesioned animals. MPTPrec administration induced greater DA neuron degeneration in MDMA-pretreated monkeys than in MPTPrec monkeys. Of note, the decrease of [<sup>11</sup>C]-PE2I binding within the posterior putamen negatively correlated with the TH cell

loss, the latter being positively linked to the parkinsonian score. These results indicate that acute, repeated MDMA administration in NHPs may injure dopaminergic neurons and enhance MPTP neurotoxic action, as has been shown in MPTP-treated mice.<sup>13</sup> Whether this is the MDMA-evoked 5-HT or DA injury which worsens DA cell loss in response to subsequent MPTP remains to be determined. However, the fact that we have previously shown that MDMA, when administered after MPTP, does not kill the remaining mesencephalic DA neurons<sup>11</sup> is an argument against the possibility that MDMA-evoked 5-HT injury could directly worsen DA degeneration. Moreover, the fact that, here, raphe serotonergic somas resist to both MDMA and MPTP administrations strongly suggest that MDMA-driven 5-HT injury only impacts 5-HT terminals and not 5-HT somas or another type of cells. Instead, there is probably a synergistic effect of the MDMA-evoked previous partial DA injury with the neurotoxicity of MPTP towards DA neurons which boots DA degeneration. Therefore MDMA, like other amphetamine analogs, favors DA vulnerability. While neurotoxicity towards DA neurons is well accepted in mice<sup>14</sup>, it has been questioned for a long time in other species. A recent study has clearly demonstrated that MDMA also has a neurotoxic effect on DA neurons in rats<sup>15</sup>, but there was no evidence that MDMA could damage DA nerve terminals in humans<sup>16</sup> and NHPs<sup>11</sup> until now. One must proceed cautiously as drug types, doses, route and regimen of administration as well as DA system integrity (see<sup>11</sup>) may account for these species differences. Therefore, although we cannot exclude the possibility of DAT internalization, this study is the first to show a DAT binding reduction as well as a reduced number of mesencephalic DA neurons in MDMA-pretreated monkeys. The mechanisms that form the basis of the increased vulnerability to MPTP of MDMA-pretreated monkeys are probably attributable to the ability of MDMA to increase the formation of reactive oxygen species and cause oxidative stress, which may render neurons more vulnerable to subsequent MPTP.<sup>14</sup> However, illicit stimulant use has recently been associated



with abnormal substantia nigra morphology and increased risk of PD.<sup>17,18</sup> A link between ecstasy use and PD has been flagged several years ago<sup>19,20</sup> with the reporting of three cases of juvenile parkinsonism in ecstasy users.<sup>21-23</sup>

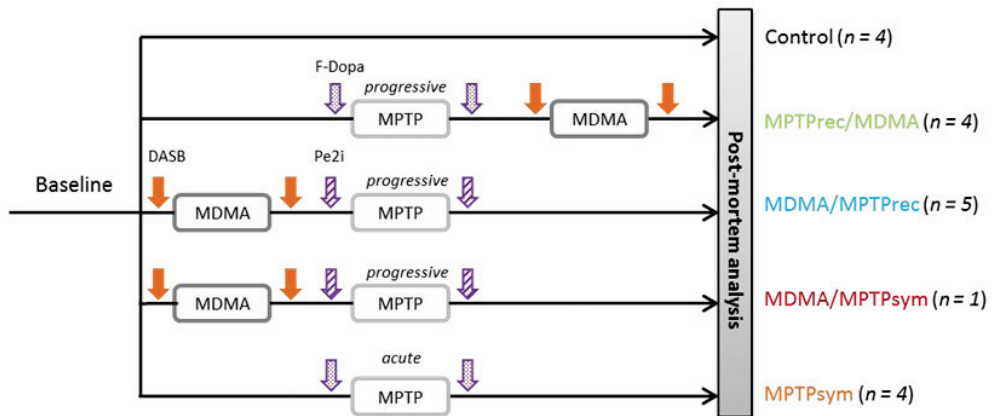
The second important finding reported here is that while bradykinesia, rigidity and freezing were not affected by prior MDMA administration, tremor, arm posture and spontaneous activities were significantly impacted. These data indicate that MDMA, which preferentially destroys serotonergic fibers, has an impact on particular deficits, which are also detected in PD patients. Bradykinesia, rigidity and freezing are often related to DA system deficits and associated with akinetic-rigid patients.<sup>4,24</sup> The fact that prior MDMA administration potentiated action tremor severity is in line with studies showing that the 5-HT system modulates tremor in parkinsonian rodents.<sup>25,26</sup> This is also in agreement with the existing link between 5-HT dysfunction and tremor in PD patients, although studies are not always concordant regarding the form of tremor involved (rest or re-emergent, postural and kinetic tremors).<sup>27</sup> More severe raphe dysfunction correlates with more severe tremor scores in early PD.<sup>28,29</sup> Tremor-dominant PD patients also have less severe DA deficits compared to akinetic-rigid patients. Prior MDMA administration enhanced abnormal posture. MDMA/MPTPrec monkeys had marked dystonic posture of the hand or foot. Of note, dystonia can be the presenting symptom of untreated PD, especially common in patients with young-onset PD and responds variably to DA treatments.<sup>30</sup> A serotonergic component might therefore have also been involved. Finally, prior MDMA administration affected global spontaneous activities. Indeed MDMA/MPTPrec monkeys displayed a greater lack of activity compared to severely MPTP-lesioned monkeys while they were less bradykinetic and rigid. This could reflect a lack of motivation or a higher level of anxiety-related behaviour. Interestingly, PD patients show a reduction of spontaneous movement.<sup>31</sup> We have also

recently shown that apathy, depression and anxiety are linked to 5-HT deficits in *de novo* PD patients.<sup>7</sup> It remains to assess whether severity of action tremor, abnormal posture or spontaneous activities, exhibited by our monkeys, can be related to a specific 5-HT damage within projection regions, as neither MDMA nor MPTP did alter the number of raphe TPH2 positive cells.

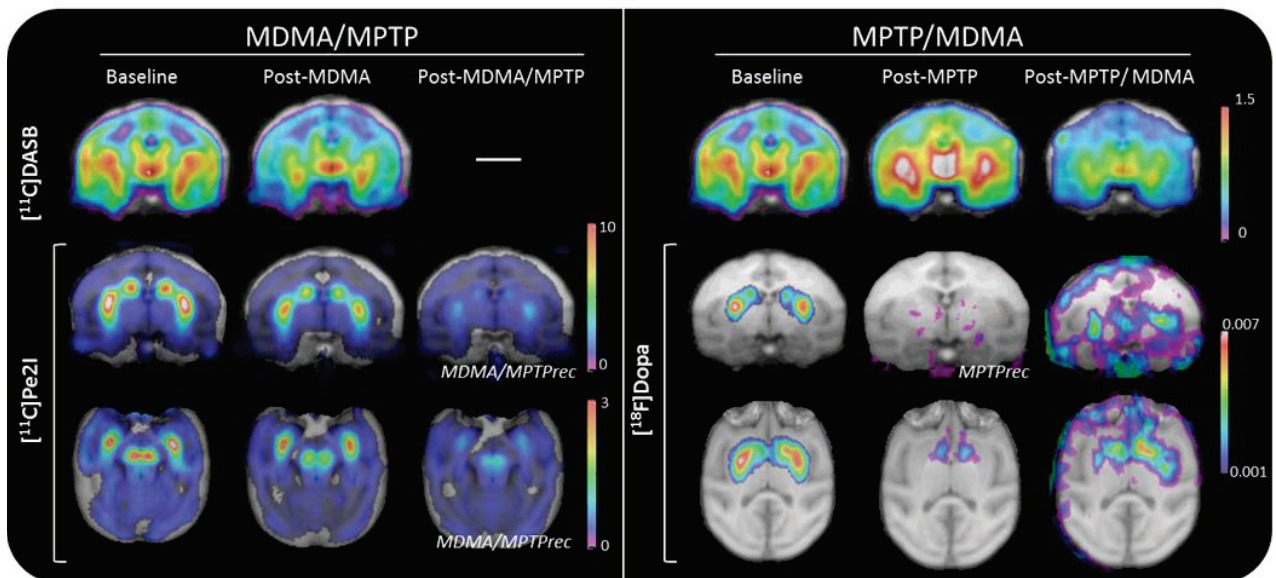
Altogether, this NHP study provides an important conceptual advance by demonstrating that MDMA mostly injures the 5-HT system but also, to a lesser extent the DA system, and worsens some specific parkinsonian deficits induced by subsequent MPTP administration, specifically action tremor, abnormal posture and spontaneous activities. It would be very interesting to investigate the consequences of dopatherapy on such MDMA/MPTP animal model of PD, given that MDMA, when administered after MPTP, abolishes both L-DOPA-induced dyskinesia and neuropsychiatric-like behaviour.<sup>11</sup> Furthermore, the use of a specific 5-HT toxin, such as the 5,7-dihydroxytryptamine,<sup>32,33</sup> combined to MPTP in NHPs, would be extremely useful to address the impact of a selective 5-HT lesion on both DA degeneration and PD symptomatology.

# Figures

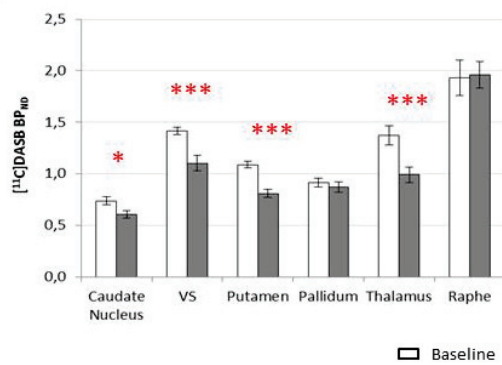
A



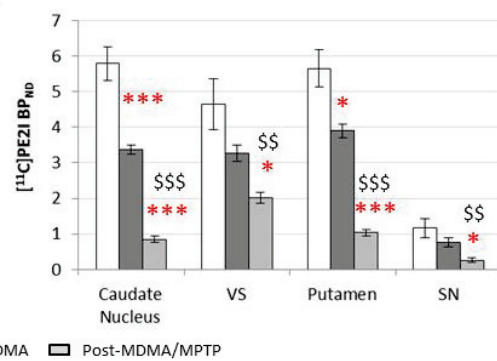
B



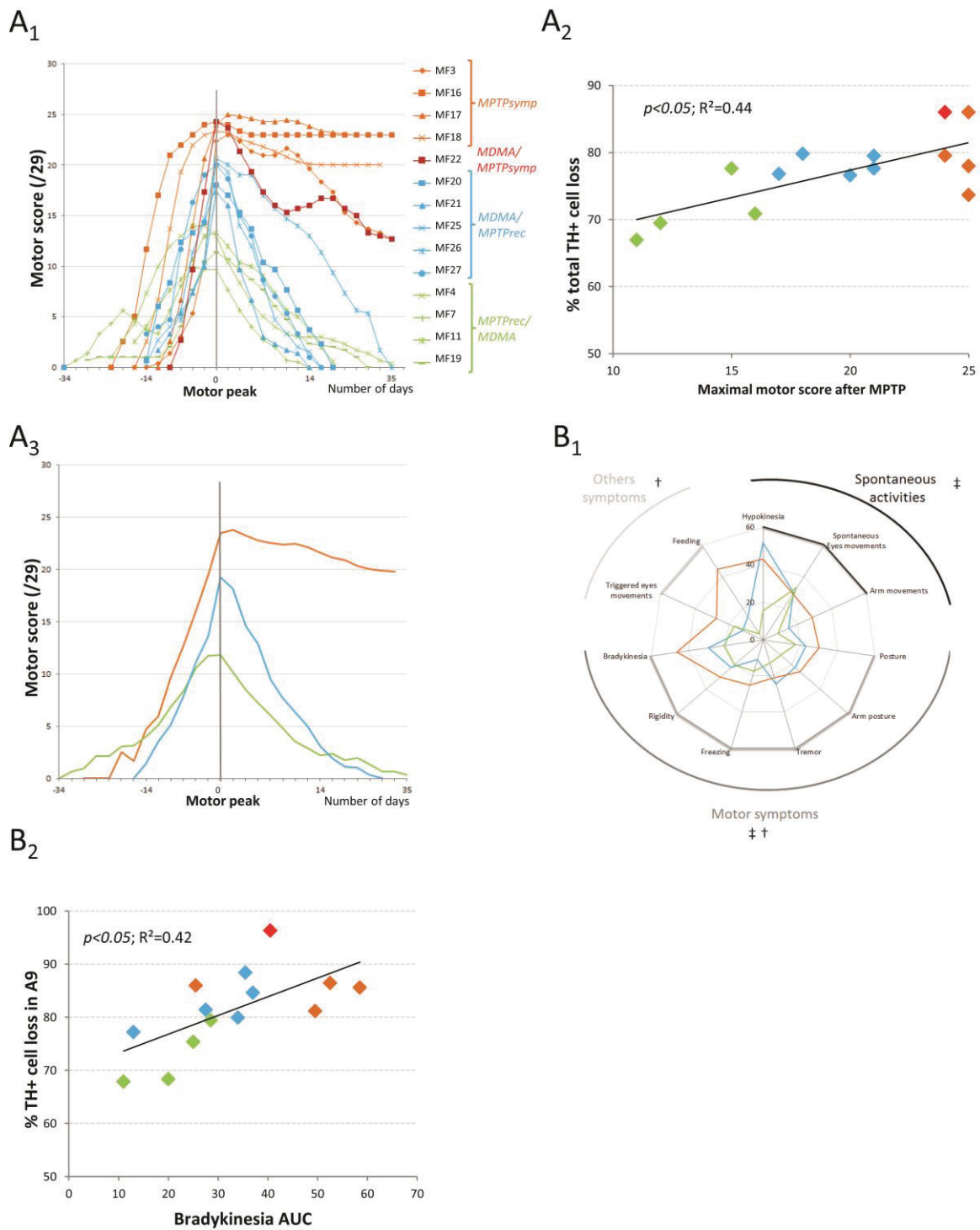
C<sub>1</sub>



C<sub>2</sub>

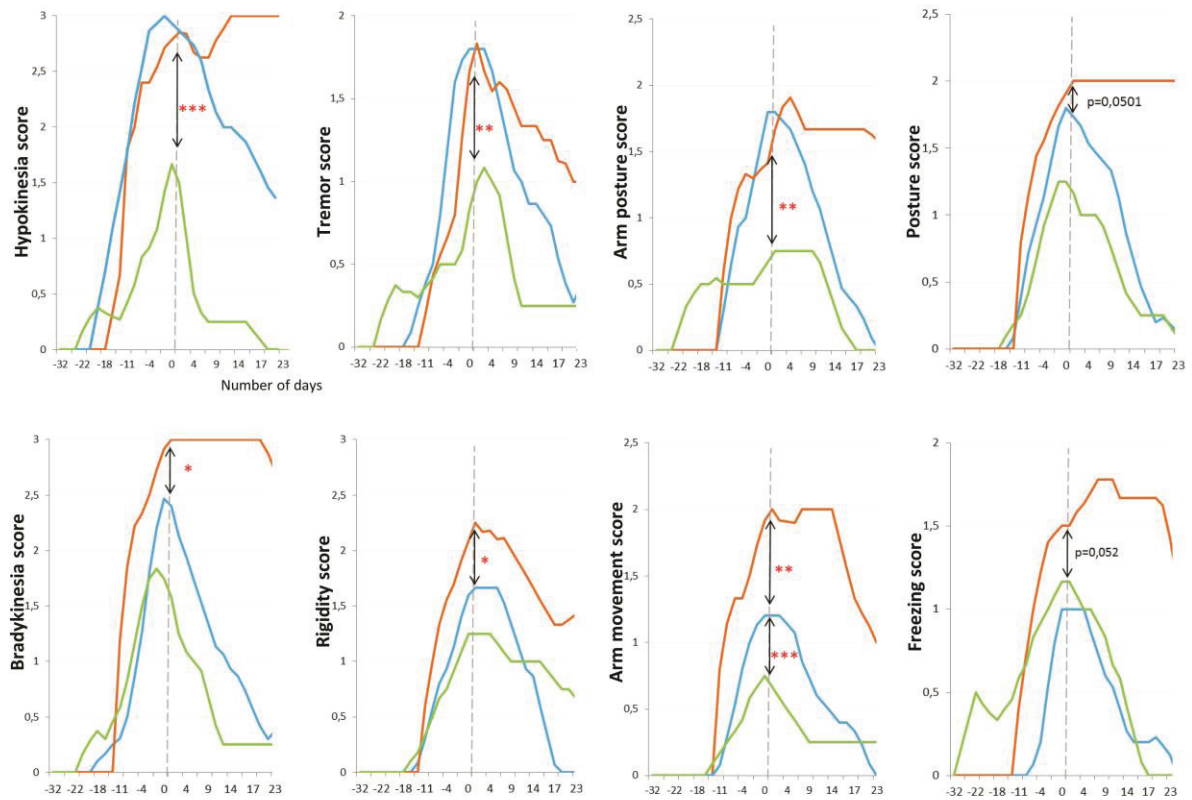


**Figure 1: Study design and consequences of MDMA and MPTP intoxications on PET imaging.** (A) Flowchart illustrates experimental design, treatment and group assignments. (B) PET images (in colour) on coronal and horizontal plans in baseline, post-MDMA, post-MDMA/MPTP, post-MPTP and post-MPTP/MDMA according to experimental groups. PET images are superimposed on the *M. fascicularis* MRI brain template (in grey). [<sup>11</sup>C]DASB PET coronal images were performed in MDMA/MPTP (n = 7) and MPTP/MDMA (n = 5) groups. [<sup>11</sup>C]PE2I was used for MDMA/MPTP group (n = 5) and [<sup>18</sup>F]DOPA for MPTP/MDMA group (MPTPprec (n = 5) and MPTPsym (n = 2)). Colours represent the level of BP<sub>ND</sub> or Ki uptake using the cerebellum as reference region (red indicates high BP<sub>ND</sub> or Ki uptake whereas blue indicates low BP<sub>ND</sub> or Ki uptake on scales). (C) Histograms representing the BP<sub>ND</sub> of [<sup>11</sup>C]DASB (C<sub>1</sub>) and [<sup>11</sup>C]PE2I (C<sub>2</sub>) in baseline, post-MDMA and post-MPTP for the MDMA/MPTP group. \* p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 versus baseline; <sup>s</sup>p<0.05; <sup>ss</sup>p<0.01; <sup>sss</sup>p<0.001 versus post-MDMA. Abbreviations: VS, ventral striatum; SN, substantia nigra; MRI, magnetic resonance imaging.



**Figure 2: Characteristics of MPTP-induced parkinsonism between groups.** (A<sub>1</sub>) Evolution of motor score for each monkey during MPTP intoxication and recovery or stabilization period. Timelines were aligned at Day 0 corresponding to the motor peak (maximal motor score) for each monkey. (A<sub>2</sub>) Positive correlation found between the severity of the score and the percentage of total TH+ cell loss. (A<sub>3</sub>) Evolution of the average motor score for each group. (B<sub>1</sub>) Radar diagram performed with areas under the curve (AUCs) after gathering symptoms into 3 groups. ‡ MDMA/MPTPrec versus MPTPrec/MDMA monkeys; † MDMA/MPTPrec versus MPTPsym monkeys. (B<sub>2</sub>) Correlation between bradykinesia AUC and percentage of TH+ cell loss in A9.

A



**Figure 3: Severity of individual symptoms between groups. (A)** Score at peak reached by MDMA/MPTPrec monkeys was compared to the score at peak obtained by monkeys from the two others groups. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ . MPTPrec, MDMA/MPTPrec, MPTPrec/MDMA groups are represented in orange, blue and green respectively.

Protocol	Number MDMA injections	Total MDMA dose (mg/kg)	Number MPTP injections	Total MPTP dose (mg/kg)	Maximal motor Score	Time (days)			TH+ cell loss (%)				TPH2 cell loss (%)		
						To peak	To recover	To stabilize	A8	A9	A10	Total	DRN	MRN	
<b>MPTPsym</b>	Acute														
MF3	N/A	N/A	5	2.2	25	22	-	56	74	86	73	78	-	-	
MF16	N/A	N/A	3	1.2	24	11	-	16	89	86	83	86	47	31.6	
MF17	N/A	N/A	3	1.2	25	6	-	28	78	81	62	74	15.8	-24	
MF18	N/A	N/A	3	1.2	24	14	-	28	83	86	70	80	46.5	17.9	
<b>MPTPrec</b>	Progressive														
MDMA															
MF4	8	40	4	1.6	16	26	62	-	72	75	65	71	8.7	-3	
MF7	8	40	3	1.2	11	35	35	-	71	68	61	67	10.6	-6	
MF11	8	40	4	1.6	12	34	38	-	81	68	58	70	2.6	45.8	
MF19	8	40	3	1.2	15	15	38	-	72	79	80	77	8.7	31.7	
<b>MDMA</b>	Progressive														
<b>MPTPsym</b>															
MF22	8	40	2	0.8	25	12	-	36	90	96	71	86	10.9	7.6	
<b>MDMA</b>	Progressive														
<b>MPTPrec</b>															
MF20	8	40	4	1.5	19	24	25	-	89	81	68	80	6	13.7	
MF21	8	40	3	1.2	19	18	18	-	86	77	66	77	3	9.7	
MF25	8	40	5	1.6	21	25	21	-	79	80	70	77	0	23.8	
MF26	8	40	2	0.8	21	11	34	-	81	88	68	80	8	19.2	
MF27	8	40	3	1.2	21	18	18	-	84	85	63	78	-4	4.9	

**Table 1: Characteristics of intoxications and immunohistochemical data for each monkey.**  
Abbreviations: DRN, dorsal raphe nucleus; MRN, median raphe nucleus.

## References

1. Rodriguez-Oroz, M. C., Jahanshahi, M., Krack, P., Litvan, I., Macias, R., Bezard, E., & Obeso, J. A. (2009). Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. *The Lancet. Neurology*, 8(12), 1128-1139.
2. Pagano, G., Niccolini, F., Fusar-Poli, P., & Politis, M. (2017). Serotonin transporter in Parkinson's disease: A meta-analysis of positron emission tomography studies. *Annals of Neurology*, 81(2), 171-180.
3. Hirsch, E. C., Orieux, G., Muriel, M.-P., Francois, C., & Feger, J. (2003). Nondopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Advances in Neurology*, 91, 29-37.
4. Jellinger, K. A. (1999). Post mortem studies in Parkinson's disease- is it possible to detect brain areas for specific symptoms? *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 56, 1-29.
5. Pagano G, Niccolini F, Politis M. (2018) The serotonergic system in Parkinson's patients with dyskinesia: evidence from imaging studies. *J Neural Transm (Vienna)*. 125(8):1217-1223.
6. Melse, M., Tan, S. K. H., Temel, Y., van Kroonenburgh, M. J. P. G., & Leentjens, A. F. G. (2014). Changes in 5-HT<sub>2A</sub> receptor expression in untreated, de novo patients with Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 4(2), 283-287.
7. Maillet, A., Krack, P., Lhommée, E., Météreau, E., Klinger, H., Favre, E., Le Bars D, Schmitt E, Bichon A, Pelissier P, Fraix V, Castrioto A, Sgambato-Faure V, Broussolle E, Tremblay L, Thobois, S. (2016). The prominent role of serotonergic degeneration in apathy, anxiety and depression in de novo Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 139(Pt 9), 2486-2502.
8. Braak, H., Tredici, K. D., Rüb, U., de Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(2), 197-211.
9. Morissette M, Di Paolo T. (2018) Non-human primate models of PD to test novel therapies. *J Neural Transm (Vienna)*. 125(3):291-324.
10. Ricaurte, G. A., Yuan, J., & McCann, U. D. (2000). (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy')-induced serotonin neurotoxicity: studies in animals. *Neuropsychobiology*, 42(1), 5-10.
11. Beaudoin-Gobert, M., Epinat, J., Météreau, E., Duperrier, S., Neumane, S., Ballanger, B., Lavenne F, Liger F, Tourvielle C, Bonnefoi F, Costes N, Bars DL, Broussolle E, Thobois S,



- Tremblay L, Sgambato-Faure, V. (2015). Behavioural impact of a double dopaminergic and serotonergic lesion in the non-human primate. *Brain*, 138(9), 2632-2647.
12. Schneider, J. S., & Kovelowski, C. J. (1990). Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Research*, 519(1-2), 122-128.
  13. Costa G, Frau L, Wardas J, Pinna A, Plumitallo A, Morelli M. (2013) MPTP-induced dopamine neuron degeneration and glia activation is potentiated in MDMA-pretreated mice. *Mov Disord*. 28(14):1957-65.
  14. Moratalla R, Khairnar A, Simola N, Granado N, García-Montes JR, Porceddu PF, Tizabi Y, Costa G, Morelli M. (2017) Amphetamine-related drugs neurotoxicity in humans and in experimental animals: Main mechanisms. *Prog Neurobiol*. 155:149-170.
  15. Cadoni C, Pisanu A, Simola N, Frau L, Porceddu PF, Corongiu S, Dessì C, Sil A, Plumitallo A, Wardas J, Di Chiara G. (2017) Widespread reduction of dopamine cell bodies and terminals in adult rats exposed to a low dose regimen of MDMA during adolescence. *Neuropharmacology*. 123:385-394.
  16. Vegting Y, Reneman L, Booij J. (2016) The effects of ecstasy on neurotransmitter systems: a review on the findings of molecular imaging studies. *Psychopharmacology (Berl)*. 233(19-20):3473-501.
  17. Todd G, Noyes C, Flavel SC, Della Vedova CB, Spyropoulos P, Chatterton B, Berg D, White JM. (2013) Illicit stimulant use is associated with abnormal substantia nigra morphology in humans. *PLoS One*. 8(2):e56438.
  18. Rumpf JJ, Albers J, Fricke C, Mueller W, Classen J. (2017) Structural abnormality of substantia nigra induced by methamphetamine abuse. *Mov Disord*. 32(12):1784-1788.
  19. Kish SJ. (2003) What is the evidence that Ecstasy (MDMA) can cause Parkinson's disease? *Mov Disord*. 18(11):1219-23. Review.
  20. Jerome L, Doblin R, Mithoefer M. (2004) Ecstasy use-Parkinson's disease link tenuous. *Mov Disord*. 19(11):1386.
  21. Mintzer S, Hickenbottom S, Gilman S. (1999) Parkinsonism after taking ecstasy. *N Engl J Med*. 340(18):1443.
  22. O'Suilleabhain P, Giller C. (2003) Rapidly progressive parkinsonism in a self-reported user of ecstasy and other drugs. *Mov Disord*. 18(11):1378-81.
  23. Kuniyoshi SM, Jankovic J. (2003) MDMA and Parkinsonism. *N Engl J Med*. 349(1):96-7.
  24. Kim, R., Lee, J., Kim, Y., Kim, A., Jang, M., Kim, H.-J., Jeon B, Kang UJ, Fahn, S. (2018). Presynaptic striatal dopaminergic depletion predicts the later development of freezing

of gait in de novo Parkinson's disease: An analysis of the PPMI cohort. *Parkinsonism & Related Disorders*, 51, 49-54.

25. Vanover, K., Betz, A., Weber, S., Bibbiani, F., Kielaitis, A., Weiner, D., Davis RE, Chase TN, Salamone, J. (2008). A 5-HT<sub>2A</sub> receptor inverse agonist, ACP-103, reduces tremor in a rat model and levodopa-induced dyskinesias in a monkey model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(4), 540-544.

26. Kolasiewicz, W., Kuter, K., Berghauzen, K., Nowak, P., Schulze, G., & Ossowska, K. (2012). 6-OHDA injections into A8-A9 dopaminergic neurons modelling early stages of Parkinson's disease increase the harmaline-induced tremor in rats. *Brain Research*, 1477, 59-73.

27. Jankovic J. (2018) Parkinson's disease tremors and serotonin. *Brain*. 141(3):624-626.

28. Qamhawi, Z., Towey, D., Shah, B., Pagano, G., Seibyl, J., Marek, K., Borghammer P, Brooks DJ, Pavese, N. (2015). Clinical correlates of raphe serotonergic dysfunction in early Parkinson's disease. *Brain*, 138(10), 2964-2973.

29. Pasquini J, Ceravolo R, Qamhawi Z, Lee JY, Deuschl G, Brooks DJ, Bonuccelli U, Pavese N. (2018) Progression of tremor in early stages of Parkinson's disease: a clinical and neuroimaging study. *Brain*. 141(3):811-821.

30. Ashour R, Tintner R, Jankovic J. (2005) Striatal deformities of the hand and foot in Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 4(7):423-31.

31. Bhat, S., Acharya, U. R., Hagiwara, Y., Dadmehr, N., & Adeli, H. (2018). Parkinson's disease: Cause factors, measurable indicators, and early diagnosis. *Computers in Biology and Medicine*, 102, 234-241.

32. Caillé S, Stinus L, Espejo EF, De Deurwaerdère P, Spampinato U, Koob GF. (2003) Inhibition of 5-HT neurotransmission increases clonidine protective effects on naloxone-induced conditioned place aversion in morphine-dependent rats. *Neuropsychopharmacology*. 28(2):276-83.

33. Man MS, Dalley JW, Roberts AC. (2010) Opposing effects of 5,7-DHT infusions into the orbitofrontal cortex and amygdala on flexible responding. *Cereb Cortex*. 20(7):1668-75.

# **Travail expérimental (Article 3)**

## I. Rappel du contexte

Comme nous l'avons vu dans la partie traitement de l'introduction, les agents dopaminergiques, que ce soit la L-Dopa ou les agonistes dopaminergiques, sont prescrits aux patients dans les premiers stades de la maladie afin de palier au déficit dopaminergique. Pour ce qui est des agonistes dopaminergiques tel que le pramipexole (PPX), ils peuvent être prescrits seuls ou associés à la L-Dopa pour réduire les complications motrices mais également dans le cadre de la dépression (Paolo Barone et al., 2010; Perez-Lloret, Perez Lloret, Rey, Ratti, & Rascol, 2011; Picillo, Rocco, & Barone, 2009). L'efficacité de ce traitement serait variable selon le stade de progression de la MP. Le pramipexole prescrit seul serait particulièrement efficace chez les patients nouvellement diagnostiqués. Chez des patients avancés la monothérapie ne serait pas suffisante, il faudrait en plus de la L-Dopa (Dooley et Markham 1998). Plusieurs études menées chez le rat 6-OHDA montrent qu'un traitement au pramipexole aurait un effet anxiolytique et antidépresseur (Chiu et al., 2015). D'autres agonistes dopaminergiques (D<sub>2</sub> ou D<sub>3</sub>) permettent également d'inverser le déficit motivationnel induit par une lésion 6-OHDA (Carnicella et al. 2014). Au-delà des effets bénéfiques du traitement par dopathérapie, les patients peuvent présenter des effets secondaires. Des études suggèrent un lien entre le développement des troubles impulsifs et le pramipexole (Voon et al. 2011; Weintraub D et al. 2010).

Enfin, au niveau physiologique, une étude récente chez le rat 6-OHDA montre qu'un traitement chronique de cet agoniste modulerait l'expression des transporteurs sérotoninergiques tout en ayant un effet anti-dépresseur (Berghauzen-Maciejewska et al. 2016).

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude. Nous avons voulu observer les effets de ce traitement chronique chez des singes doublements lésés. Est-ce que le pramipexole va induire un trouble psycho-comportemental chez ces animaux ayant une lésion sérotoninergique et dopaminergique modérée ?

## **II. Etude d'un traitement chronique au pramipexole chez les animaux MDMA/MPTP**

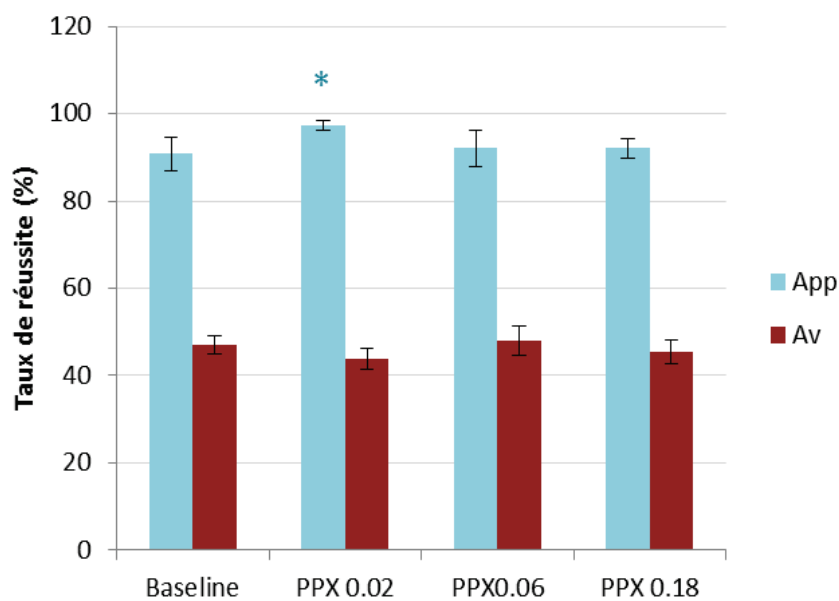
### **A. Choix de la dose**

Avant de commencer le traitement chronique au pramipexole, nous avons fait des tests avec quatre doses différentes: 0.02 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.18 mg/kg et 0.54 mg/kg. Les doses des patients, en monothérapie, se situe entre 0.4 et 6 mg/jour (Dooley & Markham, 1998). A ce jour aucune étude n'a été publiée avec cet agent chez un modèle de primate non-humain de la MP. Ces injections ont été faites sur un animal contrôle, sans lésion et sans traitement antérieur. La plus haute dose ayant eu des effets délétères (grande agitation, difficulté à faire la tâche comportementale) lors de la première injection, nous avons pris la décision de ne pas continuer cette dose. Les autres doses ont été testées, de façon aiguë, à quatre reprises chez un animal contrôle. Enfin, nous avons exclu les effets comportementaux liés à l'injection avec des injections contrôles (n = 4) (NaCl 9%).

Avec la tâche d'approche et d'évitement nous observons les différences de comportements en fonction des différentes doses injectées en systémique. Nous évaluons le taux de réussite qui correspond au taux moyen d'essais réalisés dans la

session et le taux d'erreur (omission et réponse prématurée), en séparant le contexte appétitif et aversif.

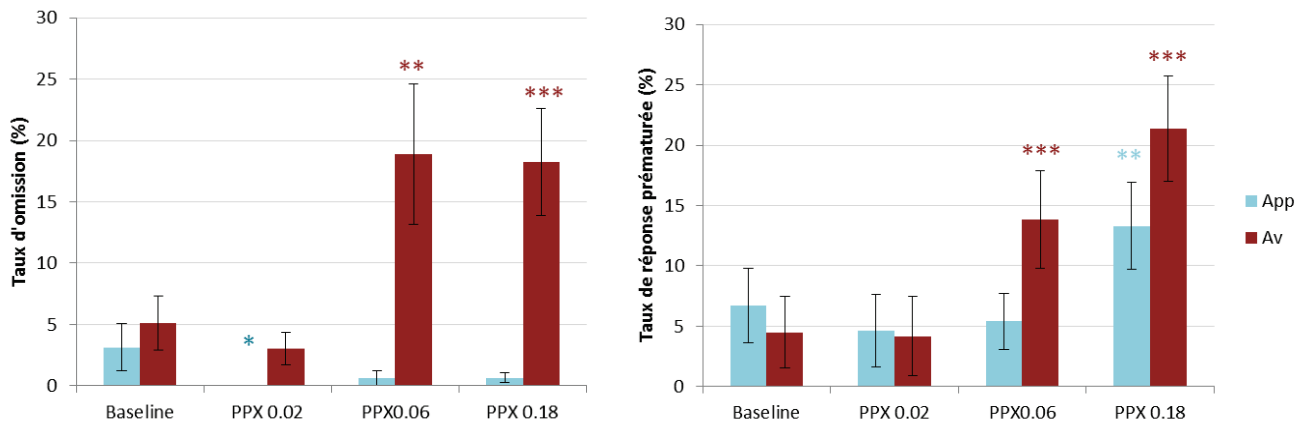
Dans le bloc de choix, quel que soit la dose injectée de pramipexole, le comportement n'est pas modifié (données non montrées). En ce qui concerne les blocs impératifs, le taux de réussite en condition appétitive est amélioré sous pramipexole à une dose de 0.02 mg/kg par rapport à la condition contrôle (« baseline ») (Figure 49).



**Figure 49 :** Variation du taux de réussite selon le contexte et les doses de pramipexole. App : contexte appétitif, Av : contexte aversif, PPX : pramipexole. Test de Wilcoxon \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  comparé à la condition baseline. Barre bleue : contexte appétitif, rouge : aversif. Les barres d'erreurs correspondent à la SEM.

Nous avons analysé le taux d'omission et de réponse prématurée en fonction des différentes doses testées et en prenant soin de séparer les deux contextes, appétitif et aversif. De façon générale, nous pouvons constater que les injections aiguës des doses 0.06 mg/kg et 0.18 mg/kg conduisent à une augmentation de manière significative et dose-dépendante des taux d'erreurs, majoritairement dans le contexte aversif. La

concentration de pramipexole à 0.02 mg/kg ne favorise quant à elle pas le taux d'erreur (Figure 50).

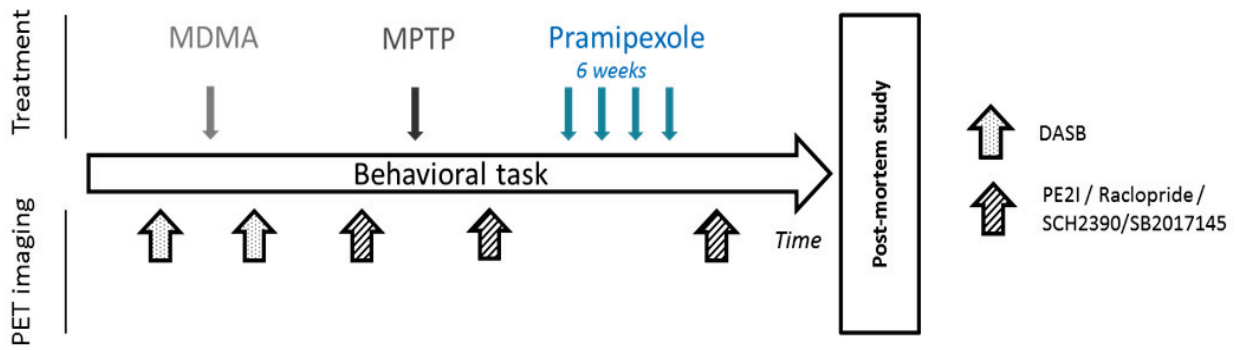


**Figure 50 :** Taux d'omissions et de réponses prématurées selon les contextes App : contexte appétitif, Av : contexte aversif, PPx : pramipexole. Test de Wilcoxon \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  comparé à la condition baseline. Barre bleue : contexte appétitif, rouge : aversif. Les barres d'erreurs correspondent à la SEM.

Au vu de ces résultats, nous avons donc sélectionné la dose à 0.02 mg/kg. Les autres doses semblent trop élevées car elles induisent déjà en injection aiguë d'importantes altérations de comportement. De plus, cette dose reste proche de celle utilisée dans des résultats préliminaires (0.03 mg/kg) menés par G. Porras (poster SFN 2015).

## B. Effets comportementaux du pramipexole sur la tâche

La dose choisie, nous avons débuté le traitement chronique chez six animaux ayant eu une lésion sérotoninergique puis dopaminergique, sur une période de 6 semaines consécutives (Figure 51). Notons que le traitement chronique a débuté pour cinq des six animaux après la récupération motrice. Un seul animal encore symptomatique a été traité, nous verrons l'effet de ce traitement sur la récupération motrice par la suite.

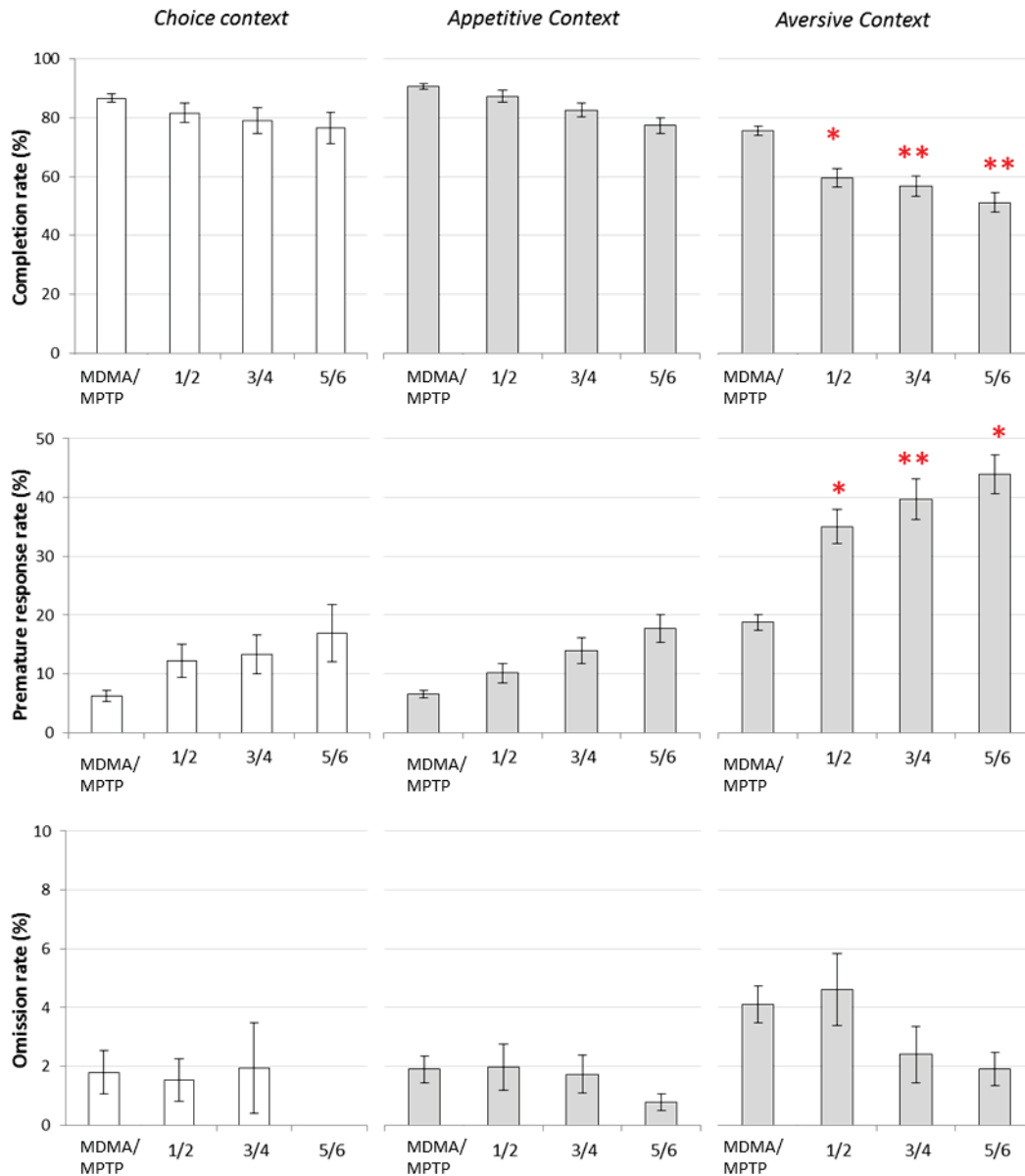


**Figure 51 :** Représentation schématique du protocole de pramipexole chronique.

A l'aide de la tâche comportementale d'approche et d'évitement, nous avons examiné l'impact comportemental du pramipexole au cours des semaines de traitement en regroupant les données des semaines 1 et 2 (S1/S2), 3 et 4 (S3/S4) et enfin 5 et 6 (S5/S6). Il faut noter que les animaux réalisaient la tâche quotidiennement une heure après l'injection de pramipexole.

Dans le contexte appétitif, que ce soit pour le bloc de choix ou le bloc impératif, le comportement des animaux ne varie pas de façon significative par rapport à la condition contrôle et au cours des semaines (Figure 52). De façon surprenante, nous observons que les animaux diminuent leurs performances au cours du traitement chronique dans le contexte aversif. Plus le traitement avance, plus les animaux présentent une diminution du taux de réussite associée à une augmentation des réponses prématurées. Le taux d'omission n'a pas été modifié ce qui reflèterait que la motivation n'ait pas été altérée. Cela serait cohérent avec les résultats de la condition de choix ne montrant également pas de modification des taux de réussite et d'erreur. Aucune différence n'a pu être observée pour les temps de réaction et de mouvement.





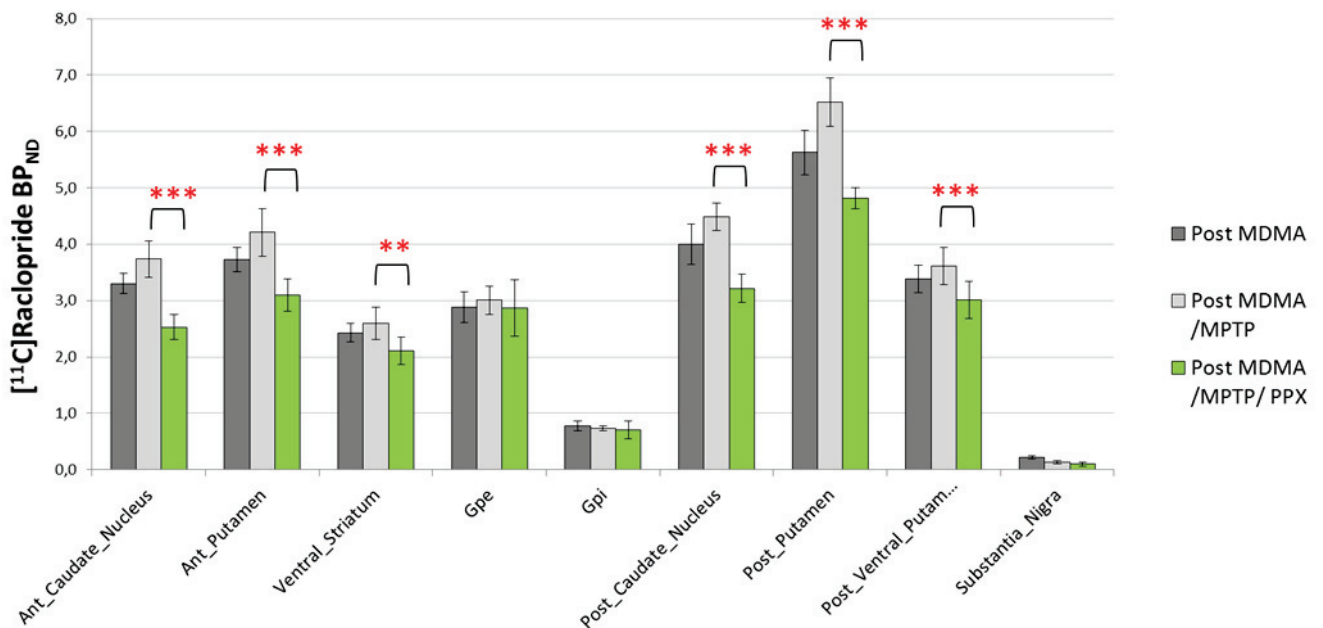
**Figure 52 :** Impact du traitement chronique au pramipexole après une double lésion MDMA/MPTP au cours des 6 semaines de traitement (n = 5). Test de Wilcoxon, \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 comparé à la condition MDMA/MPTP. Les barres d'erreurs représentent les SEM. Les histogrammes blancs correspondent à la condition de choix, les histogrammes gris à la condition impérative.

Il semblerait donc que le pramipexole ait un impact sur le comportement de type anxieux après une double lésion sérotoninergique et dopaminergique, sans altérer la motivation.

## C. Effets du pramipexole sur les marqueurs dopaminergiques et sérotoninergiques

Afin d'affiner les résultats, nous avons réalisé un suivi des modifications biologiques induites par le traitement au pramipexole grâce à l'imagerie TEP à l'aide de différents traceurs sur nos six singes (Figure 51). Quatre traceurs ont été utilisés pour évaluer les modifications des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> (SB207145), le transporteur de la dopamine (Pe2i), le récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> (Raclopride) et D<sub>1</sub> (SCH23390).

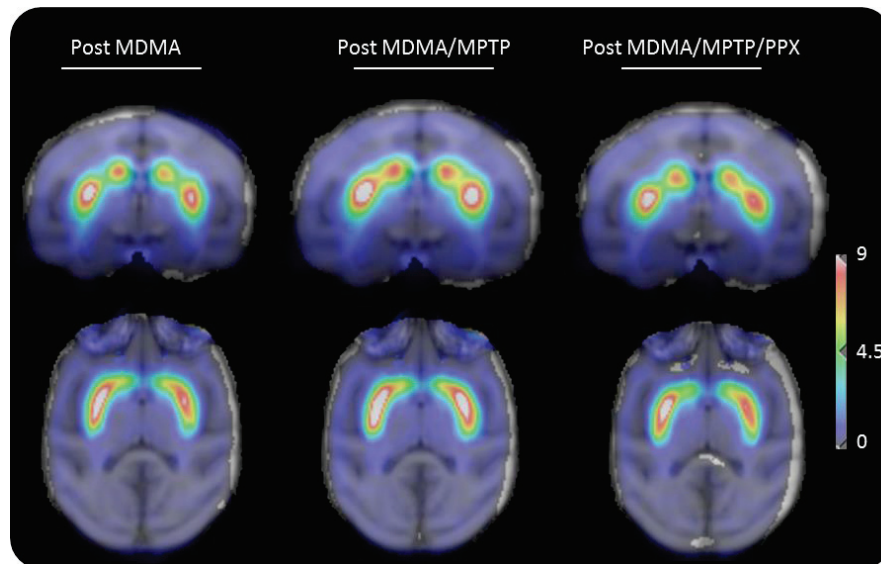
Le pramipexole, agoniste des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>, n'entraîne pas de modification de la fixation des traceurs Pe2i et SCH23390. Par contre, il induit bien une baisse de fixation du raclopride au sein du striatum (Figure 53).



**Figure 53:** Variations du potentiel de liaison du raclopride au cours du protocole pramipexole (n = 6).

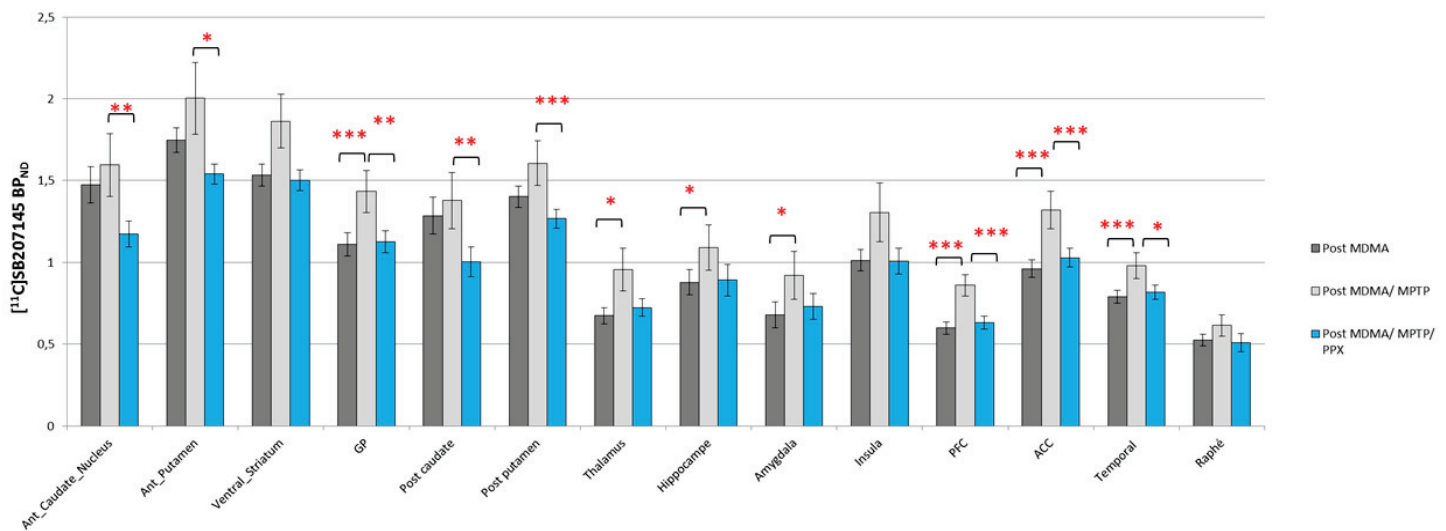
Test de wilcoxon, \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 comparé à la condition MDMA/MPTP. Les barres d'erreurs représentent les SEM. Marquage du radiotracer après lésion MDMA (gris foncé), lésion MDMA/MPTP (gris clair), sous traitement PPX (vert). Ant : antérieur, Post : postérieur, Putam : putamen

Cette réduction du marquage peut s'interpréter de deux manières : soit le pramipexole prend la place du raclopride sur les récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>, soit il y a une baisse de l'expression de ces récepteurs (Figure 53 et 54).



**Figure 54** : Images TEP montrant le marquage du [<sup>11</sup>C]Raclopride BP<sub>ND</sub> après lésion MDMA (à gauche), après la double lésion (au milieu) puis sous traitement PPX (à droite) (n= 6).

De façon plus surprenante, nous avons également observé une réduction du marquage du traceur SB207145 se fixant sur les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> sous traitement pramipexole. A noter que suite à la lésion MPTP, le marquage de ces récepteurs a significativement augmenté dans certaines régions, notamment le striatum (Figure 55). Cela suggère une modulation sérotoninergique sous pramipexole, ce dont nous discuterons dans la discussion générale.



**Figure 55 :** Histogramme montrant la variation du marquage du traceur [<sup>11</sup>C]SB207145 après lésion MDMA (gris foncé), lésion MDMA/MPTP (gris clair) puis sous traitement PPX (bleu) (n =6). Test de Wilcoxon \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001. Seules les différences significative p<0.001 passent la correction des multiples comparaisons. GP : globus pallidus interne et externe, Post putamen : post putamen et post putamen ventral, PFC : OFC, PCC et DLPFC, ACC : rACC et cortex cingulaire antérieur. Les barres correspondent à la SEM.

En conclusion de cette partie, nous pouvons dire que le pramipexole a permis à une dose de 0.02 mg/kg de contrecarrer l'état parkinsonien d'un singe MPTP/MDMA resté symptomatique. De plus, cette dose, chez les singes asymptomatiques, induit un comportement de type anxieux chez nos animaux doublement lésés. Enfin, la TEP a montré une baisse du raclopride et du SB207145 en réponse au traitement chronique.

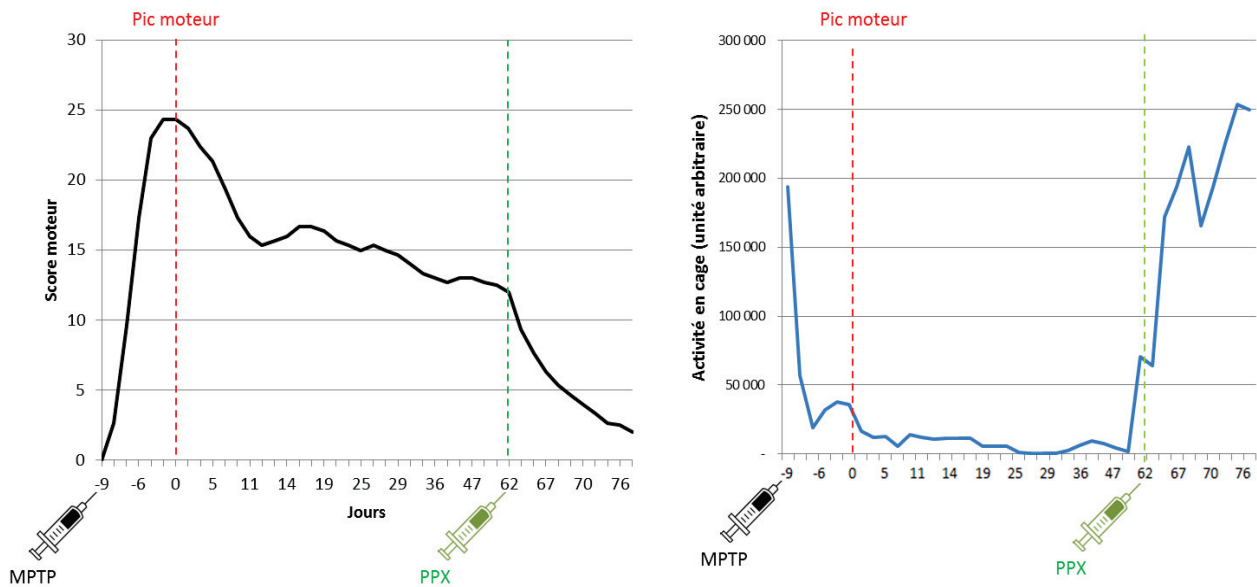
Il semble inéluctable de traiter un groupe de singes ayant uniquement une lésion dopaminergique (MPTP) avec ce traitement chronique au pramipexole, afin de déterminer le rôle de la sérotonine (MDMA) dans ces résultats comportementaux et d'imagerie.

### **III. Effets comportementaux du pramipexole en spontané**

Au-delà des performances observées en tâche nous avons souhaité évaluer l'activité spontanée des animaux durant le protocole de lésion MPTP et le traitement au pramipexole. Cette activité, mesurée à l'aide de caméras disposées face aux cages et du logiciel Phenorack, nous permet de suivre l'activité spontanée des animaux grâce à la variation de luminosité induite par les mouvements. Chaque singe étant isolé, nous avons évalué l'activité spontanée individuelle sous pramipexole, 1h, 3h et 6h après chaque injection. L'activité en cage est une mesure qui est très variable au cours de la journée, c'est pourquoi toutes les mesures, contrôles et après injections, ont été réalisées dans le même créneau horaire afin de rendre possible toutes comparaisons.

#### **A. Effet anti-parkinsonien**

En effet, comme dit précédemment, un des six animaux doublement lésé présentait un profil symptomatique à la suite de la lésion MPTP. Cela se traduisait par une absence de récupération motrice l'empêchant de réaliser la tâche comportementale. Nous avons donc débuté le traitement chronique au pramipexole à la dose de 0.02 mg/kg/jour chez cet animal symptomatique en suivant minutieusement l'impact sur le score moteur et l'activité spontanée.



**Figure 56 :** Effet anti-parkinsonien du pramipexole sur le score moteur (gauche) et sur l'activité spontanée (droite). Les valeurs du score moteur et l'activité en cage sont moyennées sur 3 jours. PPX : pramipexole.

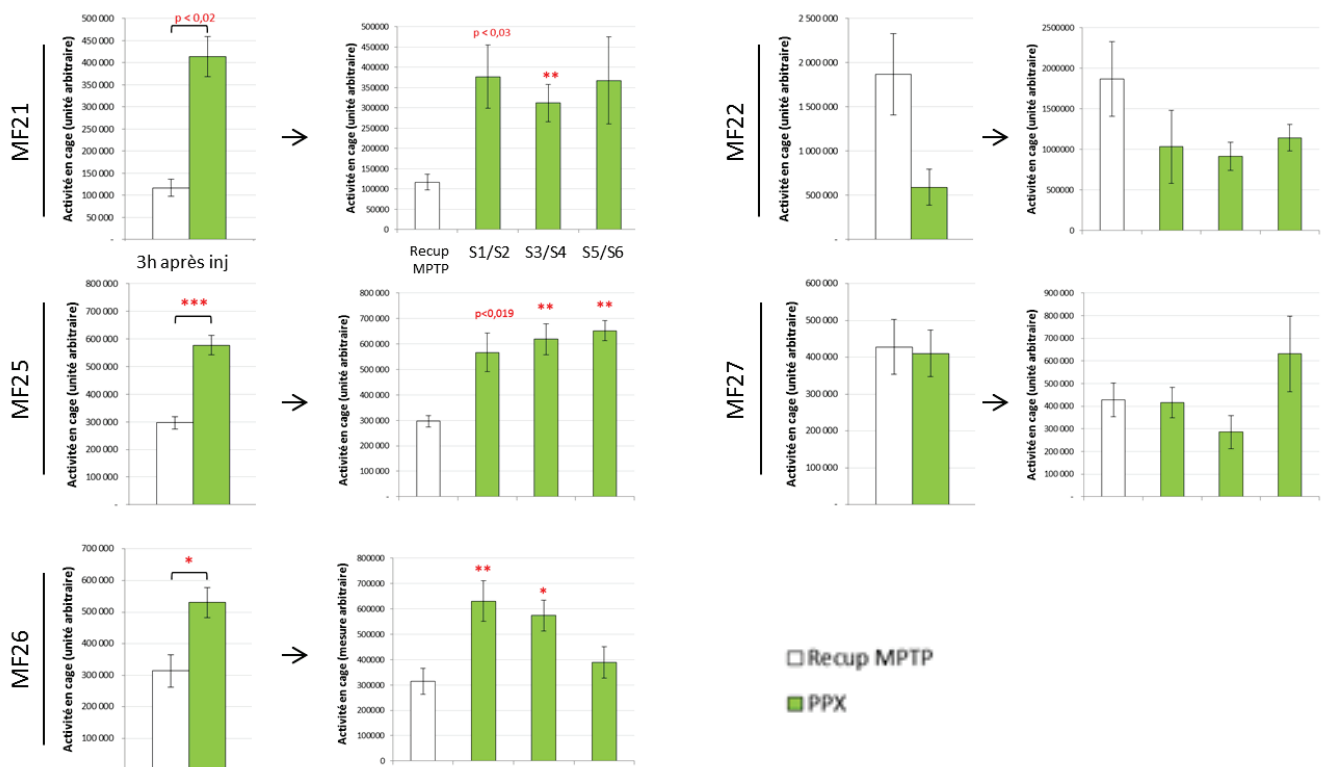
Le déroulé temporel du score moteur et de l'activité en cage nous permet d'avoir une vision globale de l'effet de la lésion dopaminergique et du traitement pramipexole (Figure 56). Le score moteur augmente avec la lésion MPTP jusqu'à atteindre le pic moteur ce qui est associé à une forte réduction de l'activité spontanée dans cette même période. Après le pic moteur, la décroissance du score moteur est particulièrement faible en comparaison des animaux dit récupérés (cf : article 2, Figure 2A Evolution des scores moteurs). Parallèlement durant cette période, l'activité spontanée est très réduite résultant en partie des déficits moteurs. De façon très intéressante, dès le début du traitement on observe une augmentation drastique de l'activité spontanée associée à une rapide diminution du score moteur au cours du traitement. Le pramipexole a donc l'effet parkinsonien attendu chez notre animal doublement lésé.

Cet effet bénéfique du pramipexole sur la symptomatologie motrice, connu chez les patients parkinsoniens, n'a jamais été montré chez l'animal parkinsonien. C'est donc le premier résultat majeur de ce travail.

## **B. Effet sur l'activité en cage**

Nous avons voulu déterminer l'impact du pramipexole sur l'activité spontanée de nos animaux après récupération motrice. Comme dit plus haut, nous avons mesuré l'activité en cage 3h et 6h après l'injection. L'activité spontanée mesurée 6h après l'injection n'a pas été modifiée sous traitement pramipexole. Pour trois de nos cinq singes, l'activité en cage 3h après l'injection est significativement différente de la condition contrôle (Recup MPTP) (Figure 57). Nous avons donc poussé les analyses pour savoir si cette activité spontanée était variable au cours du traitement. Comme pour les analyses comportementales, nous avons groupé les semaines 1 et 2 (S1/S2), 3 et 4 (S3/S4) et enfin les semaines 5 et 6 (S5/S6).

Ainsi, nous observons que l'activité en cage va varier au cours du traitement (Figure 57). Bien que la variation ne soit pas similaire entre les animaux, il semblerait que le traitement ait un effet saturant après un pic (soit au début (MF26) ou après les semaines S3/S4 (MF21 et MF25)) suivi d'une réduction de l'activité (MF26 et MF 21 sur les semaines S7/S8 de traitement, données non montrées).



**Figure 57 :** Modulation de l'activité en cage 3h après injection de pramipexole. Histogrammes montrant la variation de l'activité spontanée moyennée sur les 6 semaines de traitement (vert) comparée à la condition contrôle (Recup MPTP, blanc) pour les cinq singes MDMA/MPTP. Puis durant les semaines de traitement 1 et 2 (S1/S2), 3 et 4 (S3/S4) et enfin 5 et 6 (S5/S6). Anova avec test post hoc de Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . SEM.

Ces analyses nous apportent des informations sur l'impact du pramipexole sur l'activité spontanée. Aucune étude à ce jour n'a montré que cet agoniste dopaminergique utilisé de façon chronique dans un modèle primate non-humain de la MP peut avoir un effet anti-parkinsonien et moduler l'activité spontanée.



# **Discussion générale**

## I. Avantages et limites du modèle MDMA/MPTP

La plupart des modèles animaux, rongeur et primate, modélisant la MP se concentrent sur une lésion dopaminergique uniquement (Bonito-Oliva et al., 2014; Cenci et al., 2002; G. Porras et al., 2012; Schneider & Kovelowski, 1990). Cette lésion va varier selon que les scientifiques cherchent à reproduire un stade précoce ou avancé de la maladie. Par exemple, chez le primate non-humain, un protocole aigu ou progressif au MPTP n'induirait pas des lésions identiques et de ce fait n'engendrerait pas les mêmes troubles moteurs et cognitifs (G. Porras et al., 2012). Les études utilisant un modèle de lésion mixte, débutent dans la quasi-totalité le protocole lésionnel par une atteinte dopaminergique (Beaudoin-Gobert et al., 2015; Delaville et al., 2012; Faggiani et al., 2015; Iravani et al., 2003). Nous avons souhaité nous rapprocher de l'hypothèse de Braak qui suggère que le système sérotoninergique serait atteint avant le système dopaminergique chez les patients parkinsoniens. Notre modèle, en plus de présenter une double lésion, mime l'atteinte de ces deux lésions observées dans un ordre visant à reproduire ce qui se passe chez les patients parkinsoniens en début de maladie (Braak et al., 2003), c'est-à-dire une atteinte sérotoninergique précoce suivie d'une atteinte dopaminergique. Ces animaux d'abord lésés avec la MDMA puis le MPTP modéliseraient donc les stades précoces du développement de la MP. L'autre avantage de ces lésions séquentielles est de permettre une dissociation de l'impact des différentes lésions sur l'expression des symptômes. Également, nous pouvons observer l'effet de différents traitements sur ces symptômes.

Comme tout modèle animal, il existe des limites dans notre modèle qui proviennent du choix des toxines utilisées pour induire les lésions dopaminergiques et sérotoninergiques.

Nous montrons que la MDMA lèse majoritairement et préférentiellement les fibres sérotoninergiques. La dégénérescence sérotoninergique observée est de l'ordre de 60 % dans les régions corticales et sous-corticales. Pour la majorité des animaux, la lésion sérotoninergique est plus importante dans le putamen que dans le noyau caudé. Ce résultat va à l'encontre de ce qui est observé chez les patients qui ont une déplétion sérotoninergique plus importante dans le noyau caudé que dans le putamen (Kish, Tong, et al., 2008). Cependant, il faut noter que ces patients sont à un stade avancé et que l'évolution de la maladie se fait de manière progressive chez les patients. Il faut également noter que les corps cellulaires sérotoninergiques ne sont pas détruits par la lésion MDMA, ce qui n'est pas le cas chez les patients parkinsoniens, qui présentent une réduction des cellules sérotoninergiques (Paulus et Jellinger 1991). Ces différences sont dues au choix de la MDMA qui est connue pour léser les terminaisons sérotoninergiques mais pas les corps cellulaires à la dose utilisée (Ricaurte et al., 2000). En augmentant la dose de MDMA ou en l'utilisant sur une durée plus longue, peut-être aurions-nous obtenus une lésion sérotoninergique plus importante. Chez le rongeur, les lésions sérotoninergiques sont réalisées via la toxine sérotoninergique, la 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT), directement en intracérébral dans le raphé et permettent une perte des somas, associée à une réduction des projections sérotoninergiques du noyau raphé de l'ordre de 90 % (Manolo Carta, Carlsson, Kirik, & Björklund, 2007). Cependant, ce genre d'intervention reste très risqué chez le primate non-humain. Car même si l'utilisation de la 5,7 DHT est utilisée chez le primate non-humain dans d'autres régions (Man, Mikheenko, Braesicke, Cockcroft, & Roberts, 2012), des injections dans cette structure très profonde pourraient conduire à de graves séquelles.

Enfin, nous observons également que la MDMA induit une diminution du transporteur dopaminergique mais que cette atteinte dopaminergique n'a en aucun cas induit de déficits moteurs chez ces animaux. La MDMA ne serait donc pas une toxine spécifique du système sérotoninergique. Par ailleurs, suite à l'administration de MPTP, nous observons une perte plus importante des corps cellulaires dans la substance noire, indiquant que le prétraitement à la MDMA fragilise les neurones dopaminergiques et renforce le pouvoir neurotoxique du MPTP. Bien que non spécifique, la MDMA est une toxine intéressante dans notre étude.

De même, le MPTP n'est pas une toxine sélective des neurones dopaminergiques (G. Porras et al., 2012). En fonction des doses et du mode d'administration utilisés, le MPTP peut toucher les autres systèmes monoaminergiques (Pifl et al., 1991). Ainsi, l'injection de MPTP chez le singe Rhésus conduit à une atteinte du système noradrénergique et sérotoninergique. La lésion dopaminergique est plus importante au niveau des structures sous-corticales (noyau caudé, putamen, substance noire), la lésion noradrénergique est particulièrement observée dans les structures corticales et limbiques. Enfin, l'atteinte sérotoninergique est fortement présente au niveau du cortex pariétal, occipital mais aussi au niveau des cortex moteurs (aire supplémentaire motrice, cortex pré-moteur).

## II. Effets d'une lésion MDMA

### A. Effets aigus de l'administration de MDMA

Les injections de MDMA chez nos animaux provoquent très rapidement des effets aigus comportementaux après chaque injection, effets qui ont persisté pendant plusieurs heures. Les animaux présentent une hypoactivité associée à une absence de réponse aux stimuli extérieurs. Certains avaient des myoclonies au niveau de la queue et des pieds, ainsi que des mouvements de bouche tels que mâchonnements et des bâillements. Enfin, certains pouvaient avoir le regard fixe pendant un long moment alors que d'autres semblaient avoir des hallucinations visuelles (particulièrement en début de protocole). Ces symptômes sont représentatifs d'une libération massive et rapide de sérotonine, observés dans le cas d'un syndrome sérotoninergique (Birmes, Coppin, Schmitt, & Lauque, 2003). Nos observations sont cohérentes avec les observations faites précédemment dans l'équipe (Beaudoin-Gobert et al. 2015).

Les effets aigus de la prise d'ecstasy ont bien été rapportés chez l'homme (Green et al., 2003). L'euphorie, le sentiment de relaxation, d'énergie accrue vont faire place, après le pic d'effet, à des attaques de paniques, de la paranoïa, des hallucinations visuelles ou encore des insomnies. Au-delà de ces effets à court terme, des données montrent que les consommateurs présentent, à long terme, des troubles cognitifs (prise de décision, mémoire...), du sommeil, de l'humeur ou encore des modifications de la personnalité (hyperémotivité, agressivité...) (Green et al. 2003; McCann, Eligulashvili, et Ricaurte 2000). On voit également une hyperthermie et des troubles de la prise alimentaire. Ces deux conséquences sont également rapportées dans les études chez le rongeur (Capela et al., 2009). La prise alimentaire n'a pas été modifiée chez tous nos

animaux et certaines évaluations telles que l'hyperthermie ou l'insomnie n'ont pas pu être mesurées dans notre étude.

## **B. Conséquences lésionnelles de l'administration de MDMA**

La caractérisation de la lésion sérotoninergique est observée, en TEP, par une diminution de la fixation du transporteur sérotoninergique. Des études post-mortem et d'imagerie TEP, ont précédemment mis en évidence la diminution de ce transporteur chez le singe écureuil (Ricaurte, Forno, et al., 1988), le babouin (Szabo et al., 2002) ou encore le macaque fascicularis (Chen et al., 2012). Chez l'homme également, les données d'imageries mettent en évidence une réduction du transporteur dans l'hippocampe, le cortex cingulaire antérieur et le cortex préfrontal (Kish et al. 2010; Kish, Fitzmaurice, et al. 2008; McCann et al. 2005) et une réduction du métabolisme sérotoninergique (enzyme de synthèse, taux de sérotonine) (Kish et al., 2009).

Cependant, de façon intéressante, nous constatons que la lésion MDMA impacte aussi le système dopaminergique. Cela se traduit, d'une part, par une réduction du transporteur de la dopamine via la baisse de fixation du traceur Pe2i et d'autre part, par la perte plus importante des corps cellulaires dans la substance noire après MPTP (perte intermédiaire par rapport aux groupes MPTPrec et MPTPsym seuls). Ces résultats montrent que la MDMA a un impact sur le système dopaminergique chez le primate non-humain. Le fait que la MDMA puisse atteindre le système dopaminergique chez le primate non-humain et l'homme reste très débattu dans la littérature. Des études chez le rongeur (Cadoni et al., 2017; Colado, O'Shea, & Green, 2004; Moratalla et al., 2017) et les consommateurs d'ecstasy (Gerra et al., 2002; Laruelle et al., 1995; Reneman, Booij, et al., 2002) ont montré une atteinte du système dopaminergique après utilisation de MDMA.

A l'inverse, d'autres travaux n'ont révélé aucune altération du système dopaminergique après MDMA chez le rongeur (Insel et al. 1989; G.A. Ricaurte et al. 1988; Vegting, Reneman, et Booij 2016) et chez le primate non-humain (Beaudoin-Gobert et al., 2015). Ce débat est basé sur les différences entre les études qui possèdent des doses d'injections différentes sur des modèles animaux différents (rat, primate non-humain) et des techniques d'analyses différentes (TEP, SPECT, immunologie).

La caractérisation de la lésion MDMA seule s'est faite exclusivement par l'étude présynaptique en TEP du radiotracer DASB qui se fixe sur le transporteur sérotoninergique. Bien que cette toxine agisse sur les fibres sérotoninergiques via des mécanismes présynaptiques, il aurait été intéressant de suivre les modifications d'expressions de récepteurs sérotoninergiques en post-synaptique en réponse à ces dégénérescences. Le système sérotoninergique se réorganise-t-il ? Quels sont les phénomènes de plasticité mis en place pour contrebalancer la perte des fibres ? En effet, chez le rongeur, trois semaines après l'administration de MDMA, une réorganisation synaptique est observée au sein de l'hippocampe. Cela se traduit par une réduction de l'expression de certains gènes et de récepteurs (Petschner et al., 2018). Egalement la prise de MDMA induit chez des nouveaux consommateurs une diminution d'expression des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> post-synaptique au sein du cortex frontal, pariétal et occipital. A l'inverse, les anciens consommateurs d'ecstasy présentent une augmentation de la densité de ces récepteurs sérotoninergiques dans le cortex occipital (Reneman, Endert, et al. 2002). Ces données montrent bien qu'il existe des mécanismes de réorganisation après administration de MDMA.

### C. Effets comportementaux de l'administration de MDMA

L'analyse des données de la tâche d'approche et d'évitement montre que l'injection de MDMA induit chez nos animaux un trouble anxieux. Ce comportement se traduit par une réduction des performances dans le contexte aversif uniquement. En effet, dans le contexte appétitif et la tâche de choix, les animaux ne présentent pas de variation des performances. Ces données suggèrent que la motivation n'est pas altérée après la MDMA. Les animaux ne présenteraient donc pas de trouble de type dépressif ou apathique mais seulement un trouble anxieux. Cependant, il faut noter qu'il est difficile d'évaluer et de quantifier ces troubles dépressifs et apathiques chez le primate non-humain.

De plus, ce trouble anxieux est en lien avec la sévérité de la lésion. Nous montrons que plus la lésion des fibres sérotoninergiques est importante dans le cortex cingulaire, le putamen antérieur et l'hippocampe, plus les animaux ont un trouble anxieux sévère. Ces régions sont particulièrement intéressantes de part leur grande densité de projections sérotoninergiques vers le cortex préfrontal (Barbas et Blatt 1995; Godsil et al. 2013).

Il est connu, que le taux de sérotonine présent dans l'amygdale et l'hippocampe est associé à un comportement anxieux chez le rongeur (Carvalho, Albrechet-Souza, Masson, & Brandão, 2005; Tu et al., 2014). De même, des études chez le primate non-humain montrent que le taux de sérotonine dans les aires amygdalo-hippocampales est lié à l'anxiété (Mikheenko et al., 2015; Oler et al., 2009). D'autres marqueurs sérotoninergiques tels que l'expression de récepteur et du transporteur sérotoninergique chez le singe sont également impliqués dans l'expression d'un trouble



anxieux (Beaudoin-Gobert & Sgambato-Faure, 2014; Ramboz et al., 1998). Il est intéressant de constater que les patients souffrant de troubles paniques présentent une activité sérotoninergique largement augmentée au sein de l'hippocampe, de l'amygdale et encore dans le cortex cingulaire antérieur, par rapport à des sujets contrôles (Greco & Liberzon, 2016). Nos animaux présentent également une altération du marquage, au niveau du putamen antérieur. Plusieurs études chez le rongeur mettent en avant l'implication du striatum dans la motivation mais aussi dans la peur et l'anxiété (Gunaydin & Kreitzer, 2016). Dans le même registre, les patients souffrant de troubles paniques présentent une réduction du volume du putamen antérieur. Cette région striatale pourrait être impliquée dans l'expression de comportement anxieux due aux connections avec le cortex préfrontal qui module les troubles anxieux (Radua, van den Heuvel, Surguladze, & Mataix-Cols, 2010).

Toutes ces données rendent bien compte de l'implication de la sérotonine dans l'expression de troubles anxieux et de l'impact de la MDMA dans ce trouble psychocomportemental.

#### **D. Conséquences d'un traitement à la fluoxétine**

Les antidépresseurs peuvent être prescrits dans le cadre de la MP pour contrecarrer les troubles dépressifs et anxieux présents chez les patients. La dépression et l'anxiété sont des symptômes précoces dans la progression de la MP (Paolo Barone et al., 2009; W. Poewe, 2008).

Par l'étude des performances comportementales des animaux, nous montrons que la réalisation de la tâche sous fluoxétine induit une augmentation de la motivation et une réduction de l'anxiété, que l'administration soit faite en aiguë ou en chronique.

Après lésion sérotoninergique, l'effet bénéfique de la fluoxétine n'est plus présent, la motivation ne semble pas altérée mais les troubles anxieux sont augmentés par la MDMA. Chez les patients, l'administration d'inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine (ISRS) induirait chez les patients une réduction des troubles anxieux (Inoue, Kitaichi, & Koyama, 2011). Bien que nous n'ayons pas vu de différence de comportement entre les animaux traités en aigu et ceux traités en chronique, des études montrent que l'administration aiguë de fluoxétine (ou citalopram) peut augmenter les troubles anxieux chez les patients souffrant d'attaque de panique (Gorman et al., 1987) et chez les rongeurs (Mombereau, Gur, Onksen, & Blendy, 2010). Le degré d'occupation des transporteurs sérotoninergiques semble jouer un rôle majeur dans la réponse thérapeutique. La destruction des fibres sérotoninergiques conduit à une réduction de l'activité du transporteur sérotoninergique, ce qui conduit à une réduction de l'efficacité de l'ISRS (Montañez, Daws, Gould, & Frazer, 2003). On comprend donc bien comment l'intégrité des fibres sérotoninergiques module l'action de la fluoxétine.

Dans notre étude, un seul animal traité à la fluoxétine n'a pas présenté l'effet bénéfique attendu sur le comportement anxieux (données non montrées). D'un point de vue clinique, tous les patients ne présentent pas la même efficacité de traitement pour un traitement identique (Maron & Nutt, 2015). Différents facteurs biologiques peuvent impacter les mécanismes d'actions des ISRS. Par exemple, le volume de l'hippocampe serait en lien avec l'efficacité de traitement, de même que le volume de la substance grise du cortex cingulaire (Costafreda, Chu, Ashburner, & Fu, 2009; MacQueen, Yucel, Taylor, Macdonald, & Joffe, 2008). Egalement la disponibilité des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, dans les régions limbiques, joue un rôle dans la réponse au traitement. Enfin, la composante génétique serait impliquée dans l'efficacité de ces ISRS. En effet, une étude

montre une variation de réponse aux inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine variable selon la variation du gène de ce transporteur chez des patients ayant des troubles dépressifs et anxieux (Helton et Lohoff 2015). Les patients parkinsoniens ayant une forme longue du gène du transporteur de la sérotonine présentent une meilleure réponse au traitement ISRS (Perna, Favaron, Di Bella, Bussi, & Bellodi, 2005) alors qu'un polymorphisme spécifique du récepteur 5-HT<sub>1A</sub> (1019C/G) engendre une réponse minimale au traitement (Yevtushenko, Oros, & Reynolds, 2010).

Nous nous sommes également intéressés au polymorphisme du promoteur du gène SERT. Nos animaux présentaient tous la forme longue du transporteur (5-HTTLPR). Cette forme longue jouerait un rôle dans la fonction du transporteur induisant une transcription plus importante et induisant une meilleure réponse aux ISRS (Lenze et al., 2010).

Dans notre étude, nous n'évaluons que l'aspect présynaptique du système sérotoninergique après MDMA et sous fluoxétine. Il est légitime de se demander quelles peuvent être les conséquences d'un traitement ISRS en post-synaptique. Est-ce qu'une plasticité des récepteurs sérotoninergiques aurait lieu ? Il est connu que les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> et 5-HT<sub>4</sub> sont impliqués dans l'anxiété et également dans l'action des antidépresseurs (Samuels et al., 2016). De plus, plusieurs études divergent sur l'impact de la fluoxétine sur les autres neurotransmetteurs. Une récente étude chez le rongeur a montré que la fluoxétine administrée avec un inhibiteur du transport des monoamines dans les vésicules neuronales, la tétrabénazine, induisait une libération de dopamine au sein du striatum (Podurgiel et al., 2015). Cependant, d'autres études utilisant la microdialyse dans le noyau accumbens et le striatum, révèlent que sous fluoxétine, le taux de dopamine ainsi que le taux d'acétylcholine diminuent

(Ichikawa et Meltzer 1995). De plus, nous savons que l'interaction entre la sérotonine et la dopamine est complexe. L'activité sérotoninergique, excitatrice ou inhibitrice, jouerait un rôle sur la production et la libération de la dopamine. Par exemple, des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (fluoxétine, citalopram, fluvoxamine) induisent une augmentation de libération dopaminergique striatale chez l'animal (Navailles & De Deurwaerdère, 2011). De même que la MDMA induit une libération de dopamine via l'activité de différents récepteurs (Grégory Porras et al., 2002). Il aurait été intéressant de procéder à des analyses de l'activité dopaminergique au cours du traitement à la fluoxétine à l'aide de la microdialyse ou encore avec des traceurs TEP dopaminergiques (transporteur et récepteurs).

Ces données nous confirment bien l'importance de ce neurotransmetteur dans le processus d'efficacité de la fluoxétine par les fibres et l'expression de symptômes non-moteurs.

### **III. Effets d'une lésion mixte MDMA/MPTP**

#### **A. Effets lésionnels du MPTP**

L'étude de la lésion MDMA et de la lésion MPTP est, entre autres, basée sur l'intégrité du système dopaminergique par imagerie TEP. Comme dit précédemment, les singes traités à la MDMA ont déjà une atteinte du transporteur dopaminergique, significative dans certaines régions cependant, cette atteinte va être drastique après le MPTP.

Tous les animaux présentent une réduction du transporteur dopaminergique à la suite d'une lésion MPTP. Ce résultat est cohérent avec les observations faites chez les

patients parkinsoniens (Brooks & Pavese, 2011; Brooks & Piccini, 2006). Ainsi, la lésion sérotoninergique précoce rend possible une altération dopaminergique. Cela nous apporte un élément important car à ce jour une seule étude chez le rongeur prétraité à la MDMA a mis en évidence une dégénérescence dopaminergique (Costa et al., 2013). Ces auteurs ont également montré une activation très importante des cellules gliales (microglie et astrocytes) dans le striatum et la substance noire chez des souris MDMA, après lésion MPTP. Il aurait donc été intéressant d'évaluer ce type de phénomène chez nos animaux avec un suivi TEP, avec par exemple le traceur [<sup>11</sup>C]PBR28 déjà utilisé chez l'homme et le primate, pour évaluer l'activation de la microglie représentante des phénomènes de neuro-inflammation (Donat et al. 2018; Hillmer et al. 2017). Il est cependant à noter qu'en post-mortem, nous n'avons pas observé d'anomalies particulières dans les régions d'intérêts sur l'ensemble de nos animaux.

De plus, nous constatons une augmentation du traceur raclopride (fixant les D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>) après la lésion dopaminergique chez nos animaux déjà lésés en sérotonine. Ce phénomène peut s'expliquer par des phénomènes de compensations. Cette compensation a déjà été montrée chez le singe MPTP (Ballanger et al., 2016; Mounayar et al., 2007), chez les rongeurs et également chez les patients parkinsoniens sans traitement (*pour revue* Blesa et al. 2017). Cet élément nous indique que la lésion sérotoninergique n'empêche pas des phénomènes de compensations dopaminergiques. Ces observations mettent en exergue le fait que la MDMA puisse léser les fibres dopaminergiques observées à travers une réduction du transporteur dopaminergique (Pe2i) mais induit également une augmentation du marquage des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> (via le raclopride) en post-synaptique.

## B. Impact de la lésion MDMA/MPTP sur la symptomatologie parkinsonienne

Les animaux ayant une lésion MDMA précoce présentent une sévérité motrice plus importante que les animaux MPTP dits récupérés mais moins élevée que les animaux MPTP dits symptomatiques. Cette différence pourrait être due au fait que la lésion MDMA puisse fragiliser le système dopaminergique comme nous l'avons vu précédemment. Cela aurait conduit à une action neurotoxique plus importante du MPTP chez les animaux expliquant une sévérité motrice intermédiaire. Également cette altération dopaminergique après lésion MDMA pourrait expliquer qu'un des animaux reste symptomatique alors que le protocole MPTP est le même que pour les autres animaux ayant récupérés (un protocole progressif permettant la récupération motrice). Il est fort probable que la lésion MDMA, chez cet animal, ait fragilisé le système dopaminergique de manière plus importante que pour les autres animaux. Ainsi, la lésion MPTP suivante aurait eu un impact plus élevé sur les fibres dopaminergiques et les corps cellulaires, réduisant des phénomènes compensatoires et donc la récupération motrice. Nous avons également constaté que les corps cellulaires dopaminergiques sont réduits dans la substance noire après la lésion MPTP mais de façon plus importante pour les animaux présentant la double lésion MDMA/MPTP. De façon intéressante, la consommation d'ecstasy chez des jeunes a conduit au développement d'un parkinson juvénile. Ces données renforcent l'idée que la consommation d'ecstasy soit un facteur de risque de développer la maladie de parkinson (Kuniyoshi & Jankovic, 2003; Mintzer, Hickenbottom, & Gilman, 1999; O'Suilleabhain & Giller, 2003).

En observant en détail la sévérité des symptômes, nous constatons chez nos singes MDMA/MPTP, que certains symptômes sont caractérisés par un score moteur

plus élevé (tremblement, posture et activités spontanées) par rapport aux animaux ayant une lésion dopaminergique unique. A l'inverse, certains symptômes tels que la bradykinésie, la rigidité ou encore le « freezing », ne sont pas impactés par cette lésion sérotoninergique précoce.

Un dysfonctionnement du système sérotoninergique a déjà été mis en lien avec l'expression de symptômes moteurs, comme le tremblement. Plusieurs études chez le rongeur font état de l'impact de la modulation sérotoninergique sur l'expression du tremblement après lésion 6-OHDA (Kolasiewicz et al., 2012; Vanover et al., 2008). Plusieurs études cliniques en imagerie TEP mettent en évidence une atteinte sérotoninergique présynaptique associée au tremblement (Doder et al., 2003; Loane et al., 2013). Nos résultats apportent une preuve causale de l'implication de l'atteinte présynaptique sérotoninergique dans l'expression du tremblement d'action chez le primate non-humain.

Par ailleurs, il est intéressant de faire le parallèle entre ces résultats et les différents profils connus de patients parkinsoniens : le profil dit « trembleur » et le profil dit « akinéto-rigide ». En effet, des études menées chez les patients *de novo*, montrent que la sévérité du tremblement est corrélée à la dysfonction sérotoninergique au sein du noyau raphé chez le profil trembleur (Pasquini et al., 2018; Qamhawi et al., 2015). Il est important de noter que ces patients sont également ceux qui ont une rigidité et une bradykinésie moins importante et un déficit dopaminergique moins conséquent par rapport au profil akinéto-rigide. De même chez nos animaux MDMA/MPTP, la bradykinésie et la rigidité ne sont pas plus sévères par rapport au groupe MPTP récupéré.

Cette dernière observation est une information importante qui soutient l'idée que la sévérité de la dystonie posturale et des activités spontanées, plus élevées pour les singes MDMA/MPTP, ne sont pas dues à un déficit moteur. Ces réductions d'activités spontanées pourraient être le résultat d'un manque de motivation ou de l'expression d'un trouble anxieux. Récemment, il a été montré chez les patients *de novo*, qu'il existait une corrélation entre la sévérité de l'anxiété et de l'apathie et le déficit sérotoninergique au sein du striatum et du cortex cingulaire antérieur (Maillet et al. 2016). De plus, les patients parkinsoniens dépressifs ont une augmentation du transporteur sérotoninergique dans le noyau raphé et les structures limbiques (Boileau et al., 2008; M. Politis, Wu, Loane, Turkheimer, et al., 2010). Il aurait donc été intéressant de réaliser une TEP sous DASB après la lésion MPTP chez nos animaux doublement lésés, pour observer la modulation du transporteur sérotoninergique. De plus, une lésion dopaminergique plus importante permettrait-elle de mieux représenter un profil akinéto-rigide ? Il semblerait que oui. En effet, les singes ayant une unique lésion dopaminergique sévère présentent des scores de rigidité et de bradykinésie bien supérieurs aux animaux MDMA/MPTP ou MPTP récupérés. Ces observations donneraient lieu à un nouveau modèle primate de double lésion, MDMA suivi d'une lésion MPTP sévère.

Il semble important de noter l'importance de l'ordre dans lequel les lésions sont faites. La précédente étude utilisait un protocole de lésion dopaminergique puis sérotoninergique (Beaudoin-Gobert et al., 2015). Cette étude présente des différences de pattern lésionnel mais également d'expressions des symptômes moteurs par rapport à notre étude. Dans un premier temps, nous constatons qu'une la lésion MDMA réalisée après la lésion MPTP, n'a pas engendré une atteinte dopaminergique supplémentaire



(car la MDMA arrive après le MPTP) à l'inverse de notre étude. Il semblerait donc que la précocité de la lésion MDMA dans le protocole soit en lien avec l'atteinte dopaminergique observée. De plus, les comptes cellulaires dopaminergiques dans la substance noire mettent en avant une atteinte plus importante pour nos animaux MDMA/MPTP plutôt que pour les animaux MPTP/MDMA. Cette perte accrue est en lien avec la sévérité parkinsonienne. Par exemple, la sévérité de la bradykinésie est corrélée avec le pourcentage de perte dopaminergique au sein de la substance noire. Pour finir, ce protocole MPTP/MDMA a montré l'implication du système sérotoninergique dans l'expression de la rigidité, alors que nos animaux MDMA/MPTP ne présentent pas de modification de la rigidité par rapport aux animaux MPTP récupérés.

Il est donc clair que l'expression de certains symptômes soit préférentiellement liée à un déficit sérotoninergique ou dopaminergique. Cela pourrait expliquer en partie la sensibilité ou non de certains symptômes à répondre au traitement dopaminergique. Il serait alors possible que certains de ces traitements soient plus efficaces à un instant t de la progression de la maladie, selon le pourcentage d'atteinte des différents systèmes neuronaux.

## **IV. Effets du pramipexole chez l'animal parkinsonien MDMA/MPTP**

### **A. Impact du pramipexole en TEP**

Le traitement à long terme avec cet agoniste dopaminergique n'entraîne pas de modifications de la fixation des traceurs Pe2i et SCH23390. Ces données indiquent que

le pramipexole n'a pas d'impact sur les fibres dopaminergiques restantes ni sur l'expression des récepteurs dopaminergique de type D<sub>1</sub>. Ce résultat est cohérent avec le fait que le pramipexole soit un agoniste des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>. Nous observons, une réduction du marquage du raclopride sous pramipexole dans les différentes régions striatales.

Ainsi, l'augmentation du marquage des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> visualisée après la lésion MPTP fait place à une réduction du marquage sous pramipexole au même niveau qu'après lésion MDMA. De façon intéressante, une étude d'imagerie TEP utilisant le Fallypride (fixant les récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>), montre une réduction de la fixation chez les patients parkinsoniens sous pramipexole par rapport à ceux sans pramipexole, mais dans la substance noire et le globus pallidus (Deutschländer et al., 2016). Cette étude confirme le fait qu'un traitement à long terme avec un agoniste dopaminergique puisse avoir des répercussions sur l'expression des récepteurs D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> mais pas forcément dans les mêmes régions selon les lésions. Cette différence avec notre modèle pourrait s'expliquer par une durée de traitement différente (1 mois de traitement dans notre étude) et/ou lésion dopaminergique pas assez importante particulièrement dans la substance noire. En effet, la lésion dopaminergique modérée induite par le MPTP chez nos animaux n'engendre pas de différence significative en TEP de la fixation du traceur raclopride au sein de la substance noire ou du globus pallidus sans pramipexole. Les autres régions striatales et extra-striatales présentent, elles, une augmentation du Pe2i probablement due à des phénomènes de compensations conséquentes de la lésion MPTP, comme par exemple une augmentation de l'expression de ces récepteurs dopaminergiques. Il est donc possible que la substance noire, moins affectée par la

lésion MPTP n'ait pas induit de phénomènes compensatoires et ainsi la fixation du raclopride sous pramipexole ne serait pas modifiée dans cette région spécifiquement.

Par ailleurs, des travaux mettent en avant une augmentation de l'expression de ces récepteurs dopaminergiques chez le rongeur sous pramipexole (Tokunaga et al. 2012). Il aurait été intéressant de pouvoir comparer des marquages immunohistochimiques de ces récepteurs chez nos singes en comparaison d'un groupe MDMA/MPTP sans pramipexole afin de distinguer une variation d'expression des récepteurs dopaminergiques induite par le traitement chronique.

Le pramipexole induit également une réduction de la fixation du SB207145 en TEP. Cette modulation du système sérotoninergique pourrait s'expliquer par une modulation de l'interaction sérotonine/dopamine consécutive à ce protocole lésionnel, MDMA puis MPTP. Une hypothèse serait que le MPTP aurait induit une augmentation de l'expression de ces récepteurs sérotoninergiques. Autre hypothèse, les lésions auraient modifié l'expression des récepteurs dopaminergiques et ces derniers pourraient être co-localisés avec les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>. Ainsi, il aurait été intéressant de réaliser un co-marquage des récepteurs dopaminergiques et sérotoninergiques chez nos animaux à l'aide de l'immunohistochimie.

## **B. Impact du pramipexole sur l'activité motrice**

Nous observons l'effet du pramipexole de différentes manières sur l'activité motrice.

Dans un premier temps, nous constatons un effet anti-parkinsonien du pramipexole sur un animal resté symptomatique. Ce traitement pramipexole engendre une récupération motrice et ce dès les premières injections. Cette amélioration motrice est traduite par une diminution du score moteur parkinsonien et par une augmentation drastique de l'activité spontanée en cage. Ce résultat majeur, pour la première fois observé chez le modèle primate de la MP, est cohérent avec les données de la littérature. En effet, il est connu que la mise en place d'un traitement avec un agoniste dopaminergique permet une amélioration des symptômes moteurs (Antonini et al., 2010; Dooley & Markham, 1998). Chez patients parkinsoniens, le pramipexole peut améliorer les déficits et complications motrices (*pour revue* Perez-Lloret et al. 2011). Que ce soit chez le singe (Domino, Ni, Zhang, Kohno, & Sasa, 1998; Tayarani-Binazir, Jackson, Rose, Olanow, & Jenner, 2010) ou chez le rongeur (Ferber et al., 2010) des études relatent une efficacité du pramipexole sur l'activité motrice après une lésion dopaminergique.

Cela nous apporte deux indications essentielles. La première, la dose de pramipexole choisie est suffisante pour induire un effet anti-parkinsonien. La deuxième, le modèle primate doublement lésé MDMA/MPTP permet d'obtenir des résultats cohérents avec ce qui est observé chez les patients parkinsoniens.

Dans un second temps, l'activité motrice est observée via l'activité spontanée sous pramipexole chez tous les animaux ne présentant plus de symptômes moteurs. Nous attendions une hyperactivité, induite par le traitement et c'est ce que nous observons pour la majorité des animaux. Bien que cette activité spontanée soit variable, elle n'augmente pas de manière croissante au cours du traitement. Il semblerait que l'effet du pramipexole se stabilise après une certaine période de traitement. Cette notion

a été mise en évidence chez des patients *de novo*. Une étude évalue l'impact d'un traitement au pramipexole pendant 6 et 9 mois (A. H. V. Schapira et al., 2013). Aucune différence n'est observée sur l'évolution du score moteur (UPDRS) entre ces deux périodes de traitement. L'étude en imagerie SPECT montre qu'il n'y a pas de différence non plus dans la fixation striatale du transporteur dopaminergique entre ces deux groupes. Il semblerait donc que le pramipexole atteigne un effet plateau après plusieurs mois de traitement.

Dans notre étude, deux animaux ne présentent pas de différence d'activité spontanée sous pramipexole. Une étude menée chez la souris montre qu'une dose faible de pramipexole induit une réduction de la locomotion (McCormick et al., 2015). Il ne faut pas oublier que nos animaux ont une lésion sérotoninergique et dopaminergique modérée. De ce fait, des mécanismes de compensations peuvent prendre place et expliquer des différences interindividuelles pour une même dose de pramipexole. Ainsi, tous les animaux ne présentent pas le même comportement. Cette étude étant la première à évaluer les effets d'un traitement au pramipexole sur des singes doublement lésés, nous voulions garder la même dose pour chaque animal. Il serait intéressant d'adapter la dose de pramipexole à utiliser chez l'animal comme il est fait chez les patients. Pour ce faire, il faudrait non pas utiliser des singes MDMA/MPTP asymptomatiques mais des animaux symptomatiques parkinsoniens. Ainsi pour chaque animal la dose de pramipexole pourrait être adaptée en fonction de la réponse anti-parkinsonienne. Il faudrait également pouvoir comparer les effets du pramipexole sur un groupe de singes sans lésion sérotoninergique.

### **C. Impact du pramipexole sur les troubles psycho-comportementaux**

L'étude comportementale durant ce traitement dopaminergique chronique met en évidence la réémergence d'un phénotype de type anxieux chez nos animaux. Il est particulièrement intéressant de voir que ces animaux présentent le même comportement anxieux sous pramipexole qu'après lésion MDMA.

Actuellement, peu d'études évaluent cette composante anxieuse sous traitement dopaminergique et les quelques études qui s'y intéressent utilisent des modèles uniquement avec une altération du système dopaminergique. Une étude chez la souris s'est intéressée au rôle des récepteurs D<sub>3</sub> dans l'efficacité du pramipexole (Moraga-Amaro, Gonzalez, Pacheco, & Stehberg, 2014). Chez les souris n'exprimant plus les récepteurs D<sub>3</sub> et traitées au pramipexole, il y a une augmentation du comportement dépressif mais également anxieux. Il est important de préciser que ces animaux n'avaient aucun déficit de locomotion, de ce fait les comportements observés lors des tâches d'évaluation ne sont pas la conséquence d'un déficit moteur. Dans une autre étude chez les souris 6-OHDA, le pramipexole permet une réduction des comportements dépressifs et anxieux alors que la L-Dopa n'aurait pas d'impact sur ces comportements spécifiques (Bonito-Oliva et al., 2014; Chiu et al., 2015). Ces données obtenues chez la souris montrent donc un effet antidépresseur et anxiolytique du pramipexole via les récepteurs D<sub>3</sub>. Nos données obtenues chez le singe MDMA/MPTP mettent en évidence un effet anxiogène du pramipexole. Comment la lésion sérotoninergique préalable abolit-elle l'effet anxiolytique du pramipexole? A-t-elle des répercussions sur l'expression des récepteurs D<sub>3</sub>? D'autres études seront nécessaires pour pouvoir répondre à ces questions. Les études cliniques se sont majoritairement intéressées à l'effet bénéfique du pramipexole sur l'expression de troubles dépressifs (Paolo Barone et

al., 2010; Picillo et al., 2009). Mais aussi et surtout au fait que ce traitement à long terme puisse induire des troubles du contrôle des impulsions (Weintraub D et al., 2010).

D'un point de vue neurobiologique, il semblerait que ce traitement induise une augmentation de la neurotransmission dopaminergique et sérotoninergique. Une étude électrophysiologique, chez les rats, montre une augmentation de l'activité neuronale dopaminergique et sérotoninergique au sein de l'hippocampe (Chernoloz, El Mansari, & Blier, 2012). La neurotransmission serait modulée mais le métabolisme sérotoninergique également. Une étude d'immunohistochimie chez le rat 6-OHDA met en évidence une réduction des transporteurs sérotoninergiques au sein de la voie nigro-striée et le système limbique après un traitement chronique au pramipexole (Berghauzen-Maciejewska et al., 2016). Dans notre étude, nous observons en TEP, une réduction du marquage des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, sous pramipexole chronique chez nos singes doublement lésés. Cependant, nous n'avons pas examiné l'expression du transporteur sérotoninergique à ce moment du protocole.

## **V. Conclusion et perspectives**

Les différentes approches utilisées dans ce travail permettent de montrer l'efficacité de la MDMA à induire une lésion sérotoninergique et à produire des troubles anxieux. L'utilisation de la fluoxétine a permis de mettre en évidence, une perte d'efficacité d'ISRS après la lésion des fibres sérotoninergiques.

Par ailleurs, notre étude monte que cette lésion sérotoninergique est impliquée dans la progression et la sévérité de symptômes moteurs en particuliers chez le singe

parkinsonien. La lésion MDMA a donc un impact sur la sévérité du parkinsonisme induit par le MPTP mais également sur la réponse au traitement médicamenteux dopaminergique. La lésion MDMA favorise également l'émergence d'un état anxieux sous pramipexole.

Compte-tenu du fait que la MDMA puisse toucher également le système dopaminergique, nous ne pouvons pas exclure l'implication d'une composante dopaminergique dans l'émergence du trouble anxieux et dans le fait que l'administration de MDMA aggrave le parkinsonisme induit par le MPTP. Toutefois, les résultats obtenus avec la fluoxétine tendent à montrer que l'état anxieux est vraiment lié à la composante sérotoninergique. Et pour ce qui est du parkinsonisme, l'utilisation de la MDMA ne se répercute pas sur tous les symptômes, ce qui est en faveur du fait que la MDMA ait des répercussions surtout sérotoninergiques au niveau des structures de projection. Enfin pour ce qui est des expériences avec le pramipexole, il est difficile de conclure en l'absence d'un groupe de singes MPTP traités au pramipexole mais sans lésion MDMA.

Plusieurs perspectives se proposent à ce travail. Tout d'abord, nos animaux sont traités au MPTP selon un protocole modéré, permettant une récupération motrice. Nous pourrions utiliser un protocole sévère afin de voir si l'implication de la sérotonine mise en évidence dans la sévérité serait de même ampleur. Est-ce que les mêmes symptômes émergeraient ? Nous pourrions également envisager de réaliser des lésions sérotoninergiques plus spécifique avec la 5,7-DHT.

De plus, l'étude comportementale de notre étude s'est fait via la tâche d'approche et d'évitement uniquement. Or, il est connu que le pramipexole peut induire des troubles du contrôle des impulsions, chez les patients parkinsoniens (Antonelli et al., 2014;



Weintraub D et al., 2010) mais également chez le rongeur 6-OHDA (Dardou, Reyrolle, Chassain, & Durif, 2017). L'utilisation d'une tâche de dévaluation temporelle (the delay-discounting task) permettrait d'observer et de quantifier des effets sur le contrôle des impulsions de choix. Cette tâche est déjà utilisée chez l'homme (Ainslie, 1975), les patients parkinsoniens (Voon et al., 2010) et l'animal (Hwang, Kim, & Lee, 2009).

Enfin, au vu de la littérature, il serait intéressant de procéder à un traitement chronique avant et après la lésion dopaminergique, mais également de varier les durées de ce traitement chronique, entre 1, 2 et 3 mois, afin de voir si le comportement ainsi que le métabolisme peuvent être variables au cours du temps. Les animaux peuvent-ils développer des troubles des impulsions, comme observés chez les patients ? Enfin, nous pourrions décider d'augmenter la dose de pramipexole. Il est observé des différences de comportement chez le rongeur en fonction de la dose utilisée (W.-L. Chang, Geyer, Buell, Weber, & Swerdlow, 2010; Luo et al., 2011).

# Annexes

Au-delà des travaux précédemment présentés, j'ai également eu l'opportunité de participer à d'autres études.

Dans la première étude, nous nous sommes intéressés aux modifications comportementales induites par un agoniste dopaminergique, le méthylphénidate, et un inhibiteur de recapture de la sérotonine, la fluoxétine. Ce travail a été fait en collaboration avec plusieurs personnes (Yosuke Sage et Guillaume Drui, pour les acquisitions ; Eva Martinez et moi-même pour les analyses). (Article 4 en préparation)

J'ai participé à une autre étude associant pharmacologie et électrophysiologie. Le but était de voir la modification de l'activité neuronale dans le striatum sous fluoxétine. (en préparation par Benjamin Pasquereau).

Enfin, j'ai réalisé des injections intracérébrales de bicuculline dans les différentes parties du striatum, afin de connaître l'implication de ces régions striatales dans l'expression de différents comportements (apprentissage et l'adaptation) observées lors d'une tâche comportementale sur écran tactile (en préparation par Maude Beaudoin-Gobert).

# **ARTICLE 4**

(en préparation)

## **Methylphenidate and fluoxetine improve approach-avoidance task in non-human primate: A behavioral study associated to PET imaging.**

Mathilde Millot<sup>1,2</sup>, Eva Martinez<sup>1,2</sup>, Guillaume Drui<sup>1,2</sup>, Yosuke Saga<sup>1,2</sup>, Elise Météreau<sup>1,2</sup>, Philip Tobler<sup>3</sup>, Véronique Sgambato<sup>1,2</sup> and Léon Tremblay<sup>1,2</sup>.

The dopamine (DA) and serotonin (5-HT) systems are the two major neurotransmitters targeted in several neuropsychiatric disorders affecting motivation, value-based decisions and the context-adapted behaviors (approach or avoidance). The broad spectrum of processes on which DA can be involved is coming from its actions on Basal Ganglia (BG) that are partitioned into different functional territories. The 5-HT system that projects on a larger number of cerebral structures, especially limbic territories, also projects on BG. Their therapeutic actions in motivation and anxiety-relative behaviors could thus passed by the same BG territories also modulated by DA. To test this hypothesis, we compared the effects of DA and 5-HT treatment on 4 monkeys trained to perform an approach/avoidance task in which they had to adapt a behavior (approach or avoidance) in an appetitive (reward) or aversive (air puff) contexts. To modulate the DA and 5-HT systems, we used drugs that act as a reuptake inhibitor; fluoxetine (FLX) for the 5-HT system and methylphenidate (MPH) for DA modulation. These drugs were tested on task performance and positron emission tomography (PET) imaging, using [<sup>11</sup>C]DASB and [<sup>11</sup>C]PE2I for the 5-HT and DA transporter respectively. This benefit effect of both drugs was associated to a strong reduction of two behavioral markers of anxiety expressed in aversive context, non-initiated choices and escape behaviors. These results shown that both drugs, have benefit effects on motivation and anxiety. Secondly, the PET imaging shown that the therapeutic dose of FLX led to a decrease of DASB binding in limbic cortical regions and also in the striatum where the MPH led to a decrease of PE2I binding. These results allow us to highlight the importance of serotonin and dopamine modulation inside the BG, especially the striatum, on therapeutic effects of FLX and MPH to modulate motivational disorders and anxiety-relative disorders.

## **Materials and methods**

### **Ethical statement**

All studies were in accordance with the recommendations of the European Communities Council Directive of 2010 (2010/63/UE) and the French National Committee (87/848). Animal care and treatment were in accordance with the National Institutes of Health (1996).

### **Animals**

Five adult males fascicularis monkeys were used in this study. All monkeys weighed between 6 and 9 kg and were aged between 4 and 8 years. They were kept in room with 12h light cycles, 23°C and 50% of humidity. Moreover, they were daily trained to perform the behavioral task.

### **Appartus**

All the experimental sessions were conducted in a dark room and the monkeys were made to sit in a chair with their heads fixed. A touch sensor was installed in a metal bar in front of the chair, which the monkeys could hold and release with their left hand. Two software were used to control the behavioral task, Presentation (Neurobehavioral System, Inc., CA, USA) and Scenario manager (Institut des Sciences Cognitives Marc Jeannerod, Bron, France). The last one allows the control of the solenoid valves to open or close the reward delivery system or air-puff system. Between 0.2ml and 0.4ml of apple juice were delivered as reward through a small plastic hole placed near from the monkey's mouth. The air-puff was delivered one time at 1.5-2.0 bar and served as

punishment. The air-puff was delivered at 10-15 cm from the left side of the monkey's face via a tube with its opening set.

### **Behavioral Task**

To investigate value-based decision making, we used a delay response task, consisted of a single and a dual cue condition. These conditions are presented alternatively. To start a trial, monkeys had to hold the bar with their left hand. A small white dot (starting point) immediately appeared at the screen center. After 1.3 s, it was replaced by two (dual cue condition) or one (single cue condition) cue(s) (CS). There were presented for 1 s, pseudo-randomly placed in the right or left side of the touch screen in the single cue condition and on both sides in the dual cue condition. Then, green square targets were presented for 2.0 s at the most. In both conditions monkeys had to select a target by touching on of the square on the screen. In the single cue condition, selecting the target in the cue's location is an approach behavior, selecting the other is an avoidance behavior. When monkeys selected the target presented at the cue's location, either liquid reward (appetitive CS approached) or air-puff (aversive CS approached) occurred after a random delay of 1.5-2.0. Nothing happened if they selected the other target. In this case, monkeys missed out the opportunity to earn a reward (appetitive CS avoided) or successfully prevented and air-puff (aversive CS avoided). In the dual-cue condition, one CS is associated to the Juice, the other one to the air-puff. The outcome depends on monkeys target' selection. In both conditions, trials were spaced by an inter-trial interval (ITI) of 0.8-1.5s. To maintain monkeys motivation to perform in the single-cue condition, air-puff aversion had to be limited: aversive trials occurred only after appetitive trials. Thus, aversive trials were repeated in case of error only. They had to perform an aversive trial to get to the next appetitive trial. In the single-cue condition, a

block consisted of 50 trials, 30 for the dual-cue condition (monkey M and monkey L) or 40 trials (Monkey C and monkey S). This different trials number was chosen to optimize motivation to perform the task. In addition, monkeys were never punished, even when they failed to complete, a trial (i.e. error responses).

Three different types of error could occur. (i) Trials in which monkeys released the bar before the target's presentation were categorized as *premature responses*. These responses could be interpreted as impulsivity (not being able to wait) when they occurred before CS presentation (pre-CS) or an escape behavior. (ii) Trials in which monkeys didn't initiate response during 2.0 s target presentation were categorized as non-initiated-actions. This kind of error could be a sign of indifference, loss of motivation a behavioral

## **Pharmacological injections**

### *Fluoxetine*

All monkeys were treated with acute injection of fluoxetine (FLX) (4 mg/kg, intramuscularly). Each injection was followed by 1 week washout period. All monkeys performed the behavioral task four hours after FLX injection. The same dose was used for the PET imaging

### *Methylphenidate*

Same monkeys were treated with acute injection of methylphenidate (MPH). Two doses were tested at 0.1 mg/kg and 0.6 mg/kg. Both dose were tested for PET investigations



### ***In vivo* imaging acquisition**

All MIR and PET were performed at the imaging centre (CERMEP). Before acquisition, each monkey was pre-treated with intramuscular injections of Atropine (0.05mg/kg) then Zoletil (15 mg/kg). During acquisition, Zoletil injections were necessary to maintain animals under anesthesia. For the PET scan, animals were continuously perfused with a lactate Ringer's solution via a vein catheter. Along the acquisition, heart rate and respiratory frequency were monitored. All anatomical MRI imaging were performed with 3D T<sub>1</sub>-weighted sequence using a 1.5T Magnetom scanner (Siemens). Anatomical volume was measured with 176 planes of 0.6 cubic voxels. For PET imaging we used a Siemens Biograph mCT/S64 scanner. This scanner had a spatial transverse resolution of 4.4mm. Attenuation was obtained using a 1-min low dose CT scan acquired before emission. Images were reconstructed using the Siemens ultraHD PET algorithm with 12 iterations, 8 subsets and a zoom factor of 21. Reconstructed volumes were 256 x 256 matrices of 0.398 x 0.398 mm<sup>2</sup> voxels. Radiotracers used to PET scan were synthesized in the cyclotron unit at CERMEP. PET scan acquisition started with the intravenous injection of the radiotracer via the vein catheter. Monkeys were performed four PET scan. Two of them were performed at baseline using one of the following radiotracer: <sup>11</sup>C-*N,N*-dimethyl-2-(-2-amino-4-cyanophenylthio) benzylamine (DASB) for serotonin transporter binding or <sup>11</sup>C-N-(3-iodoprop-2E-enyl)-2beta-carbomethoxy-3beta-(4methylphenyl) nortropane (PE2I) for dopamine transporter binding. A third one was performed with DASB and fluoxetine (injection 4h before radiotracer injection). The last one was performed with PE2I and methylphenidate (injection between 10 and 25 min before radiotracer injection).

## **Image processing**

### *Regions of interest analysis*

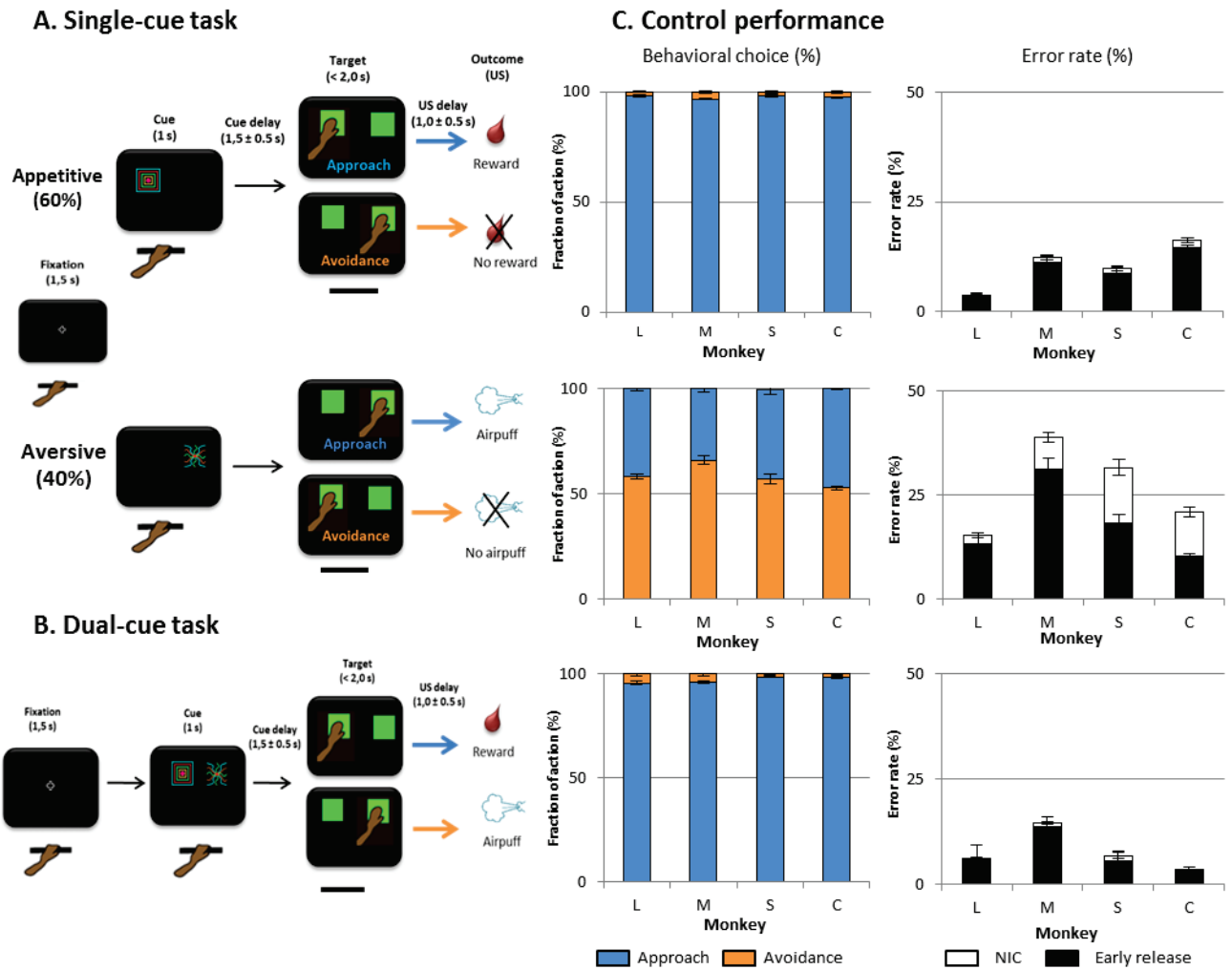
Regions of interest were specified by the propagation of the *M. fascicularis* maximum probability atlas using the MAXPROB method (Ballanger et al., 2013). We focused on 17 regions of interest (subcortical and cortical). For each monkey, PET images were registered to their own anatomical MRI, which were registered to *M.fascicularis* MRI template. Concatenation allowed direct affine transformation from PET images to template space. To defined raphe nuclei, no delimit in the atlas, a parallelepiped rectangle were used (3 x 4 x 6 mm in the sagittal, coronal and axial respectively)(Saleem and Logothetis, 2006).

### *Kinetic modelling*

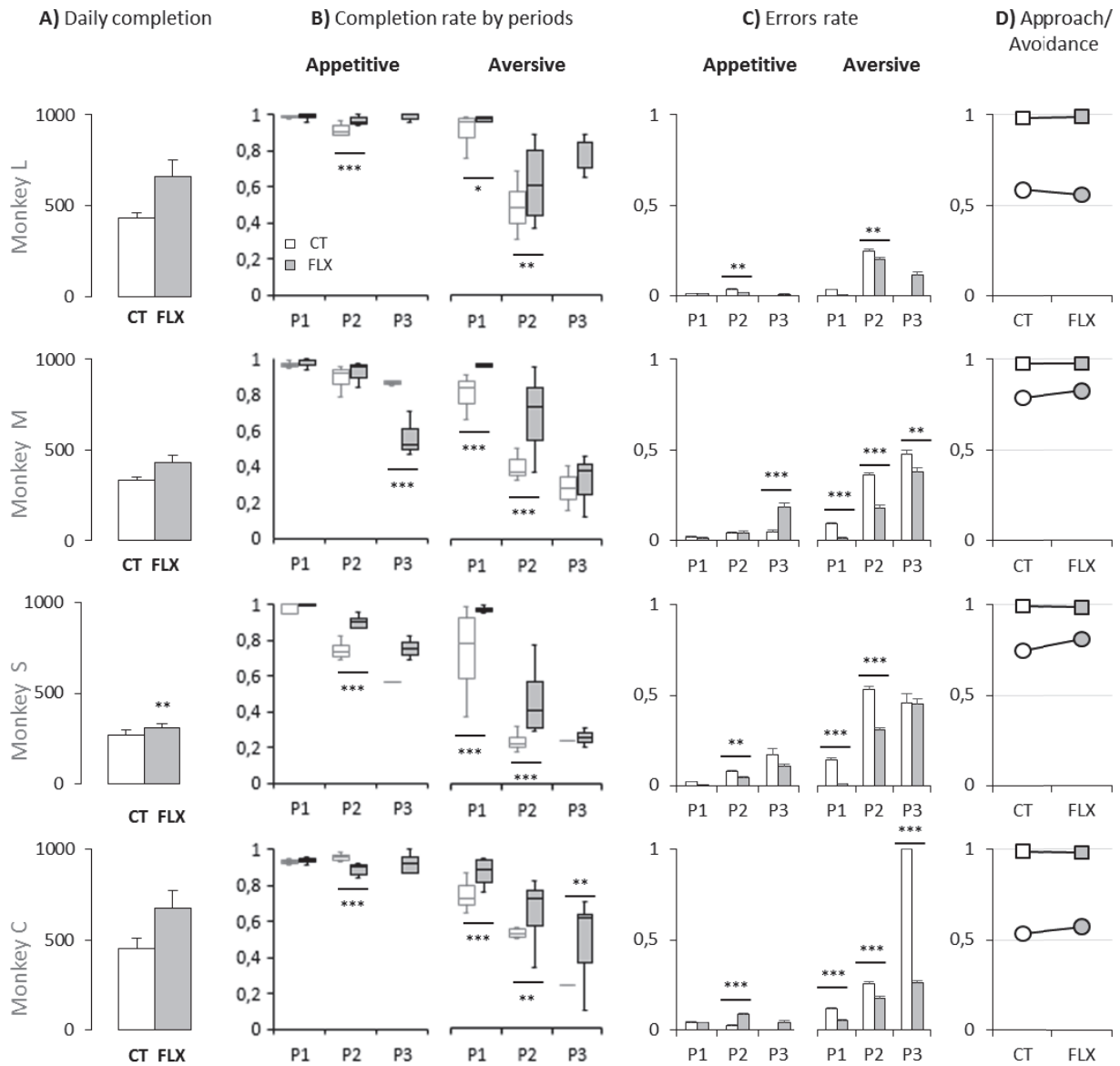
PET studies were analysed by suitable tracer kinetic model as described previously (Beaudoin-Gobert et al., 2016) to obtain the non -displaceable binding potential ( $BP_{ND}$ ) of each radiotracer  $^{11}C$ -DASB and  $^{11}C$ -PE2I.

## **Surgery**

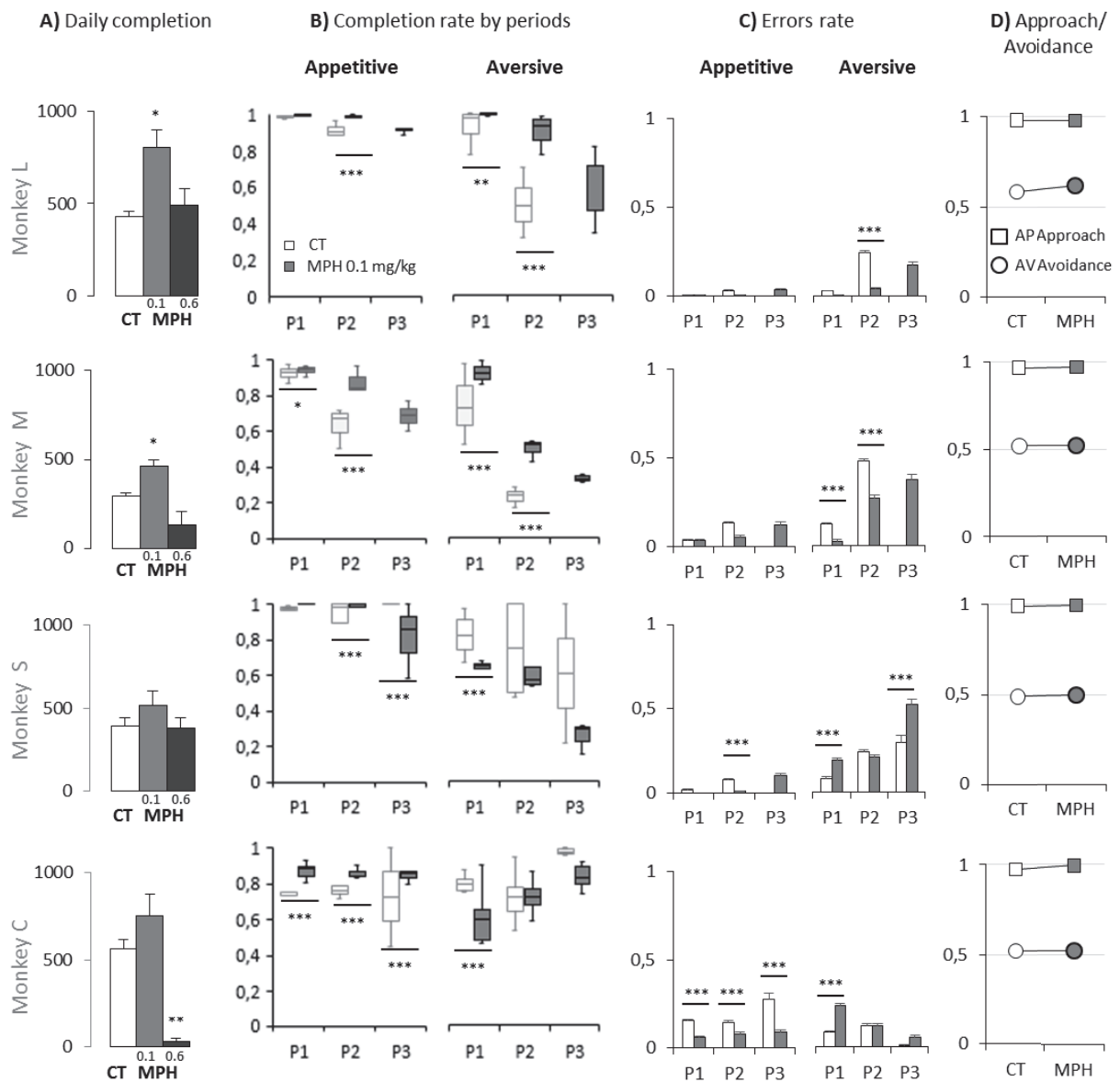
When monkey performed correctly the task, we implanted the head fixation system. Surgery was made under isoflurane anesthesia in aseptic conditions. Plastic and titanium screws were implanted in the skull and a head fixation ring was fixed using acrylic resin. To avoid postsurgical infection and pain, antibiotics and analgesics were administered after surgery.



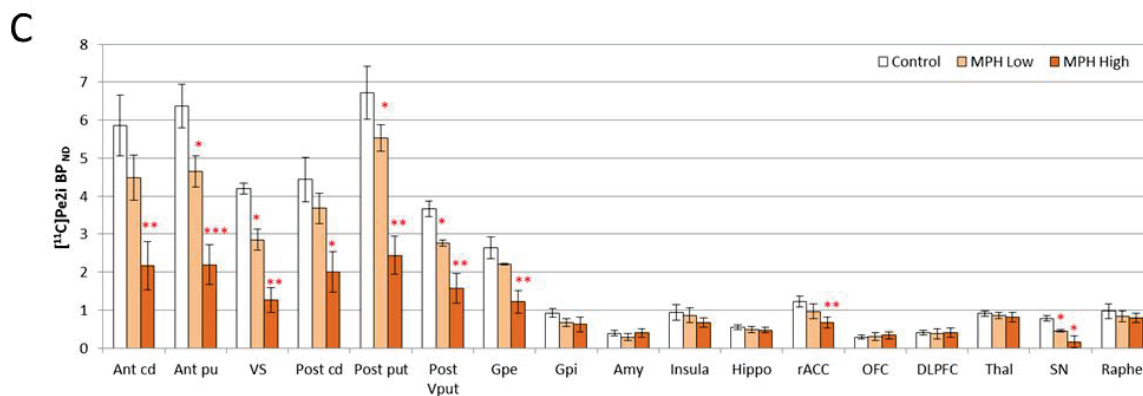
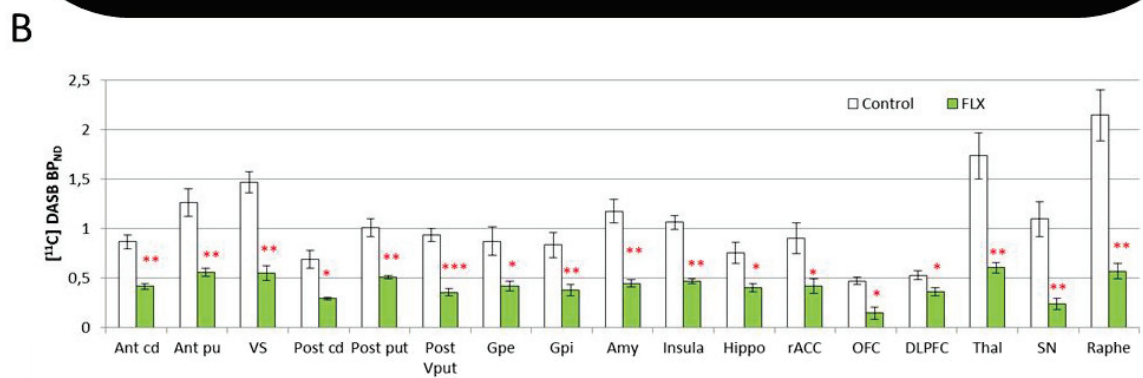
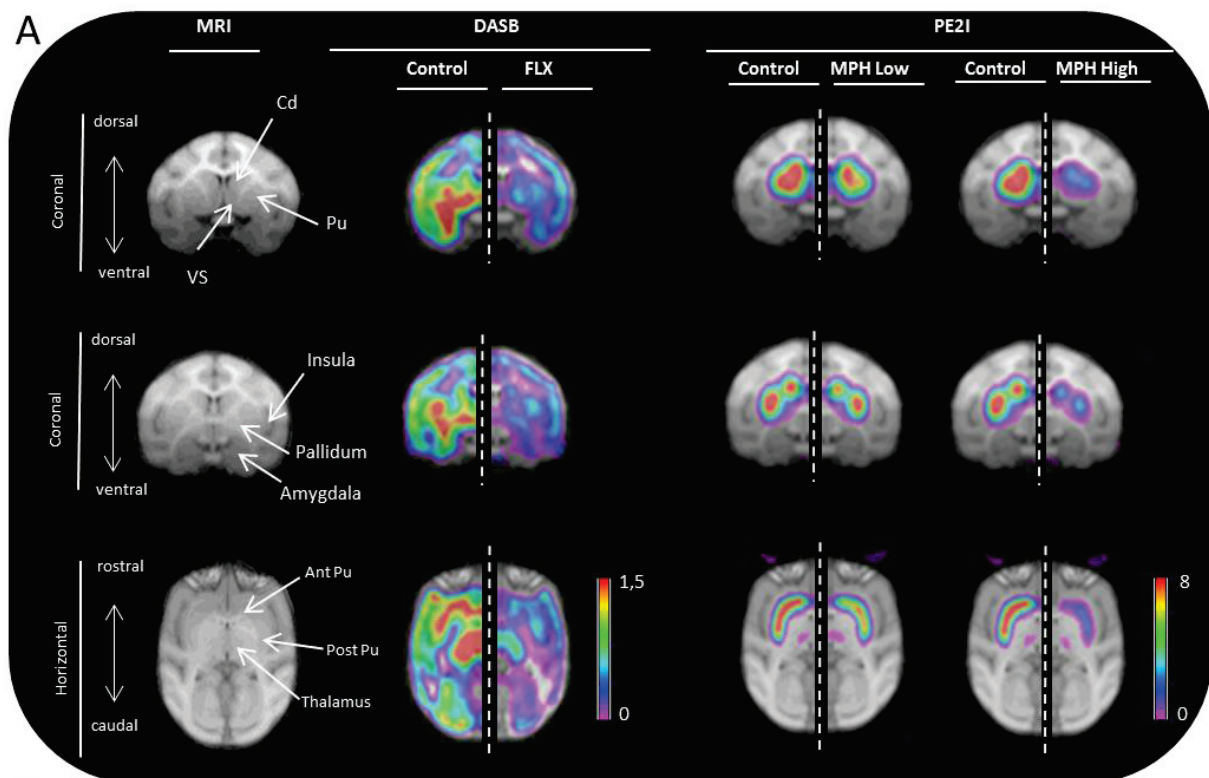
**Figure 1 : Task design and control behavior results.** (A) Single-cue task: appetitive (top) and aversive (bottom) conditions . A trial was started by holding the bar and lead to the appearance of the fixation point during 1,5s. Then, a cue was presented in the left or in the right position for 1s. Two green targets appeared in both position after a delay. Depending of the condition, approach or avoidance behavior led to positive US (a drop of juice) or negative US (a puff of air) or no US. (B) Dual-cue task: two cues were presented after fixation point. Monkeys choose one target to obtain the US associated. (C) Behavioral choice: The bars correspond to the average percentages of approach and avoidance with SEM for both cues for all monkeys. Error rate: The bars indicate the average of error separate in two different types: non-initiated choice (NIC) and early release.



**Figure 2 : Improved performances under FLX.** (A) Measures of daily completion (B) We observed performances in appetitive and aversive context during the session, divided in 3 periods. (C) The error rate in both contexts along the session. The bars indicate the average of error (non-initiated choice (NIC) and early release). (D) Level of approach and avoidance behaviors in appetitive (square) and aversive (circle) contexts. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$



**Figure 3 : Improved performances under MPH.** (A) Measures of daily completion (B) We observed performances in appetitive and aversive context during the session, divided in 3 periods. (C) The error rate in both contexts along the session. The bars indicate the average of error (non-initiated choice (NIC) and early release). (D) Level of approach and avoidance behaviors in appetitive (square) and aversive (circle) contexts. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$



**Figure 4 : Impact of FLX and MPH on DASB and Pe2i PET imaging.** (A) MRI template (grey),  $^{11}\text{C}$ -DASB and  $^{11}\text{C}$ -PE2I (in colour) PET images on coronal and horizontal planes in control and with injection of FLX or MPH. Colours represent the level of BP<sub>ND</sub> using the cerebellum as the reference region (purple indicates low BP<sub>ND</sub> whereas red indicates high BP<sub>ND</sub>). (B) and (C) Histograms representing the BP<sub>ND</sub> of tracers in control and with injection. (n = 4) \* p<0,05, \*\*p <0,01, \*\*\* p<0,001 and SEM. Amy = amygdala; ant = anterior; cd = caudate; DLPFC = dorsolateral pre-frontal cortex; Gpe = external globus pallidus; Gpi = internal globus pallidus; Hippo = Hippocampus; OFC = orbitofrontal cortex; pu = putamen; post = posterior; rACC = rostral anterior cingulate cortex; SN = substantia nigra; Thal = thalamus; Vput = ventral putamen; VS = ventral striatum.

# **Listes des communications**

## Communications orales

- Juin 2018**      Millot M. *MDMA exacerbates while fluoxetine coneracts anxious manifestations in non-human primates.* Club des ganglions de la base et Club des mouvements anormaux. Paris, France.
- Déc 2017**      Millot M. *Role of the serotonergic system on the expression of neuropsychiatric symptoms in Parkinson disease.* Laboratory seminar. Institut des Sciences Cognitives Marc Jeannerod. Lyon, France.
- Fév 2017**      Millot M. *Impact of an early serotonergic lesion (by MDMA) on anxious-like behavior in non-human primates.* LabEx Cortex Student Club. Lyon, France.

## Communications affichées

- Nov 2018**      Millot M, Martinez E, Drui G, Saga Y, Météreau E, Philip Tobler, Sgambato V, Tremblay L. *Methylphenidate and fluoxetine improve approach avoidance task in non human primate: A behavioral study associated to PET imaging.* **Society for Neurosciences.** San Diego, USA.2018
- Aout 2018**      Millot M, Gobert-Beaudoin M, Duperrier S, Météreau E, Saga Y, Tremblay L, Sgambato V. *Early serotonergic promotes emergence and severity of motor symptoms in monkeys.* **International Association of Parkinsonism and Related Disorders.** Lyon, France.
- Juil 2018**      Millot M, Drui G, Météreau E, Tremblay L, Sgambato V. *Modification of anxious state with acute or chronic fluoxetine treatment after serotonergic lesion.* **Federation of European Neuroscience Societies.** Berlin, Germany.



- Avril 2018**     Millot M, Gobert-Beaudoin M, Duperrier S, Météreau E, Saga Y, Tremblay L, Sgambato V. *Early serotonergic promotes emergence and severity of motor symptoms in monkeys.* **Physiopathology of Parkinson's Disease.** Lille, France
- Mars 2017**     Millot M, Saga Y, Drui G, Météreau E, Tremblay L, Sgambato V. *Impact of an early serotonergic lesion (by MDMA) on anxious-like behavior in non-human primates.* **International Basal Ganglia Society Meeting.** Yucatan, Mexique.

# **Références bibliographiques**

- Abbes, M., Lhommée, E., Thobois, S., Klinger, H., Schmitt, E., Bichon, A., ... Krack, P. (2018). Subthalamic stimulation and neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease : Results from a long-term follow-up cohort study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *89*(8), 836-843. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-316373>
- Ainslie, G. (1975). Specious reward : A behavioral theory of impulsiveness and impulse control. *Psychological Bulletin*, *82*(4), 463-496.
- Aldrin-Kirk, P., Heuer, A., Wang, G., Mattsson, B., Lundblad, M., Parmar, M., & Björklund, T. (2016). DREADD Modulation of Transplanted DA Neurons Reveals a Novel Parkinsonian Dyskinesia Mechanism Mediated by the Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor. *Neuron*, *90*(5), 955-968. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.017>
- Alexander, G. E., DeLong, M. R., & Strick, P. L. (1986). *Parallel Organization of Functionally Segregated Circuits Linking Basal Ganglia and Cortex*. 25.
- Antonelli, F., Ko, J. H., Miyasaki, J., Lang, A. E., Houle, S., Valzania, F., ... Strafella, A. P. (2014). Dopamine-Agonists and Impulsivity in Parkinson's Disease : Impulsive Choices vs. Impulsive Actions. *Human brain mapping*, *35*(6), 2499-2506. <https://doi.org/10.1002/hbm.22344>
- Antonelli, F., & Strafella, A. P. (2014). Behavioral disorders in Parkinson's disease : The role of dopamine. *Parkinsonism & Related Disorders*, *20*, S10 - S12. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(13\)70005-1](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(13)70005-1)
- Antonini, A., Barone, P., Ceravolo, R., Fabbrini, G., Tinazzi, M., & Abbruzzese, G. (2010). Role of pramipexole in the management of Parkinson's disease. *CNS Drugs*, *24*(10), 829-841. <https://doi.org/10.2165/11585090-000000000-00000>

- Arai, R., Karasawa, N., Geffard, M., Nagatsu, T., & Nagatsu, I. (1994). Immunohistochemical evidence that central serotonin neurons produce dopamine from exogenous L-DOPA in the rat, with reference to the involvement of aromatic L-amino acid decarboxylase. *Brain Research*, 667(2), 295-299.
- Ascherio, A., & Schwarzschild, M. A. (2016). The epidemiology of Parkinson's disease : Risk factors and prevention. *The Lancet Neurology*, 15(12), 1257 - 1272. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30230-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30230-7)
- Ballanger, B., Beaudoin-Gobert, M., Neumane, S., Epinat, J., Metereau, E., Duperrier, S., ... Tremblay, L. (2016). Imaging Dopamine and Serotonin Systems on MPTP Monkeys : A Longitudinal PET Investigation of Compensatory Mechanisms. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(5), 1577-1589. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2010-15.2016>
- Ballanger, B., Klinger, H., Eche, J., Lerond, J., Vallet, A.-E., Le Bars, D., ... Thobois, S. (2012). Role of serotonergic 1A receptor dysfunction in depression associated with Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 27(1), 84-89. <https://doi.org/10.1002/mds.23895>
- Ballanger, B., Strafella, A. P., Eimeren, T. van, Zurowski, M., Rusjan, P. M., Houle, S., & Fox, S. H. (2010). Serotonin 2A Receptors and Visual Hallucinations in Parkinson Disease. *Archives of Neurology*, 67(4), 416 - 421. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.35>
- Barbas, H., & Blatt, G. J. (1995). Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. *Hippocampus*, 5(6), 511-533. <https://doi.org/10.1002/hipo.450050604>

- Barone, P. (2011). Treatment of depressive symptoms in Parkinson's disease. *European Journal of Neurology*, 18 Suppl 1, 11 - 15. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03325.x>
- Barone, P., Moret, C., Briley, M., & Fillion, G. (1994). Autoradiographic characterization of binding sites for [3H]milnacipran, a new antidepressant drug, and their relationship to the serotonin transporter in rat brain. *Brain Research*, 668(1-2), 129-143.
- Barone, Paolo, Antonini, A., Colosimo, C., Marconi, R., Morgante, L., Avarello, T. P., ... Dotto, P. D. (2009). The PRIAMO study : A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 24(11), 1641-1649. <https://doi.org/10.1002/mds.22643>
- Barone, Paolo, Poewe, W., Albrecht, S., Debieuvre, C., Massey, D., Rascol, O., ... Weintraub, D. (2010). Pramipexole for the treatment of depressive symptoms in patients with Parkinson's disease : A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet. Neurology*, 9(6), 573 - 580. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70106-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70106-X)
- Barone, Paolo, Santangelo, G., Amboni, M., Pellecchia, M. T., & Vitale, C. (2016). Pisa syndrome in Parkinson's disease and parkinsonism : Clinical features, pathophysiology, and treatment. *The Lancet Neurology*, 15(10), 1063-1074. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30173-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30173-9)
- Bartus, R. T., Weinberg, M. S., & Samulski, R. J. (2014). Parkinson's disease gene therapy : Success by design meets failure by efficacy. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 22(3), 487 - 497. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.281>

- Beaudoin-Gobert, M., Epinat, J., Météreau, E., Duperrier, S., Neumane, S., Ballanger, B., ... Sgambato-Faure, V. (2015). Behavioural impact of a double dopaminergic and serotonergic lesion in the non-human primate. *Brain*, *138*(9), 2632-2647. <https://doi.org/10.1093/brain/awv183>
- Beaudoin-Gobert, M., Météreau, E., Duperrier, S., Thobois, S., Tremblay, L., & Sgambato, V. (2018). Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: Insights from multimodal imaging and immunohistochemistry in non-human primates. *NeuroImage*, *183*, 132-141. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.08.016>
- Beaudoin-Gobert, M., & Sgambato-Faure, V. (2014). Serotonergic pharmacology in animal models: From behavioral disorders to dyskinesia. *Neuropharmacology*, *81*, 15-30. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.01.031>
- Belleruche, J. S. de, & Bradford, H. F. (1980). Presynaptic Control of the Synthesis and Release of Dopamine from Striatal Synaptosomes: A Comparison Between the Effects of 5-Hydroxytryptamine, Acetylcholine, and Glutamate. *Journal of Neurochemistry*, *35*(5), 1227 - 1234. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1980.tb07879.x>
- Benabid, A. L., Chabardes, S., Mitrofanis, J., & Pollak, P. (2009). Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*, *8*(1), 67-81. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70291-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70291-6)
- Benkler, M., Agmon-Levin, N., & Shoenfeld, Y. (2009). Parkinson's disease, autoimmunity, and olfaction. *The International Journal of Neuroscience*, *119*(12), 2133-2143. <https://doi.org/10.3109/00207450903178786>
- Berghauzen-Maciejewska, K., Wardas, J., Kosmowska, B., Domin, H., Śmiałowska, M., Głowacka, U., & Ossowska, K. (2016). Adaptive down-regulation of the serotonin

- transporter in the 6-hydroxydopamine-induced rat model of preclinical stages of Parkinson's disease and after chronic pramipexole treatment. *Neuroscience*, 314, 22-34. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.049>
- Bergman, H., Raz, A., Feingold, A., Nini, A., Nelken, I., Hansel, D., ... Reches, A. (1998). Physiology of MPTP tremor. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 13 Suppl 3, 29-34.
- Bezard, E., Dovero, S., Prunier, C., Ravenscroft, P., Chalon, S., Guilloteau, D., ... Gross, C. E. (2001). Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(17), 6853-6861.
- Bezard, E., & Gross, C. E. (1998). Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism : Towards a dynamic approach. *Progress in Neurobiology*, 55(2), 93-116.
- Birmes, P., Coppin, D., Schmitt, L., & Lauque, D. (2003). Serotonin syndrome : A brief review. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 168(11), 1439-1442.
- Blesa, J., Phani, S., Jackson-Lewis, V., & Przedborski, S. (2012). Classic and New Animal Models of Parkinson's Disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/845618>
- Blesa, J., Trigo-Damas, I., Del Rey, N. L.-G., & Obeso, J. A. (2018). The use of nonhuman primate models to understand processes in Parkinson's disease. *Journal of Neural*

*Transmission* (Vienna, Austria: 1996), 125(3), 325 - 335.

<https://doi.org/10.1007/s00702-017-1715-x>

Blesa, J., Trigo-Damas, I., Dileone, M., del Rey, N. L.-G., Hernandez, L. F., & Obeso, J. A. (2017). Compensatory mechanisms in Parkinson's disease : Circuits adaptations and role in disease modification. *Experimental Neurology*, 298, 148 - 161.  
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.002>

Boileau, I., Warsh, J. J., Guttman, M., Saint-Cyr, J. A., McCluskey, T., Rusjan, P., ... Kish, S. J. (2008). Elevated serotonin transporter binding in depressed patients with Parkinson's disease : A preliminary PET study with [11C]DASB. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 23(12), 1776-1780.  
<https://doi.org/10.1002/mds.22212>

Bond, A. E., Shah, B. B., Huss, D. S., Dallapiazza, R. F., Warren, A., Harrison, M. B., ... Elias, W. J. (2017). Safety and Efficacy of Focused Ultrasound Thalamotomy for Patients With Medication-Refractory, Tremor-Dominant Parkinson Disease. *JAMA Neurology*, 74(12), 1412 - 1418. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3098>

Bonito-Oliva, A., Masini, D., & Fisone, G. (2014). A mouse model of non-motor symptoms in Parkinson's disease : Focus on pharmacological interventions targeting affective dysfunctions. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 290.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00290>

Boulet, S., Mounayar, S., Poupard, A., Bertrand, A., Jan, C., Pessiglione, M., ... Tremblay, L. (2008). Behavioral recovery in MPTP-treated monkeys : Neurochemical mechanisms studied by intrastriatal microdialysis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(38), 9575 - 9584.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3465-08.2008>



- Braak, H., Ghebremedhin, E., Rüb, U., Bratzke, H., & Del Tredici, K. (2004). Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and Tissue Research*, 318(1), 121-134. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0956-9>
- Braak, H., Tredici, K. D., Rüb, U., de Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(2), 197-211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)
- Brooks, D. J. (2010). Examining Braak's hypothesis by imaging Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 25(S1), S83-S88. <https://doi.org/10.1002/mds.22720>
- Brooks, D. J., & Pavese, N. (2011). Imaging biomarkers in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*, 95(4), 614-628. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.08.009>
- Brooks, D. J., & Piccini, P. (2006). Imaging in Parkinson's Disease: The Role of Monoamines in Behavior. *Biological Psychiatry*, 59(10), 908 - 918. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.12.017>
- Brück, A., Aalto, S., Rauhala, E., Bergman, J., Marttila, R., & Rinne, J. O. (2009). A follow-up study on 6-[18F]fluoro-L-dopa uptake in early Parkinson's disease shows nonlinear progression in the putamen. *Movement Disorders*, 24(7), 1009-1015. <https://doi.org/10.1002/mds.22484>
- Brundin, P., Ma, J., & Kordower, J. H. (2016). How strong is the evidence that Parkinson's disease is a prion disorder? *Current Opinion in Neurology*, 29(4), 459-466. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000349>
- Cabantchik, Z. I., Munnich, A., Youdim, M. B., & Devos, D. (2013). Regional siderosis : A new challenge for iron chelation therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 167. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00167>

- Cadoni, C., Pisanu, A., Simola, N., Frau, L., Porceddu, P. F., Corongiu, S., ... Di Chiara, G. (2017). Widespread reduction of dopamine cell bodies and terminals in adult rats exposed to a low dose regimen of MDMA during adolescence. *Neuropharmacology*, *123*, 385 - 394. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.008>
- Caminiti, S. P., Presotto, L., Baroncini, D., Garibotto, V., Moresco, R. M., Gianolli, L., ... Perani, D. (2017). Axonal damage and loss of connectivity in nigrostriatal and mesolimbic dopamine pathways in early Parkinson's disease. *NeuroImage: Clinical*, *14*, 734-740. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.03.011>
- Capela, J. P., Carmo, H., Remião, F., Bastos, M. L., Meisel, A., & Carvalho, F. (2009). Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: An overview. *Molecular Neurobiology*, *39*(3), 210 - 271. <https://doi.org/10.1007/s12035-009-8064-1>
- Caretti, V., Stoffers, D., Winogrodzka, A., Isaias, I.-U., Costantino, G., Pezzoli, G., ... Booij, J. (2008). Loss of thalamic serotonin transporters in early drug-naïve Parkinson's disease patients is associated with tremor: An [(123)I]beta-CIT SPECT study. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, *115*(5), 721 - 729. <https://doi.org/10.1007/s00702-007-0015-2>
- Carlsson, T., Carta, M., Muñoz, A., Mattsson, B., Winkler, C., Kirik, D., & Björklund, A. (2009). Impact of grafted serotonin and dopamine neurons on development of L-DOPA-induced dyskinesias in parkinsonian rats is determined by the extent of dopamine neuron degeneration. *Brain: A Journal of Neurology*, *132*(Pt 2), 319-335. <https://doi.org/10.1093/brain/awn305>

- Carnicella, S., Drui, G., Boulet, S., Carcenac, C., Favier, M., Duran, T., & Savasta, M. (2014). Implication of dopamine D3 receptor activation in the reversion of Parkinson's disease-related motivational deficits. *Translational Psychiatry*, 4, e401. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.43>
- Carta, M., & Bezard, E. (2011). Contribution of pre-synaptic mechanisms to L-DOPA-induced dyskinesia. *Neuroscience*, 198, 245 - 251. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.07.070>
- Carta, Manolo, Carlsson, T., Kirik, D., & Björklund, A. (2007). Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain: A Journal of Neurology*, 130(Pt 7), 1819 - 1833. <https://doi.org/10.1093/brain/awm082>
- Carta, Manolo, & Tronci, E. (2014). Serotonin System Implication in l-DOPA-Induced Dyskinesia: From Animal Models to Clinical Investigations. *Frontiers in Neurology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00078>
- Carvalho, M. C., Albrechet-Souza, L., Masson, S., & Brandão, M. L. (2005). Changes in the biogenic amine content of the prefrontal cortex, amygdala, dorsal hippocampus, and nucleus accumbens of rats submitted to single and repeated sessions of the elevated plus-maze test. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 38(12), 1857 - 1866. <https://doi.org/S0100-879X2005001200014>
- Castrioto, A., Thobois, S., Carnicella, S., Maillet, A., & Krack, P. (2016). Emotional manifestations of PD: Neurobiological basis. *Movement Disorders*, 31(8), 1103-1113. <https://doi.org/10.1002/mds.26587>

- Cenci, M. A., Whishaw, I. Q., & Schallert, T. (2002). Animal models of neurological deficits : How relevant is the rat? *Nature Reviews Neuroscience*, 3(7), 574-579.  
<https://doi.org/10.1038/nrn877>
- Chang, J. W., Park, C. K., Lipsman, N., Schwartz, M. L., Ghanouni, P., Henderson, J. M., ... Elias, W. J. (2018). A prospective trial of magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor : Results at the 2-year follow-up. *Annals of Neurology*, 83(1), 107-114. <https://doi.org/10.1002/ana.25126>
- Chang, W.-L., Geyer, M. A., Buell, M. R., Weber, M., & Swerdlow, N. R. (2010). The effects of pramipexole on prepulse inhibition and locomotor activity in C57BL/6J mice. *Behavioural Pharmacology*, 21(2), 135 - 143.  
<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328337be7e>
- Charlton, C. G., & Mack, J. (1994). Substantia nigra degeneration and tyrosine hydroxylase depletion caused by excess S-adenosylmethionine in the rat brain. *Molecular Neurobiology*, 9(1), 149. <https://doi.org/10.1007/BF02816115>
- Chaudhuri, K. R., & Schapira, A. H. (2009). Non-motor symptoms of Parkinson's disease : Dopaminergic pathophysiology and treatment. *The Lancet Neurology*, 8(5), 464-474. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70068-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70068-7)
- Chen, Y.-A., Huang, W.-S., Lin, Y.-S., Cheng, C.-Y., Liu, R.-S., Wang, S.-J., ... Ma, K.-H. (2012). Characterization of 4-[18F]-ADAM as an imaging agent for SERT in non-human primate brain using PET : A dynamic study. *Nuclear Medicine and Biology*, 39(2), 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2011.08.002>
- Chernoloz, O., El Mansari, M., & Blier, P. (2012). Long-term administration of the dopamine D3/2 receptor agonist pramipexole increases dopamine and serotonin

- neurotransmission in the male rat forebrain. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 37(2), 113-121. <https://doi.org/10.1503/jpn.110038>
- Chiu, W.-H., Depboylu, C., Hermanns, G., Maurer, L., Windolph, A., Oertel, W. H., ... Höglinger, G. U. (2015). Long-term treatment with L-DOPA or pramipexole affects adult neurogenesis and corresponding non-motor behavior in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 95, 367 - 376. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.03.020>
- Colado, M. I., O'Shea, E., & Green, A. R. (2004). Acute and long-term effects of MDMA on cerebral dopamine biochemistry and function. *Psychopharmacology*, 173(3), 249-263. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1788-8>
- Costa, G., Frau, L., Wardas, J., Pinna, A., Plumitallo, A., & Morelli, M. (2013). MPTP-induced dopamine neuron degeneration and glia activation is potentiated in MDMA-pretreated mice. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 28(14), 1957-1965. <https://doi.org/10.1002/mds.25646>
- Costafreda, S. G., Chu, C., Ashburner, J., & Fu, C. H. Y. (2009). Prognostic and diagnostic potential of the structural neuroanatomy of depression. *PloS One*, 4(7), e6353. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006353>
- Crabtree, D., Dodson, M., Ouyang, X., Boyer-Guittaut, M., Liang, Q., Ballestas, M. E., ... Zhang, J. (2014). Over-expression of an inactive mutant cathepsin D increases endogenous alpha-synuclein and cathepsin B activity in SH-SY5Y cells. *Journal of Neurochemistry*, 128(6), 950-961. <https://doi.org/10.1111/jnc.12497>
- Dalley, J. W., & Roiser, J. P. (2012). Dopamine, serotonin and impulsivity. *Neuroscience*, 215, 42-58. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.065>

- D'Aquila, P. S., Collu, M., Gessa, G. L., & Serra, G. (2000). The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *European Journal of Pharmacology*, 405(1), 365-373. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00566-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00566-5)
- Dardou, D., Reyrolle, L., Chassain, C., & Durif, F. (2017). Chronic pramipexole treatment induces compulsive behavior in rats with 6-OHDA lesions of the substantia nigra and ventral tegmental area. *Behavioural Brain Research*, 332, 327 - 336. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.06.016>
- Darlot, F., Moro, C., El Massri, N., Chabrol, C., Johnstone, D. M., Reinhart, F., ... Benabid, A.-L. (2016). Near-infrared light is neuroprotective in a monkey model of Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 79(1), 59-75. <https://doi.org/10.1002/ana.24542>
- Dauer, W., & Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease: Mechanisms and models. *Neuron*, 39(6), 889-909.
- De Bie, R. M. A., Schuurman, P. R., Esselink, R. A. J., Bosch, D. A., & Speelman, J. D. (2002). Bilateral pallidotomy in Parkinson's disease: A retrospective study. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 17(3), 533-538. <https://doi.org/10.1002/mds.10090>
- De Deurwaerdère, P., L'hirondel, M., Bonhomme, N., Lucas, G., Cheramy, A., & Spampinato, U. (1997). Serotonin stimulation of 5-HT<sub>4</sub> receptors indirectly enhances in vivo dopamine release in the rat striatum. *Journal of Neurochemistry*, 68(1), 195-203.
- De Deurwaerdère, Philippe, & Di Giovanni, G. (2017). Serotonergic modulation of the activity of mesencephalic dopaminergic systems: Therapeutic implications. *Progress in Neurobiology*, 151, 175 - 236. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.03.004>

- De Fabregues, O., Ferré, A., Romero, O., Quintana, M., & Álvarez-Sabin, J. (2018). Sleep Quality and Levodopa Intestinal Gel Infusion in Parkinson's Disease : A Pilot Study. *Parkinson's Disease*, 2018, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2018/8691495>
- De Virgilio, A., Greco, A., Fabbrini, G., Inghilleri, M., Rizzo, M. I., Gallo, A., ... de Vincentiis, M. (2016). Parkinson's disease : Autoimmunity and neuroinflammation. *Autoimmunity Reviews*, 15(10), 1005 - 1011. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.07.022>
- Dehay, B., Bové, J., Rodríguez-Muela, N., Perier, C., Recasens, A., Boya, P., & Vila, M. (2010). Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson's disease. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(37), 12535-12544. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1920-10.2010>
- Delaville, C., Navailles, S., & Benazzouz, A. (2012). Effects of noradrenaline and serotonin depletions on the neuronal activity of globus pallidus and substantia nigra pars reticulata in experimental parkinsonism. *Neuroscience*, 202, 424 - 433. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.024>
- Delval, A., Rambour, M., Tard, C., Dujardin, K., Devos, D., Bleuse, S., ... Moreau, C. (2016). Freezing/festination during motor tasks in early-stage Parkinson's disease : A prospective study. *Movement Disorders*, 31(12), 1837 - 1845. <https://doi.org/10.1002/mds.26762>
- Deuschländer, A., la Fougère, C., Boetzel, K., Albert, N. L., Gildehaus, F.-J., Bartenstein, P., ... Cumming, P. (2016). Occupancy of pramipexole (Sifrol) at cerebral dopamine D2/3 receptors in Parkinson's disease patients. *NeuroImage : Clinical*, 12, 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.06.007>

- Devos, D., Moreau, C., Devedjian, J. C., Kluza, J., Petrault, M., Laloux, C., ... Bordet, R. (2014). Targeting chelatable iron as a therapeutic modality in Parkinson's disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(2), 195 - 210. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5593>
- Dexter, D. T., Carayon, A., Javoy-Agid, F., Agid, Y., Wells, F. R., Daniel, S. E., ... Marsden, C. D. (1991). Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain: A Journal of Neurology*, 114 ( Pt 4), 1953-1975.
- Di Matteo, V., Di Giovanni, G., Di Mascio, M., & Esposito, E. (1998). Selective blockade of serotonin2C/2B receptors enhances dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 37(2), 265 - 272. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(98\)00014-8](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(98)00014-8)
- Di Matteo, V., Di Mascio, M., Di Giovanni, G., & Esposito, E. (2000). Acute administration of amitriptyline and mianserin increases dopamine release in the rat nucleus accumbens: Possible involvement of serotonin2C receptors. *Psychopharmacology*, 150(1), 45-51. <https://doi.org/10.1007/s002130000420>
- Di Matteo, V., Pierucci, M., Esposito, E., Crescimanno, G., Benigno, A., & Di Giovanni, G. (2008). Serotonin modulation of the basal ganglia circuitry: Therapeutic implication for Parkinson's disease and other motor disorders. In V. D. M. and E. E. Giuseppe Di Giovanni (Éd.), *Progress in Brain Research* (p. 423-463). Consulté à l'adresse <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308009217>
- D'Iorio, A., Vitale, C., Piscopo, F., Baiano, C., Falanga, A. P., Longo, K., ... Santangelo, G. (2017). Impact of anxiety, apathy and reduced functional autonomy on perceived



- quality of life in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 43, 114-117. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.08.003>
- Dirkx, M. F., den Ouden, H. E. M., Aarts, E., Timmer, M. H. M., Bloem, B. R., Toni, I., & Helmich, R. C. (2017). Dopamine controls Parkinson's tremor by inhibiting the cerebellar thalamus. *Brain: A Journal of Neurology*, 140(3), 721 - 734. <https://doi.org/10.1093/brain/aww331>
- Do Van, B., Gouel, F., Jonneaux, A., Timmerman, K., Gelé, P., Pétrault, M., ... Devedjian, J.-C. (2016). Ferroptosis, a newly characterized form of cell death in Parkinson's disease that is regulated by PKC. *Neurobiology of Disease*, 94, 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.05.011>
- Doder, M., Rabiner, E. A., Turjanski, N., Lees, A. J., & Brooks, D. J. (2003). Tremor in Parkinson's disease and serotonergic dysfunction: An 11C-WAY 100635 PET study. *Neurology*, 60(4), 601 - 605. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000031424.51127.2B>
- Domino, E. F., Ni, L., Zhang, H., Kohno, Y., & Sasa, M. (1998). Effects of pramipexole on contraversive rotation and functional motor impairments in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced chronic hemiparkinsonian monkeys. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 287(3), 983-987.
- Donat, C. K., Mirzaei, N., Tang, S.-P., Edison, P., & Sastre, M. (2018). Imaging of Microglial Activation in Alzheimer's Disease by [11C]PBR28 PET. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1750, 323 - 339. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7704-8\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7704-8_22)

- Dooley, M., & Markham, A. (1998). Pramipexole. A review of its use in the management of early and advanced Parkinson's disease. *Drugs & Aging, 12*(6), 495-514. <https://doi.org/10.2165/00002512-199812060-00007>
- Dray, A., Gonye, T. J., Oakley, N. R., & Tanner, T. (1976). Evidence for the existence of a raphe projection to the substantia nigra in rat. *Brain Research, 113*(1), 45-57. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(76\)90005-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(76)90005-6)
- Drui, G., Carnicella, S., Carcenac, C., Favier, M., Bertrand, A., Boulet, S., & Savasta, M. (2014). Loss of dopaminergic nigrostriatal neurons accounts for the motivational and affective deficits in Parkinson's disease. *Molecular Psychiatry, 19*(3), 358-367. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.3>
- Dujardin, K., & Defebvre, L. (2007). *Neuropsychologie de la maladie de Parkinson et des syndromes apparentés*. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-08039-5.X5000-X>
- Dujardin, K., Langlois, C., Plomhause, L., Carette, A.-S., Delliaux, M., Duhamel, A., & Defebvre, L. (2014). Apathy in untreated early-stage Parkinson disease: Relationship with other non-motor symptoms. *Movement Disorders, 29*(14), 1796-1801. <https://doi.org/10.1002/mds.26058>
- Dujardin, K., Sockeel, P., Carette, A.-S., Delliaux, M., & Defebvre, L. (2013). Assessing apathy in everyday clinical practice with the short-form Lille Apathy Rating Scale. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society, 28*(14), 2014-2019. <https://doi.org/10.1002/mds.25584>
- Dujardin, K., Sockeel, P., Delliaux, M., Destée, A., & Defebvre, L. (2008). The Lille Apathy Rating Scale: Validation of a caregiver-based version. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society, 23*(6), 845 - 849. <https://doi.org/10.1002/mds.21968>

- Dujardin, K., Sockeel, P., Devos, D., Delliaux, M., Krystkowiak, P., Destée, A., & Defebvre, L. (2007). Characteristics of apathy in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 22(6), 778-784. <https://doi.org/10.1002/mds.21316>
- Dupré, D. A., Tomycz, N., Oh, M. Y., & Whiting, D. (2015). Deep brain stimulation for obesity: Past, present, and future targets. *Neurosurgical Focus*, 38(6), E7. <https://doi.org/10.3171/2015.3.FOCUS1542>
- Ehringer, H., & Hornykiewicz, O. (1998). Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system<sup>1</sup>This article was originally published in German in the journal *Klinische Wochenschrift*, volume 38, issue 24, 15 December 1960, pp. 1236-1239.1. *Parkinsonism & Related Disorders*, 4(2), 53 - 57. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(98\)00012-1](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(98)00012-1)
- Faggiani, E., Delaville, C., & Benazzouz, A. (2015). The combined depletion of monoamines alters the effectiveness of subthalamic deep brain stimulation. *Neurobiology of Disease*, 82, 342 - 348. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.07.010>
- Fereshtehnejad, S.-M., & Postuma, R. B. (2017). Subtypes of Parkinson's Disease : What Do They Tell Us About Disease Progression? *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 17(4), 34. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0738-x>
- Ferger, B., Buck, K., Shimasaki, M., Koros, E., Voehringer, P., & Buerger, E. (2010). Continuous dopaminergic stimulation by pramipexole is effective to treat early morning akinesia in animal models of Parkinson's disease : A pharmacokinetic-pharmacodynamic study using in vivo microdialysis in rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 64(7), 533-541. <https://doi.org/10.1002/syn.20759>

- Ferrazzo, S., Gunduz-Cinar, O., Stefanova, N., Pollack, G. A., Holmes, A., Schmuckermair, C., & Ferraguti, F. (2019). Increased anxiety-like behavior following circuit-specific catecholamine denervation in mice. *Neurobiology of Disease*, *125*, 55 - 66.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.01.009>
- Fitoussi, A., Dellu-Hagedorn, F., & De Deurwaerdère, P. (2013). Monoamines tissue content analysis reveals restricted and site-specific correlations in brain regions involved in cognition. *Neuroscience*, *255*, 233 - 245.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.09.059>
- François, C., Savy, C., Jan, C., Tande, D., Hirsch, E. C., & Yelnik, J. (2000). Dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the normal state, in MPTP-treated monkeys, and in Parkinson's disease patients. *The Journal of Comparative Neurology*, *425*(1), 121-129.
- Franke, S. K., van Kesteren, R. E., Wubben, J. a. M., Hofman, S., Paliukhovich, I., van der Schors, R. C., ... Philippens, I. H. C. H. M. (2016). Progression and recovery of Parkinsonism in a chronic progressive MPTP-induction model in the marmoset without persistent molecular and cellular damage. *Neuroscience*, *312*, 247-259.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.065>
- Frei, K., & Truong, D. D. (2017). Hallucinations and the spectrum of psychosis in Parkinson's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, *374*, 56 - 62.  
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.01.014>
- Gaspar, P., Febvret, A., & Colombo, J. (1993). Serotonergic sprouting in primate MTP-induced hemiparkinsonism. *Experimental Brain Research*, *96*(1), 100-106.
- Gaspar, Patricia, Duyckaerts, C., Alvarez, C., Javoy-Agid, F., & Berger, B. (1991). Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in

parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 30(3), 365 - 374.

<https://doi.org/10.1002/ana.410300308>

George, S., & Brundin, P. (2015). Immunotherapy in Parkinson's Disease : Micromanaging Alpha-Synuclein Aggregation. *Journal of Parkinson's Disease*, 5(3), 413-424. <https://doi.org/10.3233/JPD-150630>

Gerra, G., Zaimovic, A., Moi, G., Giusti, F., Gardini, S., Delsignore, R., ... Brambilla, F. (2002). Effects of (+/-) 3,4-methylene-dioxymethamphetamine (ecstasy) on dopamine system function in humans. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 403-410.

Gervais, J., & Rouillard, C. (2000). Dorsal raphe stimulation differentially modulates dopaminergic neurons in the ventral tegmental area and substantia nigra. *Synapse*, 35(4), 281 - 291. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(20000315\)35:4<281::AID-SYN6>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(20000315)35:4<281::AID-SYN6>3.0.CO;2-A)

Giambalvo, C. T., & Snodgrass, S. R. (1978). Biochemical and behavioral effects of serotonin neurotoxins on the nigrostriatal dopamine system : Comparison of injection sites. *Brain Research*, 152(3), 555-566. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)91110-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)91110-1)

Godsil, B. P., Kiss, J. P., Spedding, M., & Jay, T. M. (2013). The hippocampal-prefrontal pathway : The weak link in psychiatric disorders? *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 23(10), 1165 - 1181. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.10.018>

Goetz, C. G., Tilley, B. C., Shaftman, S. R., Stebbins, G. T., Fahn, S., Martinez-Martin, P., ... for the Movement Disorder Society UPDRS Revision Task Force. (2008). Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating

- Scale (MDS-UPDRS) : Scale presentation and clinimetric testing results. *Movement Disorders*, 23(15), 2129-2170. <https://doi.org/10.1002/mds.22340>
- Gorman, J. M., Liebowitz, M. R., Fyer, A. J., Goetz, D., Campeas, R. B., Fyer, M. R., ... Klein, D. F. (1987). An open trial of fluoxetine in the treatment of panic attacks. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 7(5), 329-332.
- Graat, I., Figeet, M., & Denys, D. (2017). The application of deep brain stimulation in the treatment of psychiatric disorders. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, 29(2), 178-190. <https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1282439>
- Greco, J. A., & Liberzon, I. (2016). Neuroimaging of Fear-Associated Learning. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 41(1), 320 - 334. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.255>
- Green, A. R., Mehan, A. O., Elliott, J. M., O'Shea, E., & Colado, M. I. (2003). The Pharmacology and Clinical Pharmacology of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy"). *Pharmacological Reviews*, 55(3), 463-508. <https://doi.org/10.1124/pr.55.3.3>
- Grosch, J., Winkler, J., & Kohl, Z. (2016). Early Degeneration of Both Dopaminergic and Serotonergic Axons – A Common Mechanism in Parkinson's Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00293>
- Guan, X., Zeng, Q., Guo, T., Wang, J., Xuan, M., Gu, Q., ... Zhang, M. (2017). Disrupted Functional Connectivity of Basal Ganglia across Tremor-Dominant and Akinetic/Rigid-Dominant Parkinson's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9, 360. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00360>

- Guiney, S. J., Adlard, P. A., Bush, A. I., Finkelstein, D. I., & Ayton, S. (2017). Ferroptosis and cell death mechanisms in Parkinson's disease. *Neurochemistry International*, *104*, 34-48. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.01.004>
- Gunaydin, L. A., & Kreitzer, A. C. (2016). Cortico-Basal Ganglia Circuit Function in Psychiatric Disease. *Annual Review of Physiology*, *78*, 327 - 350. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105355>
- Haber, S. N. (2003). The primate basal ganglia: Parallel and integrative networks. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *26*(4), 317-330.
- Haber, S. N. (2016). Corticostriatal circuitry. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *18*(1), 15.
- Hamadjida, A., Frouni, I., Kwan, C., & Huot, P. (2018). Classic animal models of Parkinson's disease: A historical perspective. *Behavioural Pharmacology*. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000441>
- Hantraye, P., Varastet, M., Peschanski, M., Riche, D., Cesaro, P., Willer, J. C., & Maziere, M. (1993). Stable parkinsonian syndrome and uneven loss of striatal dopamine fibres following chronic MPTP administration in baboons. *Neuroscience*, *53*(1), 169-178.
- Helmich, R. C. (2018). The cerebral basis of Parkinsonian tremor: A network perspective. *Movement Disorders*, *33*(2), 219 - 231. <https://doi.org/10.1002/mds.27224>
- Helton, S. G., & Lohoff, F. W. (2015). Serotonin pathway polymorphisms and the treatment of major depressive disorder and anxiety disorders. *Pharmacogenomics*, *16*(5), 541-553. <https://doi.org/10.2217/pgs.15.15>
- Henderson-Smith, A., Fisch, K. M., Hua, J., Liu, G., Ricciardelli, E., Jepsen, K., ... Desplats, P. (2019). DNA methylation changes associated with Parkinson's disease

- progression : Outcomes from the first longitudinal genome-wide methylation analysis in blood. *Epigenetics*, 1 - 18.  
<https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1588682>
- Hillmer, A. T., Holden, D., Fowles, K., Nabulsi, N., West, B. L., Carson, R. E., & Cosgrove, K. P. (2017). Microglial depletion and activation : A [11C]PBR28 PET study in nonhuman primates. *EJNMMI Research*, 7(1), 59.  
<https://doi.org/10.1186/s13550-017-0305-0>
- Hirsch, E. C., Brandel, J. P., Galle, P., Javoy-Agid, F., & Agid, Y. (1991). Iron and aluminum increase in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease : An X-ray microanalysis. *Journal of Neurochemistry*, 56(2), 446-451.
- Hornykiewicz, O. (1966). Dopamine (3-Hydroxytyramine) and Brain Function. *Pharmacological Reviews*, 18(2), 925-964.
- Hou, W., Xie, Y., Song, X., Sun, X., Lotze, M. T., Zeh, H. J., ... Tang, D. (2016). Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin. *Autophagy*, 12(8), 1425-1428.  
<https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1187366>
- Huot, P., & Fox, S. H. (2013). The serotonergic system in motor and non-motor manifestations of Parkinson's disease. *Experimental Brain Research*, 230(4), 463-476. <https://doi.org/10.1007/s00221-013-3621-2>
- Huot, P., Fox, S. H., & Brotchie, J. M. (2011). The serotonergic system in Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*, 95(2), 163 - 212.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.08.004>
- Huot, P., Johnston, T. H., Darr, T., Hazrati, L.-N., Visanji, N. P., Pires, D., ... Fox, S. H. (2010). Increased 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the temporal cortex of parkinsonian patients with



- visual hallucinations. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 25(10), 1399-1408. <https://doi.org/10.1002/mds.23083>
- Hwang, J., Kim, S., & Lee, D. (2009). Temporal discounting and inter-temporal choice in rhesus monkeys. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3, 9. <https://doi.org/10.3389/neuro.08.009.2009>
- Ichikawa, J., & Meltzer, H. Y. (1995). Effect of antidepressants on striatal and accumbens extracellular dopamine levels. *European Journal of Pharmacology*, 281(3), 255-261.
- Inoue, T., Kitaichi, Y., & Koyama, T. (2011). SSRIs and conditioned fear. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35(8), 1810 - 1819. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.09.002>
- Insel, T. R., Battaglia, G., Johannessen, J. N., Marra, S., & De Souza, E. B. (1989). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (« ecstasy ») selectively destroys brain serotonin terminals in rhesus monkeys. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 249(3), 713-720.
- Iravani, M. M., Jackson, M. J., Kuoppamäki, M., Smith, L. A., & Jenner, P. (2003). 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) inhibits dyskinesia expression and normalizes motor activity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated primates. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(27), 9107-9115.
- Jacobs, B. L., & Azmitia, E. C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological Reviews*, 72(1), 165 - 229. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.165>

- Jankovic, J. (2018). Parkinson's disease tremors and serotonin. *Brain*, 141(3), 624-626.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awx361>
- Jellinger, K. A. (1999). Post mortem studies in Parkinson's disease—Is it possible to detect brain areas for specific symptoms? *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 56, 1-29.
- Jellinger, K. A., & Paulus, W. (1992). Clinico-pathological correlations in Parkinson's disease. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 94 Suppl, S86-88.
- Jenner, P., Dexter, D. T., Sian, J., Schapira, A. H., & Marsden, C. D. (1992). Oxidative stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. The Royal Kings and Queens Parkinson's Disease Research Group. *Annals of Neurology*, 32 Suppl, S82-87.
- Johnstone, D. M., Moro, C., Stone, J., Benabid, A.-L., & Mitrofanis, J. (2016). Turning On Lights to Stop Neurodegeneration : The Potential of Near Infrared Light Therapy in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 9.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00500>
- Joling, M., van den Heuvel, O. A., Berendse, H. W., Booij, J., & Vriend, C. (2018). Serotonin transporter binding and anxiety symptoms in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 89(1), 89 - 94.  
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-316193>
- Kempster, P. A., Gibb, W. R., Stern, G. M., & Lees, A. J. (1989). Asymmetry of substantia nigra neuronal loss in Parkinson's disease and its relevance to the mechanism of levodopa related motor fluctuations. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 52(1), 72-76.

- Kerenyi, L., Ricaurte, G. A., Schretlen, D. J., McCann, U., Varga, J., Mathews, W. B., ... Szabo, Z. (2003). Positron emission tomography of striatal serotonin transporters in Parkinson disease. *Archives of Neurology*, *60*(9), 1223 - 1229. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.9.1223>
- Kim, C. Y., & Alcalay, R. N. (2017). Genetic Forms of Parkinson's Disease. *Seminars in Neurology*, *37*(2), 135-146. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1601567>
- Kish, S. J. (2003). What is the evidence that Ecstasy (MDMA) can cause Parkinson's disease? *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *18*(11), 1219-1223. <https://doi.org/10.1002/mds.10643>
- Kish, S. J., Fitzmaurice, P. S., Boileau, I., Schmunk, G. A., Ang, L.-C., Furukawa, Y., ... Tong, J. (2008). Brain serotonin transporter in human methamphetamine users. *Psychopharmacology*, *202*(4), 649. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1346-x>
- Kish, S. J., Fitzmaurice, P. S., Boileau, I., Schmunk, G. A., Ang, L.-C., Furukawa, Y., ... Tong, J. (2009). Brain serotonin transporter in human methamphetamine users. *Psychopharmacology*, *202*(4), 649-661. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1346-x>
- Kish, S. J., Lerch, J., Furukawa, Y., Tong, J., McCluskey, T., Wilkins, D., ... Boileau, I. (2010). Decreased cerebral cortical serotonin transporter binding in ecstasy users: A positron emission tomography/[<sup>11</sup>C]DASB and structural brain imaging study. *Brain: A Journal of Neurology*, *133*(Pt 6), 1779 - 1797. <https://doi.org/10.1093/brain/awq103>
- Kish, S. J., Shannak, K., & Hornykiewicz, O. (1988). Uneven Pattern of Dopamine Loss in the Striatum of Patients with Idiopathic Parkinson's Disease. *New England*

*Journal of Medicine*, 318(14), 876 - 880.

<https://doi.org/10.1056/NEJM198804073181402>

Kish, S. J., Tong, J., Hornykiewicz, O., Rajput, A., Chang, L.-J., Guttman, M., & Furukawa, Y. (2008). Preferential loss of serotonin markers in caudate versus putamen in Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 131(Pt 1), 120 - 131. <https://doi.org/10.1093/brain/awm239>

Kolasiewicz, W., Kuter, K., Berghauzen, K., Nowak, P., Schulze, G., & Ossowska, K. (2012). 6-OHDA injections into A8-A9 dopaminergic neurons modelling early stages of Parkinson's disease increase the harmaline-induced tremor in rats. *Brain Research*, 1477, 59-73. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.08.015>

Konnova, E. A., & Swanberg, M. (2018). Animal Models of Parkinson's Disease. In T. B. Stoker & J. C. Greenland (Éd.), *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Consulté à l'adresse <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536725/>

Koprach, J., Johnston, T., Howson, P., Reyes, G., Omana, V., & Brotchie, J. (2018). Characterization and reproducibility of a macaque model of Parkinson's disease alpha-synucleinopathy. *Parkinsonism & Related Disorders*, 46, e3 - e4. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.11.012>

Kravitz, A. V., Freeze, B. S., Parker, P. R. L., Kay, K., Thwin, M. T., Deisseroth, K., & Kreitzer, A. C. (2010). Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature*, 466(7306), 622 - 626. <https://doi.org/10.1038/nature09159>

Kuniyoshi, S. M., & Jankovic, J. (2003). MDMA and Parkinsonism. *The New England Journal of Medicine*, 349(1), 96-97. <https://doi.org/10.1056/NEJMc030208>

- Kuramoto, L., Cragg, J., Nandhagopal, R., Mak, E., Sossi, V., de la Fuente-Fernández, R., ... Schulzer, M. (2013). The nature of progression in Parkinson's disease: An application of non-linear, multivariate, longitudinal random effects modelling. *PLoS One*, 8(10), e76595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076595>
- Langston, J. W., Ballard, P., Tetrud, J. W., & Irwin, I. (1983). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science (New York, N.Y.)*, 219(4587), 979-980.
- Laruelle, M., Abi-Dargham, A., van Dyck, C. H., Rosenblatt, W., Zea-Ponce, Y., Zoghbi, S. S., ... Kung, H. F. (1995). SPECT imaging of striatal dopamine release after amphetamine challenge. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 36(7), 1182-1190.
- Leal, P. C., Bispo, J. M. M., Lins, L. C. R. F., Souza, M. F., Gois, A. M., Moore, C., ... Santos, J. R. (2019). Cognitive and anxiety-like impairments accompanied by serotonergic ultrastructural and immunohistochemical alterations in early stages of parkinsonism. *Brain Research Bulletin*, 146, 213 - 223. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.01.009>
- Leentjens, A. F. G., Dujardin, K., Marsh, L., Martinez-Martin, P., Richard, I. H., & Starkstein, S. E. (2011). Symptomatology and markers of anxiety disorders in Parkinson's disease: A cross-sectional study. *Movement Disorders*, 26(3), 484 - 492. <https://doi.org/10.1002/mds.23528>
- Lenze, E. J., Goate, A. M., Nowotny, P., Dixon, D., Shi, P., Bies, R. R., ... Pollock, B. G. (2010). Relation of serotonin transporter genetic variation to efficacy of escitalopram for generalized anxiety disorder in older adults. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 30(6), 672-677.

- Leroi, I., Andrews, M., McDonald, K., Harbishettar, V., Elliott, R., Byrne, E. J., & Burns, A. (2012). Apathy and impulse control disorders in Parkinson's disease : A direct comparison. *Parkinsonism & Related Disorders*, *18*(2), 198 - 203. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.10.005>
- Levy, R., & Dubois, B. (2006). Apathy and the Functional Anatomy of the Prefrontal Cortex-Basal Ganglia Circuits. *Cerebral Cortex*, *16*(7), 916 - 928. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj043>
- Li, B.-D., Cui, J.-J., Song, J., Qi, C., Ma, P.-F., Wang, Y.-R., & Bai, J. (2018). Comparison of the Efficacy of Different Drugs on Non-Motor Symptoms of Parkinson's Disease : A Network Meta-Analysis. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, *45*(1), 119-130. <https://doi.org/10.1159/000486252>
- Liu, B., Gao, H.-M., & Hong, J.-S. (2003). Parkinson's disease and exposure to infectious agents and pesticides and the occurrence of brain injuries : Role of neuroinflammation. *Environmental Health Perspectives*, *111*(8), 1065 - 1073. <https://doi.org/10.1289/ehp.6361>
- Loane, C., Wu, K., Bain, P., Brooks, D. J., Piccini, P., & Politis, M. (2013). Serotonergic loss in motor circuitries correlates with severity of action-postural tremor in PD. *Neurology*, *80*(20), 1850 - 1855. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318292a31d>
- Lozano, A. M., & Gross, R. E. (2017). Introduction to Deep Brain Stimulation. *Neurosurgical Focus*, *42*(videosuppl2), Intro. <https://doi.org/10.3171/2017.2.FocusVid.Intro>

- Luo, F., Li, C., Ondo, W. G., Xu, P., Xie, W., & Le, W. (2011). The long-term effects of the dopamine agonist pramipexole in a proposed restless legs syndrome animal model. *Sleep Medicine*, 12(1), 41 - 46.  
<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.07.009>
- MacQueen, G. M., Yucel, K., Taylor, V. H., Macdonald, K., & Joffe, R. (2008). Posterior hippocampal volumes are associated with remission rates in patients with major depressive disorder. *Biological Psychiatry*, 64(10), 880 - 883.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.027>
- Maillet, A., Krack, P., Lhommée, E., Météreau, E., Klingler, H., Favre, E., ... Thobois, S. (2016). The prominent role of serotonergic degeneration in apathy, anxiety and depression in de novo Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 139(Pt 9), 2486-2502. <https://doi.org/10.1093/brain/aww162>
- Man, M.-S., Mikheenko, Y., Braesicke, K., Cockcroft, G., & Roberts, A. C. (2012). Serotonin at the level of the amygdala and orbitofrontal cortex modulates distinct aspects of positive emotion in primates. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(1), 91 - 105.  
<https://doi.org/10.1017/S1461145711000587>
- María Sierra, S. C. (2015). Apathy and Impulse Control Disorders : Yin & Yang of Dopamine Dependent Behaviors. *Journal of Parkinson's disease*, 5(3).  
<https://doi.org/10.3233/JPD-150535>
- Maron, E., & Nutt, D. (2015). Biological predictors of pharmacological therapy in anxiety disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(3), 305-317.
- Masilamoni, G. J., & Smith, Y. (2018). Chronic MPTP administration regimen in monkeys : A model of dopaminergic and non-dopaminergic cell loss in Parkinson's disease.

*Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 125(3), 337 - 363.

<https://doi.org/10.1007/s00702-017-1774-z>

Mattson, M. P. (2000). Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 1(2), 120-129. (11253364).

Mattson, M. P., Pedersen, W. A., Duan, W., Culmsee, C., & Camandola, S. (1999). Cellular and molecular mechanisms underlying perturbed energy metabolism and neuronal degeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 893, 154-175.

McCann, U D, Eligulashvili, V., & Ricaurte, G. A. (2000). (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy')-induced serotonin neurotoxicity: Clinical studies. *Neuropsychobiology*, 42(1), 11-16. (10867551).

McCann, Una D., Szabo, Z., Seckin, E., Rosenblatt, P., Mathews, W. B., Ravert, H. T., ... Ricaurte, G. A. (2005). Quantitative PET studies of the serotonin transporter in MDMA users and controls using [11C]McN5652 and [11C]DASB. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(9), 1741 - 1750.  
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300736>

McCormick, P. N., Fletcher, P. J., Wilson, V. S., Browne, J. D. C., Nobrega, J. N., & Remington, G. J. (2015). Low dose pramipexole causes D3 receptor-independent reduction of locomotion and responding for a conditioned reinforcer. *Neuropharmacology*, 89, 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.09.026>

McFarland, N. R., & Haber, S. N. (2002). Thalamic Relay Nuclei of the Basal Ganglia Form Both Reciprocal and Nonreciprocal Cortical Connections, Linking Multiple Frontal



- Cortical Areas. *Journal of Neuroscience*, 22(18), 8117 - 8132.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-18-08117.2002>
- Migueluez, C., Navailles, S., Delaville, C., Marquis, L., Lagièrre, M., Benazzouz, A., ... De Deurwaerdère, P. (2016). L-DOPA elicits non-vesicular releases of serotonin and dopamine in hemiparkinsonian rats in vivo. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 26(8), 1297-1309. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.05.004>
- Mikheenko, Y., Shiba, Y., Sawiak, S., Braesicke, K., Cockcroft, G., Clarke, H., & Roberts, A. C. (2015). Serotonergic, brain volume and attentional correlates of trait anxiety in primates. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 40(6), 1395 - 1404.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2014.324>
- Mink, J. W. (1996). The basal ganglia : Focused selection and inhibition of competing motor programs. *Progress in Neurobiology*, 50(4), 381-425.
- Mintzer, S., Hickenbottom, S., & Gilman, S. (1999). Parkinsonism after taking ecstasy. *The New England Journal of Medicine*, 340(18), 1443.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM199905063401818>
- Mombereau, C., Gur, T. L., Onksen, J., & Blendy, J. A. (2010). Differential effects of acute and repeated citalopram in mouse models of anxiety and depression. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 13(3), 321 - 334.  
<https://doi.org/10.1017/S1461145709990630>
- Montañez, S., Daws, L. C., Gould, G. G., & Frazer, A. (2003). Serotonin (5-HT) transporter (SERT) function after graded destruction of serotonergic neurons. *Journal of Neurochemistry*, 87(4), 861-867.

- Moraga-Amaro, R., Gonzalez, H., Pacheco, R., & Stehberg, J. (2014). Dopamine receptor D3 deficiency results in chronic depression and anxiety. *Behavioural Brain Research*, 274, 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.055>
- Moratalla, R., Khairnar, A., Simola, N., Granado, N., García-Montes, J. R., Porceddu, P. F., ... Morelli, M. (2017). Amphetamine-related drugs neurotoxicity in humans and in experimental animals: Main mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 155, 149-170. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.09.011>
- Moro, C., El Massri, N., Darlot, F., Torres, N., Chabrol, C., Agay, D., ... Benabid, A.-L. (2016). Effects of a higher dose of near-infrared light on clinical signs and neuroprotection in a monkey model of Parkinson's disease. *Brain Research*, 1648(Pt A), 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.07.005>
- Mounayar, S., Boulet, S., Tande, D., Jan, C., Pessiglione, M., Hirsch, E. C., ... Tremblay, L. (2007). A new model to study compensatory mechanisms in MPTP-treated monkeys exhibiting recovery. *Brain*, 130(11), 2898 - 2914. <https://doi.org/10.1093/brain/awm208>
- Nambu, A., Takada, M., Inase, M., & Tokuno, H. (1996). Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: Evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(8), 2671-2683.
- Nandhagopal, R., Kuramoto, L., Schulzer, M., Mak, E., Cragg, J., Lee, C. S., ... Stoessl, A. J. (2009). Longitudinal progression of sporadic Parkinson's disease: A multi-tracer positron emission tomography study. *Brain*, 132(11), 2970 - 2979. <https://doi.org/10.1093/brain/awp209>

- Navailles, S., Bioulac, B., Gross, C., & De Deurwaerdère, P. (2010). Serotonergic neurons mediate ectopic release of dopamine induced by L-DOPA in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, 38(1), 136 - 143. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.01.012>
- Navailles, S., Bioulac, B., Gross, C., & De Deurwaerdère, P. (2011). Chronic L-DOPA therapy alters central serotonergic function and L-DOPA-induced dopamine release in a region-dependent manner in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, 41(2), 585 - 590. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.11.007>
- Navailles, S., & De Deurwaerdère, P. (2011). Presynaptic control of serotonin on striatal dopamine function. *Psychopharmacology*, 213(2 - 3), 213 - 242. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2029-y>
- Navailles, S., & De Deurwaerdère, P. (2012). Imbalanced Dopaminergic Transmission Mediated by Serotonergic Neurons in L-DOPA-Induced Dyskinesia [Research article]. <https://doi.org/10.1155/2012/323686>
- Obeso, J. A., Rodriguez-Oroz, M. C., Rodriguez, M., Lanciego, J. L., Artieda, J., Gonzalo, N., & Olanow, C. W. (2000). Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends in Neurosciences*, 23, S8-S19. [https://doi.org/10.1016/S1471-1931\(00\)00028-8](https://doi.org/10.1016/S1471-1931(00)00028-8)
- Olanow, C. W., & Prusiner, S. B. (2009). Is Parkinson's disease a prion disorder? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12571-12572. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906759106>
- Oler, J. A., Fox, A. S., Shelton, S. E., Christian, B. T., Murali, D., Oakes, T. R., ... Kalin, N. H. (2009). Serotonin transporter availability in the amygdala and bed nucleus of the

- stria terminalis predicts anxious temperament and brain glucose metabolic activity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(32), 9961-9966. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0795-09.2009>
- Opara, J., Broła, W., Leonardi, M., & Błaszczuk, B. (2012). Quality of life in Parkinson's Disease. *Journal of Medicine and Life*, 5(4), 375-381.
- O'Suilleabhain, P., & Giller, C. (2003). Rapidly progressive parkinsonism in a self-reported user of ecstasy and other drugs. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 18(11), 1378 - 1381. <https://doi.org/10.1002/mds.10623>
- Pagano, G., Niccolini, F., Fusar-Poli, P., & Politis, M. (2017). Serotonin transporter in Parkinson's disease: A meta-analysis of positron emission tomography studies. *Annals of Neurology*, 81(2), 171-180. <https://doi.org/10.1002/ana.24859>
- Pagano, G., & Politis, M. (2018). Molecular Imaging of the Serotonergic System in Parkinson's Disease. *International Review of Neurobiology*, 141, 173-210. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2018.08.002>
- Pagonabarraga, J., Kulisevsky, J., Strafella, A. P., & Krack, P. (2015). Apathy in Parkinson's disease: Clinical features, neural substrates, diagnosis, and treatment. *The Lancet. Neurology*, 14(5), 518 - 531. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00019-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00019-8)
- Parent, M., Wallman, M.-J., Gagnon, D., & Parent, A. (2011). Serotonin innervation of basal ganglia in monkeys and humans. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 41(4), 256-265. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2011.04.005>

- Pasquini, J., Ceravolo, R., Qamhawi, Z., Lee, J.-Y., Deuschl, G., Brooks, D. J., ... Pavese, N. (2018). Progression of tremor in early stages of Parkinson's disease : A clinical and neuroimaging study. *Brain*, *141*(3), 811 - 821. <https://doi.org/10.1093/brain/awx376>
- Paulus, W., & Jellinger, K. (1991). The neuropathologic basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *50*(6), 743-755.
- Pavese, N., Evans, A. H., Tai, Y. F., Hotton, G., Brooks, D. J., Lees, A. J., & Piccini, P. (2006). Clinical correlates of levodopa-induced dopamine release in Parkinson disease : A PET study. *Neurology*, *67*(9), 1612 - 1617. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000242888.30755.5d>
- Pavese, Nicola, Metta, V., Bose, S. K., Chaudhuri, K. R., & Brooks, D. J. (2010). Fatigue in Parkinson's disease is linked to striatal and limbic serotonergic dysfunction. *Brain: A Journal of Neurology*, *133*(11), 3434 - 3443. <https://doi.org/10.1093/brain/awq268>
- Pavese, Nicola, Rivero-Bosch, M., Lewis, S. J., Whone, A. L., & Brooks, D. J. (2011). Progression of monoaminergic dysfunction in Parkinson's disease : A longitudinal 18F-dopa PET study. *NeuroImage*, *56*(3), 1463 - 1468. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.03.012>
- Perez-Lloret, S., Perez Lloret, S., Rey, M. V., Ratti, L., & Rascol, O. (2011). Pramipexole for the treatment of early Parkinson's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *11*(7), 925-935. <https://doi.org/10.1586/ern.11.75>
- Perna, G., Favaron, E., Di Bella, D., Bussi, R., & Bellodi, L. (2005). Antipanic Efficacy of Paroxetine and Polymorphism within the Promoter of the Serotonin Transporter

Gene. *Neuropsychopharmacology*, 30(12), 2230 - 2235.

<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300822>

Pessiglione, M., Guehl, D., Hirsch, E. C., Féger, J., & Tremblay, L. (2004). Disruption of self-organized actions in monkeys with progressive MPTP-induced parkinsonism. I. Effects of task complexity: Task complexity and primate PD-like disorders. *European Journal of Neuroscience*, 19(2), 426 - 436.

<https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03088.x>

Pessiglione, M., Guehl, D., Jan, C., François, C., Hirsch, E. C., Féger, J., & Tremblay, L. (2004). Disruption of self-organized actions in monkeys with progressive MPTP-induced parkinsonism: II. Effects of reward preference. *European Journal of Neuroscience*, 19(2), 437 - 446. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03089.x>

Petschner, P., Tamasi, V., Adori, C., Kirilly, E., Ando, R. D., Tothfalusi, L., & Bagdy, G. (2018). Gene expression analysis indicates reduced memory and cognitive functions in the hippocampus and increase in synaptic reorganization in the frontal cortex 3 weeks after MDMA administration in Dark Agouti rats. *BMC Genomics*, 19(1), 580. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4929-x>

Phillipson, O. T. (2017). Alpha-synuclein, epigenetics, mitochondria, metabolism, calcium traffic, & circadian dysfunction in Parkinson's disease. An integrated strategy for management. *Ageing Research Reviews*, 40, 149 - 167. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.09.006>

Picillo, M., Rocco, M., & Barone, P. (2009). Dopamine receptor agonists and depression in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 15 Suppl 4, S81-84. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(09\)70841-7](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(09)70841-7)

- Picillo, M., Santangelo, G., Erro, R., Cozzolino, A., Amboni, M., Vitale, C., ... Pellecchia, M. T. (2017). Association between dopaminergic dysfunction and anxiety in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, *37*, 106 - 110. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.02.010>
- Piffl, Ch., Schingnitz, G., & Hornykiewicz, O. (1991). Effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on the regional distribution of brain monoamines in the rhesus monkey. *Neuroscience*, *44*(3), 591-605. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90080-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90080-8)
- Podurgiel, S. J., Milligan, M. N., Yohn, S. E., Purcell, L. J., Contreras-Mora, H. M., Correa, M., & Salamone, J. D. (2015). Fluoxetine Administration Exacerbates Oral Tremor and Striatal Dopamine Depletion in a Rodent Pharmacological Model of Parkinsonism. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *40*(9), 2240 - 2247. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.69>
- Poewe, W. (2008). Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *European Journal of Neurology*, *15*, 14-20. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02056.x>
- Poewe, Werner, Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkman, J., ... Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*, 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>
- Politis, M., Wu, K., Loane, C., Turkheimer, F. E., Molloy, S., Brooks, D. J., & Piccini, P. (2010). Depressive symptoms in PD correlate with higher 5-HTT binding in raphe and limbic structures. *Neurology*, *75*(21), 1920 - 1927. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181feb2ab>

- Politis, Marios. (2014). Neuroimaging in Parkinson disease : From research setting to clinical practice. *Nature Reviews Neurology*, 10(12), 708 - 722. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.205>
- Politis, Marios, & Lindvall, O. (2012). Clinical application of stem cell therapy in Parkinson's disease. *BMC Medicine*, 10, 1. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-1>
- Politis, Marios, & Niccolini, F. (2015). Serotonin in Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research*, 277, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.037>
- Politis, Marios, Wu, K., Loane, C., Brooks, D. J., Kiferle, L., Turkheimer, F. E., ... Piccini, P. (2014). Serotonergic mechanisms responsible for levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease patients. *Journal of Clinical Investigation*, 124(3), 1340-1349. <https://doi.org/10.1172/JCI71640>
- Politis, Marios, Wu, K., Loane, C., Kiferle, L., Molloy, S., Brooks, D. J., & Piccini, P. (2010). Staging of serotonergic dysfunction in Parkinson's disease : An in vivo 11C-DASB PET study. *Neurobiology of Disease*, 40(1), 216 - 221. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.05.028>
- Politis, Marios, Wu, K., Loane, C., Quinn, N. P., Brooks, D. J., Rehncrona, S., ... Piccini, P. (2010). Serotonergic neurons mediate dyskinesia side effects in Parkinson's patients with neural transplants. *Science Translational Medicine*, 2(38), 38ra46. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000976>
- Pollak, P., Benabid, A. L., Gross, C., Gao, D. M., Laurent, A., Benazzouz, A., ... Perret, J. (1993). [Effects of the stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson disease]. *Revue Neurologique*, 149(3), 175-176.



- Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S. E., Dehejia, A., Dutra, A., ... Nussbaum, R. L. (1997). Mutation in the  $\alpha$ -Synuclein Gene Identified in Families with Parkinson's Disease. *Science*, 276(5321), 2045 - 2047. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2045>
- Pontone, G. M., Williams, J. R., Anderson, K., Chase, G., Goldstein, S., Grill, S., ... Marsh, L. (2009). Prevalence of Anxiety Disorders and Anxiety Subtypes in Patients With Parkinson's Disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 24(9), 1333-1338. <https://doi.org/10.1002/mds.22611>
- Porras, G., Li, Q., & Bezard, E. (2012). Modeling Parkinson's Disease in Primates : The MPTP Model. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(3), a009308 - a009308. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009308>
- Porras, Grégory, Di Matteo, V., Fracasso, C., Lucas, G., De Deurwaerdère, P., Caccia, S., ... Spampinato, U. (2002). 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C/2B</sub> receptor subtypes modulate dopamine release induced in vivo by amphetamine and morphine in both the rat nucleus accumbens and striatum. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 26(3), 311 - 324. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00333-5](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00333-5)
- Prange, S., Danaila, T., Laurencin, C., Caire, C., Metereau, E., Merle, H., ... Thobois, S. (2019). Age and time course of long-term motor and nonmotor complications in Parkinson disease. *Neurology*, 92(2), e148 - e160. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006737>
- Prange, S., Pagonabarraga, J., Krack, P., Kulisevsky, J., Sgambato, V., Tremblay, L., ... Broussolle, E. (2018). Historical crossroads in the conceptual delineation of

- apathy in Parkinson's disease. *Brain*, 141(2), 613 - 619.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awx362>
- Prisco, S., & Esposito, E. (1995). Differential effects of acute and chronic fluoxetine administration on the spontaneous activity of dopaminergic neurones in the ventral tegmental area. *British Journal of Pharmacology*, 116(2), 1923-1931.  
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb16684.x>
- Qamhawi, Z., Towey, D., Shah, B., Pagano, G., Seibyl, J., Marek, K., ... Pavese, N. (2015). Clinical correlates of raphe serotonergic dysfunction in early Parkinson's disease. *Brain*, 138(10), 2964-2973. <https://doi.org/10.1093/brain/awv215>
- Radua, J., van den Heuvel, O. A., Surguladze, S., & Mataix-Cols, D. (2010). Meta-analytical comparison of voxel-based morphometry studies in obsessive-compulsive disorder vs other anxiety disorders. *Archives of General Psychiatry*, 67(7), 701-711. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.70>
- Ramboz, S., Oosting, R., Amara, D. A., Kung, H. F., Blier, P., Mendelsohn, M., ... Hen, R. (1998). Serotonin receptor 1A knockout: An animal model of anxiety-related disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(24), 14476-14481.
- Reed, M. C., Nijhout, H. F., & Best, J. (2013). Computational studies of the role of serotonin in the basal ganglia. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00041>
- Remy, P., Doder, M., Lees, A., Turjanski, N., & Brooks, D. (2005). Depression in Parkinson's disease: Loss of dopamine and noradrenaline innervation in the limbic system. *Brain: A Journal of Neurology*, 128(Pt 6), 1314 - 1322.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awh445>

- Reneman, L., Booij, J., Lavalaye, J., de Bruin, K., Reitsma, J. B., Gunning, B., ... van Den Brink, W. (2002). Use of amphetamine by recreational users of ecstasy (MDMA) is associated with reduced striatal dopamine transporter densities : A [123I]beta-CIT SPECT study--preliminary report. *Psychopharmacology*, *159*(3), 335-340. <https://doi.org/10.1007/s00213-001-0930-0>
- Reneman, L., Endert, E., de Bruin, K., Lavalaye, J., Feenstra, M. G., de Wolff, F. A., & Booij, J. (2002). The acute and chronic effects of MDMA (« ecstasy ») on cortical 5-HT<sub>2A</sub> receptors in rat and human brain. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *26*(3), 387 - 396. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00366-9](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00366-9)
- Ricaurte, G. A., DeLanney, L. E., Wiener, S. G., Irwin, I., & Langston, J. W. (1988). 5-Hydroxyindoleacetic acid in cerebrospinal fluid reflects serotonergic damage induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine in CNS of non-human primates. *Brain Research*, *474*(2), 359 - 363. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90451-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90451-9)
- Ricaurte, G. A., Forno, L. S., Wilson, M. A., DeLanney, L. E., Irwin, I., Molliver, M. E., & Langston, J. W. (1988). (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine selectively damages central serotonergic neurons in nonhuman primates. *JAMA*, *260*(1), 51-55.
- Ricaurte, G. A., Yuan, J., & McCann, U. D. (2000). (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy')-induced serotonin neurotoxicity : Studies in animals. *Neuropsychobiology*, *42*(1), 5-10. (10867550).
- Rodriguez-Oroz, M. C., Jahanshahi, M., Krack, P., Litvan, I., Macias, R., Bezard, E., & Obeso, J. A. (2009a). Initial clinical manifestations of Parkinson's disease : Features and

- pathophysiological mechanisms. *The Lancet Neurology*, 8(12), 1128 - 1139.  
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70293-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70293-5)
- Rodriguez-Oroz, M. C., Jahanshahi, M., Krack, P., Litvan, I., Macias, R., Bezard, E., & Obeso, J. A. (2009b). Initial clinical manifestations of Parkinson's disease : Features and pathophysiological mechanisms. *The Lancet Neurology*, 8(12), 1128 - 1139.  
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70293-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70293-5)
- Rylander, D., Parent, M., O'Sullivan, S. S., Dovero, S., Lees, A. J., Bezard, E., ... Cenci, M. A. (2010). Maladaptive plasticity of serotonin axon terminals in levodopa-induced dyskinesia. *Annals of Neurology*, 68(5), 619 - 628.  
<https://doi.org/10.1002/ana.22097>
- Saga, Y., Richard, A., Sgambato-Faure, V., Hoshi, E., Tobler, P. N., & Tremblay, L. (2017). Ventral Pallidum Encodes Contextual Information and Controls Aversive Behaviors. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 27(4), 2528 - 2543.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhw107>
- Samuels, B. A., Mendez-David, I., Faye, C., David, S. A., Pierz, K. A., Gardier, A. M., ... David, D. J. (2016). Serotonin 1A and Serotonin 4 Receptors : Essential Mediators of the Neurogenic and Behavioral Actions of Antidepressants. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 22(1), 26-45.  
<https://doi.org/10.1177/1073858414561303>
- Santangelo, G., Trojano, L., Barone, P., Errico, D., Grossi, D., & Vitale, C. (2013). Apathy in Parkinson's disease : Diagnosis, neuropsychological correlates, pathophysiology and treatment. *Behavioural Neurology*, 27(4), 501 - 513.  
<https://doi.org/10.3233/BEN-129025>

- Saulin, A., Savli, M., & Lanzenberger, R. (2012). Serotonin and molecular neuroimaging in humans using PET. *Amino Acids*, 42(6), 2039 - 2057. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1078-9>
- Scatton, B., Javoy-Agid, F., Rouquier, L., Dubois, B., & Agid, Y. (1983). Reduction of cortical dopamine, noradrenaline, serotonin and their metabolites in Parkinson's disease. *Brain Research*, 275(2), 321-328.
- Schapira, A. H., Cooper, J. M., Dexter, D., Clark, J. B., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1990). Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, 54(3), 823-827.
- Schapira, A. H. V., & Gegg, M. (2011). Mitochondrial contribution to Parkinson's disease pathogenesis. *Parkinson's Disease*, 2011, 159160. <https://doi.org/10.4061/2011/159160>
- Schapira, A. H. V., McDermott, M. P., Barone, P., Comella, C. L., Albrecht, S., Hsu, H. H., ... Marek, K. (2013). Pramipexole in patients with early Parkinson's disease (PROUD): A randomised delayed-start trial. *The Lancet. Neurology*, 12(8), 747-755. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70117-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70117-0)
- Scherman, D., Desnos, C., Darchen, F., Pollak, P., Javoy-Agid, F., & Agid, Y. (1989). Striatal dopamine deficiency in Parkinson's disease: Role of aging. *Annals of Neurology*, 26(4), 551-557. <https://doi.org/10.1002/ana.410260409>
- Schneider, J. S., & Kovelowski, C. J. (1990). Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Research*, 519(1-2), 122-128. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90069-N](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90069-N)

- Schrag, A., Anastasiou, Z., Ambler, G., Noyce, A., & Walters, K. (2018). Predicting diagnosis of Parkinson's disease: A risk algorithm based on primary care presentations. *Movement Disorders*, *0*(0). <https://doi.org/10.1002/mds.27616>
- Sgambato, V., & Tremblay, L. (2018). Pathophysiology of dyskinesia and behavioral disorders in non-human primates: The role of serotonergic fibers. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, *125*(8), 1145 - 1156. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1871-7>
- Sgambato-Faure, V., Worbe, Y., Epinat, J., Féger, J., & Tremblay, L. (2016). Cortico-basal ganglia circuits involved in different motivation disorders in non-human primates. *Brain Structure & Function*, *221*(1), 345 - 364. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0911-9>
- Shin, E., Garcia, J., Winkler, C., Björklund, A., & Carta, M. (2012). Serotonergic and dopaminergic mechanisms in graft-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, *47*(3), 393 - 406. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.03.038>
- Shin, E., Tronci, E., & Carta, M. (2012). Role of Serotonin Neurons in L-DOPA- and Graft-Induced Dyskinesia in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease*, *2012*, 370190. <https://doi.org/10.1155/2012/370190>
- Song, D. D., & Haber, S. N. (2000). Striatal Responses to Partial Dopaminergic Lesion: Evidence for Compensatory Sprouting. *Journal of Neuroscience*, *20*(13), 5102-5114. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-13-05102.2000>
- Song, R., Grabowska, W., Park, M., Osypiuk, K., Vergara-Diaz, G. P., Bonato, P., ... Wayne, P. M. (2017). The impact of Tai Chi and Qigong mind-body exercises on motor and non-motor function and quality of life in Parkinson's disease: A systematic

review and meta-analysis. *Parkinsonism & Related Disorders*, 41, 3 - 13.

<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.05.019>

Steeves, T. D. L., Miyasaki, J., Zurowski, M., Lang, A. E., Pallecchia, G., Van Eimeren, T., ...

Strafella, A. P. (2009). Increased striatal dopamine release in Parkinsonian patients with pathological gambling: A [<sup>11</sup>C] raclopride PET study. *Brain: A Journal of Neurology*, 132(Pt 5), 1376 - 1385.

<https://doi.org/10.1093/brain/awp054>

Strafella, A. P., Bohnen, N. I., Pavese, N., Vaillancourt, D. E., van Eimeren, T., Politis, M., ...

IPMDS-Neuroimaging Study Group. (2018). Imaging Markers of Progression in Parkinson's Disease. *Movement Disorders Clinical Practice*, 5(6), 586 - 596.

<https://doi.org/10.1002/mdc3.12673>

Strafella, A. P., Bohnen, N. I., Perlmutter, J. S., Eidelberg, D., Pavese, N., Van Eimeren, T., ...

IPMDS-Neuroimaging Study Group. (2017). Molecular imaging to track Parkinson's disease and atypical parkinsonisms: New imaging frontiers. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 32(2), 181

-192. <https://doi.org/10.1002/mds.26907>

Strecker, K., Wegner, F., Hesse, S., Becker, G.-A., Patt, M., Meyer, P. M., ... Sabri, O. (2011).

Preserved serotonin transporter binding in de novo Parkinson's disease: Negative correlation with the dopamine transporter. *Journal of Neurology*, 258(1), 19-26. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5666-5>

Szabo, Z., McCann, U. D., Wilson, A. A., Scheffel, U., Owonikoko, T., Mathews, W. B., ...

Ricaurte, G. A. (2002). Comparison of (+)-(11)C-McN5652 and (11)C-DASB as serotonin transporter radioligands under various experimental conditions.

*Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*,  
43(5), 678-692.

- Tayarani-Binazir, K. A., Jackson, M. J., Rose, S., Olanow, C. W., & Jenner, P. (2010). Pramipexole combined with levodopa improves motor function but reduces dyskinesia in MPTP-treated common marmosets. *Movement Disorders*, 25(3), 377-384. <https://doi.org/10.1002/mds.22960>
- Thenganatt, M. A., & Jankovic, J. (2014). Parkinson Disease Subtypes. *JAMA Neurology*, 71(4), 499-504. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6233>
- Thobois, S., Ardouin, C., Lhommée, E., Klinger, H., Lagrange, C., Xie, J., ... Krack, P. (2010). Non-motor dopamine withdrawal syndrome after surgery for Parkinson's disease : Predictors and underlying mesolimbic denervation. *Brain*, 133(4), 1111-1127. <https://doi.org/10.1093/brain/awq032>
- Tokunaga, N., Choudhury, M. E., Nishikawa, N., Nagai, M., Tujii, T., Iwaki, H., ... Nomoto, M. (2012). Pramipexole upregulates dopamine receptor D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> expression in rat striatum. *Journal of Pharmacological Sciences*, 120(2), 133-137.
- Tolosa, E., & Compta, Y. (2006). Dystonia in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 253 Suppl 7, VII7-13. <https://doi.org/10.1007/s00415-006-7003-6>
- Tomlinson, C. L., Patel, S., Meek, C., Herd, C. P., Clarke, C. E., Stowe, R., ... Ives, N. (2012). Physiotherapy intervention in Parkinson's disease : Systematic review and meta-analysis. *The BMJ*, 345. <https://doi.org/10.1136/bmj.e5004>
- Tremblay, L., Worbe, Y., Thobois, S., Sgambato-Faure, V., & Féger, J. (2015). Selective dysfunction of basal ganglia subterritories : From movement to behavioral disorders. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*. <https://doi.org/10.1002/mds.26199>



- Tu, W., Cook, A., Scholl, J. L., Mears, M., Watt, M. J., Renner, K. J., & Forster, G. L. (2014). Serotonin in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behavior during amphetamine withdrawal. *Neuroscience*, *281*, 35 - 43. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.019>
- van der Mark Marianne, Brouwer Maartje, Kromhout Hans, Nijssen Peter, Huss Anke, & Vermeulen Roel. (2012). Is Pesticide Use Related to Parkinson Disease? Some Clues to Heterogeneity in Study Results. *Environmental Health Perspectives*, *120*(3), 340-347. <https://doi.org/10.1289/ehp.1103881>
- Vanover, K., Betz, A., Weber, S., Bibbiani, F., Kielaitis, A., Weiner, D., ... Salamone, J. (2008). A 5-HT<sub>2A</sub> receptor inverse agonist, ACP-103, reduces tremor in a rat model and levodopa-induced dyskinesias in a monkey model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *90*(4), 540-544. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.04.010>
- Vegting, Y., Reneman, L., & Booij, J. (2016). The effects of ecstasy on neurotransmitter systems: A review on the findings of molecular imaging studies. *Psychopharmacology*, *233*(19-20), 3473-3501. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4396-5>
- Visanji, N. P., Brooks, P. L., Hazrati, L.-N., & Lang, A. E. (2013). The prion hypothesis in Parkinson's disease : Braak to the future. *Acta Neuropathologica Communications*, *1*, 2. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-2>
- Voon, V., Reynolds, B., Brezing, C., Gallea, C., Skaljic, M., Ekanayake, V., ... Hallett, M. (2010). Impulsive choice and response in dopamine agonist-related impulse control behaviors. *Psychopharmacology*, *207*(4), 645 - 659. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1697-y>

- Voon, V., Schoerling, A., Wenzel, S., Ekanayake, V., Reiff, J., Trenkwalder, C., & Sixel-Döring, F. (2011). Frequency of impulse control behaviours associated with dopaminergic therapy in restless legs syndrome. *BMC Neurology*, *11*, 117. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-11-117>
- Vriend, C., Boedhoe, P. S. W., Rutten, S., Berendse, H. W., van der Werf, Y. D., & van den Heuvel, O. A. (2016). A smaller amygdala is associated with anxiety in Parkinson's disease : A combined FreeSurfer-VBM study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *87*(5), 493-500. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-310383>
- Vriend, C., Raijmakers, P., Veltman, D. J., van Dijk, K. D., van der Werf, Y. D., Foncke, E. M. J., ... van den Heuvel, O. A. (2014). Depressive symptoms in Parkinson's disease are related to reduced [123I]FP-CIT binding in the caudate nucleus. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *85*(2), 159 - 164. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-304811>
- Weintraub, D., David, A. S., Evans, A. H., Grant, J. E., & Stacy, M. (2015). Clinical spectrum of impulse control disorders in Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *30*(2), 121 - 127. <https://doi.org/10.1002/mds.26016>
- Weintraub D, Koester J, Potenza MN, & et al. (2010). Impulse control disorders in parkinson disease : A cross-sectional study of 3090 patients. *Archives of Neurology*, *67*(5), 589-595. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.65>
- Wilson, H., Giordano, B., Turkheimer, F. E., Chaudhuri, K. R., & Politis, M. (2018). Serotonergic dysregulation is linked to sleep problems in Parkinson's disease. *NeuroImage: Clinical*, *18*, 630-637. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.03.001>

- Witjas, T., Carron, R., Krack, P., Eusebio, A., Vaugoyeau, M., Hariz, M., ... Régis, J. (2015). A prospective single-blind study of Gamma Knife thalamotomy for tremor. *Neurology*, 85(18), 1562 - 1568. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002087>
- Wojtala, J., Heber, I. A., Neuser, P., Heller, J., Kalbe, E., Rehberg, S. P., ... Reetz, K. (2019). Cognitive decline in Parkinson's disease : The impact of the motor phenotype on cognition. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 90(2), 171 - 179. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-319008>
- Worbe, Y., Baup, N., Grabli, D., Chaigneau, M., Mounayar, S., McCairn, K., ... Tremblay, L. (2009). Behavioral and Movement Disorders Induced by Local Inhibitory Dysfunction in Primate Striatum. *Cerebral Cortex*, 19(8), 1844 - 1856. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn214>
- Worbe, Y., Sgambato-Faure, V., Epinat, J., Chaigneau, M., Tandé, D., François, C., ... Tremblay, L. (2013). Towards a primate model of Gilles de la Tourette syndrome : Anatomico-behavioural correlation of disorders induced by striatal dysfunction. *Cortex*, 49(4), 1126-1140. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2012.08.020>
- Yamada, H., Aimi, Y., Nagatsu, I., Taki, K., Kudo, M., & Arai, R. (2007). Immunohistochemical detection of L-DOPA-derived dopamine within serotonergic fibers in the striatum and the substantia nigra pars reticulata in Parkinsonian model rats. *Neuroscience Research*, 59(1), 1 - 7. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2007.05.002>
- Yevtushenko, O. O., Oros, M. M., & Reynolds, G. P. (2010). Early response to selective serotonin reuptake inhibitors in panic disorder is associated with a functional 5-

HT1A receptor gene polymorphism. *Journal of Affective Disorders*, 123(1), 308-311. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2009.09.007>

Zhuo, C., Xue, R., Luo, L., Ji, F., Tian, H., Qu, H., ... Tao, R. (2017). Efficacy of antidepressive medication for depression in Parkinson disease: A network meta-analysis. *Medicine*, 96(22). <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006698>

